

57 Papel protector del óxido nítrico en la paracoccidioidomicosis pulmonar experimental y su relación con algunas citoquinas: ensayos *in vivo*

Martha Urán¹, Érika Caro¹, Ángel González¹,
Ángela Restrepo¹, Luis F. Barrera², Luz E. Cano^{1,3}

PALABRAS CLAVE

PARACOCCIDIOIDES BRASILIENSIS

ÓXIDO NÍTRICO

AMINOGUANIDINA

RT-PCR

CITOQUINAS

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La paracoccidioidomicosis (PCM) es adquirida por inhalación de propágulas de *Paracoccidioides brasiliensis* (*P. bras*) (1); el macrófago (MØ) es una de las células más importantes en su control. Nuestro grupo demostró que MØ murinos activados con IFN- α exhiben significativa capacidad fungicida, mediada por el óxido nítrico (ON), contra conidias de *P. bras* (2). Adicionalmente, demostramos que el tratamiento con aminoguanidina (AG), inhibidor selectivo de la iNOS, en ratones BALB/c infectados i.n. con el hongo, disminuye de manera significativa el tiempo de supervivencia de los animales tratados en comparación con los infectados no tratados, sugiriendo un papel protector del ON *in vivo* en el modelo experimental de PCM (3). Con base en resultados previos, y utilizando el modelo experimental de PCM, estudiamos la expresión *in vivo* de la iNOS (Óxido Nítrico Inducible) y su relación con algunas citoquinas (IL-1 β , 4, 6, 10, 12p40, 13, TNF- α , IFN- α , TGF- β , GM-CSF).

METODOLOGÍA

Ratones BALB/c machos (6-sem) del bioterio de la CIB fueron inoculados con tapón fosfatosalino (PBS) (controles no infectados) o

con 4×10^6 conidias viables de *P. bras* (ATCC 60855); ambos fueron tratados o no con AG 1% *ad lib*, (4 grupos). Los diferentes grupos fueron observados diariamente hasta su muerte, extrayéndoles los pulmones, el hígado y el bazo para determinación de UFC y expresión de RNAm por RT-PCR según lo recomendado por el fabricante (GIBCOBRL), para determinar la expresión de iNOS y las citoquinas; las muestras fueron normalizadas con el gen constitutivo β_2 microglobulina y analizadas por densitometría con el software ID Image, Kodak. El resultado se expresó como la relación del producto sobre el constitutivo.

RESULTADOS

Observamos disminución significativa del peso corporal en los grupos infectados (tratados o no con AG), comparados con el grupo control. Por el contrario, el peso del bazo y el pulmón se incrementó significativamente en los infectados. Estos últimos al ser tratados con AG expresaron niveles altos de RNAm para iNOS, TNF- α , IL-1 β , 6, 10 y GM-CSF.

CONCLUSIONES

Estos hallazgos sugieren un posible papel del TNF- α (caquectina) en la pérdida de peso de los animales infectados (tratados o no con AG). Adicionalmente, la inhibición en la producción de NO (por la AG) podría inducir una respuesta inmune tipo Th2, con predominio de IL-10 y de citoquinas proinflamatorias TNF- α , IL-6, IL-1 β .

BIBLIOGRAFÍA

1. BUSTAMANTE SB, MCEWEN JG, TABARES AM, ARANGO M, RESTREPO A. Characteristics of the conidia production by the mycelial form of *Paracoccidioides brasiliensis*. *Sabouraudia* 1985; 23: 407-414.
2. GONZÁLEZ A, DE GREGORI W, VÉLEZ D, RESTREPO A, CANO LE. Nitric oxide participation in the fungicidal mechanism of gamma interferon-activated murine macrophages against *Paracoccidioides brasiliensis* conidia. *Infection and Immunity* 2000; 68: 22.
3. URÁN ME, GONZÁLEZ A, RESTREPO A, CANO LE. Protective role of nitric oxide on experimental pulmonary paracoccidioidomycosis:

.....
¹ Grupo de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB)

² Grupo de Inmunogenética e Inmunología Celular, Laboratorio Central de Investigaciones, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

³ Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Antioquia.
lula@epm.net.co