



Biomédica

ISSN: 0120-4157

biomedica@ins.gov.co

Instituto Nacional de Salud

Colombia

del Pilar, María; García, Luis F.; Cano, Luz E.; Restrepo, Angela
Factores genéticos y su influencia en las micosis sistémicas
Biomédica, vol. 21, núm. 3, septiembre, 2001, pp. 275-288
Instituto Nacional de Salud
Bogotá, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84321311>

- [Cómo citar el artículo](#)
- [Número completo](#)
- [Más información del artículo](#)
- [Página de la revista en redalyc.org](#)

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

REVISION DE TEMA

Factores genéticos y su influencia en las micosis sistémicas

María del Pilar Jiménez ^{1,2}, Luis F. García ², Luz E. Cano ^{1,3}, Angela Restrepo ¹

¹ Grupo de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, Colombia.

² Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

³ Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

La respuesta defensora del hospedero frente a la infección microbiana depende de múltiples mecanismos, entre los cuales las características genéticas del hospedero juegan papel importante, ya que condicionan tanto la resistencia natural como la adquirida. La mayoría de hallazgos en este campo en micosis sistémicas, se ha evidenciado en el modelo animal. En estas enfermedades, uno de los componentes genéticos más estudiados ha sido el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). Sin embargo, en ratones consanguíneos no se ha demostrado la existencia de una relación entre estos genes y la respuesta inmune desencadenada contra los agentes causales de tales micosis. Con relación a otros factores, como el sistema del complemento, se ha podido establecer una asociación solamente en el caso de la criptococosis. En cepas consanguíneas de ratón, los patrones de resistencia y susceptibilidad a *Cryptococcus neoformans* dependen de la presencia o ausencia del gen correspondiente, C¹ o C⁰, respectivamente. Por otra parte, en un buen número de las micosis que se mencionan, se ha demostrado que la respuesta inmune mediada por células, es fundamental para su control. En la coccidioidomicosis y la paracoccidioidomicosis, la función de las células T es decisiva, a diferencia de lo observado en candidiasis, en la cual la principal célula efectora parece ser el polimorfonuclear. En cuanto al patrón de citocinas, se ha observado que los ratones susceptibles a *Coccidioides immitis* o *Paracoccidioides brasiliensis*, al ser infectados con estos hongos, producen predominantemente citocinas tipo TH2, IL-10 e IL-4 en coccidioidomicosis e IL-10 e IL-5 en paracoccidioidomicosis. En la histoplasmosis, los estudios han señalado la importancia del IFN γ en la defensa. Hasta el presente, sólo se conocen genes específicos que determinan la respuesta inmune en la candidiasis, *Carg1* y *Carg2*. En la coccidioidomicosis, se han sugerido dos genes, *Cms1* y *Cms2*. En las micosis que se describen a continuación, el gen o los genes que condicionarían la respuesta correspondiente son de tipo autosómico y el fenotipo de resistencia es el dominante. En esta revisión se analizan ciertos aspectos de la constitución genética del hospedero que condicionan la respuesta inmune frente a los agentes causales de las micosis sistémicas y se señalan las similitudes y las diferencias entre ellos.

Palabras clave: factores genéticos, micosis sistémicas, resistencia, susceptibilidad.

Genetic factors and their influence in systemic mycoses

The host's immune response to pathogenic microorganisms depends on several mechanisms. Genetic characteristics of the host clearly impact on the host's natural and immune resistance status. In systemic mycoses, most of the evidence has been obtained from animal models. For example, no relation has been observed between the genes linked to the major histocompatibility complex (MHC) and the immune response to fungi. With respect to complement factors, an association with only cryptococcosis has been established. In this case, resistance and susceptibility patterns in inbred mice depend on the presence or absence of this gene (C¹ or C⁰, respectively). For most of the mycoses reviewed here, however, the immune response mediated by cells is considered crucial for control of the disease process. In coccidioidomycosis and paracoccidioidomycosis, T cell function is decisive. This contrasts with candidiasis, where the most important cell is the polymorphonuclear (PMN). The cytokine pattern in infected mice sus-

ceptible to *C. immitis* and *P. brasiliensis* produce primarily TH2 cytokines - IL-10 and IL-4 - in coccidioidomycosis, and IL-10 and IL-5 in paracoccidioidomycosis. In histoplasmosis, IFN γ plays a significant role. At present, specific genes responsible for the immune response have been reported only for candidiasis (*Carg1* and *Carg2*). In coccidioidomycosis, two genes, *Cms1* and *Cms2*, have been suggested. For the mycoses reviewed here, the gene or genes that influence immune responses are autosomic and their resistance phenotype is dominant.

Key words: genetic factors, systemic mycoses, resistance, susceptibility.

La respuesta defensiva del hospedero frente a los microorganismos, sean ellos bacterianos, virales, parasitarios o fúngicos, depende de la combinación de múltiples mecanismos, los que incluyen medidas de defensa naturales (innatas) o inmunes (adquiridas). Las características genéticas del hospedero influyen en estos dos tipos de respuesta y, por ende, determinan la resistencia o susceptibilidad a las enfermedades infecciosas (1).

La importancia de los factores genéticos en humanos se ha demostrado a través de estudios en gemelos e hijos adoptivos (2,3). Sin embargo, la mayoría de los hallazgos se ha verificado en modelos animales, en los que es factible controlar el fenotipo de la enfermedad, los factores medioambientales y la influencia de los cruces. En esta forma, se facilita el análisis de los rasgos complejos involucrados en la resistencia o susceptibilidad a un determinado patógeno infeccioso (4).

Las siguientes son algunas de las evidencias disponibles en el momento:

- Asociaciones con ciertos alelos del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) clase II en lepra (5,6), malaria (7) y hepatitis B (8,9).
- Polimorfismos en promotores de genes que expresan proteínas de importancia para la respuesta inmune, tales como el factor de necrosis tumoral α (TNF α), en lepra (10), malaria (11), leishmaniasis mucocutánea (12) y en la muerte por enfermedad meningocócica (13). El gen que expresa el TNF α está localizado dentro del MHC y ello podría influir en algunas de las

asociaciones observadas entre antígenos HLA y ciertas enfermedades infecciosas.

Igualmente, los estudios realizados sobre las mutaciones de los receptores para citocinas en familias que presentan susceptibilidad recesiva a micobacterias atípicas han permitido observar que dicha susceptibilidad está asociada a la ausencia del receptor para el interferón γ (IFN γ) en los leucocitos de los pacientes (14,15). En otros estudios realizados en pacientes con tuberculosis, se han encontrado también polimorfismos en los genes para el antagonista del receptor de la IL-1 y la IL-1 β (16).

- Polimorfismos en los receptores de la vitamina D, los que se asocian con aumento en la susceptibilidad a *Mycobacterium tuberculosis* y a la infección por el virus de la hepatitis B (6).
- Mutaciones en la proteína lectina ligadora de manosa (MBL), que juega un papel importante en la inmunidad innata. Se ha encontrado que estas mutaciones están asociadas con un buen número de infecciones (17).
- Hallazgo de genes involucrados directamente en la respuesta inmune, como es el *Nramp1*, que en ratones controla la susceptibilidad innata a varias especies de micobacterias y a otros microorganismos intracelulares no relacionados, al menos durante la fase temprana de la infección (18-21). En los ratones, este gen se encuentra localizado en la región proximal del cromosoma 1 (21,22). En humanos, ha sido posible localizar, secuenciar y clonar un gen homólogo al *Nramp1* murino, denominado *NRAMP1*, que se encuentra ubicado en el brazo largo del cromosoma 2 (23,24). Este gen codifica para la proteína denominada 'proteína 1 del macrófago asociada con la resistencia natural' (19), que se expresa en el fagosoma (25) de células de la línea mielóide (26). Al gen *Nramp1/NRAMP1* se le ha atribuido una gran

Correspondencia:

M.P. Jiménez

Calle 9A Sur No. 25-33, apartamento 205, Medellín
 utria@epm.net.co.

Recibido: 16/02/01; aceptado: 29/06/01

variedad de efectos pleiotrópicos que, en último término, regulan una cascada de eventos que median la inflamación y la eliminación de microorganismos invasores (27). En un estudio hecho en personas del sureste asiático, se demostró que el *NRAMP1* es uno de los genes que contribuye en esta población a la susceptibilidad genética a la lepra (28).

Micosis y factores genéticos

La mayoría de los hongos que causan enfermedad en el hombre se encuentran en el ambiente y como tal pueden considerarse como saprofitos; sólo son patógenos aquéllos que logran adaptarse al cuerpo humano y sobrevivir en el ambiente inhóspito de los tejidos (29). Como ejemplo podrían mencionarse los hongos dimórficos patógenos para el hombre como *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis* y *Sporothrix schenckii*, que tienen su hábitat natural en el suelo o están asociados con la vegetación, pero que se adaptan a los tejidos humanos y pueden producir enfermedad. Gracias al dimorfismo, estos hongos pueden crecer en forma saprofita a 25 °C y desarrollarse también a 37 °C para cambiar de forma en los tejidos. La habilidad de los hongos dimórficos para transformarse de saprofitos en parásitos les permite sobrevivir y multiplicarse en los tejidos de su accidental hospedero, en el cual suelen producir enfermedades sistémicas de variada severidad (1).

Actualmente, se dispone de ciertas evidencias obtenidas principalmente de modelos en ratones consanguíneos sobre la influencia que los factores genéticos juegan en la resistencia o susceptibilidad a ciertas micosis sistémicas.

Influencia del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH)

Existen evidencias de tipo epidemiológico sobre el riesgo que representan diferentes poblaciones humanas en la diseminación de la infección primaria por *C. immitis*; tal riesgo es 5 a 20 veces mayor en personas negras y también en filipinos (30). Se ha comprobado que en estos grupos étnicos, el antígeno HLA A9 del CMH y el grupo sanguíneo B son más frecuentes que en personas caucásicas, lo que explicaría la frecuencia

de la coccidioidomicosis diseminada en los primeros (31).

Los experimentos realizados por Kirkland y Fierer (32) con cepas consanguíneas de ratones BALB/c y DBA/2N, que comparten el haplotipo H-2^d, revelaron que al ser infectados con *C. immitis*, los ratones DBA/2N eran 1.000 veces más resistentes a la infección que los BALB/c. Se demostró así que la resistencia era el fenotipo dominante y que no estaba determinada por el CMH (32).

En la paracoccidioidomicosis, la influencia de diferentes poblaciones humanas es difícil de estimar debido a la frecuente mezcla de diversos grupos raciales entre los habitantes de áreas endémicas (33). Sin embargo, en un estudio realizado en Brasil, se encontró que el antígeno HLA-B40 primaba en los pacientes y que su presencia aumentaba el riesgo de padecer la enfermedad (34,35). Previamente se había informado que en pacientes colombianos predominaban los antígenos HLA-A9 y HLA-B13. Esta diferencia podría deberse a las diferentes constituciones genéticas de las poblaciones estudiadas (36). En un trabajo diferente, Demessias y colaboradores encontraron que productos de la clase III del CMH, especialmente el C4B-00, estaban asociados con enfermedad crónica, una circunstancia que podría influir en el curso de la infección (37).

En un modelo murino de paracoccidioidomicosis por vía intraperitoneal, se estudiaron once cepas consanguíneas y se observaron varios patrones de susceptibilidad de acuerdo con la mortalidad. Se definieron cuatro patrones básicos, medidos en la supervivencia: susceptibles (B10.D2/oSn, B10A, B10D2/nSn), con susceptibilidad intermedia (BALB/c, C57BL/10, CBA, C3H/Fe), resistentes (C3H/HeJ) y muy resistentes (A/Sn, A/J, DBA/2). Los resultados mostraron que las diferencias en la susceptibilidad no eran controladas por el H-2, ya que tanto la cepa más susceptible (B10A) como la más resistente (A/Sn), compartían el mismo haplotipo H-2^a (38).

Un análisis de cepas de ratones consanguíneos y congénicos, demostró que la resistencia/susceptibilidad a *Candida albicans*, estimada por

la severidad de las lesiones tisulares y la intensidad del compromiso de los nódulos linfáticos, estaba determinada por genes localizados por fuera del CMH, ya que la cepa más resistente (BALB/c), así como la más susceptible (CBA/H), tenían los mismos genes CMH, H-2^s (39).

En la histoplasmosis, los estudios experimentales de Chick y Roberts, realizados en ratones consanguíneos, mostraron variaciones en la susceptibilidad. La cepa C57BL/10 fue la más susceptible y la A/J, la más resistente, a pesar de que ambas poseen haplotipos CMH idénticos (40).

En un modelo murino de blastomicosis por vía intranasal, se observó que la cepa C3H/HeJ era la más susceptible y la DBA/1J la más resistente. Las diferencias significativas observadas entre estas cepas, se mantuvieron a pesar de variar el tamaño del inóculo. Tampoco fueron dependientes de la cepa de *B. dermatitidis*, de la edad del hospedero o de la habilidad del inóculo para penetrar a las vías aéreas inferiores, ni tampoco de la relación con los locus H-2 (41). Posteriormente, por inoculación intraperitoneal, se observaron resultados inversos. En efecto, al infectar los ratones con la cepa atenuada y la virulenta del hongo, se encontró que los ratones DBA/1J presentaban mayores porcentajes de mortalidad que los C3H/HeJ, 75 y 8% con la cepa atenuada y 100 y 25% con la cepa virulenta, respectivamente. No fue posible encontrar en este mismo trabajo una correlación entre los patrones

de resistencia y de susceptibilidad con el haplotipo H-2, tal como se había observado en otras micosis sistémicas (42). El cuadro 1 presenta un resumen de los hallazgos mencionados.

Genes involucrados

En la coccidioidomicosis, se realizó un trabajo (44) con el objeto de analizar la progenie de retrocruzamientos (BALB/c×DBA/2) F1×BALB/c y (C57BL/6×DBA/2) F1×C57BL/6, machos y hembras, con el fin de determinar el número de genes que controlaban la resistencia. Se encontró una distribución 1:1 de progenies resistentes y susceptibles en ambos retrocruzamientos. Este hallazgo es consistente con la hipótesis de que un solo gen es el determinante de la resistencia a esta micosis. Los hallazgos provenientes de diferentes estudios han llevado a sugerir que en la coccidioidomicosis murina la resistencia es el fenotipo dominante y está determinada por un gen designado hipotéticamente *Cms* (44). El papel exacto de la expresión del gen *Cms* en la resistencia a esta micosis es aún desconocido; sin embargo, no parece influir en los mecanismos innatos de resistencia celular, ya que sus efectos son más notables diez días después de la infección (31,43,44). Por otra parte, se encontraron más ratones susceptibles entre los machos que entre las hembras, lo cual no anula lo anterior ya que el gen de resistencia no está ligado al cromosoma X (48).

Con el fin de establecer los genes responsables de la resistencia a la coccidioidomicosis en el modelo murino, recientemente se realizaron

Cuadro 1. Susceptibilidad y resistencia de diferentes cepas de ratones a ciertos hongos.

Agente micótico	Cepa de ratón: H-2 (KAED)							Referencias
	BALB/c (dddd)	A (kkkd)	C57BL/6 O C57BL/10 (bb-b)	CBA (kkkk)	* DBA/2 (dddd)	B10A (kkkk)	C3H/HeJ (kkkk)	
<i>C. immitis</i>	S	S	S	I	R			32, 43, 44
<i>P. brasiliensis</i>	I	R	I	I	R	S	R	38
<i>C. albicans</i>	R	I	R	S	S			39, 45, 46
<i>H. capsulatum</i>	ND	R	S	ND	ND			47
<i>C. neoformans</i>	I	S	R	I-R	S			48
<i>B. dermatitidis</i>				* DBA/1J	R		S	41, 42

ND: no determinada; R: resistente; S: susceptible; I: susceptibilidad intermedia

experimentos en 26 líneas de ratones consanguíneos recombinantes, derivados del cruce entre ratones BLACK 6 y DBA/2. Los ratones se infectaron por vía intraperitoneal y 15 días más tarde se cuantificó el número de unidades formadoras de colonias del hongo en bazo y pulmones, así como la cantidad de ARNm para IL-10 en tejido pulmonar. Se encontró que las asociaciones más significativas ocurrían entre las regiones cercanas al locus *Lv* (aminolevulinato deshidratasa) en el cromosoma 4 y en el locus *Tnfr1* (receptor para el factor de necrosis tumoral murino tipo 1) del cromosoma 6. En los ratones producto del retrocruzamiento F2 [(BLACK 6×DBA/2)×BLACK 6] se confirmó la presencia de tales asociaciones. Fue así como 14 de 16 ratones (87%) heterocigóticos tanto para *Lv* como para *Tnfr1*, mostraron ser resistentes a la infección, mientras que sólo 4 (25%) de los BLACK6 homocigóticos para ambos locus resultaron ser resistentes. Estos son los primeros loci que se encuentran asociados con la resistencia al *C. immitis* y fueron denominados *Cms1* y *Cms2*, respectivamente. Sin embargo, los resultados sugieren que la resistencia a *C. immitis* es un rasgo poligénico, así que pueden existir otros genes adicionales involucrados en la resistencia a esta infección (50) (cuadro 2).

En estudios realizados en la paracoccidioidomycosis con las progenies F1, F2 y la de retrocruzamiento de ratones resistentes (A/Sn) y susceptibles (B10.A), se ha observado que la resistencia está ligada a un gen autosómico dominante, el cual se designó hipotéticamente como *Pbr* (51).

En el caso de *C. albicans*, los estudios de cepas murinas congénicas resistentes y susceptibles, infectadas con el hongo, revelaron que el tiempo de supervivencia se correlacionaba sólo con dos patrones de daño tisular, leve y severo (52). El estudio en los híbridos F1 y F2 proporcionó evidencia clara de tipo mendeliano sobre la existencia del gen *Carg1* (53), que se consideró encargado de determinar la extensión de la destrucción tisular. La vía por la cual este gen ejerce su efecto no ha sido aún definida, pero a medida que se disminuye el número de neutrófilos, desaparecen las diferencias específicas de cepa

Cuadro 2. Genes asociados con micosis sistémicas en estudios de ratones consanguíneos recombinantes.

Agente	Cromosoma	Genes con los que se asocian	Genes (ref.)
<i>C. immitis</i>	4	<i>Lv</i> (deshidratasa aminolevulinato)	<i>Cms1</i> (50)
	6	<i>Tnfr1</i> (receptor para el factor de necrosis tumoral murino tipo 1)	<i>Cms2</i> (50)
<i>C. albicans</i>	14	<i>Rib1</i> (ribonucleasa 1 pancreática)	<i>Carg1</i> (53, 54)
		<i>Tcra</i>	<i>Carg2</i> (53)

en lo concerniente a la severidad de la lesión (53). Se realizaron estudios posteriores para evaluar el patrón de daño tisular (riñón y cerebro), resultante de la infección intravenosa con blastoconidias de *C. albicans* en cepas consanguíneas recombinantes, AKXL, derivadas de progenitores AKR, deficientes y normales en el componente C5 del complemento. Se identificaron así tres patrones de daño tisular, a saber, pielonefritis de severidad moderada como en las AKR; de severidad leve como la observada en la cepa C57/L, y de severidad mayor que en la AKR. Los cerebros de estos ratones mostraron patrones de destrucción tisular similar a los descritos en el tejido renal. Nueve de 15 cepas mostraron daño tisular leve (igual que C57/L), 2 desarrollaron lesiones comparables a las de la cepa parental AKR y 4 presentaron un patrón de lesión más severo. Estos resultados sugirieron que era posible atribuir la severidad de las lesiones a la acción de dos genes independientes, designados genes de resistencia a *C. albicans* 1 y 2 (*Carg1* y *Carg2*) (53).

En un grupo de cepas consanguíneas de ratones recombinantes, se analizó la distribución del gen de resistencia para *C. albicans* (*Carg1*), así como los marcadores del segmento de ADN. Se observó que 13 de 15 cepas exhibían reciprocidad para *Carg1*, *Tcra* y *Rib1* (ribonucleasa 1, pancreática). Lo anterior sugiere que el gen *Carg1* está localizado en el cromosoma 14 del ratón (54) (cuadro 2).

En la histoplasmosis, varios genes parecen estar involucrados en la respuesta inmune, como se demostró en un estudio en el que se ensayaron 15 cepas de ratones consanguíneos y en el cual se observó que la variación era continua de cepa a cepa, sin segregación clara de fenotipos de susceptibilidad/resistencia, tal como se había observado en los progenitores (55).

Tipo de célula encargada de la respuesta inmune

Inicialmente, *C. immitis* produce una infección localizada que progresa para diseminarse posteriormente y causar la muerte de los ratones BALB/c en menos de cuatro semanas; esto sugiere que los animales de esta cepa no desarrollan una respuesta inmune efectiva durante la infección. Pero, a pesar de su susceptibilidad para desarrollar infección diseminada y fatal, estos ratones logran ser inmunizados exitosamente con *C. immitis* y, después de la inmunización, sus células T responden *in vitro* al antígeno homólogo, que resulta en la obtención de protección contra un nuevo reto (32).

El anterior modelo de coccidiodomicosis ofrece varias semejanzas con la enfermedad humana. En ambos casos, la resistencia está relacionada con la habilidad del hospedero para confinar la infección al sitio de entrada; por el contrario, las infecciones letales son el resultado de la diseminación progresiva. Tanto los ratones resistentes como los susceptibles responden al hongo con la formación de granulomas, lo cual los hace indistinguibles de la respuesta humana (32).

Se ha observado, además, que la resistencia a *C. immitis* puede anularse por irradiación, lo cual indica que es necesario tener células en división, a diferencia de la resistencia determinada por el locus *Bcg/Nramp1*, que es resistente a la irradiación (49). En un estudio anterior, se había observado que los ratones de la cepa DBA/2 (resistentes) carentes de células T efectivas, tal como sucede en ratones atímicos o timectomizados por irradiación, eran susceptibles a un inóculo no letal para sus contrapartes heterocigotos o controles irradiados pero con timo (56). Así, el hecho de que los ratones deficientes en células T sean más

susceptibles a la infección que los ratones con función normal de estas células, sugiere que estas últimas son necesarias para la respuesta inmune frente a *C. immitis* (44).

En la paracoccidiodomicosis, se estudió el papel desempeñado por las células T en ratones BALB/c atímicos (*nu/nu*) y eutímicos (*nu/+*). Ambas cepas de ratones fueron infectados con el aislamiento Pb18 (virulento) y como respuesta los *nu/nu* presentaron una infección mucho más severa que los ratones (*nu/+*), evidenciada en el primer grupo por un mayor número de órganos afectados y tiempos de supervivencia más cortos (57). En cuanto a la importancia del sistema fagocítico mononuclear en la defensa contra *P. brasiliensis*, se ha observado que, aunque los ratones resistentes y susceptibles despliegan similar aflujo celular, la respuesta del macrófago es significativamente mayor en los A/Sn (51). En efecto, los macrófagos de los ratones resistentes A/Sn muestran una capacidad superior para expandirse y adherirse y producir mayores concentraciones de peróxido de hidrógeno (58). Se ha evaluado también en ratones B10.A y A/Sn, inoculados intraperitonealmente con Pb18, la expresión de antígenos CMH clase II (Ia) por células peritoneales adherentes, en diferentes tiempos postinfección. Se encontró que la expresión de estos antígenos aumentaba en ambas cepas murinas, siendo mayor en las primeras horas para los ratones B10.A susceptibles. Sin embargo, cuando las células adherentes de ambas cepas se incubaban 48 horas, los niveles de antígeno disminuían en los ratones susceptibles, pero no en los ratones A/Sn. En esta forma, la infección con *P. brasiliensis* induce una expresión sostenida de las moléculas CMH clase II en los macrófagos peritoneales de los ratones resistentes y una expresión transitoria en aquéllos de los animales susceptibles. El comportamiento diferente de las cepas resistentes y susceptibles frente a la infección con *P. brasiliensis* sugiere que diferentes mecanismos están comprometidos en la expresión de antígenos CMH clase II (59).

En un estudio posterior, se evaluaron los macrófagos broncoalveolares de pacientes con paracoccidiodomicosis por medio de técnicas de

inmunomarcación y se demostró que la expresión de moléculas CMH-II estaba disminuida; ello podría relacionarse con una menor capacidad en la presentación de antígenos por los macrófagos alveolares (60). En un trabajo reciente (61), ratones de la cepa C57BL/6 que poseen susceptibilidad intermedia a *P. brasiliensis*, se infectaron con el hongo y se observó que la expresión del antígeno Ia en macrófagos estaba disminuida, con ligeras variaciones de acuerdo con la vía de inoculación y cepa del hongo utilizada. La supresión de la expresión de Ia y la disminución en las respuestas proliferativas de células esplénicas, se correlacionaron con las concentraciones de óxido nítrico (NO). Estos parámetros fueron revertidos al suministrarle a los animales nitro-L-arginina, lo que resultó en falta de producción de NO. Se demostró así, que la expresión del antígeno Ia está modificada en la infección por *P. brasiliensis* y se correlaciona con la producción de NO (61).

Los resultados obtenidos después de infectar ratones congénicos resistentes (A/Sn) y susceptibles (B10.A) por vía intratraqueal, sugieren que la susceptibilidad a la infección pulmonar por *P. brasiliensis* está asociada con defectos en la activación de los macrófagos alveolares, con bajos niveles de hipersensibilidad retardada y, adicionalmente, con una producción elevada de anticuerpos específicos (62).

En experimentos *in vitro* realizados con el objeto de evaluar el metabolismo oxidativo y la muerte de *P. brasiliensis* por neutrófilos obtenidos de ratón A/J (resistentes) y susceptibles (B10.A), se observó que los neutrófilos de los primeros producían mayor cantidad de reactivos intermediarios del oxígeno (ROIS) e inhibían el crecimiento del hongo de acuerdo con la reducción en el número de UFC (63).

Los eventos celulares tempranos en cepas resistentes (A/Sn) y susceptibles (B10.A) frente a la infección por *P. brasiliensis*, se caracterizan en ambas por una marcada infiltración de neutrófilos, siendo mayor en los B10.A. Con el fin de investigar los eventos tempranos de la respuesta inflamatoria frente a la infección por *P. brasiliensis*, éste fue inoculado en la almohadilla

plantar de ratones resistentes (A/Sn) y susceptibles (B10.A). Se encontró que si antes de la infección se disminuía el número de neutrófilos en ambas cepas de ratón, dicho tratamiento influía diferencialmente en la cinética del proceso inflamatorio, pero sin modificar la carga fúngica en las lesiones; ocurría disminución en la respuesta de hipersensibilidad retardada y aumento en los títulos de anticuerpos totales anti-gp43. En ratones desnudos sí se notó un incremento de la carga fúngica en las lesiones. Esto indica que la infección autolimitada resultante de la inoculación en tejidos subcutáneos corresponde a un fenómeno dependiente de células T (64).

Para comparar la evolución secuencial de las lesiones desarrolladas por ratones resistentes (A/Sn) y susceptibles (B10.A) como resultado de la infección por *P. brasiliensis*, mensualmente desde el primer hasta el sexto mes postinfección, el páncreas y el epiplón peripancreático se retiraron para estudio. En ambas cepas, las lesiones se localizaron principalmente en el epiplón mientras que en ratones B10.A unas pocas se observaron en el parénquima pancreático. En todas las lesiones y en ambas cepas murinas predominaron macrófagos y plasmocitos, seguidos por neutrófilos y macrófagos transformados en células gigantes y epitelioides. Se observaron diferencias importantes entre ratones resistentes y susceptibles en cuanto a la estructura de la matriz extracelular de las lesiones granulomatosas. En los ratones A/Sn, después de transcurrido el primer mes, coexistían dos tipos de lesiones: una consistente en nódulos encapsulados bien definidos, constituidos principalmente de colágeno tipo I con abundantes neutrófilos localizados en áreas donde había destrucción fúngica masiva y con presencia también de algunas levaduras viables, y el otro tipo de lesión correspondió a unos pocos depósitos de colágeno y presencia de macrófagos de aspecto xantomatoso, que contenían detritos del hongo. Estas lesiones predominaron después del segundo mes de infección y a partir del cuarto y fueron las únicas observadas, lo que indicaba el control de la infección. En los ratones B10.A, por el contrario, se observó un solo tipo de lesión, con menor

tendencia a la encapsulación y con formación de múltiples focos granulomatosos pequeños, individualizados por fibras de colágeno reticular tipo III, con abundantes plasmocitos en la periferia y gran número de levaduras multigemantes, sin evidencia de destrucción fúngica. En el transcurso de la infección, las lesiones incrementaron progresivamente en número y tamaño. Estos hallazgos histopatológicos demuestran la influencia de la constitución genética del hospedero en el desarrollo de la paracoccidiodiomicosis (65).

En la candidiasis, se estudió la posibilidad de correlacionar directamente la respuesta inmune mediada por células con la resistencia/susceptibilidad a la infección. Para ello, se realizaron experimentos en los que se determinó la migración de linfocitos a ganglios linfáticos poplíteos después de la inoculación subcutánea de *C. albicans* en las almohadillas plantares de los ratones. En las etapas iniciales, se encontró que los ratones BALB/c presentaban una respuesta mayor y más prolongada en los ganglios linfáticos poplíteos que los animales susceptibles CBA/H (39). Sin embargo, cuatro días después de la inoculación, la proporción de células T en los nódulos activados era mayor en los ratones CBA/H que en los BALB/c. Después de la inmunización, la actividad en tales nódulos disminuía y no difería significativamente entre las dos cepas (66). En ambas, por el contrario, la respuesta inmune mediada por células era diferente; a las 24 y 48 horas, los ratones resistentes (BALB/c) presentaban respuestas de hipersensibilidad retardada significativas mientras que los ratones CBA/H no lo hacían así. Para comprobar lo anterior, se realizaron pruebas de proliferación de linfocitos *in vitro*, en las cuales se encontró que los BALB/c mostraban una proliferación más temprana y mayor que los CBA/H. La menor actividad en estos animales susceptibles no se debía a un defecto sistémico de la inmunidad mediada por células, ya que las respuestas proliferativas a un mitógeno de células T fueron casi idénticas en las dos cepas de ratones (66).

Con el fin de determinar si la resistencia era debida a células derivadas de la médula ósea, se

construyeron quimeras por irradiación letal de cepas susceptibles (CBA/H), las que posteriormente fueron reconstituidas con células de médula ósea provenientes de ratones singénicos resistentes, previamente infectados con una dosis subletal de *C. albicans*. Se observó que los ratones susceptibles habían sido protegidos, lo cual indicaba que las células que influían en la resistencia natural, al menos en el estadio temprano de la infección, eran de vida corta y ellas (o sus precursoras) eran radiosensibles y derivadas de la médula ósea.

Por su parte, las células efectoras fueron, probablemente, leucocitos polimorfonucleares (PMN), lo cual parece consistente con la demostración de una susceptibilidad aumentada a la candidiasis sistémica en ratones mutantes *beige*, los cuales tienen un defecto en la generación de PMN (66). Como se anotó anteriormente, es probable que la magnitud del daño tisular esté ligada a respuestas inflamatorias mediadas por el neutrófilo (53). Igualmente, las actividades fagocíticas y fungicidas ejercidas por monocitos y macrófagos, representan mecanismos importantes de la respuesta del hospedero frente a *C. albicans*, como se demostró al infectar líneas celulares de macrófagos B10R y B10S, derivadas de cepas congénicas de ratón al *Bcg/Nramp1*. Estas mostraron que macrófagos con el fenotipo de resistencia (B10R) resultaban más efectivas en el control de la infección (68).

En un trabajo realizado con cepas de ratones resistentes (BALB/c) y susceptibles (CHA/CaH), ambas con la mutación *nu/nu*, se encontró que los ratones atímicos eran más resistentes a la infección sistémica por *Candida* que los heterocigóticos *nu/+*. Alternativamente, la protección observada en estas cepas desnudas podría estar asociada con un incremento cuantitativo en la producción medular de células efectoras con actividad anti-*Candida* (69).

Estos hallazgos confirman que en la candidiasis sistémica, la severidad de las lesiones es independiente de los linfocitos T y reafirma la hipótesis referente a la independencia del daño tisular causado en cada una de las cepas consanguíneas y a la función efectora de los macrófagos o de sus precursores (69).

Patrón de citocinas

Las diferencias en susceptibilidad y resistencia a *C. immitis* de las cepas murinas consanguíneas, son expresadas y probablemente reguladas a través de la producción preferencial de IFN γ o de IL-4. Un análisis de citocinas en el ámbito de su expresión génica (ARNm) y proteica reveló que después de la inoculación con el microorganismo por vía respiratoria, los ratones de la cepa resistente DBA/2 presentaban en el pulmón una respuesta predominante de IFN γ . Por el contrario, los ratones susceptibles BALB/c producían preferencialmente IL-4. La importancia de esas citocinas como determinantes de enfermedad sistémica se hizo evidente al tratar los ratones con citocinas murinas recombinantes o con anticuerpos neutralizantes anticitocinas. Fue así como el tratamiento de ratones susceptibles BALB/c con rIFN γ los protegió de la diseminación sistémica mientras que, al tratar los ratones resistentes DBA/2 con anticuerpos neutralizantes anti-IFN γ , se facilitaba el progreso de la enfermedad (70). También se ha observado una correlación directa entre la susceptibilidad a *C. immitis* y niveles pulmonares incrementados de ARNm para IL-10 e IL-4 en ratones consanguíneos de la cepa susceptible C57BL/6, 14 días después de la infección.

En experimentos con ratones C57BL/6 *knock-out* (K-O), sin el gen para IL-10 e IL-4, se encontró que los ratones K-O sin gen para IL-10 eran resistentes a la infección por *C. immitis*; los ratones K-O sin el gen para IL-4 sobrevivieron parcialmente y tuvieron una neumonía menos severa que los ratones susceptibles supervivientes, en los que se encontró un número mayor de unidades formadoras de colonias en pulmones e hígado que en los ratones K-O sin el gen para IL-10. Estos hallazgos muestran que niveles altos de IL-10 condicionan la mayor susceptibilidad de los ratones C57BL/6; sin embargo, la IL-4 también afecta adversamente la resistencia. Estos resultados sugieren que los altos niveles de IL-10 e IL-4 no son, simplemente, la consecuencia de una infección severa en un animal susceptible; por el contrario, estas citocinas son parcialmente responsables de la susceptibilidad a la infección (71).

Se ha evaluado también el patrón de citocinas producido por ratones resistentes y susceptibles durante el curso de la infección intraperitoneal por *P. brasiliensis*. Los resultados revelaron que había una temprana producción de IFN γ e IL-2 en células totales de ganglio linfático de ratones resistentes, la cual persistía por cierto tiempo. Las citocinas del tipo TH2 (IL-4 e IL-5) empezaban a aparecer a las ocho semanas después de la infección, a diferencia de lo observado en los ratones susceptibles, que en la fase temprana de la infección producían bajos niveles de IFN γ y altos niveles de IL-5 e IL-10 (72).

En un modelo murino de infección con *C. albicans*, se analizó la respuesta del hospedero de acuerdo con la expresión de algunas citocinas de importancia tales como IFN γ , TNF α e IL-6, las que pueden ser producidas independientemente de los linfocitos T. Se demostró que no mediaban la resistencia de los ratones atímicos. Es posible, entonces, que las células efectoras encargadas del aumento de la resistencia en los ratones desnudos respondan a señales de activación proporcionadas por citocinas diferentes a las cuantificadas en el experimento (69).

En la histoplasmosis, los estudios realizados con el objeto de estimar el papel potencial del IFN γ en la respuesta de ratones A/J y C57BL/6, resistentes y susceptibles, respectivamente, encontraron que el IFN γ producido por células esplénicas alcanzaba altas concentraciones en ambas cepas, siendo mayores en los ratones A/J. Estos ratones sobrevivían todos después de 30 días postinfección intravenosa con *H. capsulatum*, a diferencia de 60% de los animales de la cepa C57BL/6. Igualmente, los ratones A/J fueron más eficientes para eliminar el hongo del bazo. Se confirmó la importancia del IFN γ en la respuesta al tratar ambas cepas con anticuerpos anti-IFN γ . Aunque la disminución en la producción de IFN γ es sólo uno de los factores involucrados, su ausencia o su producción reducida no son suficientes para determinar la susceptibilidad a la histoplasmosis (47).

Como se observa en el cuadro 3, el patrón de citocinas está determinado por la constitución genética de los individuos, así que sería de gran

importancia hacer este tipo de estudio en humanos con micosis sistémicas y determinar si, a pesar de la heterogeneidad en su constitución, se encuentran polimorfismos en genes para las citocinas que pudieran determinar el tipo de respuesta inmune en las micosis citadas, como ha sido establecido ya para otras entidades (10,14).

Importancia de los factores del complemento

La presencia del componente C5 del complemento no parece jugar un papel determinante en el resultado de la infección por *P. brasiliensis*, ya que las tres cepas más resistentes (A/Sn, A/J y DBA/2) son deficientes en C5 (38).

En estudios con *C. albicans*, realizados para observar patrones de resistencia /susceptibilidad en ocho cepas consanguíneas, A/J, AKR, BALB/c, C57BL/6, CBA/CaH, DBA/1, DBA/2 y SJL, se compararon tres formas diferentes de medir la infección, a saber, daño tisular, recuento de colonias y mortalidad. Sólo los ratones de dos cepas, AKR y CBA/CaH presentaban lesiones severas, las otras cepas, lesiones leves. La susceptibilidad se evaluó por la mortalidad, la cual ocurrió en animales de las cepas CBA/CaH, A/J y DBA/2, careciendo las dos últimas del componente C5 del complemento con leve daño tisular y mayor número de UFC. Los recuentos de colonias en tejido cerebral variaron entre cepa y cepa, sin correlación entre la extensión y la severidad de la destrucción tisular. Sin embargo, las cepas que carecían de C5 tuvieron una carga micótica mayor en el tejido cerebral que los ratones con niveles normales de este factor (52). No obstante, la presencia del alelo nulo del gen *Hc* no fue un determinante suficientemente potente para que se desarrollaran las lesiones más graves, ya que la cepa AKXL5, deficiente en C5,

desarrolló lesiones iguales a las de AKR con severidad intermedia (53). Por tanto, estos resultados no son concluyentes para definir si el gen *Hc* determina la resistencia o susceptibilidad a *C. albicans*.

Al infectar cepas consanguíneas de ratón con *Cryptococcus neoformans*, los resultados dividieron los animales en dos grupos de acuerdo con los tiempos de supervivencia: susceptibles, si sólo sobrevivían 4 días o menos, y resistentes, si lo hacían por más de 13 días. Esta diferencia en la susceptibilidad se correlacionó con el fenotipo C⁺ (presencia o ausencia del componente C5 del complemento), rasgo que es hereditario, estable y que aparece bajo el control de un solo gen. El análisis de segregación de las progenies de F2 y de los retrocruzamientos mostraron que la susceptibilidad y la resistencia se cosegregaban con la ausencia y la presencia del fenotipo C⁺ hemolítico, respectivamente (48).

En el caso de *B. dermatitidis*, también se ha demostrado que las deficiencias en los factores del complemento no alcanzan a explicar las diferencias en la respuesta inmune de cepas murinas resistentes y susceptibles (41).

Conclusiones y perspectivas

De acuerdo con los hallazgos aquí revisados, parece evidente que, en las micosis sistémicas, la constitución genética del hospedero influye sobre los diferentes componentes de la repuesta inmune.

En cada una de las micosis consideradas, los experimentos iniciales consistieron en infectar con el respectivo agente causal, diferentes cepas consanguíneas de ratones. Se encontró así que la distribución del patrón de rasgos de resistencia/susceptibilidad están bien definidos y son propios

Cuadro 3. Patrón de citocinas y su relación con la infección durante la fase temprana.

Agente micótico	Cepa de ratón	Citocina	Referencia
<i>C. immitis</i>	Resistente (DBA/2) Susceptible (BALB/c)	IFN γ IL-4	68
<i>P. brasiliensis</i>	Resistente (A/Sn) Susceptible (B10A)	IFN γ , IL-2 IL-5, IL-10	70
<i>H. capsulatum</i>	Resistente (A/J)	IFN γ	47

para cada una de las cepas estudiadas. Los experimentos posteriores tuvieron como objetivo infectar con estos microorganismos ratones de cepas consanguíneas consideradas como totalmente resistentes o susceptibles a ellos, con el fin de evaluar varios aspectos de la respuesta inmune.

En relación con el CMH, las cepas más resistentes y las más susceptibles para cada micosis demostraron poseer el mismo alelo CMH, por lo que las diferencias no pueden ser explicadas en función de los correspondientes genes (32,38-41). Cuando se compararon las micosis sistémicas causadas por *C. albicans* y *C. neoformans*, los patrones CMH se invirtieron con relación a la resistencia y la susceptibilidad. Esto podría explicarse, al menos parcialmente, porque estos dos microorganismos se comportan más como gérmenes oportunistas que como patógenos verdaderos y los neutrófilos desempeñan un papel importante en la candidiasis (53) y el factor C5 del complemento en la criptococosis (48).

En las micosis mencionadas, los estudios revelaron que la respuesta inmune mediada por células era fundamental para el control de las enfermedades por ellos causadas. En modelos murinos de coccidioidomicosis (44) y paracoccidioidomicosis (57,64), se observó que la función de las células T era indispensable para el control de la infección, a diferencia del modelo de candidiasis, en el cual la severidad de las lesiones era independiente de tales células. Por el contrario, como fuera ya anotado, en esta micosis la función defensora crucial parece ser ejercida por el PMN (53).

En paracoccidioidomicosis, los estudios hechos para evaluar los papeles que desempeñan los PMN (63), los linfocitos T (57,64) y los macrófagos (51,58,60-62) han revelado que cada una de estas células juega un papel importante en la fisiopatología de la entidad.

En cuanto al patrón de citocinas predominantes en cada micosis, la coccidioidomicosis y la paracoccidioidomicosis han sido los modelos más estudiados. En el primero, se ha observado cómo los ratones resistentes producen elevadas concentraciones de IFN γ y en ratones

susceptibles predomina la producción de IL-10 e IL-4, citocinas que, además de ser consecuencia de la infección, son parcialmente responsables de la susceptibilidad a ésta (70,71). En la infección por *P. brasiliensis* se ha encontrado que los ratones resistentes producen IFN γ e IL-2 en la fase temprana de la infección y, más tardíamente, IL-4 e IL-5. Esto contrasta con el comportamiento de los ratones susceptibles, los cuales produjeron, inicialmente, concentraciones altas de IL-10 e IL-5 y bajas de IFN γ (72).

En el modelo murino de histoplasmosis se anotó que el IFN γ era importante para el control de la infección, tanto en cepas resistentes como susceptibles. Sin embargo, las cepas resistentes producían más IFN γ (47).

En las micosis citadas, los estudios que se han realizado sugieren que el supuesto gen que confiere resistencia es de tipo autosómico y dominante el fenotipo de resistencia. Las cepas murinas congénicas infectadas con *H. capsulatum* (38) y *P. brasiliensis* (47), presentan una distribución del rasgo de resistencia similar al observado con otros patógenos intracelulares no relacionados, antigénica ni taxonómicamente, como *Salmonella typhimurium*, *Leishmania donovani* (22,73) y determinadas especies de *Mycobacterium* como *Mycobacterium bovis* (18) y *Mycobacterium lepraemurium* (74). En el ratón, la resistencia o susceptibilidad natural a la infección por estos parásitos está controlada por el gen *Nramp1*. En los macrófagos, este gen controla la replicación y supervivencia de estos parásitos en la fase temprana de la infección (18,19,21). Sería importante determinar si también *Nramp1* influye en la resistencia del hospedero frente a *P. brasiliensis* e *H. capsulatum*.

Sin embargo, en las infecciones por *C. immitis* (31,43,44) y *P. brasiliensis* (51), existen evidencias que señalan cómo el gen que influye en la respuesta inmune no es expresado en la fase temprana de la infección, sino en fases posteriores de la enfermedad, cuando interviene en el desarrollo de la inmunidad adquirida. Además, el tiempo de replicación de una bacteria es muy diferente al de un hongo, de tal forma que la expresión del gen responsable de la respuesta

podría estar condicionada, en parte, por el tiempo que un determinado microorganismo tarda en multiplicarse en el hospedero, así como del tipo de interacción que se establece en cada caso.

El objetivo de la investigación en este campo, más que centrarse en la localización de un gen responsable de la respuesta defensora del hospedero frente a cada microorganismo, debería comprender estudios simultáneos que permitieran entender la interacción entre los genes ya conocidos y la forma en que operaría tal interacción en el modelo murino.

En general, en las micosis mencionadas aún es necesario precisar ciertos aspectos y complementar los estudios que evalúen cada uno de los componentes de la respuesta inmune. De acuerdo con los resultados de los modelos murinos estudiados, se podrían definir los aspectos susceptibles de intervención y que tuvieran mayor importancia como reflejo para el modelo humano. De esta forma, sería posible entender la fisiopatología de estas enfermedades y con el conocimiento adquirido, generar mecanismos más efectivos para prevenirlas, diagnosticarlas y tratarlas, especialmente en el momento de su presentación, lo cual adquiere mayor importancia en estos momentos, cuando la incidencia de las micosis se está incrementado día a día.

Referencias

- Murphy JW. Mechanisms of natural resistance to human pathogenic fungi. *Ann Rev Microbiol* 1991;45:509-38.
- Sorensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, Teasdale TW. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N Engl J Med* 1988;318:727-32.
- Comstock GW. Tuberculosis in twins: a reanalysis of the Proffit survey. *Am Rev Respir Dis* 1978;117:621-4.
- McLeod R, Buschman E, Arbuckle DL, Skamene E. Immunogenetics in the analysis of resistance to intracellular pathogens. *Curr Opin Immunol* 1995;7: 539-52.
- Abel L, Dessein AJ. Genetic epidemiology of infectious diseases in humans: design of population-based studies. *Emerg Infect Dis* 1998;4:593-603.
- Bellamy R, Hill AVS. Genetic susceptibility to mycobacteria and other infectious pathogens in humans. *Curr Opin Immunol* 1998;10:483-7.
- Hill AVS, Allsopp CEM, Kwiatkowski D, Antey NM, Twumasi P, Rowe PA, *et al.* Common West African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. *Nature* 1991;352:595-600.
- Thursz MR, Kwiatkowski D, Allsopp CEM, Greenwood BM, Thomas HC, Hill AVS. Association of an HLA class II allele with clearance of Hepatitis B virus infection in The Gambia. *N Engl J Med* 1995;332:1065-9.
- Thursz MR, Thomas HC, Greenwood BM, Hill AVS. Heterozygote advantage for HLA class II type in Hepatitis B virus infection. *Nat Genet* 1997;17:11-2.
- Roy S, McGuire W, Mascie-Taylor CGN, Saha B, Hazra SK, Hill AVS, *et al.* Tumour necrosis factor promoter polymorphism and susceptibility to lepromatous leprosy. *J Infect Dis* 1997;176:530-2.
- McGuire W, Hill AVS, Allsopp CEM, Greenwood BM, Kwiatkowski D. Variation in the TNF- α promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature* 1994;371:508-11.
- Cabrera M, Shaw MA, Sharples C, Williams H, Castes M, Convit J, *et al.* Polymorphism in the tumour necrosis factor genes associated with mucocutaneous leishmaniasis. *J Exp Med* 1995;182:1259-64.
- Nadel S, Newport MJ, Booy R, Levin M. Variation in the tumour necrosis factor- α gene promoter region may be associated with death from meningococcal disease. *J Infect Dis* 1996;174:878-80.
- Jouanguy E, Lamhamedi-Cherradi S, Altare F, Fondanèche MC, Tuerlinckx D, Blanche S, *et al.* Partial interferon- γ receptor 1 deficiency in a child with tuberculoid Bacillus Calmette-Guérin infection and a sibling with clinical tuberculosis. *J Clin Invest* 1997;11: 2658-64.
- Newport MJ, Huxley CM, Huston S, Hawrylowics CM, Oostra BA, Williamson R, *et al.* A mutation in the interferon gamma receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. *N Engl J Med* 1996;335: 1941-9.
- Wilkinson RJ, Pate P, Llewelyn M, Hirsch CS, Pasvol G, Snounou G, *et al.* Influence of polymorphism in the genes for the interleukin (IL)-1 receptor antagonist and IL-1b on tuberculosis. *J Exp Med* 1999;189;12:1863-73.
- Summerfield JA, Sumiya M, Levin M, Turner MW. Associations of mutations in mannose binding protein gene with childhood infection in consecutive hospital series. *Br Med J* 1997;314:1229-32.
- Gros P, Skamene E, Forget A. Genetic control of natural resistance to *Mycobacterium bovis* (BCG) in mice. *J Immunol* 1981;127:2417-20.
- Vidal SM, Malo D, Vogan K, Skamene E, Gros P. Natural resistance to infection with intracellular parasites: Isolation of a candidate for *Bcg*. *Cell* 1993;73:469-85.

20. Blackwell JM, Barton CH, White JK, Roach T, Shaw M-A, Whitehead SH, *et al.* Genetic regulation of leishmanial and mycobacterial infections: the *Lsh/Ity/Bcg* gene story continues. *Immunol Letters* 1994;43: 99-107.
21. Govoni G, Vidal S, Gauthier S, Skamene E, Malo D, Gros P. The *Bcg/Ity/Lsh* locus: genetic transfer of resistance to infections in C57BL/6J mice transgenic for the *Nramp1*^{Gy109} allele. *Infect Immun* 1996;64:2923-9.
22. Skamene E, Gros P, Forget A, Kongshavn P, Charles C, Taylor B. Genetic regulation of resistance to intracellular pathogens. *Nature* 1982;297:506-9.
23. Schurr E, Radzioch D, Malo D, Gros P, Skamene E. Molecular genetics of inherited susceptibility to intracellular parasites. *Behring Inst Mitt* 1991;88:1-12.
24. Cellier M, Govoni G, Vidal S, Kwan T, Groulx N, Liu J, *et al.* Human natural resistance-associated macrophage protein cDNA cloning, chromosomal mapping, genomic organization, and tissue specific expression. *J Exp Med* 1994;180:1741-52.
25. Gruenheid S, Pinner E, Desjardins M, Gros P. Natural resistance to infection with intracellular pathogens: the *Nramp1* protein is recruited to the membrane of the phagosome. *J Exp Med* 1997;185:717-30.
26. Cellier M, Shustik C, Dalton W, Rich E, Hu J, Malo D, *et al.* Expression of the human NRAMP1 gene in professional primary phagocytes: studies in blood cells and in Hi-60 promyelocytic leukemia. *J Leukoc Biol* 1997; 61:96-105.
27. Blackwell J. Structure and function of the natural-resistance-associated macrophage protein (*Nramp1*), a candidate protein for infectious and autoimmune disease susceptibility. *Mol Med Today* 1996;2:205-11.
28. Abel L, Sánchez F, Oberti J, Thuc NV, Hoa LV, Lap VD, *et al.* Susceptibility to leprosy is linked to human *NRAMP1* gene. *J Infect Dis* 1998;177:133-45.
29. Rippon JW. Characteristics of fungi. En: Rippon JW, editor. *Medical mycology: the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes*. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1988. p.121-53.
30. Pappagianis D. Epidemiology of coccidioidomycosis. En: Stevens DA, editor. *Coccidioidomycosis*. New York: Plenum Publishing Corp.; 1980. p.63-85.
31. Cox RA. Coccidioidomycosis. En: Cox RA, editor. *Immunology of the fungal diseases*. Boca Raton, FL: CRS Press; 1989. p.165-97.
32. Kirkland TN, Fierer J. Inbred mouse strains differ in resistance to lethal *Coccidioides immitis* infection. *Infect Immun* 1983;40:912-6.
33. Greer DL, Restrepo A. La epidemiología de la paracoccidioidomycosis. *Bol Of Sanit Panam* 1977;83: 428-45.
34. Goldani LZ, Monteiro CMC, Donadi EA, Martínez R, Voltarelli JC. HLA antigens in Brazilian patients with paracoccidioidomycosis. *Mycopathologia* 1991;114:89-91.
35. Lacerda GB, Arce-Gomez B, Queiros-Telles F. Increased frequency of HLA-B40 in patients with paracoccidioidomycosis. *J Med Vet Mycol* 1988;26: 253-6.
36. Restrepo F, Restrepo M, Restrepo A. Blood groups and HLA antigens in paracoccidioidomycosis. *Sabouraudia* 1983;21:35-9.
37. Demessias IJT, Reis A, Brneden M, Queiroz Tellez F, Mauff G. Association of major histocompatibility complex class III complement components C2, BK, C4 with Brazilian paracoccidioidomycosis. *Complement Inflammation* 1991;8:5-6.
38. Calich VLG, Singer-Vermes LM, Siqueira AM, Burger E. Susceptibility and resistance of inbred mice to *Paracoccidioides brasiliensis*. *Br J Exp Pathol* 1985; 66:585-94.
39. Ashman RB, Papadimitriou JM. Murine candidiasis: pathogenesis and host responses in genetically distinct inbred mice. *Immunol Cell Biol* 1987;65:163-71.
40. Chick EW, Roberts GD. The varying susceptibility of different genetic strains of laboratory mice to *Histoplasma capsulatum*. *Mycopathol Mycol Appl* 1974; 52:251-3.
41. Morozumi PA, Halpern JW, Stevens DA. Susceptibility differences of inbred strains of mice to blastomycosis. *Infect Immun* 1981;32:160-8.
42. Morozumi PA, Brummer E, Stevens DA. Strain differences in resistance to infection reversed by route of challenge: studies in blastomycosis. *Infect Immun* 1981; 34:623-5.
43. Cox R, Kennell W, Boncyk L, Murphy J. Induction and expression of cell-mediated immune responses in inbred mice infected with *Coccidioides immitis*. *Infect Immun* 1988;56:13-7.
44. Kirkland TN, Fierer J. Genetic control of resistance to *Coccidioides immitis*: a single gene that is expressed in spleen cells determines resistance. *J Immunol* 1985;135: 548-52.
45. Hector RF, Dommer JE, Carrow EW. Immune responses to *Candida albicans* in genetically distinct mice. *Infect Immun* 1982;38:1020-8.
46. Marquis G, Montplaisir S, Pelletier M, Mousseau S, Auger P. Strain-dependent differences in susceptibility of mice to experimental candidosis. *J Infect Dis* 1986; 154:906-9.
47. Wu-Hsieh B. Relative susceptibilities of inbred mouse strains C57BL/6 and A/J to infection with *Histoplasma capsulatum*. *Infect Immun* 1989;57:3788-92.
48. Rhodes JC, Wicker LS, Urba WL. Genetic control of susceptibility to *Cryptococcus neoformans* in mice. *Infect Immun* 1980;29:494-9.

49. **Stach J, Gros P, Forget A, Skamene E.** Phenotypic expression of genetically-controlled natural resistance to *Mycobacterium bovis* (BCG). *J Immunol* 1984;132:888-92.
50. **Fierer J, Walls L, Wright F, Kirkland T.** Genes influencing resistance to *Coccidioides immitis* and the interleukin-10 response map to chromosomes 4 and 6 in mice. *Infect Immun* 1999;67:2916-9.
51. **Calich VLG, Burger E, Kashino SS, Fazioli RA, Singer-Vermes LM.** The resistance to *Paracoccidioides brasiliensis* is controlled by a single dominant autosomal gene. *Infect Immun* 1987;55:1919-23.
52. **Ashman RB, Bolitho EM, Papadimitriou JM.** Patterns of resistance to *Candida albicans* in inbred mouse strains. *Immunol Cell Biol* 1993;71:221-5.
53. **Ashman RB, Fulurija A, Papadimitriou JM.** Evidence that two independent host genes influence the severity of tissue damage and susceptibility to acute pyelonephritis in murine systemic candidiasis. *Microb Pathog* 1997;22:187-92.
54. **Ashman RB.** A gene (*Carg1*) that regulates tissue resistance to *Candida albicans* maps to chromosome 14 of the mouse. *Microb Pathog* 1998;25:333-5.
55. **Wu-Hsieh BA.** Resistance mechanisms in murine experimental histoplasmosis. *Arch Med Res* 1993;24:233-8.
56. **Beaman L, Pappagianis D, Benjamini E.** Significance of T cells in resistance to experimental murine coccidioidomycosis. *Infect Immun* 1977;17:580-5.
57. **Burger E, Xidieh CF, Sano A, Kashino SS, Vaz CAC, Singer-Vermes LM, et al.** Paracoccidioidomycosis in athymic and euthymic mice. Abstracts 8th International Congress of Immunology, Budapest. 1992; Abstr # W-78:497.
58. **Calich VLG, Singer-Vermes LM, Russo M, Vaz CAC, Burger E.** Immunogenetics in paracoccidioidomycosis. En: Lacaz CS, Del Negro G, Restrepo A, Franco M, editors. *Paracoccidioidomycosis*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1994. p.151-73.
59. **Cafalli-Favatti C, Russo M, Singer-Vermes LM, Burger E, Calich VLG.** Expression of class II MHC antigens by adherent cells in experimental paracoccidioidomycosis. Abstracts 8th International Congress of Immunology, Budapest. 1992; Abstr # W-78:497.
60. **Bretaña A, Gohman-Yahr M, Tapia FJ, Istúriz G, Vitoria N, Carrasquero M, et al.** Comparative ultrastructure and immunolabeling of MHC-II antigens of alveolar macrophages obtained from patients with paracoccidioidomycosis and other lung diseases. *J Leukoc Biol* 1995;57:101-9.
61. **Bocca AL, Silva MF, Silva CL, Cunha FQ, Figueredo F.** Macrophage expression of class II Major Histocompatibility Complex gene products in *Paracoccidioides brasiliensis* infected mice. *Am J Trop Med Hyg* 1999;61:280-7.
62. **Cano LE, Singer-Vermes LM, Vaz CAC, Russo M, Calich VLG.** Pulmonary paracoccidioidomycosis in resistant and susceptible mice: relationship among progression of infection bronchoalveolar cell activation, cellular immune response, and specific isotype patterns. *Infect Immun* 1995;63:1777-83.
63. **Meloni-Bruneri LH, Campa A, Abdalla DSP, Calich VLG, Lenzi HL, Burger E.** Neutrophil oxidative metabolism and killing of *P. brasiliensis* after air pouch infection of susceptible and resistance mice. *J Leukoc Biol* 1996;59: 526-33.
64. **Gesztési JL, Dias MA, de Souza AR, de Almeida SR, Lopes JD, Mariano M.** Subcutaneous infection of mice with *Paracoccidioides brasiliensis* induces a peculiar pattern of inflammatory and immune responses. *Mycopathologia* 1999;145:7-14.
65. **Xidieh CF, Lenzi HL, Calich VLG, Burger E.** Influence of the genetic background on the pattern of lesions developed by resistant and susceptible mice infected with *Paracoccidioides brasiliensis*. *Med Microbiol Immunol* 1999;188:41-9.
66. **Ashman RB.** Murine candidiasis: cell-mediated immune responses correlate directly with susceptibility and resistance to infection. *Immunol Cell Biol* 1990;68:15-20.
67. **Ashman RB.** Genetic resistance to *Candida albicans* infection is conferred by cells derived from the bone marrow. *J Inf Dis* 1992;166:947-8.
68. **Puliti M, Radzioch D, Mazzolla R, Barluzzi R, Bistoni F, Blasi E.** Influence of the *Bcg* locus on macrophage response to the dimorphic fungus *Candida albicans*. *Infect Immun* 1995;63:4170-3.
69. **Fulurija A, Ashman RB, Papadimitriou JM.** Increased tissue resistance in the nude mouse against *Candida albicans* without altering strain-dependent differences in susceptibility. *J Med Vet Mycol* 1997;35:197-203.
70. **Magee M, Cox R.** Roles of interferon and interleukin-4 in genetically determined resistance to *Coccidioides immitis*. *Infect Immun* 1995;63:3514-9.
71. **Fierer J, Walls L, Eckmann L, Yamamoto T, Kirkland T.** Importance of interleukin-10 in genetic susceptibility of mice to *Coccidioides immitis*. *Infect Immun* 1998;66: 4397-02.
72. **Calich VLG, Kashino SS.** Cytokines produced by susceptible and resistance mice in the course of *Paracoccidioides brasiliensis* infection. *Braz J Med Biol Res* 1998;31:615-23.
73. **O'Brien A, Rosenstreich D, Taylor B.** Control of natural resistance to *Salmonella typhimurium* and *Leishmania donovani* in mice by closely linked but distinct genetic loci. *Nature* 1980;287:440-5.
74. **Brown IN, Glynn AA, Plant J.** Inbred mouse strain resistance to *Mycobacterium lepraemurium* follows the *Ity/Lsh* pattern. *Immunol* 47:149-56.