

medicina

BUENOS AIRES VOL. 72 Supl. II - 2012



medicina

BUENOS AIRES, VOL. 72 Supl II - 2012

COMITÉ DE REDACCIÓN

Héctor O. Alonso
Juan Antonio Barcat
Damasia Becú Villalobos
María Marta E. Bracco
Eduardo L. De Vito
Samuel Finkielman
Guillermo Jaim Etcheverry
Isabel N. Kantor
Basilio A. Kotsias
Daniel A. Manigot
Jorge A. Manni
Rodolfo S. Martin
Guillermo D. Mazzolini
Isabel N. P. Miceli
Christiane Dosne Pasqualini
Rodolfo C. Puche
Viviana Ritacco
Julio C. Sánchez Ávalos
Guillermo B. Semeniuk

La tapa (ver p 8)
Nacimiento, 2009
Camilo Villanueva

ISSN 0025.7680

LVII REUNIÓN CIENTÍFICA ANUAL
Sociedad Argentina de Investigación Clínica (SAIC)

LX REUNIÓN ANUAL
Sociedad Argentina de Inmunología (SAI)

14-17 de noviembre de 2012
Hotel 13 de Julio – Mar del Plata

15	Discurso de la Presidente de SAIC
18	Discurso de la Presidente de SAI
53	Resúmenes de las Comunicaciones
253	Índice de autores

(T0), durante el tratamiento específico (T2, T4, T6) y a los 3 meses de finalizado el mismo (T9). Los niveles plasmáticos de A y NA no difirieron entre los diferentes grupos de estudio, mientras que los de DA aumentaron tanto en los pacientes con TB al T0 ($p < 0,0005$) como en HHC ($p < 0,003$) respecto de HCo. Los pacientes con TB pulmonar avanzada fueron los que presentaron los niveles más elevados de DA. Si bien, durante el tratamiento anti-TB (T2, T4, T6) y en T9 los parámetros inmunoendócrinos (niveles de citocinas proinflamatorias y esteroides adrenales) alcanzaron valores similares a los de los HCo, los niveles de DA se mantuvieron elevados. Las modificaciones observadas en los niveles de catecolaminas ponen de manifiesto un rol activo del SNS, que debe profundizarse a fin de elucidar su contribución en la fisiopatología de la TB.

536. (707) EFECTOS DE HONGOS DERMATOFITOS SOBRE LA ACTIVACIÓN DE CÉLULAS DE LANGERHANS MURINAS XS106

Burstein, V., Masih, D., Chiapello, L.

Dpto de Bioquímica Clínica, Fac. de Cs Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. CIBICI-CONICET

Trichophyton rubrum y *Microsporum canis* son los principales hongos dermatofitos causantes de micosis cutáneas que afectan entre un 20% y 25% de la población mundial. Las células de Langerhans (LC) son las células dendríticas de la epidermis que captan antígenos y pueden inducir la respuesta adaptativa. Se desconoce los efectos de los dermatofitos sobre la activación de las LC y su impacto en la inmunidad específica antifúngica. El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos de hifas de *T. rubrum* y *M. canis* sobre la expresión de moléculas de superficie y la producción de citoquinas en la línea celular XS106. Se expandió la línea celular XS106 derivada de LC de epidermis de ratones A/J neonatos (donadas por A. Takashima, Ohio, USA) en RPMI suplementado con GM-CSF y CSF-1. Se obtuvieron hifas de *T. rubrum* y *M. canis* luego de 5 días de cultivo a 28° C en agitación en RPMI con polimixina B. Las hifas fueron lavadas, liofilizadas, pesadas y resuspendidas a 1 mg/ml. Análisis de las LC por citometría de flujo demostró que luego de 24 hs de cultivo con hifas de *T. rubrum* (50 µg), las LC (5×10^5) incrementaron la intensidad de fluorescencia media de CD80 ($p < 0,002$) y el porcentaje de expresión de CD40 y CD207, respecto a las LC en medio solo ($p < 0,01$ y $p < 0,05$). Efectos similares se observaron con *M. canis*. Por otra parte, la detección de citoquinas por ELISA de captura en sobrenadantes demostró que luego de 48 hs de cultivo, *T. rubrum* (10, 50 y 100 µg) indujo un incremento significativo, dosis dependiente, en la producción de IL-6 por LC respecto a los controles ($p < 0,01$; $p < 0,02$ y $p < 0,0007$). Además, *M. canis* estimuló la producción de IL-6 con 100 µg ($p < 0,006$) y la síntesis de IL-10 en forma dosis dependiente (10, 50 y 100 µg), respecto a las LC en medio solo ($p < 0,03$; $p < 0,002$ y $p < 0,01$). Ambas especies indujeron un incremento en los niveles de IL-12 sin modificar la producción de TGF-β. Estos resultados sugieren que los dermatofitos modulan la activación de las células de Langerhans.

537. (730) CANDIDIASIS VULVOVAGINAL: RESPUESTA INMUNE LOCAL Y CONTRIBUCIÓN DEL RECEPTOR INNATO TLR2

Miró, M., Icely, P., Cejas, H., Sotomayor, C.

CIBICI - CONICET, Universidad Nacional de Córdoba

Candida albicans es un comensal habitual de las superficies mucosas y el mayor agente causal de la candidiasis vulvovaginal (CVV). La incidencia de la patología es alta y afecta aproximadamente al 75% de las mujeres al menos una vez en su vida. El objetivo del presente trabajo fue el desarrollo de un modelo de CVV que permita la evaluación de interacciones tempranas entre *C. albicans* y los mecanismos inmunes innatos locales. Hembras C57Bl/6 (WT) y deficientes en el receptor innato TLR2 (KO) se trataron con estradiol los días (D) -6, -3, 2, 4, y se infectaron intravaginalmente con 5.10^6 *C. albicans* ATCC 36801 (D0) o sólo se trataron con estradiol (controles). En los D2, 4 y 8 se obtuvo lavado vaginal (LV) a fin de evaluar presencia y tipo de células en el exudado, carga fúngica (recuento de UFC), niveles de IL-6, IL-1β, TNFα y TGFβ (ELISA), y de las vaginas se hicieron cortes de

tejido para estudios histológicos (PAS). La infección perduró hasta el D8. Se observó crecimiento fúngico sobre células epiteliales y presencia de neutrófilos en LV. Los cortes histológicos mostraron engrosamiento y cornificación del epitelio vaginal, gran cantidad de hifas y levaduras en lumen y células epiteliales superficiales, y microabscesos intraepiteliales (D2, D4, D8). Las hembras WT exhibieron UFC máximas el D4, niveles aumentados de IL-6 (D8) y disminución de IL-1β (D4, D8) comparado con sus controles ($p < 0,05$). En hembras TLR2 KO las UFC máximas se observaron el D2 y la IL-6 (D2, D4, D8) y la IL-1β (D4, D8) aumentaron respecto a sus controles ($p < 0,05$). La infección presentó diferentes perfiles entre ratones WT y TLR2 KO (D2 y D4) ($p < 0,05$). El modelo de CVV desarrollado reproduce la patología humana y permite su aplicación al estudio de mecanismos inmunes locales y de susceptibilidad del huésped. Mientras que a nivel sistémico el rol de TLR2 está asociado a mecanismos protectores, a nivel intravaginal la activación del mismo no sería relevante en el control del proceso infeccioso.

538. (821) NEUROCANDIDIASIS: DIMORFISMO SEXUAL EN LA RESPUESTA INMUNE LOCAL Y PROGRESIÓN DE LA INFECCIÓN

Mayol, G., Figueredo, C., Peralta Ramos, J., Mir, M., Cejas, H., Icely, P., Sotomayor, C.

CIBICI - CONICET, Universidad Nacional de Córdoba

La infección cerebral por *Candida albicans* es una patología frecuente en neonatos e inmunocomprometidos. El objetivo de este trabajo fue evaluar a nivel cerebral los mediadores inmunes que contribuyen a la homeostasis local en animales machos y hembras, la pérdida de este equilibrio debido a la presencia del hongo y la evolución de la infección. Ratones C57Bl/6 machos y hembras se infectaron por vía iv con $2,5 \times 10^6$ *C. albicans* ATCC 36801 y a 12, 24, 48 y 72h se pesaron (evaluando Índice de Peso Corporal) y sus cerebros, hígados y riñones se removieron para evaluar: peso del órgano, carga fúngica (UFC), cambios histológicos y la producción intracerebral de citoquinas (ELISA). A las 24, 48 y 72h se observó reducción del IPC en las hembras ($p < 0,05$); la colonización renal fue máxima a 24h en ambos grupos, mientras que en hígado los perfiles fueron diferentes. Interesantemente los niveles constitutivos de mediadores antiinflamatorios (TGFβ e IL-10) e inflamatorios (IL-6, IL-1β y TNFα) presentaron diferencias entre sexos. Los niveles basales de TGFβ, IL-6 y TNFα fueron mayores en hembras ($p < 0,05$). A las 12h de la inoculación el hongo fue recuperado del cerebro y en los cortes histológicos se observó presencia de hifas de *C. albicans* y ausencia de infiltrado inflamatorio; los niveles intracerebrales de IL-6, IL-1β y TNFα aumentaron respecto a los valores basales ($p < 0,05$) y la producción local de TNFα mostró la mayor diferencia entre grupos (machos=245pg/g vs hembras=1920pg/g). El estudio cinético del balance pro vs antiinflamatorio para las distintas citoquina reveló un perfil claramente distinto. A las 72h este balance estuvo exacerbado en las hembras y correlacionó con la presencia de micro y macroabscesos. Este trabajo demuestra la existencia en cerebro de un balance de mediadores inmunes diferentes en machos y hembras y la capacidad de este órgano de generar una respuesta diferenciada en el tiempo dependiente del sexo del huésped en respuesta a la infección.

INMUNOLOGÍA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS 5

539. (719) LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE LACTOBACILLUS RHAMNOSUS CRL1505 MODULA BENEFICIOSAMENTE LA RESPUESTA INMUNE RESPIRATORIA MEDIADA POR LA ACTIVACIÓN DE TLR3

Villena, J.^{1,2}, Chiba, E.², Tomosada, Y.², Salva, S.³, Marranzino, G.¹, Kitazawa, H.², Alvarez, S.¹

Centro de Referencia para Lactobacilos¹ Food Immunology Group, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Japan² INQUINOVA-CONICET³

La administración oral de *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505 (Lr) aumenta la resistencia contra patógenos respiratorios bacte-

rianos. En este trabajo, evaluamos si Lr puede modular beneficiosamente la inmunidad antiviral en el tracto respiratorio de ratones BALB/c desafiados intranasalmente con poly(I:C); teniendo en cuenta que este análogo sintético de ARN doble catenario induce alteraciones pulmonares similares a las provocadas por el Virus Sincicial Respiratorio. Los ratones fueron tratados por vía oral con Lr (10^6 céls/ratón/día) durante 5d. El d6 los ratones recibieron por vía intranasal tres dosis diarias de poly(I:C) (250 µg/ratón). Ratones sin tratamiento con Lr y desafiados con poly(I:C) se usaron como controles. Poly(I:C) indujo incremento de neutrófilos y macrófagos en pulmón y de TNF- α , IFN- α , IFN- β , IFN- γ , IL-6, IL-8, y MCP-1 en suero y fluido bronco-alveolar (BAL). Además, poly(I:C) incrementó la albúmina (Alb) y la actividad lactato deshidrogenasa (LDH) en BAL, indicando aumento de la permeabilidad de la barrera alveolo-capilar y daño pulmonar. La administración preventiva de Lr indujo un aumento significativo en la producción de IFN- γ , IFN- β e IL-6 con reducción de Alb, LDH, TNF- α e IL-8 en BAL comparado con los controles. Además, los niveles de IL-10 en BAL fueron mayores en los ratones tratados con Lr ($P < 0,01$). También se observó que Lr indujo un aumento del número de células T CD4+IFN- γ + y de células dendríticas CD103+ y CD11b+ en pulmón ($P < 0,05$), así como de los niveles de expresión de MHC-II e IL-12 en dichas células. Lr, administrado por vía oral, es capaz de modular beneficiosamente la respuesta inflamatoria desencadenada por la activación de TLR3 en el tracto respiratorio. Esta cepa podría regular el equilibrio entre mediadores pro-inflamatorios e IL-10, permitiendo una respuesta inflamatoria eficaz contra infecciones virales y evitando el daño pulmonar.

540. (200) RECEPTORES INVOLUCRADOS EN LA ACTIVACIÓN Y APOPTOSIS DE NEUTRÓFILOS HUMANOS EN RESPUESTA A AISLADOS CLÍNICOS DE MTB PREVALENTES EN ARGENTINA

Romero, M.¹, Basile, J.¹, Lopez, B.², Ritacco, V.², De La Barrera, S.¹, Barrera, L.², Sasiain, M.¹, Alemán, M.¹
 IMEX-CONICET Academia Nacional de Medicina¹ Mico-bacterias ANLIS Malbrán²

El influjo de neutrófilos (PMN) al pulmón es uno de los primeros eventos en la patogénesis de la tuberculosis (TB). La activación seguida de apoptosis de los PMN involucra intermediarios reactivos del oxígeno (ROS) y p38. Anteriormente mostramos una mayor inducción de ROS por el aislado clínico de *Mtb* Ra (linaje LAM) con respecto al aislado M (linaje Haarlem) ambos resistentes a drogas y prevalentes en Argentina. Dado que existiría un efecto cooperativo entre TLR2 y el receptor de β -glucanos (presentes en hongos) dectin-1 sobre la activación de p38 y Syk y la generación de ROS, nuestro objetivo fue evaluar los receptores involucrados y la participación de los α -glucanos en la generación de ROS/apoptosis, ya que representan el 80% de los polisacáridos de la pared del *Mtb* y unirían sitios de lectina como los β -glucanos. Resultados: ROS, medido como oxidación de ¹²⁵I-dihidrorodamina (DHR), correlacionó con la apoptosis ($p < 0,02$) medido por unión a Anexina V. Tanto el estallido respiratorio como la apoptosis inducidos por Ra, se anularon bloqueando TLR2, dectin-1 o empleando laminarina, como así también al inhibir Syk o p38. La activación de p38 y Syk fue inducida por Ra ($p < 0,02$) y no por M. Determinamos que Ra indujo la formación de *lipid rafts* (evaluada por citometría de flujo y microscopía) ($p < 0,0001$) mecanismo que estaría mediado por TLR2 ($p < 0,0001$). Al eliminar los α -glucanos enzimáticamente de Ra (^{enz}Ra), no indujo ROS ni apoptosis ($p < 0,001$) pero no perdió la capacidad de inducir *lipid rafts* ni de producir IL-8 (medido por ELISA). El estímulo previo con ^{enz}Ra no mejoró el ROS generado por M, sugiriendo fallas en la interacción con dectin-1. Además, M indujo poca IL8 ($p < 0,001$) con respecto a Ra, lo que sugiere fallas en la interacción con TLR2. La generación de ROS/apoptosis por *Mtb* dependería de TLR2 y dectin-1/Syk, por lo que diferencias en la composición de la pared representarían un mecanismo de evasión al afectar la interacción con dichos receptores.

541. (560) DISTINTOS PATRONES DE EXPRESIÓN DE MICROARN EN CÉLULAS MONONUCLEARES DE PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR Y PLEURAL

Spinelli, S.¹, Diaz, A.¹, D'Attilio, L.¹, Marchesini, M.², Bogue, C.², Bay, M.¹, Bottasso, O.¹
 Instituto de Inmunología, Facultad de Ciencias Médicas, UNR¹ Hospital Intendente Carrasco, Rosario.²

Diversas líneas de evidencia demuestran que los microRNAs (miRNAs) juegan un papel importante en las interacciones huésped-patógeno. En este estudio se investigaron los perfiles de expresión de varios miRNAs, la mayoría de ellos involucrados en la regulación de respuestas inflamatorias, en pacientes con tuberculosis. A fin de vislumbrar los acontecimientos que ocurren en el sitio de la infección y a nivel sistémico, se emplearon células mononucleares obtenidas de fluidos pleurales (CMF, n=7) y de sangre periférica (CMP, n=23), estas últimas provenientes tanto de pacientes con tuberculosis pleural como pulmonar. Llamativamente, encontramos que el perfil de expresión de dichos miARNs es diferente en cada compartimento, con una fuerte represión de miR-223, miR-144 * y miR-421 en células provenientes de fluidos pleurales ($p < 0,05$). Además, se observó que la expresión del miR-146a también está reprimida en los pacientes con tuberculosis, tanto en CMPs como CMFs ($p < 0,05$); mientras que los niveles de miR-424 sólo se vieron elevados en los compartimentos periféricos. Asimismo se constató que la expresión sistémica de estos miRNAs vuelve a valores normales durante el tratamiento específico y dichos cambios se asocian con los niveles de IL-6, una citoquina que desempeña un papel relevante en la inmunopatología de la tuberculosis. Los presentes resultados aportan nuevos elementos a la intrincada red de interacciones que subyacen en la inmunopatogénesis de la tuberculosis.

542. (642) COLABORACIÓN DE LINFOCITOS TH9 EN LA PROTECCIÓN CONTRA LA INFECCIÓN POR M. TUBERCULOSIS

Alvarez, I.¹², Rovetta, A.¹², Peña, D.¹², Pasquinelli, V.¹³, Musella, R.⁴, Castagnino, J.⁴, Palmero, D.⁴, Barnes, P.⁵, Samten, B.⁵, García, V.¹²
 Departamento de Química Biológica. FCEN. UBA¹ Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN)² Departamento de Ciencias Básicas y Experimentales. UNNOBA. Buenos Aires, Argentina.³ División Tisiopneumología. Hospital de infecciosas F.J. Muñiz. Buenos Aires, Argentina.⁴ Center for Pulmonary and Infectious Diseases Control. University of Texas at Tyler. United States.⁵

La respuesta inmune frente a *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) requiere la generación de respuestas de linfocitos Th1, pero la producción de IFN- γ no es suficiente para erradicar la infección, sugiriendo que otras citoquinas participarían en los mecanismos de defensa contra el patógeno. Poco se conoce del rol de la IL-9 en la tuberculosis (TB), citoquina producida por la población de células efectoras Th9. Así, en este trabajo estudiamos la potencial participación de la IL-9 en la respuesta inmune frente *Mtb*. Para ello, células mononucleares de sangre periférica de pacientes con TB y de dadores sanos fueron estimuladas con un sonicatedo de *Mtb* H37Rv, en presencia o ausencia de IL-9 recombinante y se analizó la producción de citoquinas, la expresión de factores de transcripción y de moléculas de superficie, por ELISA, qRT-PCR o citometría de flujo. Nuestros resultados demostraron que *Mtb* induce células Th9 y que la IL-9 promueve la producción de IFN- γ por linfocitos T CD4 previniendo la apoptosis ocasionada por el antígeno. Observamos que *Mtb* induce en la mayoría de las células productoras de IFN- γ , un fenotipo IFN- γ /IL-9R⁺, sugiriendo un mecanismo de acción directo de la IL-9 sobre las células productoras de esta citoquina. Asimismo, detectamos que la IL-9 previene el efecto inhibitorio ejercido por el antígeno ESAT-6 (proteína de secreción temprana de *Mtb*) sobre la producción de IFN- γ contra *Mtb*. En conjunto, nuestros resultados demuestran que la IL-9 tendría un rol benéfico durante la TB, previniendo la apoptosis, revirtiendo el efecto inhibitorio de ESAT-6 y promoviendo la producción de IFN- γ . Todas las diferencias mencionadas son significativas, $p < 0,05$. Los protocolos mencionados fueron aprobados por el comité de bioética del Hospital Muñiz, de donde provienen las muestras de sangre.