



## VII Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica y I Congreso de Preparaciones Virtuales por Internet

Del 1 al 31 de octubre de 2005



### Alteraciones cito-morfológicas en células hepáticas cultivadas con *Candida albicans* y un metabolito extracelular

María Gabriela Paraje\*, María Sol Renná\*, Martín Gustavo Theumer\*, Silvia Graciela Correa\*, Claudia Elena Sotomayor\*

\* CIBICI (CONICET)-Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba. ARGENTINA

#### Resumen

*Candida albicans* es un hongo dimórfico y oportunista, miembro normal de la flora oral y gastrointestinal en individuos inmunocompetentes. Sin embargo en huéspedes inmunocomprometidos la transición de oportunista a patógeno es frecuente y la diseminación hematogena del microorganismo puede comprometer otros órganos.

Durante la infección tienen lugar eventos transcripcionales relacionados a la morfogénesis y a la producción de factores de virulencia tales como esterases y/o lipasas, aunque el significado biológico y su rol en la patogenia y progresión de la infección aún no han sido establecidos.

En nuestro laboratorio hemos desarrollado un modelo de candidiasis en ratas Wistar; luego de 3 días de infección, los animales presentan marcados signos de hepatotoxicidad, franca esteatosis y desequilibrios en el metabolismo lipídico. En la búsqueda de factores de virulencia que puedan contribuir a las alteraciones biológicas observadas, caracterizamos y purificamos una proteína extracelular de 70 kDa con actividad lipasa (LIP) de la cepa en estudio.

El objetivo del presente trabajo fue valorar la actividad de *C. albicans* y una LIP, sobre cultivos primarios de hepatocitos. Sobre estas células se evaluaron alteraciones citomorfológicas por microscopía óptica "en fresco" y por coloración con Sudán Black y la citotoxicidad celular, por la enzima lactato dehidrogenasa (LDH).

Se realizaron cultivos de hepatocitos en presencia de los distintos morfotipos fúngicos (levaduriforme e hifal) a distintas relaciones y LIP (25 U y 100 U), durante un período de 6 a 72 hs. La liberación de LDH al medio extracelular se determinó por colorimetría y los resultados se expresaron como índice de actividad respecto al basal.

A tiempos cortos (6 y 12 hs) LIP no modificó notablemente el índice basal en hepatocitos a ambas concentraciones. Al cabo de 18 hs, 25 U y 100 U de LIP causaron moderada liberación de LDH (Ín: 2,3 y 2,5, respectivamente). A la mayor concentración el daño fue notorio, mostrando un índice de 6,3 a las 72 hs. El co-cultivo con el hongo tanto en faz levaduriforme como hifal mostró regular daño posterior a las 48 hs (Ín: 2,4 y 2,3, respectivamente).

Los hepatocitos tratados con LIP mostraron alteraciones morfológicas y marcado acúmulo de vacuolas lipídicas en su citoplasma a las 6 hs. A las 12 horas se observaron células anucleadas con vacuolas lipídicas características de esteatosis. En cultivos con el hongo en ambos morfotipos, se detectó alteración celular leve pero sin acúmulo de lípidos a ningún tiempo ensayado. En co-cultivos de LIP con la levadura no hubo sinergia en los efectos.

En la interacción entre el hongo, sus factores de virulencia y los tejidos del huésped, células como los hepatocitos están activamente involucradas. Los resultados obtenidos muestran que la LIP es capaz de injuriar a la célula hepática y la magnitud y tipo de daño están relacionados a la concentración y tiempo de contacto del factor fúngico con la célula del huésped. Estudios de nuevos factores de virulencia como la LIP podrían contribuir a esclarecer la patogénesis de infección por *C. albicans* por alteración de células hepáticas lo que podría tener implicancias biológicas durante el proceso de colonización y persistencia del patógeno en el huésped.