

CORRELACIÓN ENTRE EL ESTADO FUNCIONAL DE FAGOCITOS DE SANGRE PERIFÉRICA Y LESIONES GRANULOMATOSAS FLUCTUANTES EN PIEL

Pedreño M^a, Herrera G^b, Leon P^a, Roselló E^c, Carmena J^d, Tolosa A^a, Rafecas J^a, O'Connor JE^b

^aHematología Hospital Dr. Peset. ^bLaboratorio de Citómica, Unidad mixta CIPF, Centro de Investigación Príncipe Felipe. ^cAnatomía Patológica Hospital Dr. Peset. ^dEnfermedades Infecciosas Hospital Dr. Peset. Valencia.

Introducción: La deficiencia de los sistemas de reconocimiento, fagocitosis y destrucción de los microorganismos por leucocitos provocan con frecuencia infecciones dermatológicas. Las enfermedades granulomatosas son diagnosticadas y controladas básicamente con exploración y el estudio anatomopatológico. Sin embargo, la citometría de flujo en sangre periférica es una técnica sencilla que permite complementar el diagnóstico clínico.

Material y métodos: Paciente varón (35 años) con historia de varios años de evolución de lesiones dérmicas, supurativas, dolorosas y fluctuantes, localizadas en pliegues. Se ha controlado el paciente periódicamente, durante las fases sintomáticas y en las remisiones tras tratamiento. La función fagocitaria fue determinada por citometría de flujo (Cytomics FC500, Beckman-Coulter) en sangre periférica, mediante inmunofenotipaje de los receptores de tipo Toll (TLR) TLR2, TLR4 y TLR6 y por la cuantificación de la fagocitosis usando una cepa de *Escherichia coli* que expresa proteína fluorescente verde (GFP-E. Coli). La respuesta oxidativa de los fagocitos se determinó usando dihidroetidina (Invitrogen Molecular Probes). Se incluyó en los análisis a donantes sanos de edad similar.

Resultados: En la fase aguda del proceso el paciente presentaba abscesos profundos y quistes epiteliales de inclusión con reacción granulomatosa, observándose a menudo neutrófilos dentro de células multinucleadas. Los cultivos del exudado eran siempre positivos para flora mixta. La bioquímica del suero, el hemograma y la morfología celular eran normales. La citometría de flujo mostró la expresión disminuida de TLR2 en monocitos y granulocitos, sin cambios en TLR4 y R6. La fagocitosis de GFP-E. coli y la producción subsiguiente de especies reactivas de oxígeno eran inferiores en monocitos y granulocitos. Sin embargo, cuando se examinó al paciente en remisión de síntomas dermatológicos, los parámetros citométricos funcionales en fagocitos fueron similares a los hallados en donantes normales.

Conclusiones: En pacientes con infecciones dermatológicas repetitivas, la citometría de flujo es una buena técnica para estudiar parámetros de la función fagocitaria en sangrr enetra, incluyendo los receptores de señal del patógeno (TLR), de la capacidad de la fagocitosis y del estrés oxidativo. Los resultados obtenidos se correlacionan con los síntomas clínicos. El uso de cepas bacterianas modificadas genéticamente que expresan GFP es una aproximación simple y sensible a los análisis de fagocitosis, que reduce el número de etapas de tinción fluorescente y se puede multiplexar a la detección simultánea de especies reactivas de oxígeno utilizando sondas fluorescentes que emitan en el rojo-naranja.