

LA BIOLOGIA MOLECULAR Y LA INMUNOHISTOQUIMICA EN EL MUSEO DE PATOLOGIA

NÁPOLI, José; URSSI, Laura María; FORMOSA, María Inés.

Museo de Patología – Departamento de Patología – Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires (U.B.A.)

RESUMEN

No se concibe actualmente un Museo y especialmente los Universitarios dónde el área educativa y de investigación no sea un eje fundamental. El Museo cuenta (en su patrimonio) con 2000 piezas anatómicas patológicas en exposición y otro tanto en depósito, cuya antigüedad oscila entre fines del siglo XIX y mediados del siglo XX. Hemos instrumentado áreas dedicadas a la investigación aplicando nuevas tecnologías para el estudio de dichas piezas. En este marco se aplicaron Técnicas de Biología Molecular sobre la pieza anatómica correspondiente al paciente Domingo Ezcurra (soldado de la guerra del Paraguay) con el que el Dr. Alejandro Posadas describiera la enfermedad que lleva su nombre. Fue descrita en el año 1892, cuando aún era alumno de medicina. Se tomó material de la pieza con que cuenta el museo y se seleccionó el fragmento con mayor número de endosporos con una técnica de Inmunohistoquímica específica preparada por el investigador mexicano Dr. Roberto Suarez Alvarez. El ADN fúngico fue amplificado por una PCR anidada que reconoce un fragmento del Gen Ag2/PARA, cuyo polimorfismo diferencia *Coccidioides immitis* de *Posadasii*. Los resultados confirmaron que el primer caso de coccidioidomicosis descrito por Posadas corresponde al *C. Posadasii*. Estos estudios fueron realizados en el Instituto Malbrán de Bs. As. bajo la dirección de la Dra. Cristina Canteros. Esto pone de relieve la importancia de la conservación de piezas anatómicas patológicas que a pesar de su antigüedad pueden ser tratadas con nuevas tecnologías.

Actualmente, las fotografías originales de las imágenes histopatológicas (Figura 1) y de las lesiones del paciente, así como las piezas anatómicas de la necropsia de mano y pie se conservan en el Museo de Patología, del Departamento de Patología, de la Facultad de Medicina de la UBA con el N°779.



Vista general del Museo

OBJETIVO

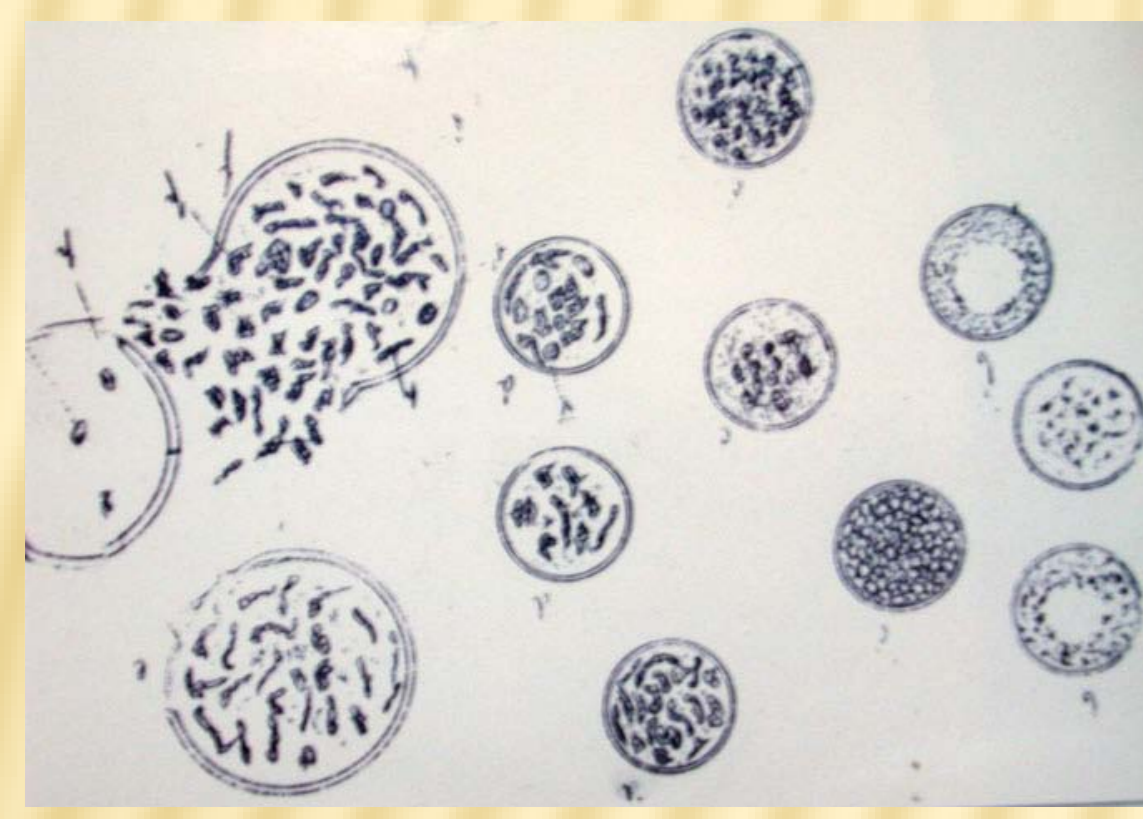
Conocer la especie de *Coccidioides* involucrada en el caso Ezcurra analizando el ADN fúngico de las piezas anatómicas del paciente y demostrar la importancia de la conservación de piezas anatómicas de esta naturaleza en los museos de ciencias.



Alejandro Posadas

HISTORIA

El primer caso mundial de coccidioidomicosis fue documentado en un soldado de caballería nacido en San Luis, República Argentina. El paciente de 36 años, de nombre Domingo Ezcurra presentaba lesiones cutáneas tumorales recurrentes de tres años de evolución. En 1891, ingresó al Hospital de la Universidad de Buenos Aires, con lesiones en cara (Figura 2) y espalda (Figura 3), abdomen, muslo izquierdo y brazos. Alejandro Posadas, tomó material por raspado y extirpación de las lesiones y junto a su maestro el Dr. Wernicke determinó que el causante era un parásito (Figura 1) al que denominó *Esporozoario* o *Psorospermia*. Estudiante y maestro realizaron una descripción minuciosa y completa del cuadro clínico del paciente y del microorganismo, el que creyeron era un protozoo del orden *Coccidia* por su morfología.



Esquemas originales de Alejandro Posadas



Figura 2

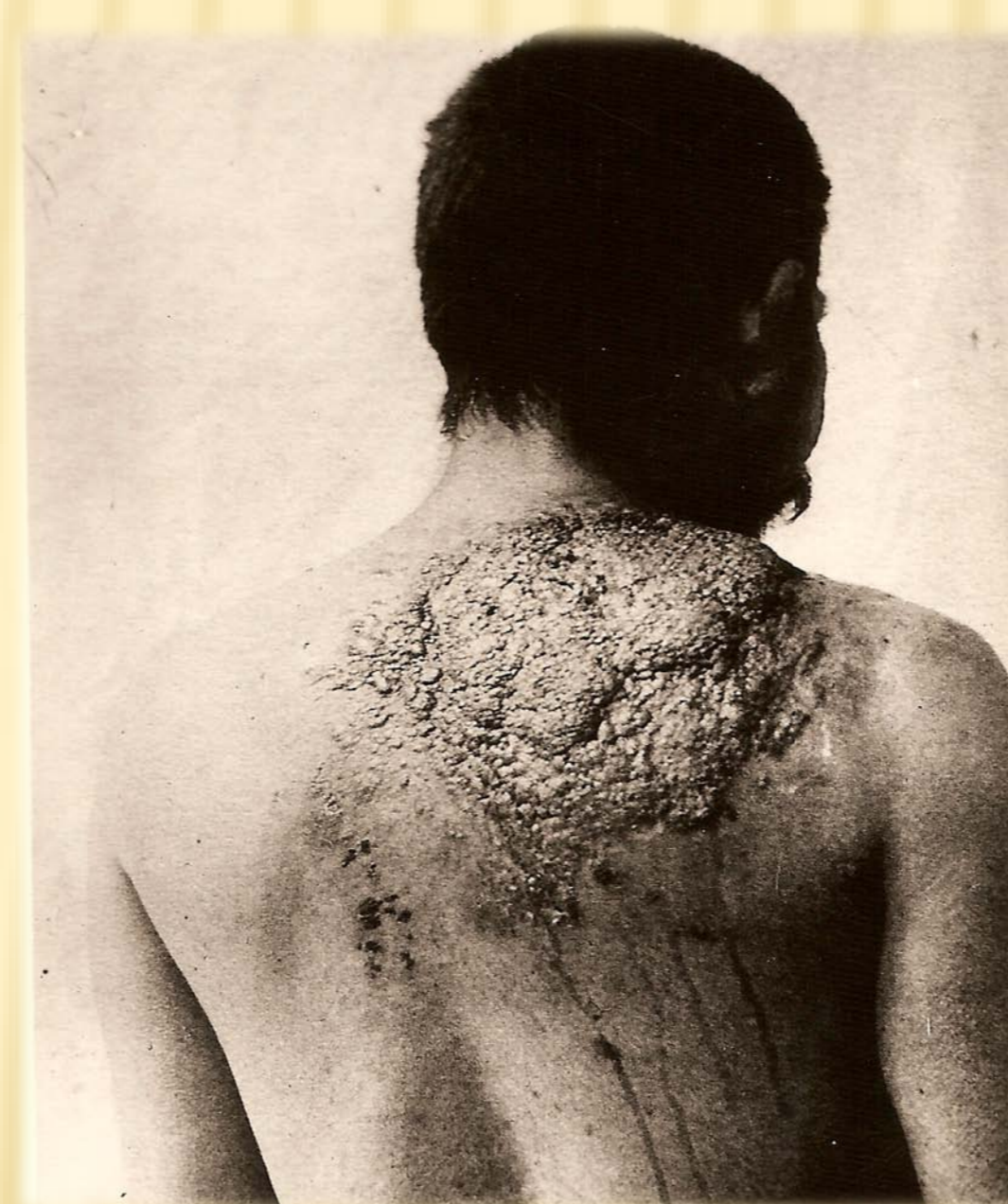


Figura 3

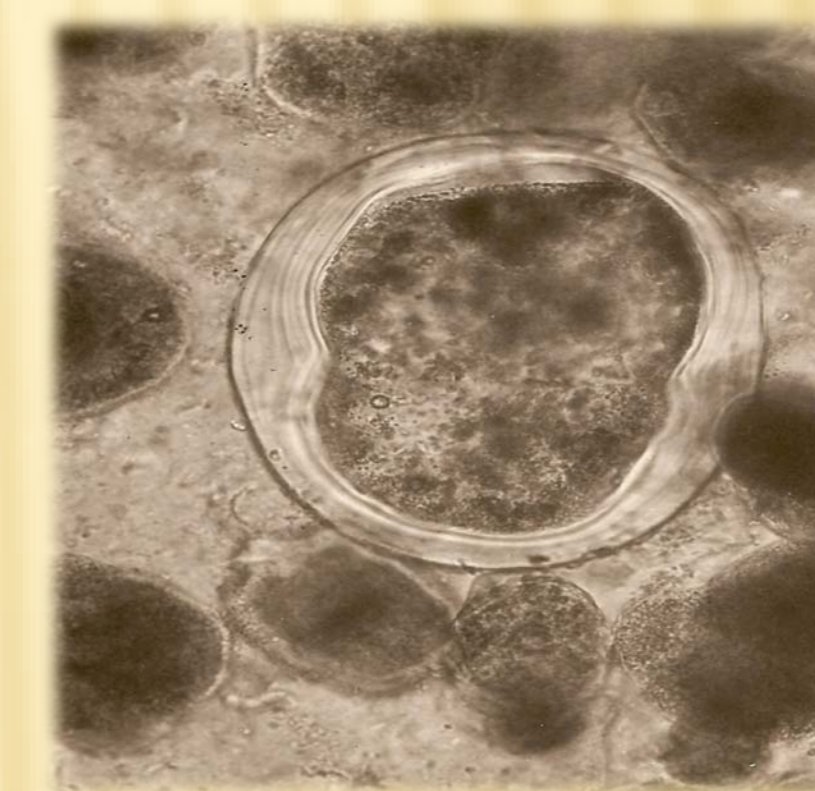


Figura 1



Pieza n° 779

Con todas las coloraciones de rutina se observaron diferentes cantidades de esférulas en los distintos trozos de tejido comidos de la lesión del dorso del pie. Este procedimiento ha permitido elegir la muestra de tejido que poseía mayor cantidad de elementos fúngicos sobre los cuales mediante **Técnica de Inmunohistoquímica** se detectó gran cantidad de endosporas íntegras en el interior de las esférulas (Figura 4a) y libres en el tejido (Figura 4b). Estas muestras son las que se han seleccionado para la extracción de ADN.

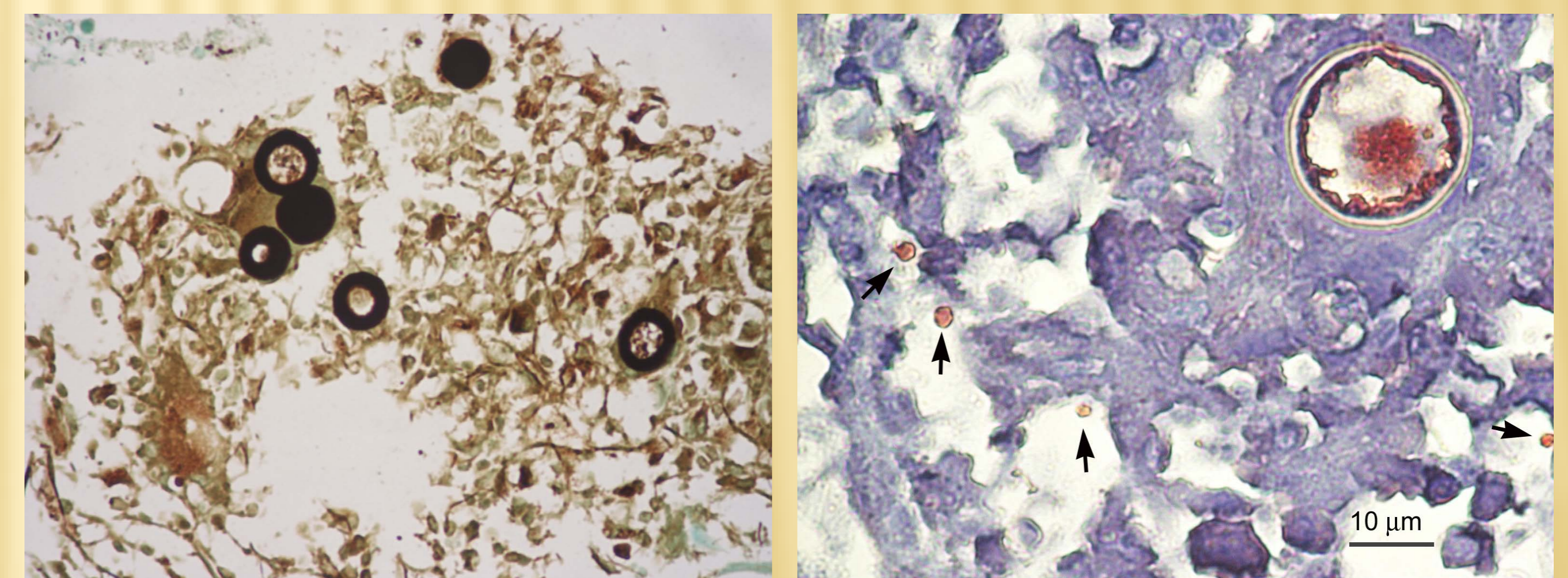


Figura 4 - Cortes histológicos del pie de Ezcurra. (a) Abundantes esférulas (Es) de diferentes tamaños. Grocott, 200X. (b) Esférica con endosporas. Las flechas señalan endosporas libres. IHQ, 400X.

CONCLUSIÓN

A más de 100 años de la descripción del primer caso de coccidioidomicosis, las piezas del paciente Ezcurra excelentemente conservadas por el Museo de Patología nos permiten realizar una contribución a la investigación científica identificando como *C. posadasii* al agente involucrado en el primer caso de coccidioidomicosis, reconocido histórica y mundialmente.

BIBLIOGRAFÍA

- Spinello IM, Muñoz A, Johnson RH. Pulmonary coccidioidomycosis. *Semin Respir Crit Care Med*; 29: 166-73.
- Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Coccidioidomycosis. In: Kwon-Chung KJ, Bennett JE (eds). *Medical Mycology*. Philadelphia-London, Lea & Febiger, 1992, p 456-96.
- Fisher M C, Koenig GL, White TJ, Taylor JW. Molecular and phenotypic description of *Coccidioides posadasii* sp nov., previously recognized as the non-California population of *Coccidioides immitis*. *Mycologia* 2002; 94: 73-84.
- Tintelnot K, De Hoog GS, Antweiler E, et al. Taxonomic and diagnostic markers for identification of *Coccidioides immitis* and *posadasii*. *Med Mycol* 2007; 45: 385-93.
- Posadas, A. Un nuevo caso de micosis fungoide con psorospermias. *Círculo Médico Argentino*. 1892; 5: 585-7.
- Wernicke R. Ueber einen Protozoen-befund bei Mycosis fungoides. *Centralbl F Bakt* 1892; 12: 859-61.
- Koufopanou V, Burt A, Taylor JW. Concordance of gene genealogies reveals reproductive isolation in the pathogenic fungus *Coccidioides immitis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 5478-82.
- Peng T, Orsborn KI, Orbach MJ, Galgiani JN. Proliferation vaccine candidate antigen of *Coccidioides immitis*: conservation among isolates and differential expression with spherule maturation. *J. Infect Dis* 1999; 179: 518-21.
- Kaiserlin C. Virchows Archiv fur pathologische Anatomie und Physiologie und fur klinische Medizin 1897; 147.
- Canteros CE, Toranzo A, Suarez-Alvarez R, Davel G, Castañon-Olivares LR, Nápoli J. Identidad genética del hongo causante del primer caso de coccidioidomicosis descrito por Alejandro Posadas en 1892. *Medicina* 2009; 69:215-220.

Figura 5- Alineamiento de los fragmentos secuenciados.

Las posiciones nucleotídicas están indicando la posición respecto al gen Ag2/PRA completo (Acceso N° AF013256). Las primeras dos secuencias corresponden a: *C. posadasii* (Cp) Acceso N° AY536445 y *C. immitis* (Ci) Acceso N° AY536445. A continuación aparecen la secuencia del caso Ezcurra, de las cepas de referencia 1-NL y M38-05 y de los aislamientos de los pacientes argentinos (073089, 073094, 073129 y 073130). Sobre la secuencia del caso Ezcurra se encuentran sombreadas las bases que confirman su identidad con respecto al resto de las cepas identificadas como *C. posadasii*.

