

**IV Reunión de  
EPOC  
SEMI**



**Torre del Mar  
12-14 de Marzo de 2009**

**MESA REDONDA  
Infección en  
EPOC**

***Pneumocystis y  
EPOC***

***Enrique Calderón Sandubete***

***CIBER de Epidemiología y Salud Pública***

***Instituto de Biomedicina de Sevilla***

***Servicio de Medicina Interna***

***Hospital Universitario Virgen del Rocío***

***Sevilla***

# Perspectiva histórica de *Pneumocystis*



Desde sus orígenes como un oscuro patógeno pulmonar hasta ocupar un lugar prominente como causa de neumonías en inmunodeprimidos

2000s *P. jirovecii*, especie que afecta al hombre

1990s Hongo, un genero con varias especies

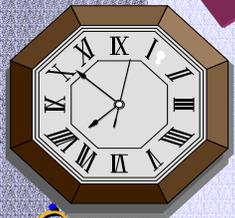
1980s Importante problema de salud pública con la epidemia de SIDA

1960s Neumonía en inmunodeprimidos

1940s Neumonía intersticial de células plasmáticas

1912 Los Delanoë lo reconocen como un nuevo genero y especie

1909 Erróneamente identificado por Chagas como una variante en el ciclo de vida del *Trypanosoma cruzi*



# Conocimientos actuales sobre *Pneumocystis*

- *Pneumocystis* es un hongo
- El genero *Pneumocystis* está compuesto por varias especies
- Los *Pneumocystis* procedentes de diferentes mamíferos son diferentes entre si y muestran una gran especificidad
- *Pneumocystis jirovecii* es la única especie que infecta al hombre y no existe infección cruzada
- La infección humana por *Pneumocystis* no es una zoonosis
- La transmisión por vía aérea se ha demostrado en modelos animales
- La forma infectiva del microorganismo no se conoce y no se han encontrado reservorios en el medio ambiente

**La fuente más probable de la infección por *Pneumocystis* en el hombre es el propio hombre**



# El concepto de colonización

- Identificación de *Pneumocystis* con métodos sensibles, como la PCR, en muestras biológicas de sujetos sin manifestaciones clínicas ni radiológicas de neumonía
- Esta situación ha sido denominada con diferentes términos como colonización, estado de portador asintomático (“carrier”) o infección subclínica

*Wissmann G, et al. Enf Inf Microbiol Clin 2009, en prensa*

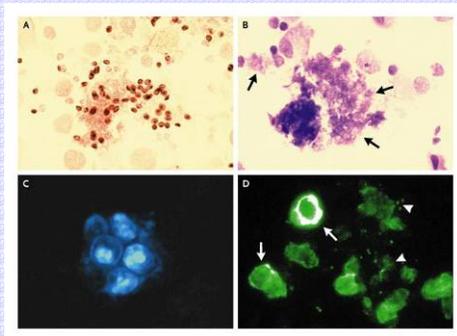


# Primera evidencia de la existencia de portadores de *Pneumocystis* en enfermedades pulmonares crónicas

## Presencia de *Pneumocystis* en sujetos con Bronquitis crónica

	Portadores	No portadores
Número (100)	10%	90%
Sexo (V/H)	8/2	75/15
Edad	74,1 ± 7,1	68,9 ± 12
Linfocitos	1175 ± 209	1366 ± 761

No existieron diferencias significativas respecto a edad o número de linfocitos totales



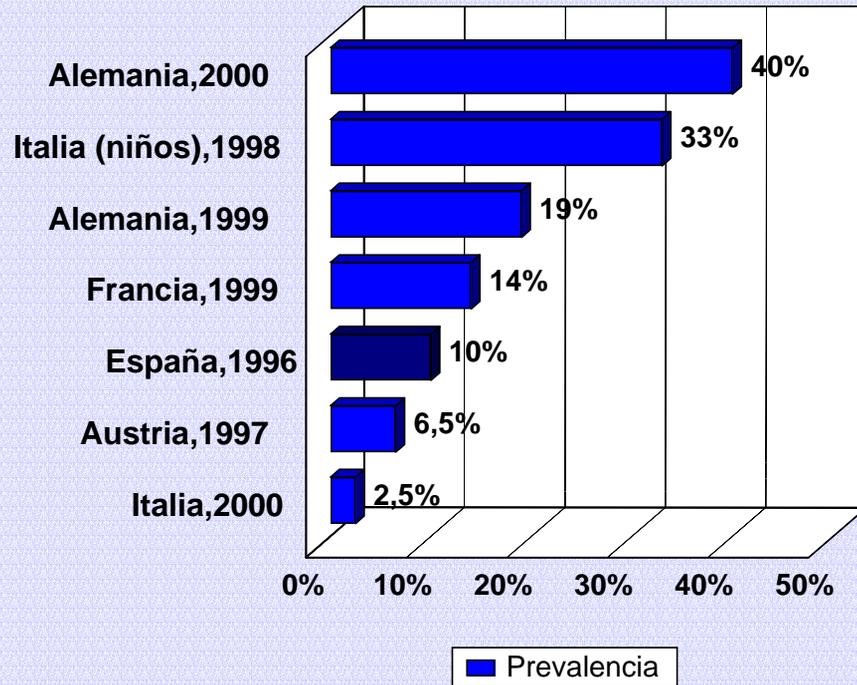
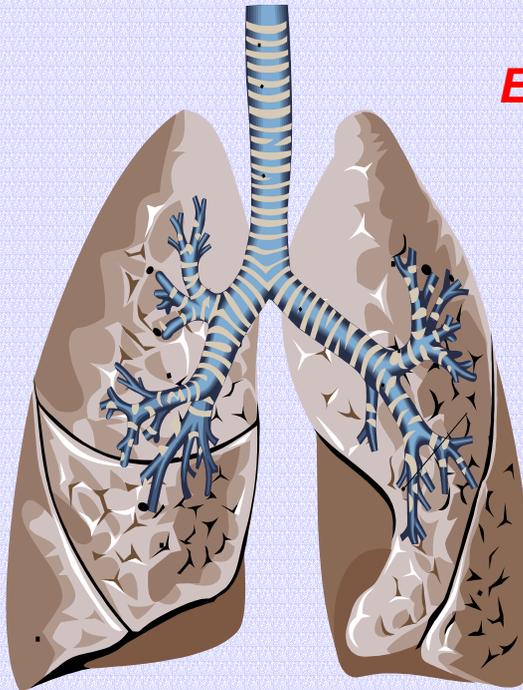
Se utilizaron técnicas de tinción e IF con anticuerpos monoclonales

*Calderón E, et al. Lancet 1996; 347: 977.*

# Colonización por *Pneumocystis* en enfermedades pulmonares

## Prevalencia de colonización por *Pneumocystis* en pacientes con distintas enfermedades pulmonares

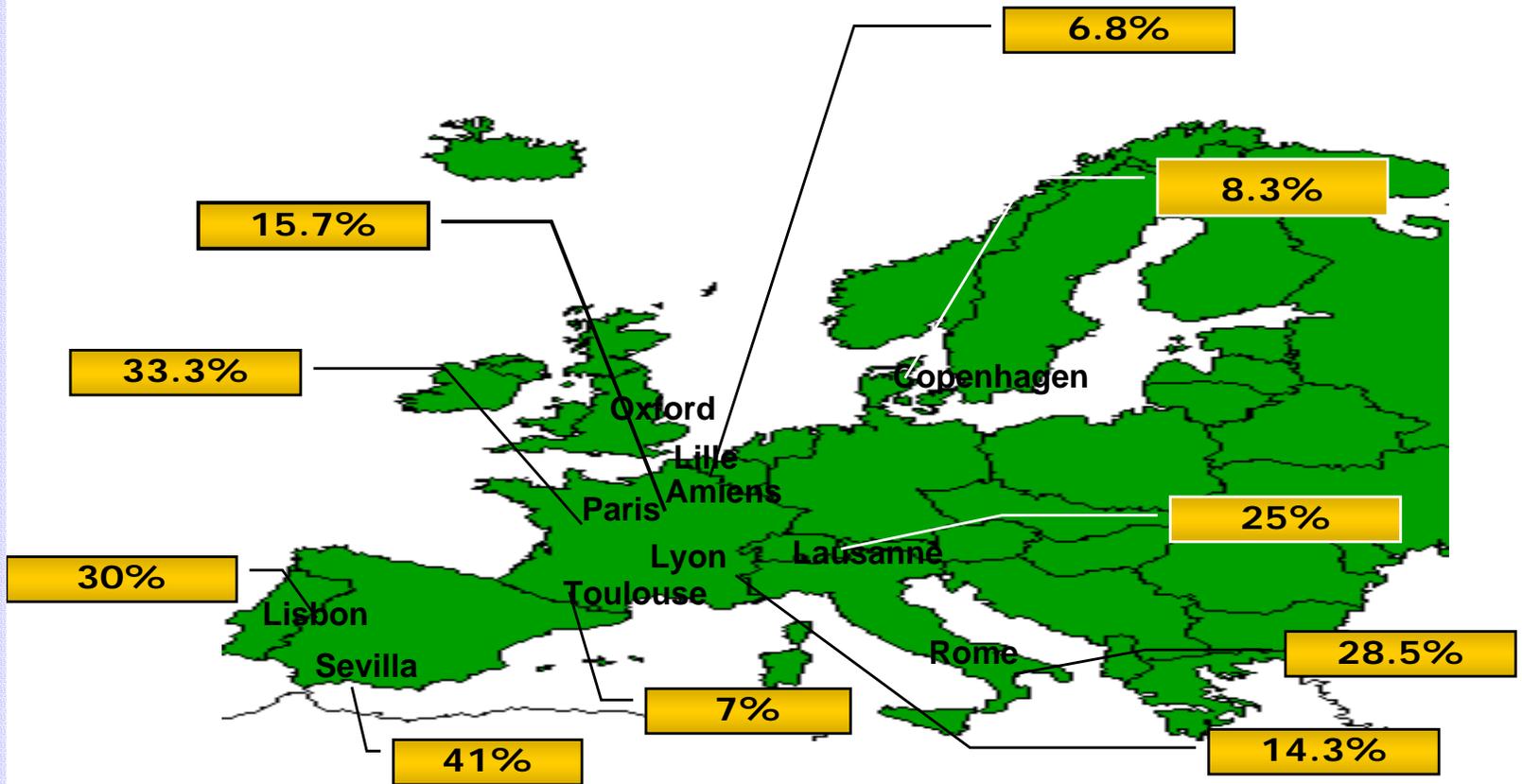
*Experiencia acumulada hasta el año 2000*





# Prevalencia de portadores de *Pneumocystis* en sujetos con enfermedades bronquiales crónicas en Europa

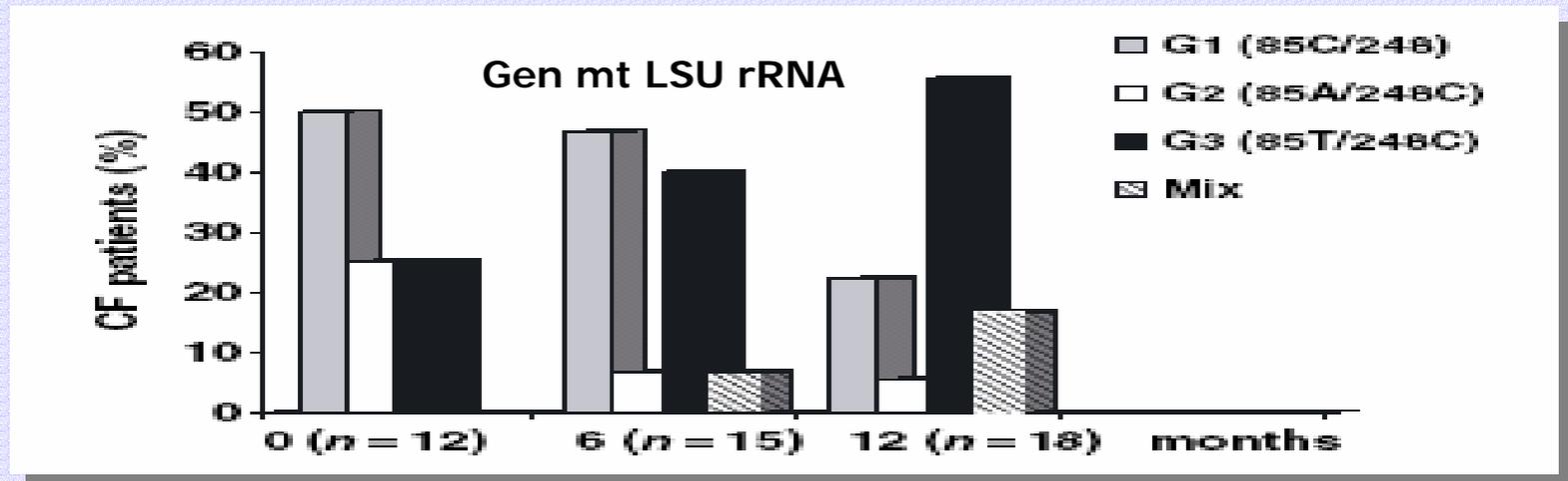
588 sujetos incluidos en el estudio y analizados mediante PCR



# La colonización es un proceso dinámico de exposición-eliminación-reexposición

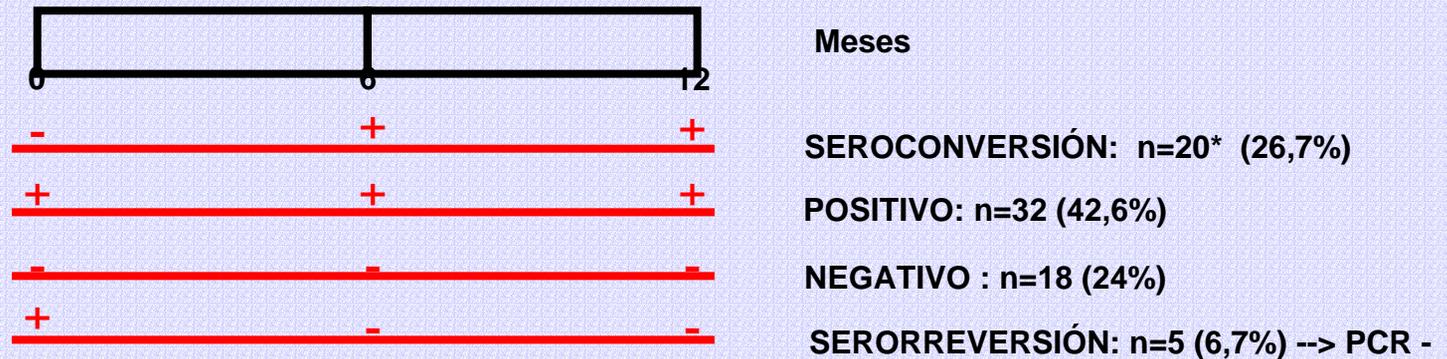
Cohorte de pacientes con FQ seguidos durante un año

Número de casos (n=33)	Mes 0	Mes 6	Mes 12
6	+	+	-
4	+	-	-
5	-	+	-
1	+	-	+
12	-	-	+
1	-	+	+
4	+	+	+



Montes-Cano et al. Clin Microbiol Infect 2007; 13: 1008-1011

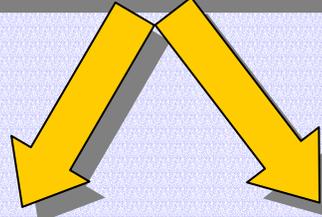
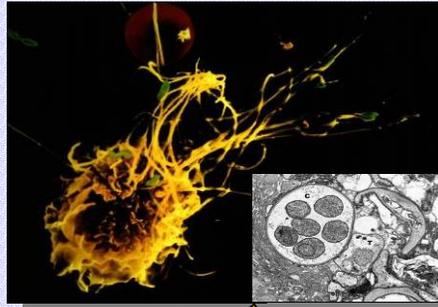
## Evolución de la respuesta serológica en 75 sujetos con Fibrosis Quística



\* 20 infecciones agudas durante el seguimiento que pasan de PCR - a PCR +

*Respaldiza N, et al. 15 European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, Copenhagen, April 2005*

# Efectos de la infección por *Pneumocystis*



**Citocinas  
Proinflamatorias**

**Alteraciones del  
surfactante pulmonar**

- Alteraciones en la permeabilidad alveolo-capilar
- Cambios degenerativos en los neumocitos tipo I
- Hipertrofia reparadora de neumocitos tipo II
- Daño alveolar difuso
- Fibrosis pulmonar

FEMS Immunol Med Microbiol 1998; 28: 123-8.

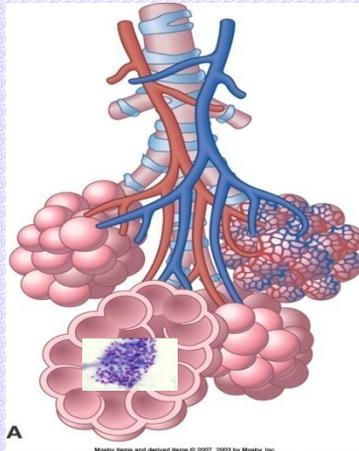
J Lab Clin Med 2001;137:429-39

Am J Respir Cell Mol Biol 2005; 32: 490-7

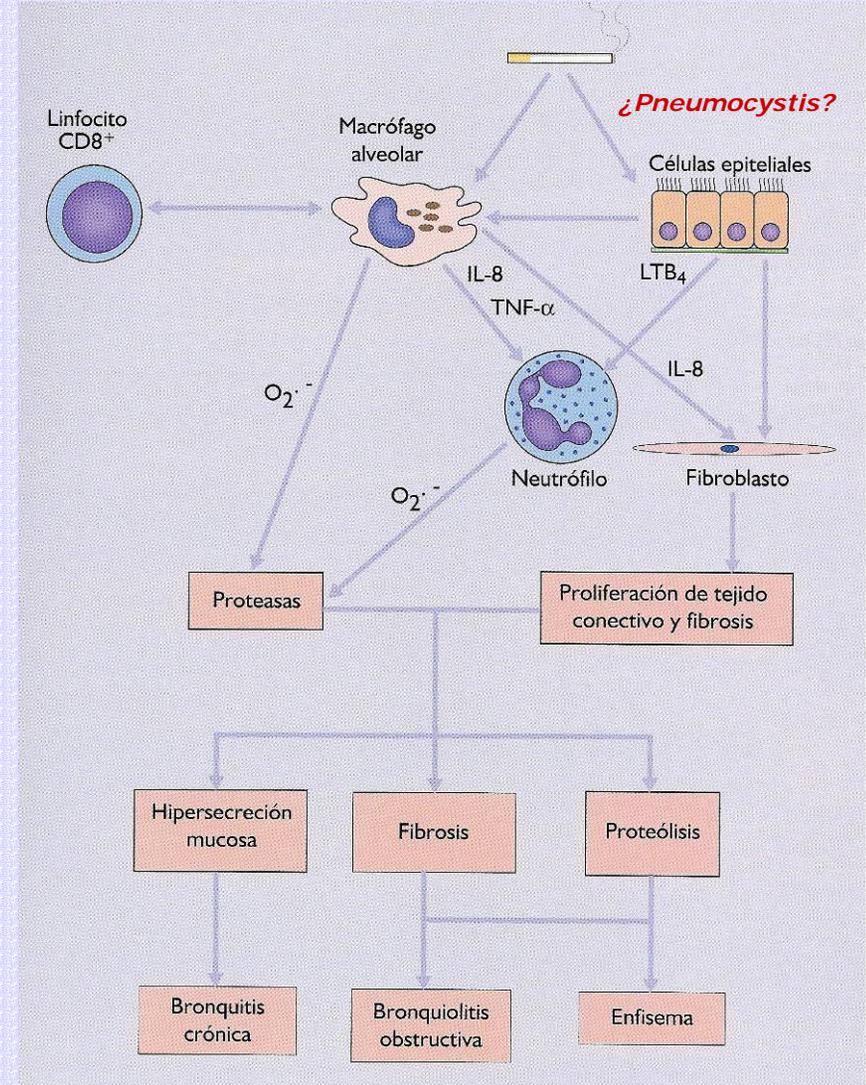
# Pneumocystis en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica

## Progresión de la EPOC

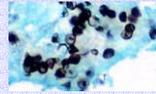
- Activación de macrófago
- Aumento citoquinas proinflamatorias
- Alteración surfactante
- Destrucción neumocitos tipo I
- Fibrosis



## Fuente de transmisión



# Pneumocystis en la Fisiopatología de la EPOC



## Pneumocystis

¿Favorecer colonización?

### Obstrucción

### Inflamación

### Cambios estructurales

### Disfunción mucociliar

Contracción del músculo liso  
Incremento del tono colinérgico  
Hiperreactividad bronquial  
Falta de Elasticidad

**Incremento:**

- neutrofilos,
- macrófagos,
- linfocitos CD8+
- IL-8, TNF $\alpha$

LTB<sub>4</sub> elevado  
Proteasa/anti-proteasa desequilibrado  
Edema mucoso

**Destrucción alveolar**

Hiperplasia epitelial  
Hipertrofia glandular

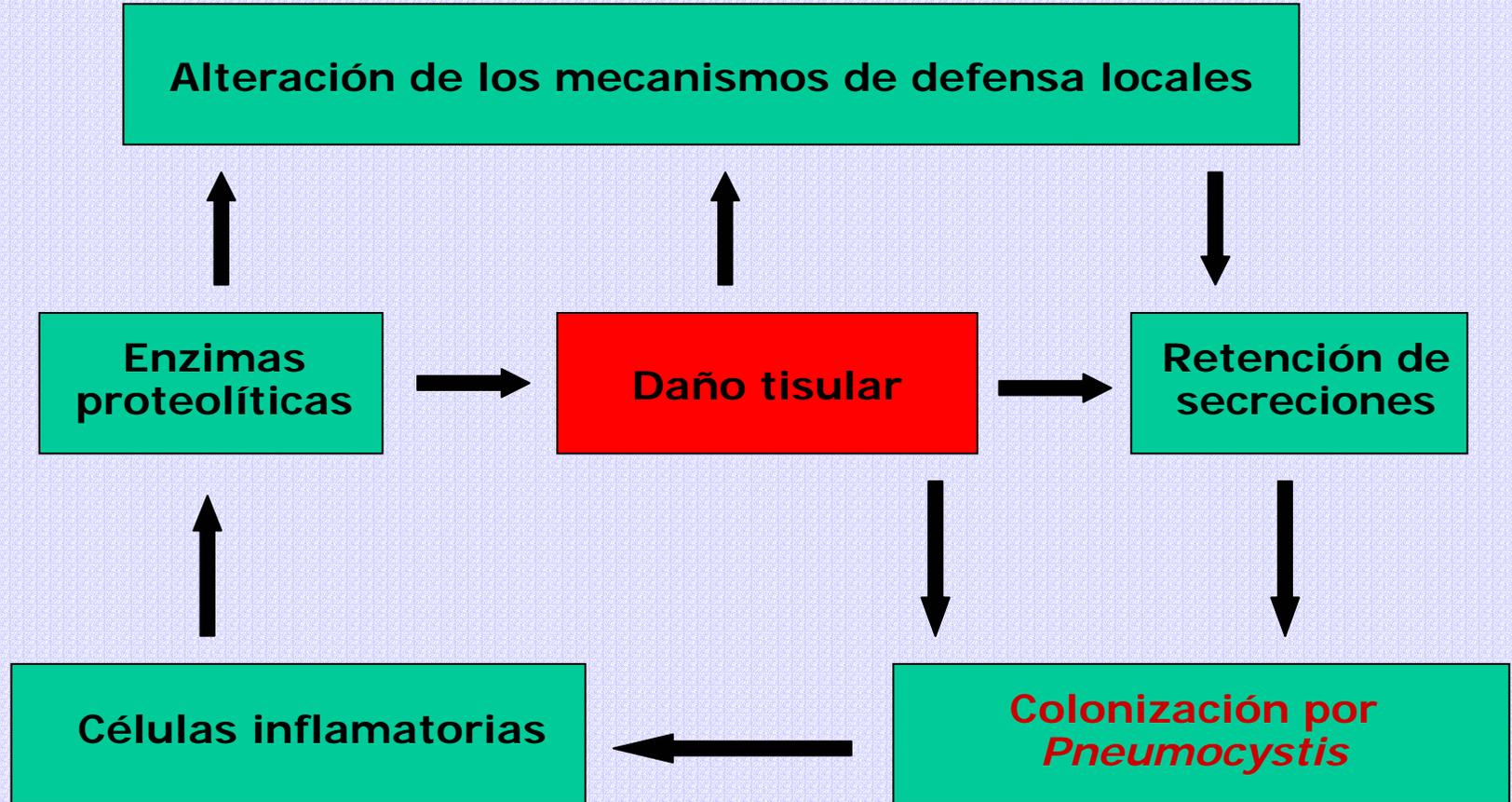
Metaplasia de célula caliciforme  
**Fibrosis de la vía aérea**

Hipersecreción mucosa

Incremento de la viscosidad del moco

Reducción del transporte mucociliar  
Daño en la mucosa

# Hipótesis del círculo vicioso en la EPOC aplicada a la colonización por *Pneumocystis*



# Pneumocystis y EPOC

Características	Colonizados (n = 15)	No colonizados (n = 22)	Valor <i>P</i>
Edad media $\pm$ DE	67,1 $\pm$ 11,3	69,4 $\pm$ 14,5	0,61*
Varones (%)	11 (73%)	21 (95%)	0,26*
Fumadores (%)	7 (47%)	10 (45%)	0,31*
Uso corticoides (%)	10 (67%)	13 (59%)	0,49*
pO <sub>2</sub> media $\pm$ DE	72,8 $\pm$ 15,1	66,5 $\pm$ 16,6	0,31*
FEV-1% medio $\pm$ DE	64,9 $\pm$ 17,5	57,6 $\pm$ 19,2	0,39*
<b>Linfocitos por mm<sup>3</sup> <math>\pm</math> DE</b>	<b>2280,5 <math>\pm</math> 609,2</b>	<b>1580,8 <math>\pm</math> 952,3</b>	<b>0,02**</b>

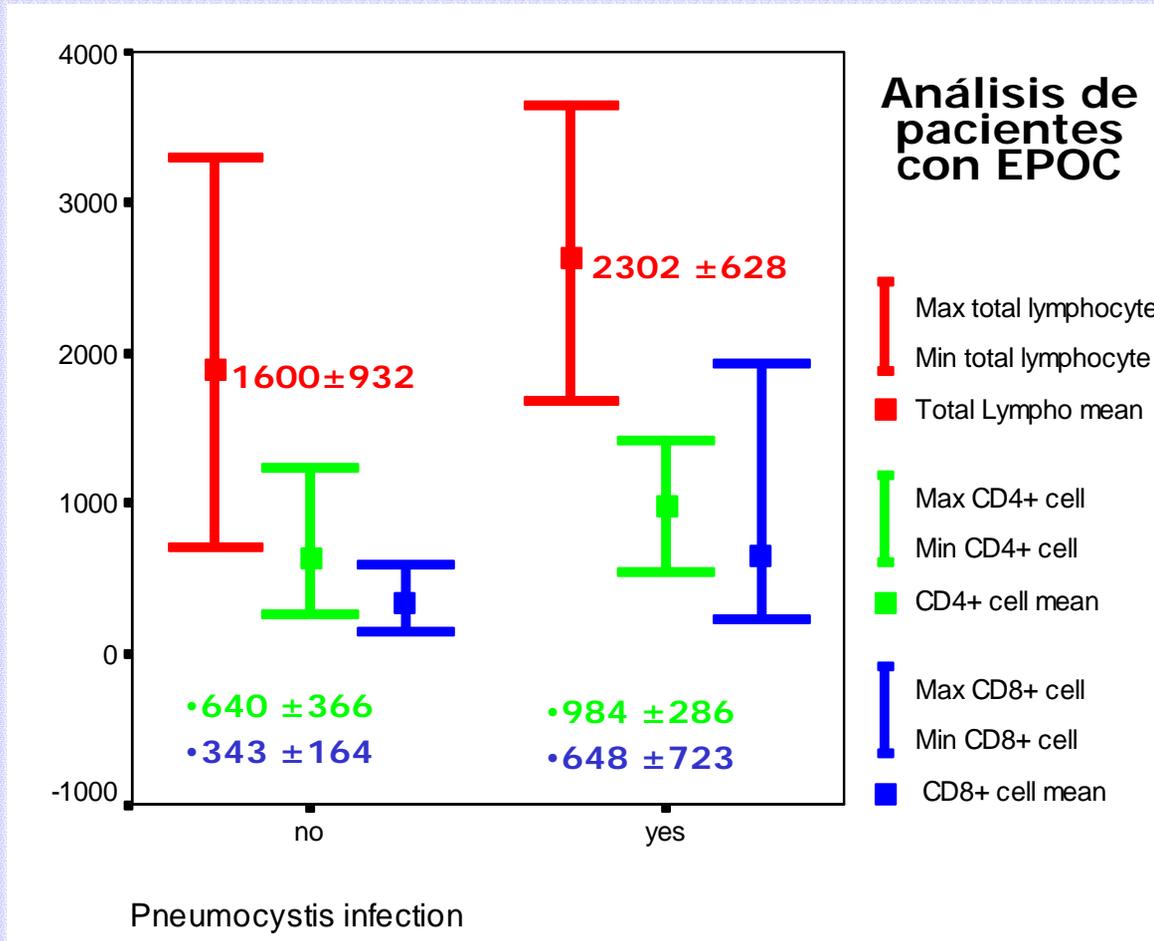
\* U de Mann-Whitney

\*\* T de Student

*Calderón E, et al. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004; 23: 545-9*

# Pneumocystis y EPOC

## Evaluación de la respuesta inmune celular frente a la infección por *Pneumocystis*



### T de Student

No portadores vs portadores

Linfocitos T  $p= 0,013$

CD4+  $p= 0,08$

CD8+  $p= 0,4$

¿Podría inducir la infección por *Pneumocystis* exacerbaciones de la EPOC?

# Pneumocystis y EPOC

## Pacientes con EPOC con y sin colonización por *P. jirovecii*

Características	Colonizados N=13	No colonizados N= 55	P
Edad media	61,3	60	NS
Hombres (%)	69,2%	74,6%	NS
Tabaquismo (paquetes/año)	68	57	NS
FEV1	21%	62%	0,001
FEV1/FVC	32	54	0,006

En el 36,7% de los pacientes con EPOC muy grave (Estadio IV de la Guía GOLD) existía colonización por *P. jirovecii* frente al 5,3% en sujetos con estadios menores

*Morris A, et al. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 408-13.*



# Aumento de la respuesta inflamatoria sistémica en pacientes con EPOC colonizados por *Pneumocystis*

Características y datos de laboratorio	EPOC no colonizador por <i>P. jirovecii</i> (n= 23)	EPOC colonizados por <i>P. jirovecii</i> (n= 28)	Valor de P
Edad en años (media ± DE)	74 ± 8,6	70,1 ± 9,8	0,14*
Varones (%)	91%	75%	0,13**
Tabaquismo (%)	39%	33%	0,72**
FEV <sub>1</sub> % (media ± DE)	42,2 ± 15,3	47,7 ± 23,1	0.52*
Linfocitos circulantes/μl (media ± DE)	1555,6 ± 901,1	1798,5 ± 731,5	0.36*
Leucocitos circulantes/μl (media ± DE)	11242,6 ± 4135,3	9954,5 ± 5344,4	0.4*
IL-8 en pg/ml (media ± DE)	13,89 ± 13,87	21,26 ± 9,25	<b>0,028*</b>
TNF-α en pg/ml (media ± DE)	3,57 ± 2,03	8,15 ± 10,6	<b>0,047*</b>
IL-6 en pg/ml (media ± DE)	5,34 ± 5,45	16,95 ± 25,06	<b>0,038*</b>

\*Student's t-test; \*\*Mann-Whitney U-test

*Calderón EJ, et al. Clin Infect Dis 2007; 45: e17-9.*



# Tabaco y colonización por *Pneumocystis*

**Pacientes: 238 casos incluidos**  
**Diagnóstico: EPOC según GOLD**  
**Hábito tabáquico: 180/238 (75.6%)**  
**Colonización por *Pj*: 37/238 (15.5%)**

**Nested-PCR: Región mitocondrial:  
 mtLSUrRNA**  
**Cebadores:**  
Externos pAZ102-E y PAZ102 -H  
internos pAZ102-X y PAZ102-Y  
**DNA : Extraído de muestras de esputo**

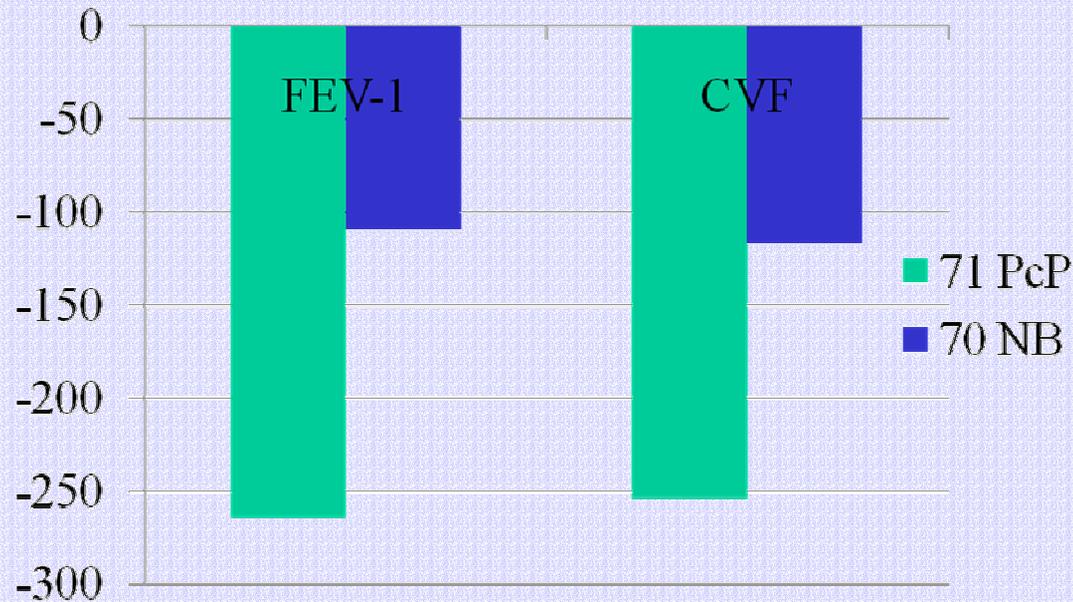
	Fumadores N= 180 (%)	No Fumadores N= 58 (%)	p
<b>Pj +</b>	34 (18,8)	3 (5,2)	0,02
<b>Pj -</b>	146 (81,2)	55 (94,8)	

variables	OR	IC 95%	p
Sexo	2,1	0,82-5,52	0,1
Edad	1,01	0,96-1,07	0,4
Tabaquismo	<b>3,6</b>	<b>1,07-12,6</b>	<b>0,03</b>
Corticoides	1,5	0,69-3,29	0,2
Linfocitos	0,51	0,24-1,06	0,07
Enfisema	0,50	0,17-1,48	0,2
FEV1%	1,01	0,95-1,08	0,6

- En hábito tabáquico constituye un factor de riesgo para la colonización por *Pj* en sujetos con EPOC.
- EL tabaco produce una disfunción del aclaramiento ciliar que podría constituir el mecanismo por el que el consumo de tabaco facilita la colonización por este microorganismo.

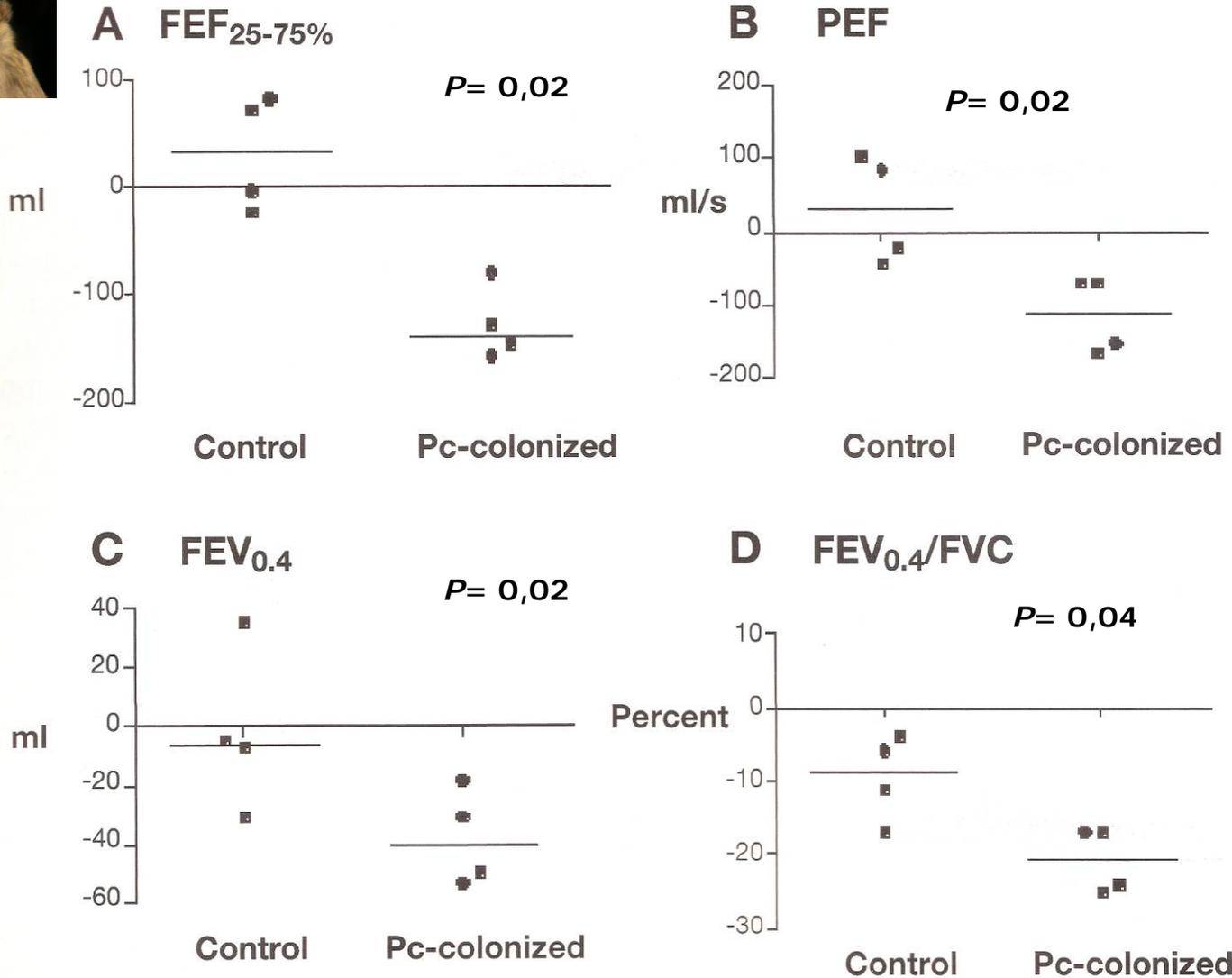
*Montes-Cano, et al. IWOP-10, Boston Mayo 2008*

Cohorte de 1149 pacientes con infección VIH  
seguidos durante una media de 3,7 años



**Perdida anual media de CVF de 71,4 ml y de FEV-1 de 39,4 ml tras un episodio de PcP**

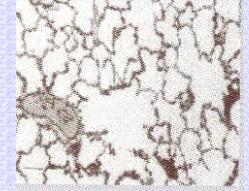
# Efecto de la colonización por *Pneumocystis* en un modelo de macacos infectados con el SHIV<sub>89.6</sub>



# Efecto de la colonización por *Pneumocystis* sobre el desarrollo de enfisema



6 meses



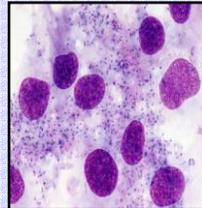
Normal



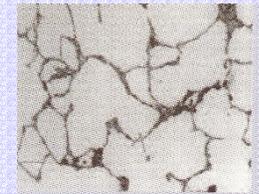
6 meses



Enfisema



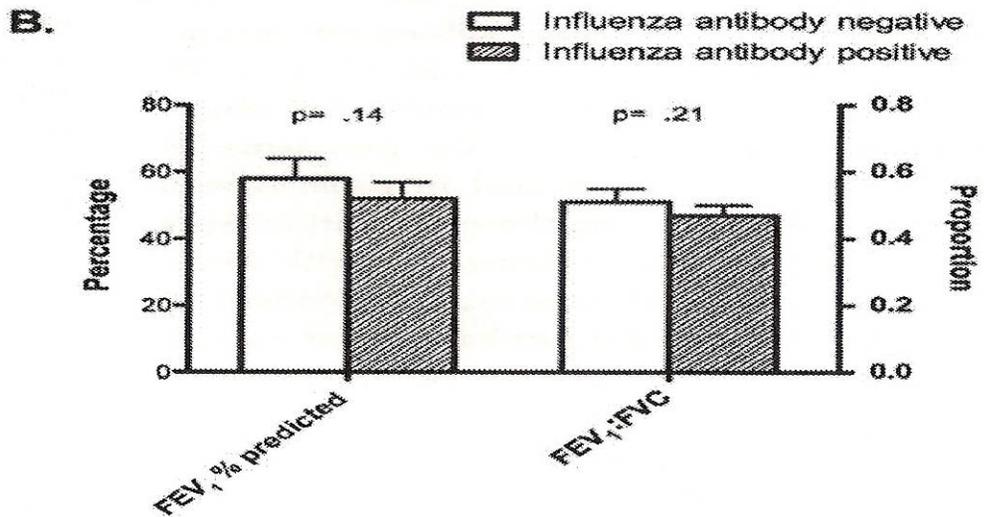
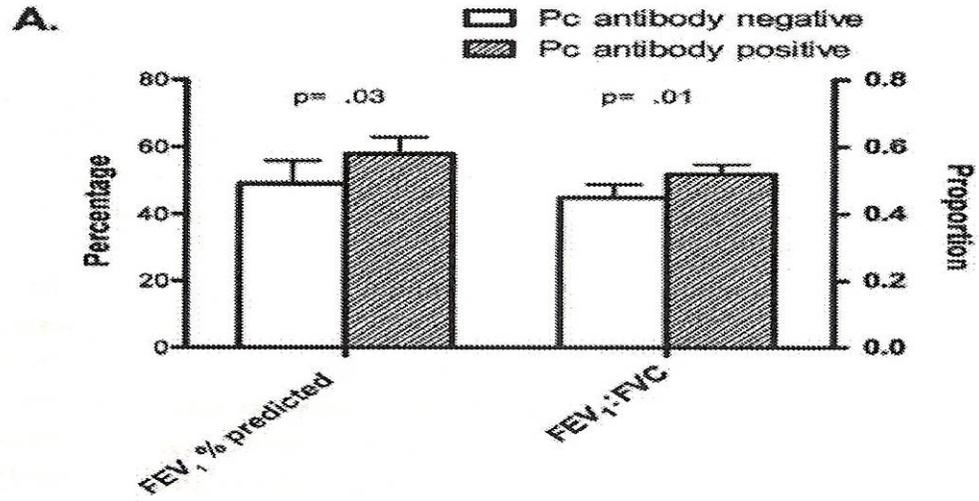
2-4 meses



Enfisema

*Christensen PJ, et al. Infect Immun 2008; 76: 3481-90*

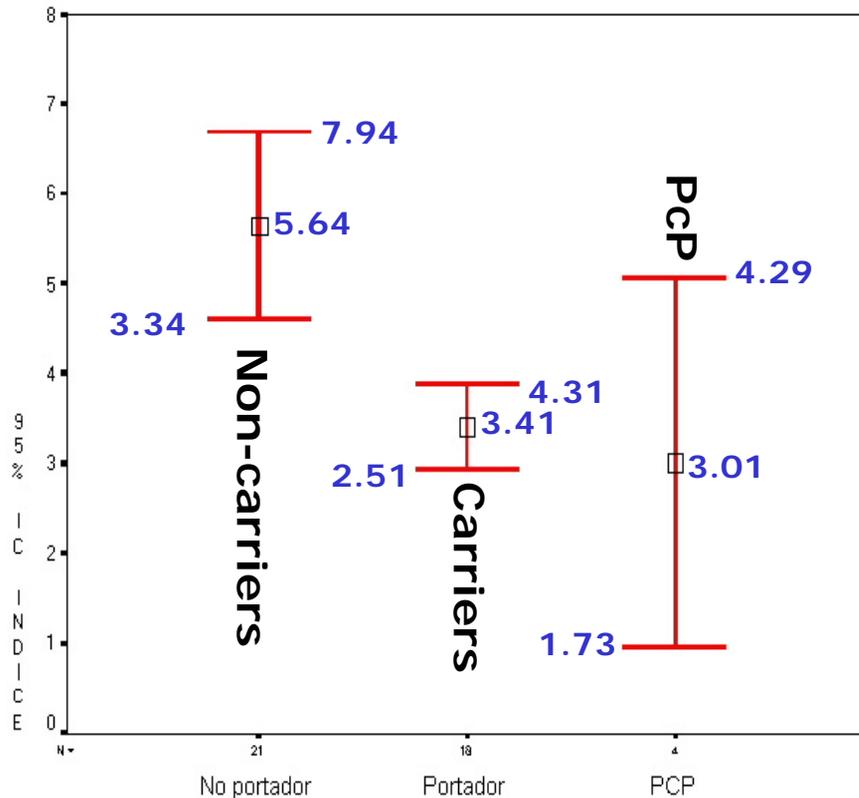
# Relación entre respuesta de anticuerpos frente a *Pneumocystis* y severidad de la EPOC



Morris A, et al. Clin Infect Dis 2008, 47: e64-8.

# Respuesta humoral frente a *Pneumocystis*

## Índice de respuesta de anticuerpos



### T-Student

- No-portadores vs portadores:  $p < 0,0001$
- No-portadores vs PcP:  $p < 0,005$
- Portadores vs PcP:  $p = 0,5$

Los datos sugieren que la situación de portador de *Pneumocystis* se puede deber, al menos en parte, a una menor capacidad de respuesta humoral

### Kruskal-Wallis test ( $p = 0.002$ )

Grupo	n	Edad *	Varón (%) *
Portadores	18	73 ± 7	72 %
No portadores	21	64 ± 17	80 %
PC neumonía	4	52 ± 26	50 %

\*Diferencias no significativas

# Evidencias que relacionan la colonización por *Pneumocystis* y la EPOC

- **Alta prevalencia de colonización en sujetos con EPOC**
- **Mayor frecuencia de colonización en fumadores y en sujetos con EPOC más grave**
- **Desarrollo de alteraciones permanentes similares al EPOC tras PcP**
- **Desarrollo de obstrucción bronquial en modelos de primates colonizados**
- **Desarrollo acelerado de enfisema en modelo de ratones expuestos al humo del tabaco**
- **Similitud de la respuesta inflamatoria pulmonar en animales colonizados con la existente en la EPOC**
- **Aumento de la respuesta inflamatoria sistémica en pacientes con EPOC colonizados**



Es necesario continuar investigando sobre este enigmático microorganismo para aportar luz sobre la interrelación que establece con el ser humano y su papel en la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica

**GRACIAS POR SU ATENCIÓN**

# Grupo de Investigación

## Hospital Universitario Virgen del Rocío



### Medicina Interna

Enrique Calderón Sandubete  
Miguel Ángel González de la Puente  
Sonia Gutiérrez Rivero  
Francisco Javier Medrano Ortega  
José Manuel Varela Aguilar  
Laura Rivero Rivero

### Neumología

José Martín Juan

### Inmunología

Marco Antonio Montes Cano  
Nieves Respaldiza Salas

### Biología Molecular

Vicente Friaza Patiño  
Carmen de la Horra Padilla  
Rubén Morilla Romero de la Osa

