



Histoplasmosis diseminada en dos pacientes infectados con el VIH

Teodoro Carrada Bravo*

RESUMEN

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) se relaciona con las infecciones oportunistas causadas por *Mycobacterium tuberculosis*, *Histoplasma capsulatum* var *capsulatum* y otros agentes fúngicos, bacterianos y virales. La histoplasmosis diseminada se registra en una de cada 5,000 a 50,000 personas infectadas, principalmente en los enfermos inmunosuprimidos y niños pequeños. Desde la descripción inicial de *H. capsulatum* en 1934, ha habido pocos casos publicados con demostración de sus levaduras en los frotis de la sangre periférica. En este trabajo se presentan dos casos clínicos de histoplasmosis diseminada. El hongo se tiñó dentro del citoplasma de los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y también en los monocitos de los frotis de sangre periférica. Se describe el cuadro clínico, la metodología diagnóstica del laboratorio y los progresos en la quimioterapia de la histoplasmosis, con revisión de publicaciones selectas relacionadas con la histoplasmosis diseminada. En los enfermos febriles con SIDA se sugiere que la búsqueda intencionada de *H. capsulatum* está indicada en los frotis de sangre periférica y de médula ósea.

Palabras clave: *Histoplasma capsulatum* var *capsulatum*, histoplasmosis diseminada, diagnóstico, quimioterapia.

ABSTRACT

Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) is associated to opportunistic infections caused by *Mycobacterium tuberculosis*, *Histoplasma capsulatum* var *capsulatum* and other fungal, bacterial and viral agents. Disseminated histoplasmosis has been recorded in one of every 5,000 to 50,000 infected people, specially immunosuppressed patients and small children. Since initial description of *H. capsulatum* in 1934, there have been few published cases of *H. capsulatum* yeasts demonstrated in the peripheral blood smear. This paper presents two clinical cases of disseminated histoplasmosis. The fungus was stained in the cytoplasm of the polymorphonuclear leukocytes, as well as into the monocytes of the peripheral blood smears. Clinical manifestations, diagnostic laboratory methodology and advances in the chemotherapy of histoplasmosis are described with a review of disseminated histoplasmosis selected publications. A careful search of *H. capsulatum* in peripheral blood and bone marrow smears seems to be warranted in examining febril AIDS-patients.

Key words: *Histoplasma capsulatum* var *capsulatum*, disseminated histoplasmosis, diagnosis, chemotherapy.

En la República Mexicana el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) se relaciona con infecciones oportunistas causadas por *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida* sp, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carinii*, citomegalovirus, *Mycobacterium avium intracellulare* y otros.^{1,2} La histoplasmosis diseminada se demostró en 3 (15%) de 20 enfermos con SIDA estudiados en la Ciudad de México;³ sin embargo, también se ha registrado en los niños.^{4,5} Desde la descripción original de *H. capsulatum*

en 1934, se han publicado alrededor de 20 casos con demostración directa del hongo en los frotis de sangre periférica, casi todos en enfermos de SIDA.^{6,7} En la República Mexicana, la gran epidemia causada por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) se propaga por los estados de Veracruz, Tabasco, Oaxaca, Guerrero, Colima y Morelos, lugares donde la histoplasmosis es endémica. Es necesario afinar el diagnóstico para descubrir los casos diseminados con el hongo en la sangre periférica y otros órganos.⁸⁻¹⁰ En este trabajo se describen dos casos clínicos de histoplasmosis diseminada, se revisó la bibliografía del tema, la metodología diagnóstica y los progresos de la terapia antimicótica.

CASOS CLÍNICOS

Caso 1

Varón de 40 años de edad, hospitalizado por haber manifestado fiebre, tos seca y disnea progresiva du-

* Infectólogo. Jefe de educación médica e investigación, Instituto Mexicano del Seguro Social. Hospital General de Zona y Medicina Familiar 2, delegación de Guanajuato.

Correspondencia: Dr. Teodoro Carrada Bravo. Calzada de los Rincones núm. 694, Col. Las Plazas, CP 36670, Irapuato, Guanajuato, México. Tel: (01-462) 625-1746. E-mail: teocamx@yahoo.com.es Recibido: octubre, 2004. Aceptado: noviembre, 2004.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

rante cuatro meses. Cuatro años antes se le diagnosticó infección por el VIH, aunque no aceptó el tratamiento ofrecido.

En la placa posteroanterior del tórax se observaron lesiones reticulonodulares difusas y bilaterales (figura 1). En el frotis delgado de sangre periférica, teñido por el método de Wright-Giemsa (WG), se apreciaron levaduras gemantes y pequeñas, dispuestas en el citoplasma de los polimorfonucleares neutrófilos (figuras 2 y 3). Los organismos uninucleados median de 3 a 4 mm y estaban rodeados de un halo periférico. El diagnóstico se confirmó al examinar el producto del lavado bronquial, teñido por un método argéntico (figura 4). En el cultivo se obtuvieron colonias miceliales blanquecinas de crecimiento lento, mismas que se incubaron a temperatura de 20 °C, se observaron hifas tabicadas y macroconidios de 8 y 15 mm, esféricos y con pared gruesa, recubiertos por tubérculos digitiformes (figura 5). En otros campos también había microconidios ovoides y piriformes de 2 a 5 mm, unidos a la hifa por un cuello estrecho. La morfología colonial y la existencia de levaduras son características del hongo dimórfico *Histoplasma capsulatum*. El

paciente se trató con anfotericina B endovenosa e itraconazol oral; hubo resolución de la fiebre y desaparecieron las lesiones pulmonares. Fue dado de alta después de cinco semanas de tratamiento, pero se le recomendó mantener el itraconazol por tiempo indefinido.

Caso 2

Varón de 35 años de edad, hospitalizado por fiebre de 38.5 °C y pérdida de peso progresiva durante tres se-

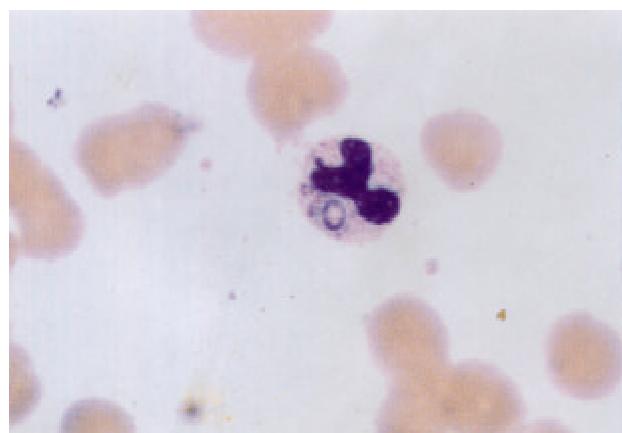


Figura 2. Frotis delgado de sangre periférica. En el centro de la preparación se ve un leucocito polimorfonuclear neutrófilo (PNN) trilobulado. En el citoplasma se aprecia una levadura azurófila y ovoide, que mide 3 mm de diámetro, rodeada por un halo tenue bien limitado. Tinción de WG x 1,000.

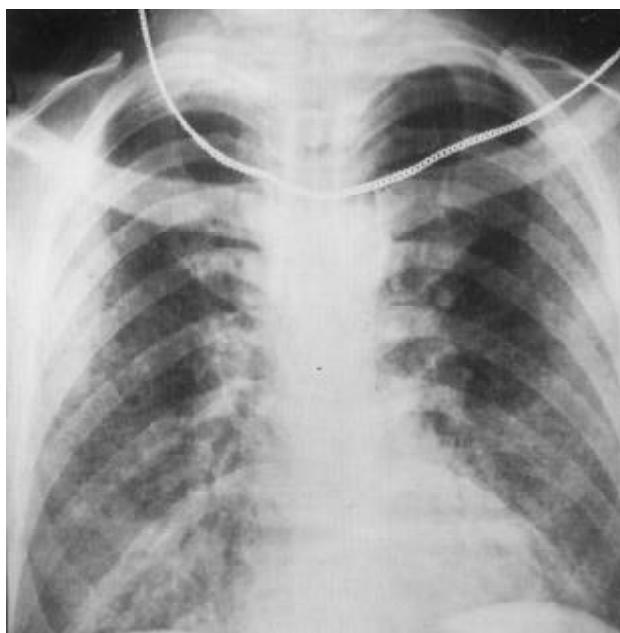


Figura 1. En la placa posteroanterior del tórax se observa el infiltrado pulmonar difuso del tipo micronodular, principalmente en las porciones hiliares y basales.

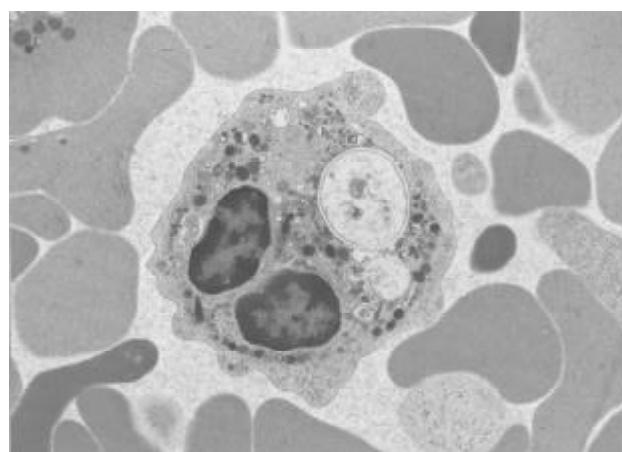


Figura 3. Microscopía electrónica de transmisión del paquete leucocitario. Se ve un PNN segmentado con gránulos primarios y características específicas. En el citoplasma se observa la levadura gemante opsonizada; la pared celular del hongo gruesa y trilaminada le permite resistir el proceso de fagocitosis. MET x 10,000.

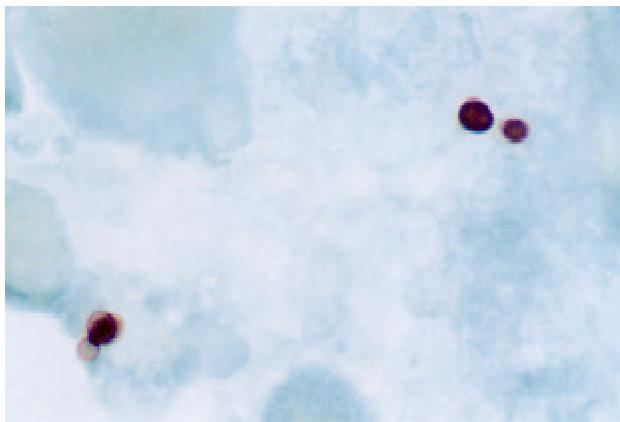


Figura 4. Examen microscópico del lavado bronquioalveolar. Se ven dos levaduras argirófilas teñidas de color marrón oscuro, se aprecia el cuello delgado y estrecho del hongo. Tinción Grocott-metenamina-plata x 1,000.

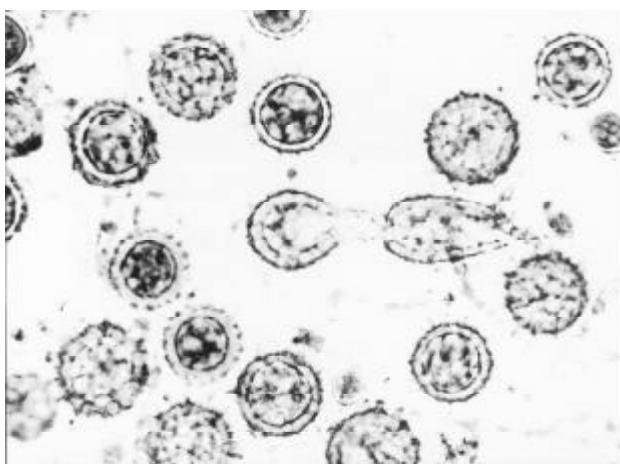


Figura 5. Estudio microscópico del microcultivo filamentoso. En la preparación se ven abundantes clamidosporas tuberculadas, esféricas u ovoides de pared muy gruesa. Esta morfología ayuda a confirmar el diagnóstico del *Histoplasma capsulatum*. Tinción de azul-lactofenol x 1,200.

manas. Cinco años atrás se le diagnosticó infección por el VIH, por lo que recibió tratamiento antirretroviral, aunque de forma irregular. No se encontraron anormalidades a la exploración física; sin embargo, en la biometría hemática se diagnosticó anemia microcítica moderada. El recuento sanguíneo de linfocitos CD4 + fue de 130 células por mililitro cúbico. Los estudios de imagenología no aportaron información nueva y los cultivos de sangre para bacterias y virus resultaron repetidamente negativos. En el proceso de hospitalización, el paciente manifestó

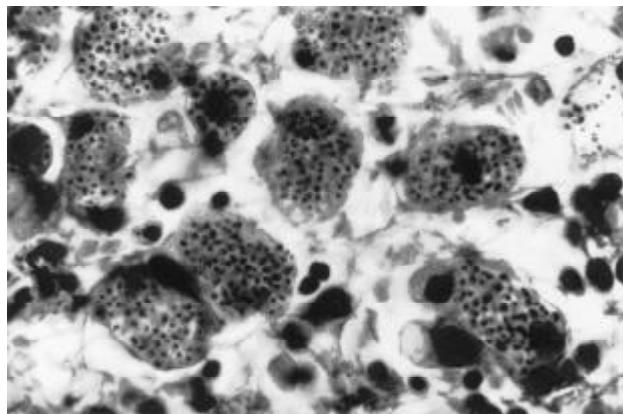


Figura 6. Frotis delgado de médula ósea. Se ven los monocitos recargados de levaduras pequeñas, intracitoplásmicas. Debe tomarse en cuenta la leishmaniasis visceral o diseminada en el diagnóstico diferencial. Tinción combinado de HE y WG x 4,000.

pancitopenia; la deshidrogenasa láctica sérica alcanzó un título de 7,200 U/L. Se practicó biopsia por aspiración de médula ósea. El estudio microscópico reveló la existencia de levaduras dentro de los monocitos (figura 6), normocelularidad relativa con hiperplasia eritroblástica, granulocitopenia e hipomegacariocitosis moderada. En el cultivo de sangre periférica se aisló *Histoplasma capsulatum* y se observaron levaduras en los frotis de sangre periférica teñidos por el método de Wright-Giemsa. El enfermo se trató exitosamente con anfotericina B endovenosa e itraconazol oral. La fiebre desapareció 10 días después de haberse iniciado el tratamiento, y fue dado de alta después de seis semanas de hospitalización.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

En el primer caso de lesiones pulmonares micronodulares, bilaterales y síndrome febril persistente, deberá tomarse en cuenta la tuberculosis miliar y las micoses profundas diseminadas, sobre todo la histoplasmosis.¹¹⁻¹³ En los estados fronterizos del norte mexicano, la coccidioidomicosis es hiperendémica,¹⁴ y en las regiones tropicales se reportan focos endémicos de la paracoccidioidomicosis, particularmente en Veracruz, Oaxaca, Guerrero y Sinaloa.¹⁵ En el cuadro 1 se resumen las enfermedades infecciosas, las tumorales y las no tumorales que deberán considerarse en el diagnóstico diferencial. Aunque la histoplasmosis pulmonar suele curar espontáneamente, los casos de reactivación

endógena son frecuentes.⁹ Las formas diseminadas graves se propagan por los pulmones, el encéfalo, la glándula suprarrenal, el bazo, el hígado, la piel y las mucosas.¹⁶⁻¹⁸ En un estudio de 18 pacientes con histoplasmosis diseminada, 17 eran latinos y casi todos tenían otras coinfecciones concomitantes, principalmente tuberculosis.¹⁹ La infección diseminada sin tratar es casi siempre mortal; no obstante, la mortalidad se redujo a sólo 7% en los enfermos tratados con anfotericina B.²⁰ En las series publicadas se observa que el examen de la médula ósea es el recurso diagnóstico más útil y sensible para encontrar las levaduras intracelulares;²⁰⁻²³ sin embargo, la demostración del hongo en sangre periférica es infrecuente.²⁴ Wheat recomienda la determinación rápida del polisacárido del hongo en la orina y en la sangre, como método de diagnóstico y seguimiento de la respuesta al tratamiento.¹³

Cuadro 1. Diagnóstico diferencial de lesiones pulmonares bilaterales y micronodulares

Infecciosas

- Tuberculosis miliar
- Histoplasmosis epidémica aguda
- Coccidioidomicosis diseminada
- Paracoccidioidomicosis
- Infección por *Pneumocystis carinii*
- Neumonitis viral
- Neumonia por *Mycoplasma* sp
- Citomegalovirus

Lesiones neoplásicas

- Carcinomatosis pulmonar
- Linfomas
- Metástasis pulmonares

Otras neumopatías infrecuentes

- Sarcoidosis
- Hemosiderosis secundaria
- Asbestosis
- Pulmón reumatoideo
- Neumoconiosis varias
- Neumonitis postradiación
- Lupus eritematoso diseminado
- Reacción postransfusional

TRATAMIENTO ANTIMICÓTICO

La histoplasmosis se ha confirmado en 5% de los enfermos con SIDA, residentes de las zonas endémicas de Norteamérica; cerca del 96% de los casos son for-

mas diseminadas que requieren un tratamiento antimicótico.²⁵

La anfotericina es un antibiótico poliéptico, que por vía oral se absorbe en menos del 5% y por vía intramuscular no se absorbe. Después de la administración endovenosa se une a las proteínas plasmáticas y tiene vida media de 24 horas. Prácticamente no cruza la barrera hematoencefálica y en el líquido cefalorraquídeo se ha medido sólo 2.5% de la dosis intravenosa. El fármaco se elimina de manera lenta; sin embargo, del 4 al 5% se excreta por los riñones.²⁶

La reacción medicamentosa más frecuente es la tromboflebitis, aunque puede evitarse al utilizar llave de dos vías, en una se coloca el antibiótico y la otra lleva solución salina que se administra a goteo lento, sirve para lavar la vena y disminuir la inflamación. Por esto, nunca debe aplicarse rápidamente. Aun cuando se administra lentamente suele haber fiebre de 40 °C, escalofríos, náuseas, vómito e hipotensión. Estos efectos se mitigan cuando, de modo preventivo, se aplican 50 a 100 mg de hidrocortisona, un antihistamínico oral y, en caso de ser necesario, aspirina u otro antipirético. El efecto más temible es la nefrotoxicidad, la cual se relaciona con una dosis mayor a 3 g/día. Es necesario medir la creatinina antes del tratamiento y repetir las mediciones. Asimismo, se describe anemia normocrómica, hipopotasemia, trombocitopenia, arritmias cardíacas e insuficiencia renal aguda.²⁶ En México se dispone del medicamento liofilizado en frasco de 50 mg, con desoxicolato sódico y fosfatos amortiguadores. La infusión endovenosa debe ser lenta y protegerse de la luz, es preferible iniciar con 1 mg en solución glucosada al 5%, hasta completar un máximo de 5 mg/día, administrados en seis horas. La concentración recomendada para la solución endovenosa es de 0.1 mg/mL. Al preparar las soluciones, deben leerse las recomendaciones del fabricante. No debe aplicarse junto con otros fármacos nefrotóxicos y, en todo momento, deberá mantenerse al paciente bien hidratado.²⁷

A pesar de la toxicidad potencial del fármaco, la anfotericina B es muy efectiva para el manejo inicial de la histoplasmosis. En dos series de 32 enfermos tratados, ninguno de los que recibieron 500 mg de anfotericina B murió de histoplasmosis.²⁸ El 75% obtuvo mejoría clínica y disminución significativa de la fiebre durante la primera semana de tratamiento, aun-

antes de la administración de 250 mg de anfotericina B.^{18,25} Las fallas terapéuticas ocurrieron, sobre todo, en los pacientes graves que se trataron tarde, o en aquellos con ataque del sistema nervioso central.^{29,30} A pesar de la efectividad antifúngica de la anfotericina B, las recaídas ocurren en 80% después de 6 a 18 meses de haberse descontinuado el medicamento;^{30,31} por ello, debe agregarse un segundo tratamiento con itraconazol oral a razón de 200 a 400 mg/día, durante dos semanas. Este fármaco triazólico interfiere con la actividad del citocromo P-450, producto necesario para la desmetilación de los 14-alfa-metilesteroles a ergosterol, y daña selectivamente la membrana celular del histoplasma. Se absorbe rápidamente del tubo digestivo y se une a las proteínas plasmáticas, se metaboliza en el hígado para formar el hidroxiitraconazol, que también es un metabolito activo. El medicamento deberá tomarse con los alimentos, no obstante que las reacciones adversas son poco frecuentes: somnolencia, cefalea, y rara vez se describe agranulocitosis, hipopotasemia y disfunción hepática. El itraconazol está contraindicando en quienes estén tomando terfenadina, cisaprida o astemizol. En México existen presentaciones en cápsulas de 100 mg, pero no hay preparados para niños.²⁶

En Estados Unidos se maneja la anfotericina liposomal, producto menos tóxico y aparentemente más eficaz, aunque por desgracia es muy caro.³²

DISCUSIÓN

En México la histoplasmosis es endémica; no obstante, los casos diagnosticados y publicados son escasos.^{3,8,12,17} Este fenómeno obedece al desconocimiento generalizado de las micosis profundas, la carencia de micólogos y laboratoristas clínicos preparados y al retraso grave en la investigación micológica regional.^{9,12} Esta situación explicaría por qué los casos diseminados se diagnostican casi siempre en las necropsias, con daño grave a la salud de los pacientes.^{4,5} Con el fin de corregir estas deficiencias, es necesario motivar a los médicos y patólogos clínicos y fomentar la enseñanza e investigación de las micosis endémicas en la clínica diaria y en el laboratorio. Esta tarea es fundamental en los consultorios de medicina interna, pediatría, hematología, epidemiología y medicina familiar. La histoplasmosis es una enfermedad frecuente,

potencialmente incapacitante y mortífera, que puede tratarse exitosamente al usar los recursos disponibles, al alcance de todos los hospitales y médicos, deseosos de aprender y de abatir los errores iatrogénicos. Al personal de salud pública y a las universidades les corresponde retomar vigorosamente la tarea inconclusa del Dr. A. González Ochoa, quien se esforzó para dar a conocer la importancia de la histoplasmosis dentro de las enfermedades que afectan a los mexicanos.¹²

La sospecha clínica debe mantenerse alta en quienes trabajan con enfermos inmunodeprimidos y niños malnutridos o débiles. *H. capsulatum* var *capsulatum* crece, principalmente, en cuevas llenas de guano de murciélagos, en los gallineros y en los excrementos de pájaros negros y aves marinas.^{8,9} No es posible erradicar el hongo de su medio natural, pero sí puede hacerse el diagnóstico temprano e iniciar la terapia de inducción con anfotericina B, seguida del tratamiento de mantenimiento con el itraconazol, ambos fármacos son eficaces y de bajo costo.^{1,3,25,30} Por esta razón se escribió este trabajo, a fin de que motive a los médicos jóvenes y estudiosos para que no se resignen a ejercer la práctica clínica irreflexiva, sin fundamento científico y nociva para el enfermo.^{31,32}

Agradecimientos

Este trabajo no hubiera sido posible sin el apoyo generoso de mi gentil amigo el profesor Dr. L. Joseph Wheat, investigador distinguido de la escuela de medicina en la Universidad de Indiana, Indianápolis. Él me proporcionó acceso a sus publicaciones originales acerca de la histoplasmosis, tema en el que ha trabajado durante más de 25 años. Le reitero mi agradecimiento profundo y sentimiento de amistad sincera.

REFERENCIAS

1. García-García ML, Valdespino-Gómez JL, García-Sancho MC, Salcedo-Álvarez RA, Zacarias F, Sepúlveda-Amor J. Epidemiology of AIDS and tuberculosis. Bull Pan Am Health Organ 1995;29:37-58.
2. López MR. Las micosis en la era del SIDA. Rev Med IMSS 2000;38:421-3.
3. Hernández-Hernández F, Córdoba-Martínez E, Manzano-Gayosso P, López-Álvarez R, Bazan-Mora E, López-Martínez R. Frecuencia de micosis en pacientes inmunosuprimidos de un hospital regional de la ciudad de México. Salud Pública Mex 2003;45:455-60.
4. Ramón-García G, Peña-Alonso R, Ontiveros-Nevares PG. Histoplasmosis diseminada en niños. Bol Med Hosp Infant Mex 1993;50:870-5.
5. Braun RG, Ridaura SC, Medina EG, De León BB. Histoplasmosis

diseminada: presentación de cuatro casos. *Patología (Mex)* 1991;29:56-58.

6. Tomita T, Chiga M. Disseminated histoplasmosis in acquired immunodeficiency syndrome. Light and electron microscopic observations. *Human Pathol* 1988;19:438-41.
7. Domínguez JM, Serrí K. Disseminated histoplasmosis in a patient with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 2002;346:2061.
8. Vaca-Marin MA, Martínez-Rivera MA, Flores-Estrada JJ. Histoplasmosis en México. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 1998;11:208-15.
9. Carrada-Bravo T, Rocha-Galindo A, Ovalle-Castro JW, Ricardo-Barajas JL, Corrales-Sánchez DF, Corrales-Sánchez JS. El espectro clínico epidemiológico de la histoplasmosis pulmonar: avances recientes y perspectivas. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 1996;9:206-13.
10. Casanova-Cardiel LJ, Ruíz-Ordaz I. *Histoplasma capsulatum* en sangre periférica de pacientes con SIDA. Informe de cuatro casos con elevación de deshidrogenasa láctica. *Rev Inv Clin* 1993;45:67-70.
11. Zumla A, Squire SB, Chintu C, Grange JM. The tuberculosis pandemic: implications for health in the tropics. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999;93:113-7.
12. González-Ochoa A, Felix D. Distribución geográfica de la reactividad cutánea a la histoplasmina en México. *Rev Invest Salud Pública* 1971;31:74-77.
13. Wheat JL, Kohler R, Tewari R. Diagnosis of disseminated histoplasmosis by detection of *Histoplasma capsulatum* antigen in serum and urine specimens. *N Engl J Med* 1986;314:83-88.
14. Carrada-Bravo T. La coccidioidomicosis pulmonar y sistémica. Avances recientes y perspectivas. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 1996;9:70-83.
15. Carrada-Bravo T. La infección pulmonar y sistémica causada por el *Paracoccidioides brasiliensis*. Avances recientes y perspectivas. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 1996;9:288-315.
16. Reyes M, Arenas R, Pichardo P, Vick R, Torres A, Zacarias R. Histoplasmosis cutánea y SIDA. *Gac Med Mex* 2003;139:270-5.
17. Bonifaz A, Cancela R, Novales J, Montes de Oca G, Navarrete G, Romo J. Cutaneous histoplasmosis associated with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) *Int J Dermatol* 2000;39:30-31.
18. Wheat JL, Sarosi G, Mc Kinsey D, Hamill R, Bradsher R, Johnson P, et al. Practice guidelines for the management of patients with histoplasmosis. *Clin Infect Dis* 2000;30:688-95.
19. Salsman SH, Smith RL, Aranda CP. Histoplasmosis in patients at risk for the acquired immunodeficiency syndrome in a nonendemic setting. *Chest* 1988;93:916-31.
20. Reddy P, Gorelick DF, Brasker CA, Larsh H. Progressive disseminated histoplasmosis as seen in adults. *Am J Med* 1970;48:629-36.
21. Kauffman CA, Israel KS, Smith JW, White AC, Schwarz J, Brooks GF. Histoplasmosis in immunocompromised patients. *Am J Med* 1978;64:932.
22. Goodwin RA Jr, Shapiro JL, Thurman GH, Thurman SS, Des Pez RM. Disseminated histoplasmosis: clinical and pathological correlations. *Medicine (Baltimore)* 1980;59:1-33.
23. Reynolds RJ III, Penn RL, Grafton WD, George RB. Tissue morphology of *Histoplasma capsulatum* in acute histoplasmosis. *Am Rev Respir Dis* 1984;130:317-20.
24. Edelman M, McKittrick J. *Histoplasma capsulatum* in peripheral blood smear. *N Engl J Med* 2000;342:28-29.
25. Mc Kinsey DS, Gupta MR, Riddler SA, Drinks MR, Smith DL, Kurtin PJ. Long-term amphotericin B therapy for disseminated histoplasmosis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Ann Intern Med* 1989;111:655-9.
26. Arenas R. *Micología médica ilustrada*. México: McGraw-Hill Interamericana, 1993;pp:359-76.
27. Rodríguez-Carranza R. *Vademécum académico de medicamentos*. 3^a ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 2000;pp:66-67.
28. Nightingale SD, Parks JM, Pounds SM, Burns DK, Reynolds J, Hernández JA. Disseminated histoplasmosis in patients with AIDS. *South Med J* 1990;83:624-30.
29. Wheat JL, Chetchotisakd P, William B, Connolly P, Shutt K, Hajek R. Factors associated with severe manifestations of histoplasmosis in AIDS. *Clin Infect Dis* 2000;30:877-81.
30. Wheat JL, Connolly PA, Baker RL, Curfman MF, Eads ME, Israel KS, et al. Disseminated histoplasmosis in the acquired immune deficiency syndrome: clinical findings, diagnosis and treatment, and review of the literature. *Medicine* 1990;69:361-74.
31. Wheat J, Hafner R, Wulfsohn M, Spencer P, Squires K, Powderly W, et al. Prevention of relapse of histoplasmosis with itraconazole in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1993;118:610-6.
32. Graybill JR. Lipid formulations for amphotericin B: does the emperor need new clothes. *Ann Intern Med* 1996;124:921-2.