

# RESPUESTA INMUNOLOGICA MEDIADA POR CELULAS EN LA LEISHMANIASIS CUTANEA AMERICANA HUMANA

Dra. Marianella Castés\*

La leishmaniasis es causada por un protozoo del género *Leishmania*, que es endémico en prácticamente todos los países de la América tropical. La Leishmaniasis Cutánea Americana (LCA) se presenta en tres formas clínicas generales, que Convit y Col.<sup>1,2</sup> han descrito como un espectro clínico e inmunológico. El polo benigno conformado por la leishmaniasis cutánea localizada (LCL) se caracteriza por lesiones dérmicas ulceradas limitadas, simples y ocasionalmente múltiples, que después de un período variable de tiempo de meses o años regresan espontáneamente o con tratamiento.<sup>3</sup> Parásitos de ambos subgéneros: **Leishmania** y **Viannia** son responsables de esta forma de la enfermedad. Las lesiones se caracterizan por un infiltrado de células mononucleares y la presencia de pocos amastigotes. La respuesta inmunológica mediada por células (IMC) evaluada tanto in vivo mediante la prueba cutánea de Montenegro, como in **vitro** mediante la técnica de

transformación linfoblástica en respuesta a antígenos de *Leishmania*, es positiva en prácticamente todos los pacientes.<sup>4</sup>

El polo difuso, o leishmaniasis cutánea difusa (LCD), se caracteriza por la presencia de nódulos no ulcerados, ricos en parásitos y a menudo diseminados por toda la superficie cutánea, con tendencia a la cronicidad de las lesiones. En estos pacientes se observa una marcada tendencia a recidivas después de una terapia adecuada. En todos los casos los parásitos del sub-género **Leishmania** han sido implicados como el agente causal.<sup>5</sup> En esta forma de la enfermedad se observan granulomas diseminados con macrófagos vacuolizados repletos de amastigotes y pocos linfocitos. La IMC evaluada tanto in vivo como in vitro está ausente.<sup>4</sup>

El área intermedia del espectro comprende lesiones mucosas y verrugosas. Las lesiones de la leishmaniasis cutánea mucosa (LCM) usualmente se presentan al inicio como úlceras cutáneas localizadas que regresan, pero un número de años después reaparecen en las

membranas mucosas, orales, nasales, faríngeas o laríngeas, causando gran daño histológico, anatómico y ruptura funcional del tejido. Se observa resistencia frente a los tratamientos convencionales y recidivas después de este. Parásitos del sub-género **Viannia** han sido reconocidos como el principal agente causal de la LCM.<sup>5</sup> Las lesiones se caracterizan por un fuerte infiltrado de células mononucleares, con muy escasos parásitos en ellas. Exageradas reacciones de IMC se han reportado en estos pacientes.<sup>4,6</sup>

Los modelos murinos han sido utilizados intensamente para investigar las respuestas inmunológicas asociadas con la leishmaniasis cutánea experimental.<sup>7,8</sup> Aunque no existe el equivalente murino de la LCM humana, está totalmente aceptado que las lesiones localizadas en ratones resistentes que curan sus lesiones, se asocian con la estimulación de subpoblaciones de células T CD4+ tipo Th1, que secretan interferón/gamma (INF- $\gamma$ ) e interleuquina 2 (IL-2). Mientras que la subpoblación Th2 que produce IL-4 e IL-5 acompaña a las formas diseminadas no cu-

\* Profesor Titular, Cátedra de Fisiopatología, Escuela J.M. Vargas. Co-Coordinador Laboratorio Inmunopatología, Instituto de Biomedicina, Apdo. 4043, Caracas, Venezuela.

rativas de la enfermedad en ratones susceptibles.<sup>9</sup>

### MODELO SOBRE LA RELACION PARASITO - RESPUESTA INMUNOLOGICA DEL HOSPEDADOR

Estudios previos en la LCA humana basados principalmente en reacciones de hipersensibilidad tardía y evaluaciones clínicas e histopatológicas, han indicado que en la infección humana la resistencia está claramente asociada al desarrollo de una respuesta inmunológica celular específica en la LCL,<sup>10-11</sup> la cual parece estar completamente ausente en la LCD.<sup>12</sup> Aunque tales respuestas están presentes en la LCM, ésta no parece ser adecuada para controlar la enfermedad y más aún puede contribuir a su patología. Toda esta situación hacía necesario un estudio profundo de caracterización de la respuesta inmunológica mediada por células y de su regulación en los diferentes grupos de pacientes con LCA, lo cual nos permitiera comenzar a delinear un modelo sobre la relación parásito-respuesta inmunológica del hospedador en la LCA.

En estudios previos<sup>13,14</sup> demostramos que pacientes con LCD adolecen de una respuesta de IMC tanto *in vivo* como *in vitro* frente a los antígenos de **Leishmania**, y que sus células mononucleares no eran capaces de expresar el receptor para la IL-2, ni de producir INF- Y en respuesta al antígeno leishmánico, aunque si realizaban ambas funciones en respuesta a un mitógeno como la fitohemaglutinina (PHA).

En un trabajo más reciente<sup>15</sup> comprobamos que estos pacientes además de no producir INF- Y, tampoco secretaban IL-2 en respuesta al antígeno de **Leishmania**. Ya que estos pacientes son capaces de producir ambas citoquinas en respuesta a otro antígeno específico como el PPD y a la PHA, su defecto parece ser altamente específico para el parásito **Leishmania**. En contraste todos los pacientes con LCD evaluados tenían niveles significativos, y en

algunos casos muy elevados, de IL5, y ninguno de ellos fue capaz de producir simultaneamente IL-5 e INF- Y.

Una alta proporción (52%) de estos pacientes tenían niveles séricos significativos, aunque moderados, de TNF- a como también ha sido demostrado por Pisa y col,<sup>16</sup> los cuales no parecen contribuir a la curación de las lesiones en ausencia de una respuesta funcional de células T. Una moderada proporción (39%) de los pacientes con LCD presentan niveles séricos significativos del receptor soluble para la IL-2 (rsIL-2). Es posible que el rsIL-2 esté jugando en estos pacientes un papel en la supresión de la respuesta de células T, como ha sido demostrado en pacientes con leishmaniasis visceral.<sup>17</sup> Nuestros resultados tomados todos en conjunto (ver Figura) nos permiten concluir que en los pacientes con LCD hay un predominio de las citoquinas tipo Th2, como predicho por el modelo experimental, que pueden regular negativamente los mecanismos efectores anti-**Leishmania** mediados por las citoquinas tipo Th1 (IL-2 e INF- Y), lo cual conduce a que estos pacientes sean incapaces de controlar la infección. Resultados similares han sido reportados por Cáceres-Dittmar<sup>18</sup> utilizando la técnica de PCR.

En el extremo benigno del espectro se ubican los pacientes con LCL. Estudios previos<sup>4,13,14</sup> han demostrado que estos pacientes presentan respuestas proliferativas frente a los antígenos de **Leishmania**, junto a un aumento significativo en la expresión del receptor para la IL-2 y producción de INF- y luego de exposición de sus células mononucleares tanto al antígeno de **Leishmania** como a la PHA. Sin embargo, estas respuestas aunque positivas eran significativamente menores que en los pacientes con LCM. En un estudio más reciente<sup>15</sup> confirmamos que una alta proporción (77%) de estos pacientes producen niveles significativos de

INF- Y en respuesta no solo al antígeno de **Leishmania** y la PHA sino también al PPD. Sin embargo, sólo la mitad de ellos (38%) producía ambas citoquinas (IL-2 e INF- Y). Aunque es posible que exista un defecto en la producción de IL-2 en estos pacientes, esto no parece probable considerando su buena respuesta a la terapia<sup>19</sup> y el hecho de que una proporción de ellos puede curar espontáneamente.<sup>3</sup> Parece más probable que la IL-2 sea producida, e inmediatamente consumida, por ejemplo en la producción de INF- Y, tal y como ha sido reportado.<sup>20</sup> Esto también se confirma por el hecho de que una alta proporción de estos pacientes (63%) producen rsIL-2, lo cual es el reflejo de un estado de activación inmune. Es importante señalar que estos pacientes tienen los niveles más bajos de IL-5, comparado con los pacientes con LCD y LCM. Una proporción (38%) de los pacientes con LCL también producen niveles significativos de TNF- a, es posible que en estos pacientes esta citoquina participe en la curación de las lesiones, tal y como ha sido demostrado.<sup>21</sup> Nuestros resultados sugieren que los pacientes con LCL se caracterizan por un patrón de citoquinas tipo Th1 (ver Figura), tal y como ha sido demostrado para las formas curativas en el modelo experimental murino. Nuestros resultados coinciden con los de Cáceres-Dittmar,<sup>16</sup> ya que estos autores observan mediante PCR una baja expresión de IL-5 en algunos pacientes con LCL.

Con respecto a los pacientes con LCM, que conforman el área intermedia del espectro, previamente demostramos<sup>4,13,14</sup> en estos pacientes una fuerte respuesta linfoproliferativa frente al antígeno de **Leishmania**, y un aumento significativo de los receptores para la IL-2 que era mucho mayor en las células mononucleares estimuladas con antígeno leishmánico, que bajo estimulación mitogénica con PHA. Recientemente<sup>15</sup> hemos demostrado que una alta proporción de estos pacientes con LCM eran capaces de pro-

ducir INF-  $\gamma$  (81%) e IL-2 (62%) en respuesta al antígeno de Leishmania, así como al PPD y a la PHA. Los mismos pacientes que producían tanto IL-2 como INF-  $\gamma$  en respuesta al antígeno leishmánico, también producían niveles séricos elevados de IL-5. El 94% de los pacientes con LCM producían ambas citoquinas: IL-5 e INF-  $\gamma$

También reportamos<sup>15</sup> que un 64% de los pacientes con LCM tenían niveles séricos significativamente más elevados de TNF-  $\alpha$  que las otras dos formas clínicas de LCA. Liew y Cox<sup>21</sup> han demostrado que el INF-  $\gamma$  activa a los macrófagos para producir otras citoquinas, tales como el TNF-  $\alpha$  y la IL-1 y que juntas pueden inducir a los macrófagos a eliminar no específicamente a los patógenos. Sin embargo, una sobreproducción de estas citoquinas puede ser extremadamente dañina a menos que sean cuidadosamente controladas. Se ha demostrado que el TNF-  $\alpha$  es responsable de la patología asociada con la malaria cerebral.<sup>22</sup> Un 64% de los pacientes con LCM fueron positivos tanto para TNF-  $\alpha$  como para el INF-  $\gamma$ . Con respecto al rsIL-2 más del 60% de los\* pacientes con LCM producían niveles significativos de este receptor, lo cual es probablemente el reflejo de una activación inmunológica bajo la presión sostenida de una carga parasitaria.

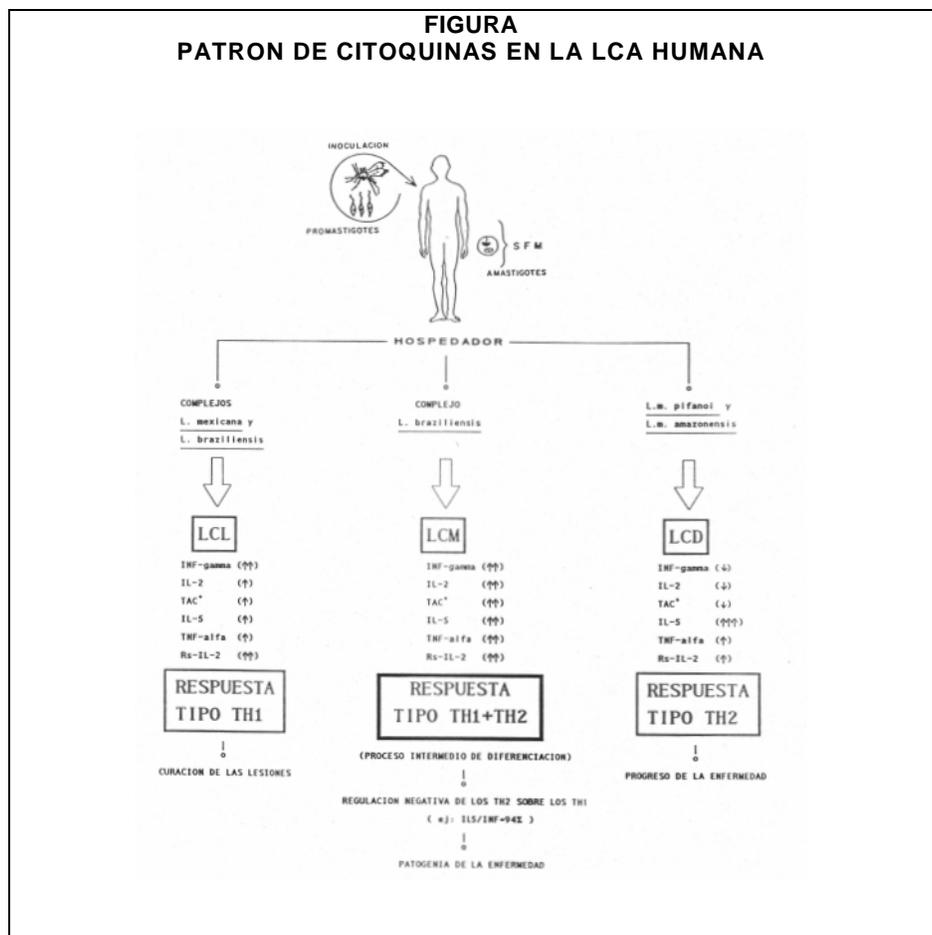
Nuestros resultados sugieren que el patrón de citoquinas de los pacientes con LCM es una mezcla de tipo Th1 y Th2 (ver Figura). Sugerimos que cuando ambos tipos de citoquinas son producidas, la respuesta tipo Th2 puede predominar sobre la tipo Th1 y que la enfermedad se puede mantener en un estado crónico. No parece probable que los pocos parásitos presentes puedan ser la causa directa del daño intenso que se observa en las membranas de las mucosas en esta forma de la enfermedad.

En conclusión, se plantea un modelo sobre la relación parásito-respuesta inmunológica del hospede-

ador en base al patrón de citoquinas mostrado por los pacientes con LCA (ver Figura). El conjunto de nuestras investigaciones sugiere que el patrón de citoquinas que presentan los pacientes con LCL, la forma benigna y curativa de la enfermedad, es un patrón tipo Th1, lo cual conduce a la curación de las lesiones en estos pacientes, ya sea espontáneamente o luego de una terapia apropiada.<sup>19</sup> Las formas diseminadas de los pacientes con LCD, resistentes a la quimioterapia, se caracterizan por un patrón de citoquinas tipo Th2, probablemente responsable de que estos pacientes sean incapaces de controlar la infección, lo cual conduce a la diseminación del parásito por toda la superficie cutánea. En el área intermedia se encuentran los pacientes con LCM, con lesiones destructivas de las mucosas orales y nasofaríngeas, con tendencia a la cronicidad. Estos

pacientes no responden bien a la quimioterapia y tienen una alta tasa de recidivas. Se caracterizan por un patrón de citoquinas mixto tipo Th1 y Th2 que coexisten simultáneamente. Esta situación puede ser la responsable de la no resolución de la enfermedad en estos pacientes, ya que cuando ambos tipos de citoquinas se producen es posible que las citoquinas tipo Th2 predominen sobre las tipo Th1. Por ejemplo la IL-4 puede reducir la efectividad del INF-  $\gamma$ . Las diferencias en el perfil de citoquinas pueden ser responsable de las distintas formas inmunopatológicas que se observan en las tres formas clínicas de LCA, y es un buen ejemplo de cómo los parásitos pueden estimular una regulación negativa de las citoquinas y emplear las actividades biológicas de las citoquinas del hospedador para promover su propia sobrevivencia.

**FIGURA**  
**PATRON DE CITOQUINAS EN LA LCA HUMANA**



## AGRADECIMIENTOS

El conjunto de nuestros trabajos fueron financiados con proyectos UNDP/World Bank/WHO Special Program for Research and Training in Tropical Diseases (Grants ID-880178, ID 930102), CONICIT S1-2313 y CDCH (M.10.11.2024/90).

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Convit J, Pinardi ME. Cutaneous leishmaniasis. The clinical and immunopathological spectrum in South America. In: Trypanosomiasis and Leishmaniasis with special reference to Chagas' disease. Amsterdam. Ciba Foundation Symposium 20. Elsevier. Excerpt Med, North Holland. 1974, pp. 159-66.
- 2.- Convit J, Ulrich M, Fernández CT, Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G, Castés M, Rondón AJ. The clinical and immunological spectrum of American cutaneous leishmaniasis. *Trans Soc Trop Med Hyg.* 1993; 87 (en prensa).
- 3.- Costa JML, Netto EM, Vale KC, Osaki NK, Tada MS, Marsden PD. Spontaneous healing of cutaneous *Leishmania braziliensis braziliensis* ulcers. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 1987; 81: 606.
- 4.- Castés M, Agnelli A, Verde O, Rondón AJ. Characterization of the cellular immune response in American cutaneous leishmaniasis. *Clin Immunol Immunopathol.* 1983; 27: 176.
- 5.- Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. The leishmaniasis vol 1. Academic press INC (London). 1987; pp. 1-120.
- 6.- Carvalho EM, Johnson WD, Baneto E, Marsden PD, Costa JLM, Reed S, Rocha H. Cell mediated immunity in American cutaneous leishmaniasis. *J Immunology.* 1985, 153: 4144.
- 7.- Scott P, Natovitz P, Coffmann RL, Pearce E, Sher A. Immunoregulation of cutaneous leishmaniasis. T cell lines that transfer protective immunity or exacerbation belong to different helper subsets and respond to distinct parasite antigens. *J Exp Med.* 1988; 168: 1675
- 8.- Heinzel FP, Sadick MD, Holaday BJ, Coffman RI, Locksley RM. Reciprocal expression of interferon- of interleukin-4 during the resolution or progression of murine leishmaniasis. *J Exp Med.* 1989; 169: 59-72.
- 9.- Locksley RM, Scott P. Helper T cell subsets in mouse leishmaniasis: induction, expansion and effector function. *Immunoparasitol.* 1991; 12: 58.
- 10.-Preston P, Dumonde D. Immunology of clinical and experimental leishmaniasis. In: immunology of parasitic infection, (eds S. Cohen and EH Sadum). Blackwell Scientific, Oxford. 1976; pp. 167.
- 11.-Preston P, Dumonde D. Experimental cutaneous leishmaniasis. V. Protective immunity in subclinical and self-healing infections in the mouse. *Clin Exp Immunol.* 1976; 2: 126.
- 12.-Convit J, Pinardi ME, Rondón AJ. Diffuse cutaneous leishmaniasis: a disease due to an immunological defect of the host. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1972; 66: 603-10.
- 13.-Castés M, Agnelli A, Rondón AJ. Mechanisms associated with immunoregulation in human American cutaneous leishmaniasis. *Clin Exp Immunol.* 1984; 57: 279.
- 14.-Castés M, Cabrera M, Trujillo D, Convit J. T-cell subpopulations, expression of interleukin-2 receptor and production of interleukin-2 and interferon-  $\gamma$  in human American cutaneous leishmaniasis. *J Clin Microbiol.* 1987; 26: 1207.
- 15.-Castés M, Cabrera M, Trujillo D, Scott D, Blackwell J, Convit J. Cytokine profile in patients with American cutaneous leishmaniasis: Th1/Th2 responses. (en prensa). 1994.
- 16.-Pisa P, Gennone M, Soder O, Otthenhoff M, Hansson M, Kiessling R. Serum tumor necrosis factor levels and disease dissemination in leprosy and leishmaniasis. *J Inf Dis.* 1990; 161: 988.
- 17.-Barral-Netto M, Barral A, Santos SB, Carvalho EM, Badaro R, Rocha H, Reed SG, Johnson WD. Soluble IL-2 receptor as an agent of serum-mediated suppression in human visceral leishmaniasis. *J Immunol.* 1991, 147: 281.
- 18.-Cáceres-Dittmar G, Tapia FJ, Sánchez MA, Yamamura M, Uyemura K, Modlin RL, Bloom BR, Convit J. Determination of the cytokine profile in American cutaneous leishmaniasis using the polymerase chain reaction. *Clin Exp Immunol.* 1993; 91: 500-5.
- 19.-Convit J, Castellanos PL, Rondón AJ, Pinardi ME, Ulrich M, Castés M, Bloom BR, García L. Immunotherapy versus chemotherapy in localized cutaneous leishmaniasis. *The Lancet.* 1987; 21: 401.
- 20.-Vilcek J, Henriksen-Destefano D, Siegel D, Klion A, Robb RJ, Le J. Regulation of INF-  $\gamma$  induction in human peripheral blood cell by exogenous and endogenously produced interleukin-2. *J Immunol.* 1985; 135: 1851.
- 21.-Liew FY, Cox FEG. Non-specific defense mechanism: the role of nitric oxide. *Immunoparasitol Today.* 1991; 12: 17.
- 22.-Grau GE, Fajardo LF, Piquet PF, Allet B, Lamben PH, Passali P. Tumor necrosis factor (cachectin) as an essential mediator in murine cerebral malaria. *Science.* 1987; 237: 1210.