

Avances recientes en lepra y leishmaniasis

Marian Ulrich, Ph.D. (*)

(*) Instituto Nacional de Dermatología.

INTRODUCCION

Frecuentemente la selección de los aspectos más resaltantes de un tema refleja los intereses del expositor de una manera desproporcionada. En este trabajo, haré énfasis en los aspectos inmunológicos de lepra y leishmaniasis, sin subestimar otros aspectos de interés evidente, pero difíciles de desarrollar adecuadamente en una exposición corta.

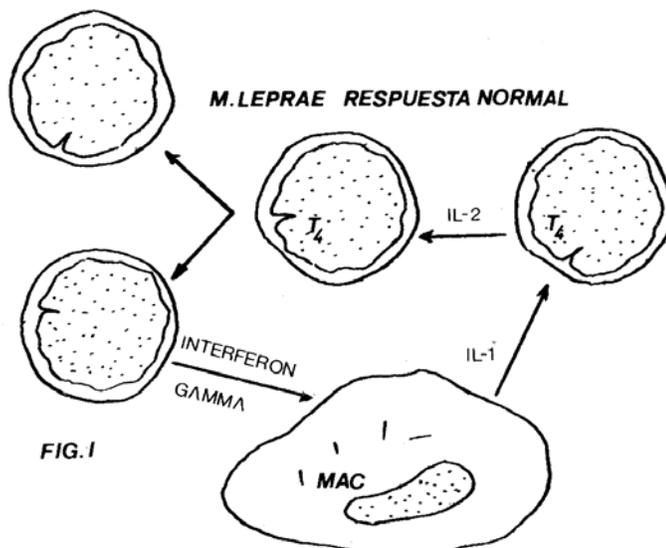
La mayoría de los avances recientes en lepra refleja una orientación inmunológica en las investigaciones, debido a la importancia fundamental de la respuesta inmunológica del huésped en las manifestaciones clínicas e histopatológicas de su enfermedad. Estudios en diferentes centros han proporcionado una serie de observaciones que permiten visualizar los mecanismos inmunológicos normales frente a *Mycobacterium leprae*. Estos estudios también señalan las alteraciones en esta respuesta en los pacientes lepromatosos, incapaces de desarrollar una respuesta adecuada de inmunidad mediada por células frente al microorganismo. Las investigaciones se concentran en las subpoblaciones de linfocitos timo-dependientes que intervienen en la respuesta y en los mediadores biológicos que permiten la interacción entre estas células y los macrófagos, con la subsecuente proliferación del componente

linfocitario y activación del componente macrofágico.

La respuesta inmunológica normal frente a *M. leprae* está indicada en una forma esquemática en la figura 1. Los macrófagos presentan antígenos de *M. leprae* a una subpoblación de linfocitos timo-dependientes, identificados como linfocitos cooperadores, T_4 , por un anticuerpo monoclonal específico. Simultáneamente los macrófagos sintetizan interleuquina 1 (IL-1), mediador soluble que permite la activación de los linfocitos T_4 . En seguida, los linfocitos cooperadores sintetizan interleuquina 2 (IL-2), otro mediador que permite la expansión de la población linfocitaria capaz de reaccionar específicamente frente al *M. leprae*. Los linfocitos T_4 o T_8 efectores a la vez producen interferón gamma, linfoquina que induce la activación macrofágica y destrucción de *M. leprae* en su interior. De esta

manera se cierra el ciclo de reacciones que proporciona resistencia frente a la infección.

Haregewoin y colaboradores (1) reportaron recientemente que los linfocitos sanguíneos de los pacientes lepromatosos no sintetizan IL-2 en presencia de *M. leprae*. Por lo tanto, se bloquean las reacciones subsecuentes en el ciclo descrito arriba. Al añadir medios condicionados que contienen IL-2, se recupera la capacidad proliferativa de los linfocitos frente a *M. leprae* en la mayoría de los cultivos; la adición de IL-1 no corrige el defecto. Mehra *et al.* (2) han reportado la presencia de linfocitos supresores, T_8 , en la lepra lepromatosa. Uno de los mecanismos de inmunosupresión por linfocitos supresores descrito en la literatura es el bloqueo de la síntesis de IL-2. Resumiendo, la evidencia sugiere que sí hay linfocitos cooperadores capaces de reconocer *M.*



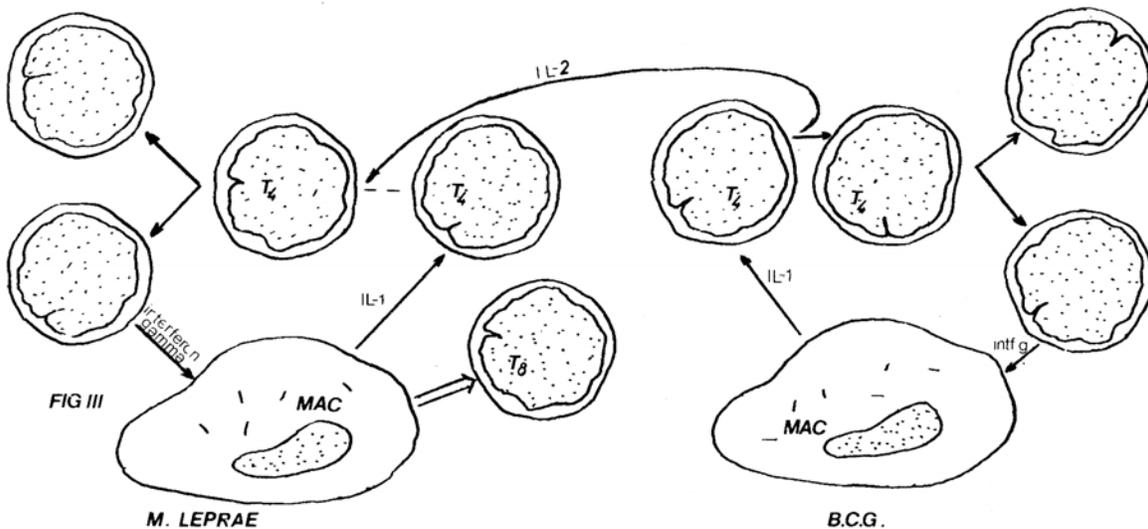
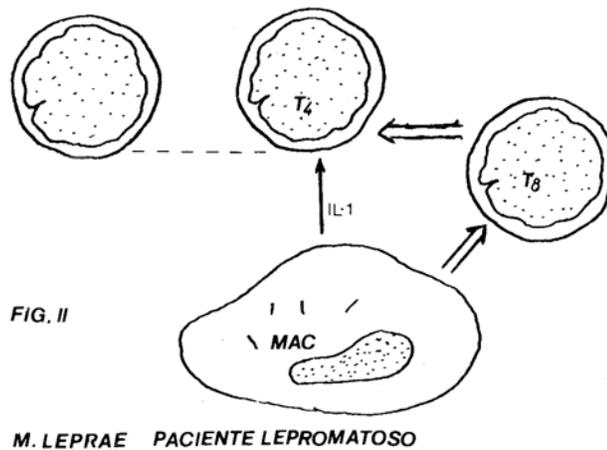
leprae en la lepra lepromatosa, pero no entran en el ciclo normal de proliferación y síntesis de linfoquinas (figura 2). Nogueira et al. han ampliado estos estudios, al demostrar que la adición de interleuquina 2 restaura la producción de interferón gamma en cultivos de linfocitos timo-dependientes de lepra lepromatosa en la presencia de **M. leprae** (3).

Estos estudios inmunológicos básicos han sido complementados por estudios histopatológicos de los granulomas inducidos por **M. leprae** en personas con las formas polares de lepra. Modlin et al. (4) aplicaron la técnica de inmunoperoxidasa para identificar las subpoblaciones celulares que componen los granulomas de lepra tuberculoide y lepra lepromatosa. El granuloma tuberculoide se caracteriza por células epitelioides y gigantes entremezcladas con linfocitos cooperadores, T₄, en el centro; la corona linfocitaria que rodea el granuloma contiene una proporción elevada de linfocitos de tipo citotóxico/supresor, Ia. En un trabajo posterior, Modlin et al. demostraron la presencia de células productoras de IL-2 y de células con receptores para la IL-2 en estas lesiones tuberculoideas (5). Se hace atractiva la hipótesis que la localización de células citotóxicas/supresoras en la periferia del granuloma limite su crecimiento y podría contribuir a su regresión. En el granuloma lepromatoso, los mismos autores encuentran linfocitos cooperadores y supresores/citotóxicos

dispersos entre los macrófagos no diferenciados, sin una distribución definida. La lesión lepromatosa no contiene células productoras de IL-2, pero sí posee células con receptores para esta interleuquina.

Para pasar a otro punto, la única vacuna terapéutica y profiláctica para la lepra que está siendo evaluada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) al nivel del campo es la mezcla de **M. leprae** muerto y BCG desarrollado por Convit hace varios años (6). Con el apoyo de la OMS y el CONICIT, se está evaluando la capacidad protectora de esta vacuna .en unos 60.000 contactos .en varios estados occidentales de Venezuela. Este ensayo profiláctico está basado en los resultados favorables de la inmunoterapia en lepra de baja resistencia con la misma mezcla, experiencia que incluye las siguientes observaciones:

- 1 Una respuesta favorable a la inmunoterapia sea acompañada de la desaparición de las células supresoras (Mehra et al; 7).
2. Un taller internacional reportó cambios histopatológicos en biopsias seriadas, suficientes para permitir la re-clasificación de la enfermedad hacia formas más resistentes, en más de 80% de los casos estudiados.
3. Estudios inmunocitoquímicos realizados por Tapia demuestran la localización anular de linfocitos Ts en lesiones de reversión durante el curso de la inmunoterapia. Como se ha dicho, esta estructura caracteriza las formas resistentes de la lepra. Se plantea la hipótesis que' la IL-2 producida durante el curso de la respuesta normal frente al componente BCG de la vacuna podría intervenir en la respuesta al **M. leprae**, corrigiendo así el defecto en esta respuesta (figura 3).



Es importante señalar que la vacunación en lepra está en una etapa de evaluación; el control de la enfermedad todavía depende del diagnóstico precoz y tratamiento adecuado de los enfermos. Debido al aumento alarmante de resistencia de *M. leprae* al medicamento utilizado en forma de monoterapia durante tantos años, la dapsona, la OMS actualmente recomienda el uso de dapsona junto con dos medicamentos bactericidas -usualmente rifampicina y clofazimina⁽⁸⁾. El éxito de los tratamientos con múltiples drogas en la tuberculosis ha proporcionado la base para estas recomendaciones. Se recomienda un tratamiento durante dos años, o hasta la negatividad bacteriológica, en la lepra multibacilar y de seis meses en las formas paucibacilares. Todavía no ha transcurrido un tiempo suficiente con estas esquemas para evaluar el porcentaje de recaídas. Cabe señalar que la incidencia de sulfono-resistencia es baja en Venezuela, quizás porque nunca se utilizaron las dosis bajas de sulfona en boga en muchas áreas del mundo hace unos 15 años.

Debido en parte al alto costo de una vacuna que emplea *M. leprae* purificado a partir de tejidos de armadillos infectados experimentalmente, la OMS y grupos independientes patrocinan varios estudios de ingeniería genética en esta área. Uno de los enfoques plantea la incorporación de los genes de *M. leprae* responsables para la inducción de resistencia en otro microorganismo, como el BCG. De esta manera se lograría combinar el efecto facilitador del BCG más los antígenos específicos de *M. leprae* en un sólo vehículo, cultivable en grandes cantidades *in vitro*. También se han producido "bibliotecas" del material genético de *M. leprae*, para luego incorporar fragmentos relativamente pequeños en *E. coli*; de esta manera se ha demostrado la síntesis de por lo menos uno de los antígenos específicos de *M. leprae* en *E. coli*. A pesar del desarrollo vertiginoso de estos tipos de investigación, es de pensar que el desarrollo de vacunas, reactivos para pruebas cutáneas y serológicas, etc. por este camino tardará algún tiempo en hacerse realidad.

La posibilidad de diagnosticar la lepra multibacilar en sus etapas subclínicas ha sido planteada en base de la detec-

ción de anticuerpos específicos que revelarían la presencia del bacilo aún en la ausencia de signos clínicos. La baja antigenicidad de glicolípido fenólico I, el único antígeno específico de *M. leprae* que ha sido aislado y caracterizado hasta el momento (Brennan, 9), ha sido algo desalentador, pero la producción de diversos anticuerpos monoclonales con especificidad para componentes de *M. leprae* de diferentes pesos moleculares mantiene la viabilidad de este enfoque como parte del programa de control de la lepra.

Los avances en la leishmaniasis americana cutánea han sido menos dramáticos que los avances en la lepra, quizás en parte porque en el ser humano, el número de pacientes con la forma de baja resistencia, la leishmaniasis cutánea difusa, es muy bajo.

De todas maneras, parece ser que los mecanismos de proliferación linfocitaria, dependiente de la síntesis de interleuquinas y de activación macrofágica inducida por interferón gamma son muy similares a los mecanismos descritos en la lepra. El papel de los linfocitos supresores en la patogénesis de leishmaniasis progresiva en modelos experimentales ha sido demostrado muy claramente por Liew⁽¹⁰⁾. Los estudios de Castés y colaboradores en Venezuela han demostrado la inducción específica de células supresoras en la leishmaniasis cutánea difusa⁽¹¹⁾; Murray *et al.* han reportado la inducción de transformación linfocitaria en una forma humana de baja resistencia en la presencia de antígeno específico e interferón gamma exógeno⁽¹²⁾.

Tradicionalmente se ha considerado que la inmunidad mediada por células juega el papel predominante en la resistencia frente a la *Leishmania*. En contraposición, los estudios de Anderson *et al.* demostraron protección frente a la infección producida en ratones por *L. mexicana* al pre-tratar los parásitos con anticuerpos monoclonales específicos⁽¹³⁾. Esta observación plantea la posibilidad de una vacuna basada en el suministro de antígenos purificados. De todas maneras, la vacunación proli-fático en la leishmaniasis americana se ha visto complicada por el hecho que la protección cruzada entre diferentes especies y/o subespecies es incompleta.

Convit ha logrado resultados alentadores en el tratamiento de algunas formas intermediarias de la leishmaniasis cutánea americana, resistentes a la quimioterapia, con una mezcla de promastigotes muertos y BCG, observación que podría proporcionar la base para estudios de inmunoprofilaxia con este tipo de mezcla.

La identificación de las diferentes especies y subespecies de *Leishmania* que producen infección cutánea en el Nuevo Mundo ha sido excepcionalmente difícil. Actualmente, dos procedimientos ofrecen la esperanza de progreso en esta área de investigación. El grupo de McMahon-Pratt y Davis en Boston ha producido anticuerpos monoclonales que permiten distinguir entre los miembros de los dos grandes complejos, mexicana y braziliensis⁽¹⁴⁾ y entre diferentes subespecies del complejo braziliensis⁽¹⁵⁾. Por otro lado, el aislamiento de DNA del quinoplasto protozoario ha permitido la producción de sondas de DNA que distinguen entre *L. mexicana* y *L. braziliensis* y entre algunas de las subespecies, basado en la homología entre los diferentes DNA (Barker and Butcher,¹⁶). Se complementan estos estudios de hibridación con la medición de la densidad flotante del DNA, para lograr una clasificación más completa. En el INSTITUTO Nacional de Dermatología, Malavé e Infante han adelantado los estudios de anticuerpos monoclonales para la clasificación de cepas locales de *Leishmania*.

En este Congreso, el Dr. Félix Tapia informa sobre estudios inmunocitoquímicos de la estructura granulomatosa de leishmaniasis. Llama la atención que la estructura observada en la leishmaniasis localizada es muy diferente del granuloma observado en la lepra de alta resistencia; no se observa la clara localización de células supresoras en la periferia de la lesión, sino más bien se encuentran dispersas en el granuloma. Posiblemente esta observación refleja un papel menos importante para los linfocitos citotóxicos/supresores en la regresión de esta enfermedad.

En resumen, las investigaciones en la lepra han demostrado muchos detalles de los mecanismos patogénicos y protectores en esta enfermedad; ya se vislumbran soluciones y aplicaciones

prácticas al diagnóstico precoz y la profilaxia de la lepra.

La leishmaniasis cutánea americana no ha recibido la misma atención, pero la tecnología existe para enfrentar este problema importante de salud pública.

BIBLIOGRAFIA

1. Haregewoin, A., T. Godal, A.S. Mustafá, A. Belehu and T. Yemaneberhan Tcell conditioned media reverse T-cell unresponsiveness in lepromatous leprosy.: *Nature* 303: 342, 1982
2. Mehra, V., L.H. Mason, J.P. Fields and B.R. Bloom Lepromin-induced suppressor cells in patients with leprosy.: *J. Immunol* 123: 1813, 1979.
3. Nogueira, N., G. Kaplan, E. Levy et al. Defective γ interferon production in leprosy; reversal with antigen and interleukin 2.: *J. Exp. Med.* 158: 2165, 1983.
4. Modlin, R.L., R.M. Hofman, R.R. Meyer et al In situ demonstration of Tlymphocyte subsets in granulomatous inflammation: leprosy, rhinoscleroma and sarcoidosis.: *Clin. Exp. Immunol.* 5. Modlin, R.L., F.M. Hofman, D.A. Horwitz et al. In situ identification of cells in human leprosy granulomas with monoclonal antibodies to interleukin 2 and its receptor.: *J. Immunol.* 132: 3085, 1984.
6. Convit, J., N. Aranzazu, M.E. Pinaridi and M. Ulrich Immunological changes observed in indeterminate and lepromatous leprosy patients and Mitsudanegative contacts after the inoculation of a mixture of Mycobacterium leprae and BCG.: *Clin. Exp. Immunol.* 36: 214, 1979.
7. Mehra, V., J. Convit, A. Rubinstein and B.R. Bloom Activated suppressor T cells in leprosy.: *J. Immunol.* 129: 1946, 1982
8. Who Study Group Chemotherapy of leprosy for control programs.: *Who Tech. Rep. Ser.* 675, 1982
9. Hunter, S.W., T. Fujiwara and P.J. Brennan Structure and antigenicity of the major specific glycolipid antigen of Mycobacterium leprae.: *J. Bioi. Chem.* 257:15072,1982
10. Liew, F.Y. 1983 Specific suppression of responses to Leishmania tropica by a cloned T-cell line.: *Nature* 305: 630, 1983
11. Castés, M.A. Agnelli and A.J. Rondon Mechanisms associated with immunoregulation in human American cutaneous leishmaniasis.: *Clin. Exp. Immunol.* 57: 279, 1984
12. Murray, H.W., B.Y. Rubin, S. Carrierto and A.M. Acosta Reversible defect in antigen-induced lymphokine and γ interferon generation in cutaneous leishmaniasis.: *J. Immunol.* 133: 2250, 1984
13. Anderson, S., J.R. David and D. McMahon-Pratt In vivo protection against Leishmania mexicana mediated by monoclonal antibodies.: *J. Immunol.* 131: 1616, 1983
14. McMahon-Pratt, D. and J.R. David Monoclonal antibodies that distinguish between New World species of Leishmania.: *Nature* 291: 581, 1981
15. McMahon-Pratt, D., E. Bennett and J.R. David 1982 Monoclonal antibodies that distinguish subspecies of Leishmania braziliensis.: *J. Immunol.* 129:926,1982.
16. Barker, D.C. and J. Butcher The use of DNA probes in the identification of leishmanias: discrimination between isolates of the Leishmania mexicana and L. braziliensis complexes.: *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 77: 285, 1983