

## Artículos originales

Instituto de Hematología e Inmunología

### RESPUESTA INMUNE CELULAR EN ENFERMOS CON LEISHMANIASIS CUTÁNEA ATÍPICA

Dra. Consuelo Macías Abraham,<sup>1</sup> Téc. Ninoska Robles,<sup>2</sup> Lic. Xiomara Palacios,<sup>2</sup> Ing. Consuelo Vega,<sup>2</sup> Dr. Alcides González Mairena<sup>2</sup> y Dr. José M. Ballester Santovenia<sup>1</sup>

#### RESUMEN

Se estudió la respuesta inmune celular en 14 enfermos con leishmaniasis cutánea atípica (LCA), variante clínica reportada en Centroamérica, en particular en Honduras y Costa Rica en este año, en 16 enfermos con leishmaniasis cutánea localizada (LCL) y en 32 donantes de sangre en el Laboratorio de Inmunología del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) del MINSA, Managua, Nicaragua. Se estudió la cuantificación de los linfocitos T totales (CD3) y las subpoblaciones linfocitarias (CD4 y CD8) con anticuerpos monoclonales específicos por inmunofluorescencia indirecta. No se observaron diferencias significativas entre los valores de CD3 y CD4 entre los enfermos con LCA y los controles normales; sin embargo, sí un incremento significativo de las células CD8. Por otra parte, se observó una disminución significativa de los niveles de linfocitos CD3 y CD4 en los enfermos con LCL, no así de los niveles de CD8, en relación con los controles normales. Se observaron diferencias significativas de los niveles de las células CD3, CD4 y CD8 entre ambas formas clínicas de la enfermedad LCL y LCA. Se discute la importancia de la inmunodepresión de las células CD4 en la LCL y el posible comportamiento diferente de las células T en la LCA, con niveles normales de las células CD4 e incremento de la subpoblación citotóxica en una nueva variante clínica menos agresiva de la enfermedad.

*Descriptores DeCS:* LEISHMANIASIS CUTANEA/inmunología; DONADORES DE SANGRE; SUBGRUPOS DE LINFOCITOS/química; LINFOCITOS T/química; ANTICUERPOS MONOCLONALES/inmunología; TECNICA DEL ANTICUERPO FLUORESCENTE INDIRECTA.

<sup>1</sup> Instituto de Hematología e Inmunología, Ciudad de La Habana. Cuba.

<sup>2</sup> Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia, Managua, Nicaragua.

La leishmaniasis es un grupo de enfermedades causadas por protozoos del género *Leishmania*. La infección corresponde a una antropozoonosis que llega al hombre por la picadura de insectos infectados y es endémica en diferentes zonas de América Central y América del Sur. La enfermedad es producida por complejos conformados por varias especies y subespecies del parásito y se manifiesta en diferentes formas clínicas.<sup>1</sup>

La leishmaniasis es un problema importante de salud en los países tropicales y subtropicales en el mundo. Se reportan 40 000 nuevos enfermos anualmente, 12 millones de individuos infectados y 350 millones con riesgo de contraer la infección.<sup>2</sup>

En los últimos tiempos, se ha descrito una forma de leishmaniasis cutánea atípica (LCA) con lesiones más circunscritas y no ulceradas, por largos períodos de tiempo, cuya cepa etiológica es la *Leishmania chagasi*, que puede evolucionar a la forma visceral de la enfermedad en estados de inmunodepresión como otras infecciones, embarazo, etc. Esta nueva forma clínica de la enfermedad ha sido reportada en este año en otros países centroamericanos como Honduras y Costa Rica, además de Nicaragua.

Se ha informado que la resistencia del hospedero al parásito en la leishmaniasis está asociada con el desarrollo de la respuesta inmunológica celular específica mediada por los linfocitos CD4, la cual es regulada a través de un estado supresor que se evidencia en una respuesta moderada a los antígenos de *Leishmania* y a la presencia de mecanismos supresores en la enfermedad, en lo cual influye grandemente un cambio del patrón de respuesta linfocitaria del patrón Th1 (con predominio de la liberación de interferón gamma e interleucina 2) al Th2 (con

predominio de la liberación de las interleucinas 4 y 10).<sup>3-8</sup>

En estudios histopatológicos se ha comprobado la presencia de infiltración de linfocitos T en las lesiones cutáneas o granulomas,<sup>9-11</sup> lo cual puede disminuir las células CD4 circulantes en sangre periférica; la mayoría de estos enfermos presenta un estado nutricional deficiente que favorece una respuesta inmune celular insuficiente y susceptibilidad a la infección<sup>12</sup> y la propia infección parasitaria por mecanismos secundarios de inmunosupresión inespecífica,<sup>13,14</sup> pueden favorecer o coadyuvar en su conjunto el estado de inmunodepresión que se observa en esta enfermedad infecciosa crónica.

En la LCA, variante nueva de la enfermedad, las lesiones mucocutáneas más pequeñas y no ulceradas podrían explicarse por una respuesta inmune celular específica más conservada y un estado supresor menos severo en el curso de ésta, lo cual no ha sido referido en la literatura.

Por todo lo anterior, se decidió estudiar los niveles de los linfocitos totales y las subpoblaciones linfocitarias CD4 y CD8 en enfermos con LCA de zonas rurales de Nicaragua y evaluar la importancia del sistema inmune celular en esta variante de la enfermedad, en comparación con enfermos con leishmaniasis cutánea localizada (LCL) en su forma clásica y con individuos supuestamente sanos.

## MÉTODOS

Se estudiaron 14 enfermos con LCA con una o más lesiones circunscritas y no ulceradas en diferentes regiones del cuerpo, 16 enfermos con LCL con una o más lesiones ulceradas localizadas en diferentes regiones del cuerpo con un rango de edad entre 8 y 40 años, y 32 individuos

supuestamente sanos con un rango de edad entre 23 y 42 años.

En los enfermos con LCA la cepa etiológica aislada es la *Leishmania chagasis* y en la LCL es la *Leishmania panamensis*, confirmada en todos los pacientes por diagnóstico molecular con la técnica de reacción en cadena de la polimerasa, en el Laboratorio de Parasitología del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) de Managua, Nicaragua.<sup>2</sup>

En ambos grupos de enfermos y en los controles normales se estudiaron los niveles de linfocitos T totales (CD3) y las subpoblaciones linfocitarias (CD4 y CD8) con anticuerpos monoclonales específicos por inmunofluorescencia indirecta de acuerdo con la metodología estandarizada en el Laboratorio de Inmunología del CNDR de Managua.<sup>8</sup>

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó una comparación entre las medias y desviaciones estándar ( $\bar{X}$ , DS) entre los 3 grupos estudiados: enfermos con

LCA, enfermos con LCL y controles normales, mediante el estadígrafo t de Student para muestras independientes.

## RESULTADOS

En los enfermos con LCA se observaron valores normales de las células CD3 y CD4, con un incremento significativo de las células CD8 en relación con los valores de los controles normales ( $p < 0,001$ ), así como diferencias significativas en los valores de CD3, CD4 y CD8 ( $p < 0,001$ ) en relación con los enfermos con LCL, como se muestra en las tablas 1 y 2.

En los enfermos con LCL se observó una disminución significativa de las células CD3 y CD4 en relación con los controles normales ( $p < 0,001$ ) y los valores de células T citotóxicas (CD8) dentro del rango de los valores de referencia en la mayoría de los enfermos, sin diferencias significativas con el grupo control; así como diferencias significativas en los valores de CD3, CD4 y CD8 ( $p < 0,001$ ) en relación con los enfermos con LCA, como se muestra en las tablas 2 y 3.

TABLA 1. Respuesta inmune celular en la leishmaniasis cutánea atípica

Parámetro inmunológico %	Enfermos		Controles		P
	$\bar{X}$	DS	$\bar{X}$	DS	
Células CD3 <sup>+</sup>	67,35	± 11,32	72,5	± 7,59	NS
Células CD4 <sup>+</sup>	46,92	± 12,42	49,28	± 5,83	NS
Células CD8 <sup>+</sup>	46,0	± 9,91	23,90	± 5,14	< 0,001

NS: no significativo.

TABLA 2. Respuesta inmune celular en la leishmaniasis cutánea atípica (LCA) y localizada (LCL)

Parámetro inmunológico %	LCL		LCA		P
	$\bar{X}$	DS	$\bar{X}$	DS	
Células CD3 <sup>+</sup>	48,0	± 12,5	72,5	± 7,59	< 0,001
Células CD4 <sup>+</sup>	27,7	± 10,6	49,28	± 5,83	< 0,001
Células CD8 <sup>+</sup>	19,1	± 5,7	23,90	± 5,14	< 0,001

TABLA 3. Respuesta inmune celular en la leishmaniasis cutánea localizada

Parámetro inmunológico %	Enfermos		Controles		P
	$\bar{X}$	DS	$\bar{X}$	DS	
Células CD3 <sup>+</sup>	48,0 ± 12,5		72,5 ± 7,59		< 0,001
Células CD4 <sup>+</sup>	27,7 ± 10,6		49,28 ± 5,83		< 0,001
Células CD8 <sup>+</sup>	19,1 ± 5,7		23,90 ± 5,14		NS

NS: no significativo.

## DISCUSIÓN

Los resultados observados en los enfermos con LCA corresponden con un estado inmunológico conservado caracterizado por niveles de células CD4 normales y un incremento de células citotóxicas como respuesta a la infección por *Leishmania*, lo cual según nuestro conocimiento, aún no ha sido descrito en la literatura.

Los resultados observados en los enfermos con LCL corresponden con un estado de inmunodeficiencia celular caracterizado por una disminución de las células T auxiliaadoras, lo cual corresponde con lo comunicado por otros autores y por nuestro grupo de trabajo en un estudio anterior de la respuesta inmune en la LCL.<sup>8</sup>

En la respuesta inmune celular de ambos grupos de enfermos se observa un comportamiento inmunológico diferente, lo cual puede explicar las diferentes características clínicas de ambas formas de

la enfermedad, especialmente las lesiones menos severas, no ulceradas y circunscritas de la LCA, donde evidentemente existe un estado inmunológico conservado y una mejor respuesta del hospedero al parásito.

Consideramos que es necesario profundizar en los estudios inmunológicos de esta enfermedad, específicamente en esta nueva variante atípica no agresiva, con un estado inmunológico aparentemente más conservado que puede evolucionar por estados transitorios de inmunodeficiencia a una forma más agresiva, como la forma visceral y la muerte, lo cual permitiría determinar la necesidad de un tratamiento inmunoestimulante preventivo o asociado al tratamiento habitual, que favoreciera en general el pronóstico de la enfermedad o la curación de estos pacientes y esclarecer si esta variante pudiera haber surgido por fallos en los mecanismos de evasión del parásito a la respuesta inmune, por una acción efectora inmune más efectiva en una zona endémica con una población susceptible, o ambas.

## SUMMARY

The cellular immune response was studied in 14 patients with atypic cutaneous leishmaniasis (ACL), a clinical variant reported in Central America, and particularly in Honduras and Costa Rica, during this year, in 16 patients suffering from localized cutaneous leishmaniasis (LCL); and in 32 blood donors at the Immunology Laboratory of the National Diagnosis and Reference Laboratory (NDRL) of the Ministry of Health, in Managua, Nicaragua. The quantitation of total T lymphocytes (CD3) and the lymphocyte subsets (CD4 and CD8) with specific monoclonal antibodies were studied by indirect immunofluorescence.

No significant differences were observed between the values of CD3 and CD4 in patients with ACL and normal controls. However, there was a marked increase of CD8 cells. On the other hand, it was found an important decrease of the levels of CD3 and CD4 lymphocytes in patients with CLL, but not of the levels of CD8, in relation to normal controls. Significant differences of the levels of CD3, CD4 and CD8 cells were observed between both clinical forms of the disease. It was discussed the importance of the immunodepression of CD4 cells in CLL and the possible different behavior of T cells in ACL, with normal levels of CD4 cells and on increase of the cytotoxic subpopulation in a new and less aggressive clinical variant of the disease.

*Subject headings:* LEISHMANIASIS, CUTANEOUS/immunology; BLOOD DONORS; LYMPHOCYTE SUBSETS/chemistry; T-LYMPHOCYTES/chemistry; ANTIBODIES, MONOCLONAL/immunology; FLUORESCENT ANTIBODY TECHNIQUE, INDIRECT.

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barker DC. DNA diagnosis of human Leishmaniasis. *Parasitol Today* 1987;3:177-84.
2. Belli A, Rodríguez B, Avilés H, Harris E. Simplified polymerase chain reaction detection of new world leishmania in clinical specimens of cutaneous leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 1998;58(1):102-9.
3. Scharton TM, Scott P. Natural killer cells are a source of interferon-gamma that drives differentiation of CD4<sup>+</sup> T cell subsets and induces early resistance to Leishmania major in mice. *J Exp Med* 1993;178:567-71.
4. Bancroft G. The role of natural killer cells in innate resistance to infection. *Curr Opin Immunol* 1993;5:503-5.
5. Laskay T, Rollinghoff M, Solbach W. Natural killer cells participate in the early defense against Leishmania major in mice. *Eur J Immunol* 1993;23:2237-41.
6. Scott P. IFN- $\gamma$  modulates the early development of Th1 and Th2 responses in a murine model of cutaneous leishmaniasis. *J Immunol* 1991;147:3149-54.
7. Herberman RB, Ortaldo JR. Natural killer cells: their role in defenses against disease. *Science* 1981;214:24-9.
8. Macías C, Matamoros A, Bencomo A, Palacios X, Belli A, González A, et al. Evaluación de la respuesta inmune en enfermos con leishmaniasis cutánea localizada en Nicaragua. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1997;13(1):46-51.
9. Morisarty PL, Bittencourt AL, Pereira C, Teixeira R, Barreto E, Guimaraes NA. Borderline cutaneous leishmaniasis. Clinical immunological and histological differences from mucocutaneous leishmaniasis. *Rev Inst Med Tro Sao Paulo* 1978;20:15-21.
10. Daverne J. Inmunidad frente a protozoos y helmintos. En: Roitt I, Brostoff J, Male D. *Inmunología*. 2 ed. Barcelona: Salvat, 1991:13-4.
11. Convit J, Rodríguez G, Henríquez JJ, Medina R. Histopatología de la leishmaniasis tegumentaria americana. *Dermatol Venez* 1968;7:475-82.
12. Drutz DJ, Mills J. Immunity and Infection. En: Stites DP, Stobo JD, Wills JV. *Basic and clinical immunology*. 6 ed. Lange Medical Publication, 1987:167.
13. Daverne J. Inmunidad frente a protozoos y helmintos. En: Roitt I, Brostoff J, Male D. *Inmunología*. 2 ed. Barcelona: Salvat 1991:17:11.
14. Bogdan C, Rollinghoff M, Solbach W. Evasion strategies of leishmania parasites. *Parasitol Today* 1990;6:183-7.

Recibido: 30 de noviembre de 1998. Aprobado: 15 de diciembre de 1998.

Dra. *Consuelo Macías Abraham*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800, Ciudad de La Habana, Cuba.

Teléf. (537)578268. Fax(537)338979.e-mail:ihidir@hemato.sld.cu