Introducción

LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA

Dr. Antonio José Rondón Lugo*
Editor Invitado

La Leishmaniasis Tegumentaría Americana existe en nuestro continente posiblemente desde la época precolombina tal como se evidencia en algunas figuras de los indios Guacos del Perú.

Le corresponde a Vianna en Brasil haber relacionado y diagnosticado casos de leishmaniasis. En Venezuela fueron los Dres. Juan (turbe y Eudoro González quienes diagnosticaron el primer caso de leishmaniasis en el Edo. Trujillo

Corresponde la idea al Dr. F Pifano el haber planteado la posibilidad de que se trate de diferentes especies las causantes de la leishmaniasis,[1] también corresponde al Dr. F Pifano el haber estudiado en áreas del Edo. Yaracuy la epidemiología de dicha enfermedad y donde relaciona los hospederos.

También desde el punto de vista epidemiológico los Dres. Aguilar Fernández, Deane, demuestran la infección en animales domésticos

El Dr. Jacinto Convit y el Dr. Pedro Lapenta descubren en 1948 el primer caso de Leishmaniasis Difusa.[2]

El Dr. Bonfante Garrido, describe la leishmania mexicana venezuelensis en 1982.[3]

Han sido muchos distinguidos médicos quienes han publicado y estudiado la leishmaniasis en Venezuela, de los dermatólogos han sido los Dres. Rafael Medina, Edgar Belfos, Homez Chacín, María Antonieta Mejías de Alejo, Segundo Barroeta, Francisco Batistini, Jacinto Convit, Francisco Kerdel Vegas, Héctor Rincones, Hernández Ospino, Leonardo García, pero debe mecionarse a otros profesionales como el Dr. José Witremundo Torrealba, José Vicente Scorza, Hilda Pérez, J. A. O'daly, Bonfante Garrido, R. Orihuela y los relevantes estudios del Dr. F Pifano.

Hay problemas de identificación de las leishmanias y su taxonomía, cada día se modifica. surgen también dificultades en el tratamiento y en la resistencia en algunos casos.

Los trabajos del Dr. Jacinto Convit y colaboradores donde usan una mezcla de BCG y Promastigotes son de una gran relevancia, así como también las investigaciones del Dr. O'daly y el Dr. Convit para lograr una vacuna preventiva de la enfermedad.

En el presente volumen he invitado a un grupo de expertos quienes se han distinguido por su labor científica en este tópico. Sabemos que esto no es un tratado completo sobre leishmaniasis, pero queremos ofrecer a Uds. la concepción y la experiencia que se desarrolla en el Instituto de Biomedicina dirigido por el Dr. Jacinto Convit.

* Jefe de la Cátedra de Dermatología. Escuela J.M. Vargas, U.C.V Jefe Sección Clínica, Instituto de Biomedicina.

BIBLIOGRAFIA

1.- Pifano Félix. Algunos aspectos de la patología comparada. Bibliografía de la leishmaniasis tegumentaria en el trópico americano. Gaceta Médica de Caracas. 1980; LX VIII: 1-3.

2.- Convit J, La Penta P. Sobre un caso de leishmaniasis tegumentaria de forma diseminada. Revista Policlínica Caracas. 1984. 17(100). 153-8.

3. Bonfante-Garrido R. Leishmania mexicana venezuelensis. III Congreso Venezolano de Dermatología. Edo. Lara. 1982.

REVISION

EPIDEMIOLOGIA DE LA LEISHMANIASIS

Dr. Carlos D'Suze*
Dra. Cynthia García*

ASPECTOS DE SALUD PUBLICA

La incidencia de la enfermedad depende del estado inmunitario de la población, cambio en el hábitat de las poblaciones de huésped, reservorios y vectores, modificaciones en el medio ambiente, esto tomando en cuenta que el parásito sobrevive en mamíferos silvestres y flebótomos selváticos.

La lucha ha estado obstaculizada en parte por el desconocimiento de la incidencia y prevalencia de la enfermedad, la subestimación de las incapacidades que causan en el hombre, tales como mortalidad, mutilaciones, deformaciones y pérdida de horas en productividad, así como la diversidad en el comportamiento epidemiológico de la enfermedad.

La Leishmaniasis Tegumentaria Americana (LTA), es una zoonosis selvática, en la cual el hombre resulta comprometido en la medida que habita o trabaja dentro o en la inmediata contigüidad de los focos, de manera permanente o esporádica.

El comportamiento epidemiológico de la LTA está determinado por un proceso donde es necesario considerar:

1.- La dinámica ecológica de las regiones boscosas y selváticas, que hace posible la persistencia de los agentes etiológicos. Ello supone la existencia de reservorios y vectores y por lo tanto la existencia de condiciones climáticas, topográficas y de fauna y flora, adecuadas para el mantenimiento y reproducción constante de este ciclo y las especies animales que lo componen.

2.- La dinámica económica que determina formas de cultivo y explotación de los bosques y sus alrededores o la alteración de su ecología, y que pone al hombre de determinados sectores sociales en contacto con los vectores de las Leishmanias.

3.- Los procesos psicológicos y culturales que conforman patrones de vida, de comportamiento y respuesta de la población frente a los riesgos y ante la enfermedad, las actitudes y creencias de las comunidades respecto a la enfermedad.

4.- La dinámica de la relación Agente-Hospedero determinada por las características específicas de los agentes y por las formas de respuesta inmunológica del paciente.

Este complejo proceso de determinación, se traduce en múltiples formas clínicas de LTA que va desde la lesión única que puede curar espontáneamente, hasta las formas mucocutáneas y las difusas, y determina también múltiples patrones epidemiológicos que en algunos casos se caracterizan por la aparición esporádica de casos, en otros por la aparición de brotes epidémicos que luego desaparecen por varios años y en otros por un carácter endémico que según la frecuencia puede ser de alta o baja endemicidad y, según la distribución por grupos de edad de los casos, del Indice Alérgico y del Indice Parasitario, algunos autores clasifican como de vieja o reciente endemicidad.

* Instituto de Biomedicina

SITUACION EPIDEMIOLOGICA

La Leishmaniasis Cutánea constituye un importante problema de salud pública a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud estima una incidencia de 400.000 casos nuevos por año y una prevalencia de 12.000.000 de casos. La LCA se presenta con incidencia variable en todos los países de América del Sur (excepto Chile), Centro América y el Sur de los Estados Unidos.

En Venezuela, de acuerdo al Registro Nacional de Enfermos, la Leishmaniasis Tegumentaria Americana ha sido reportada en casi todas las Entidades Federales, con la única excepción del Estado Nueva Esparta.

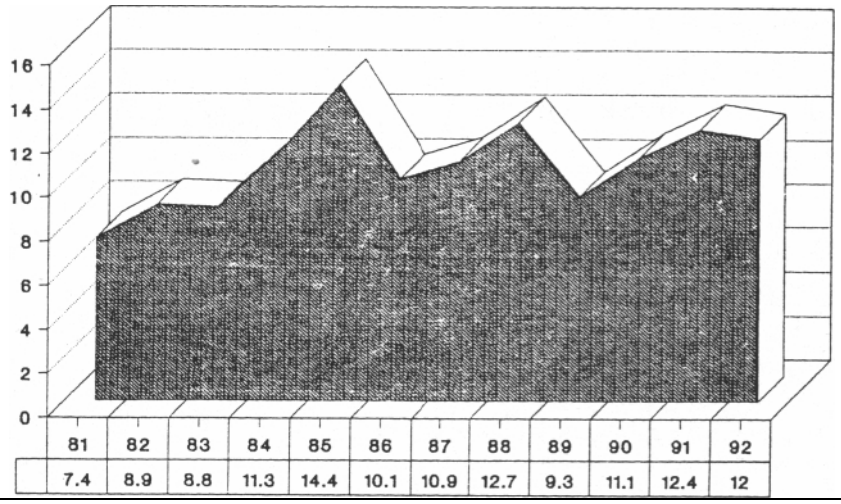
Dicho registro nacional ha incorporado, desde 1955 hasta el 31 de diciembre de 1992, un total de 41.769 casos, de los cuales 25.141 han sido registrados en el período 1981-1992, con un promedio de 2.095 casos por año. La tendencia ha sido fluctuante en estos doce años, con un pico máximo de 14,4 casos por cada 100.000 habitantes en el año 1985, el país registró en 1992 una tasa de 12 casos de Leishmaniasis por cada 100.000 habitantes (ver Cuadro N° 1).

De acuerdo a este registro se ha hecho una clasificación de las Entidades Federales del país: Lara, Trujillo, Táchira, Mérida, Sucre, Anzoátegui, Yaracuy, Cojedes y Miranda son focos muy activos, Zulia, Bolívar, Falcón, Portuguesa, Monagas, Barinas, Carabobo, Apure y Aragua son focos activos: Amazonas. Guárico. Distrito Federal y Amacuro son focos discretamente activos. Sin embargo, existe un subregistro de casos no cuantificado, que hace presumir la existencia de un numero mucho mayor. Algunas estimaciones han llegado a plantear que en zonas endémicas el subregistro podría ser de 1 a 5 por cada caso registrado (ver Cuadro N° 2).

CUADRO N° 1

LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA VENEZUELA. 1981-1992

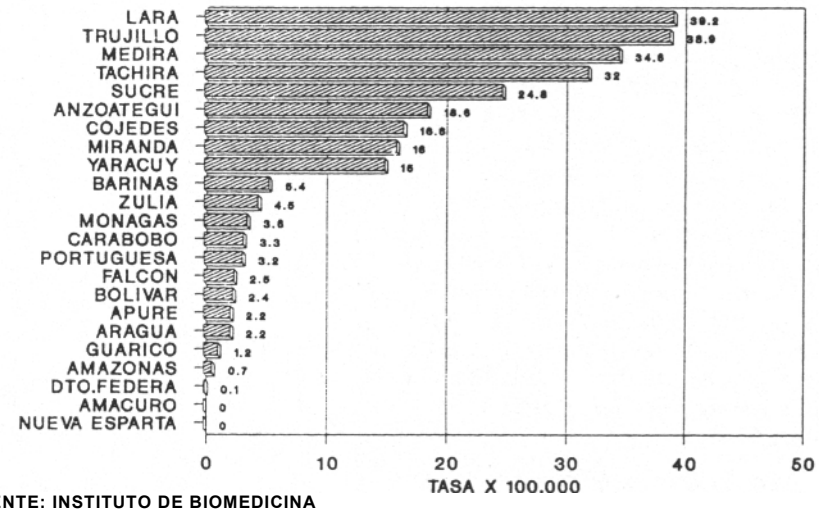
TASA X 100.000



CUADRO Nº2

LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA SEGUN ENTIDAD FEDERAL. VENEZUELA. 1988-1992

ENTIDAD FEDERAL



FUENTE: INSTITUTO DE BIOMEDICINA
TASA PROMEDIO ANUAL

Al revisar la situación epidemiológica en cada una de las entidades federales nos encontramos con una serie de focos endémicos importantes en alrededor de 50 municipios y en especial en sus áreas rurales; para el año 1992 se reportaron casos de Leishmaniasis Tegumentaria Americana en 292 municipios de toda Venezuela (ver Cuadro N° 3).

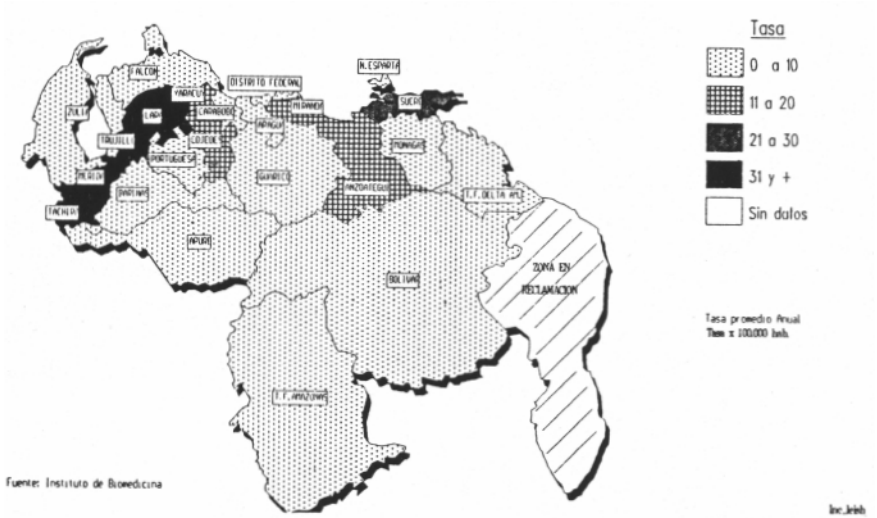
Se considera que la frecuencia continuará siendo afta en los próximos años en relación a las tendencias predominantes, debido a la extensión de la frontera agrícola, densificación de la población en algunas zonas, construcción de infraestructuras y desarrollo de la producción agropecuaria extractiva e industrial en áreas enzoóticas y endémicas.

En el quinquenio de 1988-1992 fue reportado a través del Registro Nacional de Leishmaniasis un promedio de 2069 casos por año; la población más afectada es la de 1019 años, con el 21,2% de los casos, le sigue los menores de 10 años y los de 20-29 años, en esta población menor de 30 años se suceden el 61,7% de los casos, 4 de cada 6 casos ocurren en este grupo de edad; en cuanto al riesgo de enfermar por grupo de edad, la situación cambia al registrar que el grupo de edad de 10 a 59 años tiene más probabilidad de sufrir la enfermedad, descendiendo a medida que es más joven; la distribución por sexo el 59,6% es del sexo masculino, con un riesgo de enfermarse 1,48 veces mayor que el sexo femenino, siendo esta diferencia significante estadísticamente (ver Cuadros N° 4, 5 y 6).

En relación a grupos de ocupación el más afectado es el trabajador

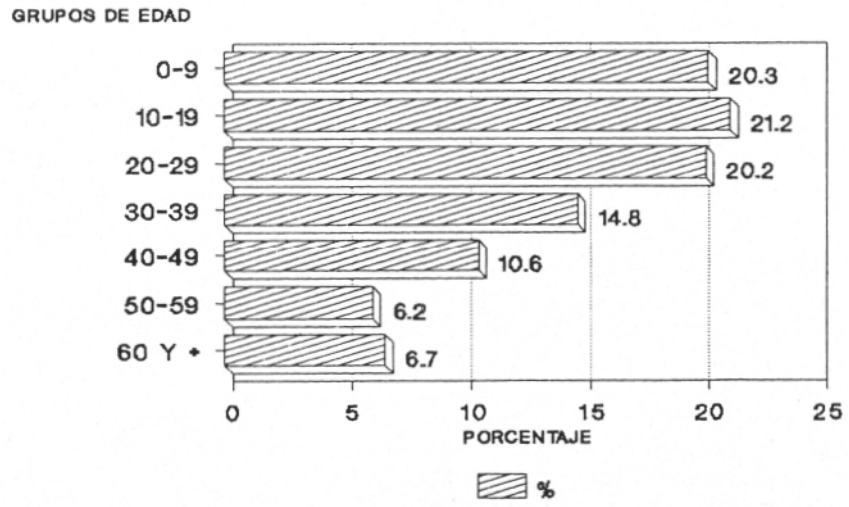
CUADRO Nº 3

TASAS DE INCIDENCIA DE LEISHMANIASIS VENEZUELA. 1988-1992



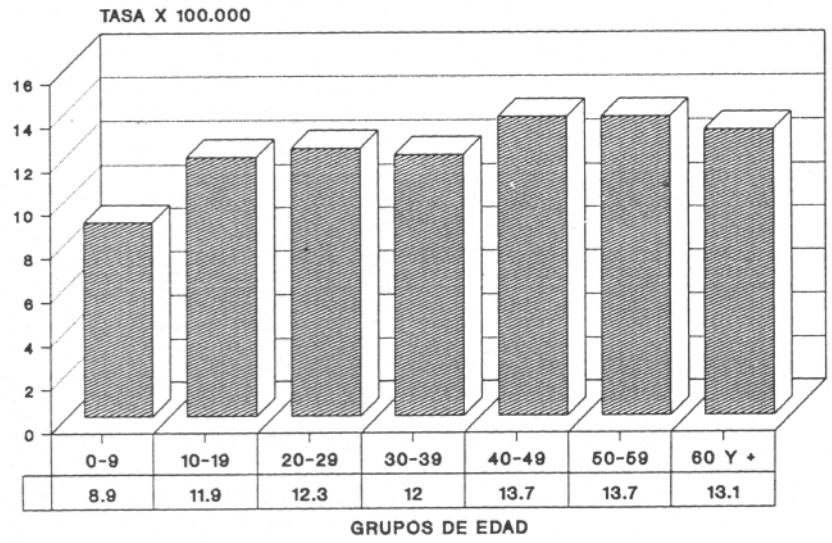
CUADRO N° 4

LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA SEGUN GRUPO DE EDAD. VENEZUELA. 1988-1992



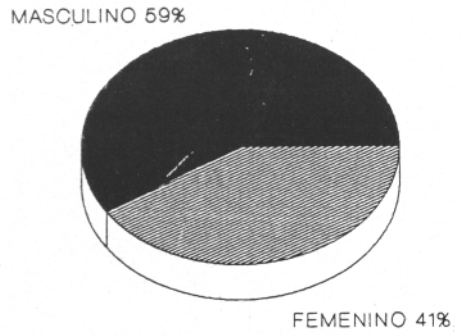
FUENTE: INSTITUTO DE BIOMEDICINA

CUADRO Nº 5
LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA
SEGUN GRUPO DE EDAD. VENEZUELA. 1988-1992



FUENTE: INSTITUTO DE BIOMEDICINA

CUADRO N° 6
LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA
SEGUN SEXO. VENEZUELA. 1988-1992



FUENTE: INSTITUTO DE BIOMEDICINA
P <0.01

agropecuario, con el 25,8% de los casos registrados, le siguen en importancia el oficio del hogar, estudiantes y niños, estos cuatro grupos representan el 78,8% de los enfermos de Leishmaniasis, 4 de cada 5; al hacer revisión de una muestra de las historias clínicas nos encontramos que estos pacientes conforman el grupo familiar del trabajador agropecuario que convive en las zonas endémicas (ver Cuadro N° 7).

Según forma clínica, durante el último quinquenio, el 98,4% de los casos de Leishmaniasis fue la Cutánea Localizada, el 1,2% Leishmaniasis Cutánea Mucosa y 0,4% la forma cutánea intermedia y difusa (ver Cuadro N° 8).

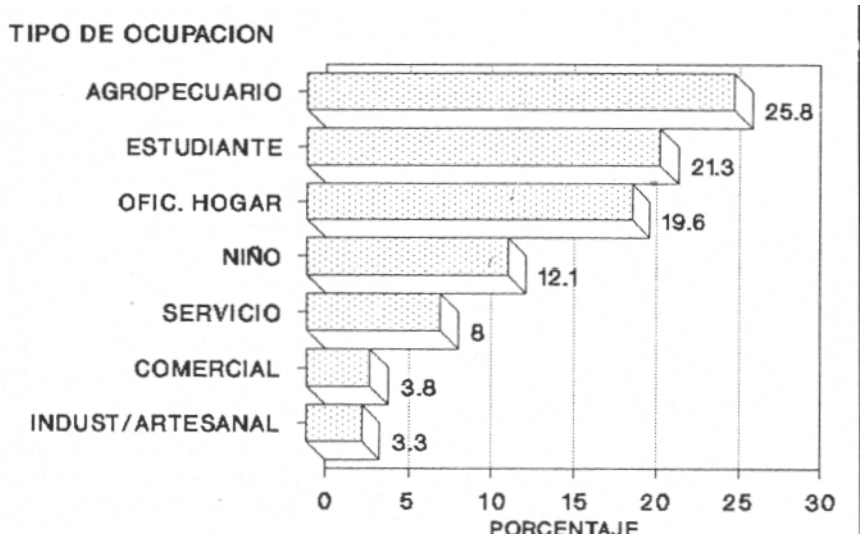
La Leishmaniasis se convierte en un problema de salud pública por dos razones fundamentales:

1.- En un porcentaje reducido de casos, la enfermedad produce cuadros clínicos crónicos, acompañados de mutilaciones e incapacidad, que impiden el desenvolvimiento normal del trabajo y de otras actividades cotidianas. El costo social para el trabajador agrícola y su familia es muy alto, debido a que cada caso de Leishmaniasis tiene una incapacidad parcial o total durante un período no menor de seis meses.

2.- El tratamiento tradicional de la LCA con sales pentavalentes de antimonio, que consiste en la aplicación de dos o tres series de 20 inyecciones intramusculares cada serie, produce efectos secundarios graves en un 20% de los pacientes y efectos secundarios menos graves en otro 30%. Estos efectos segundarios varían desde fiebre, dolor local y osteomuscular hasta complicaciones serias que incluyen postración por dolores osteomusculares intensos y trastornos cardíacos, renales y hepáticos graves, que en raras ocasiones pueden conducir a la muerte del paciente.

CUADRO N° 7

LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA SEGUN OCUPACION. VENEZUELA. 1988-1992

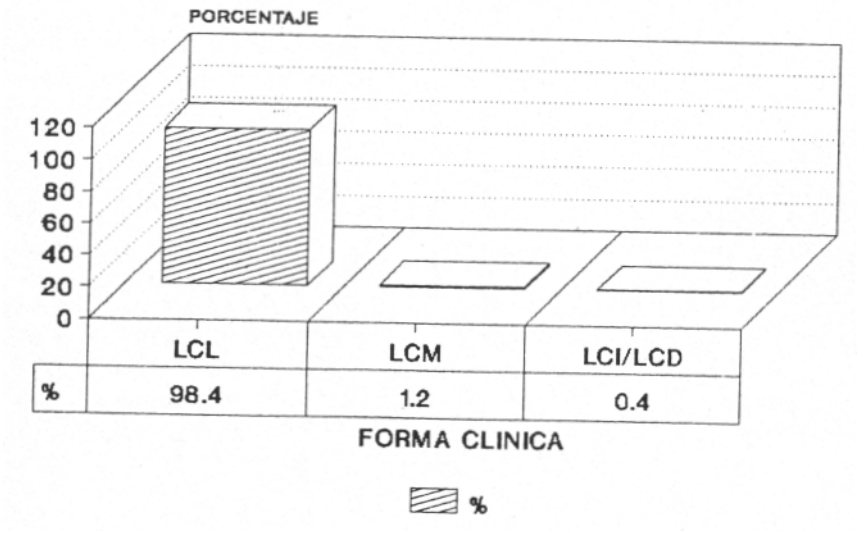


FUENTE: INSTITUTO DE BIOMEDICINA

La importancia de la Leishmaniasis Tegumentaria Americana se debe a su alta incidencia en zonas rurales, limitada a grupos ocupacionales que trabajan en zonas boscosas, con una susceptibilidad probablemente general en la población y el desconocimiento de los factores que causan las formas clínicas graves, mutilantes, lo complicado y costoso del tratamiento convencional, así como la dificultad en cuanto a medidas de control personales y del ambiente, justifican el diseño de un Programa Nacional de Control de Leishmaniasis, que contemple la definición de estrategias de organización, concertación y participación de la comunidad, dirigidas a consolidar una dimensión integral de prevención y control de la LTA, con el establecimiento de Centros de Referencias Regionales para la atención, investigación y docencia de la Leishmaniasis.

CUADRO N° 8

LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA SEGUN FORMA CLINICA. VENEZUELA. 1988-1992



FUENTE: INSTITUTO DE BIOMEDICINA

EPIDEMIOLOGIA

La Leishmaniasis Tegumentaria Americana (LTA), es una enfermedad parasitaria, producida por parásitos microscópicos del género "Leishmania", es transmitido por la picadura de algunas especies de mosquitos del género "Lutzomya" y que afecta los tegumentos, es decir, la piel y mucosas.

1.- Agente etiológico:

La Leishmania es un complejo de parásitos protozoarios que infectan al hombre y una gran variedad de otros vertebrados. La Leishmaniasis humana es causada por unas 14 diferentes especies y subespecies del género Leishmania. En América se describen los complejos braziiiensis y mexicana.

2.- Reservorio:

Existen muchas especies animales vertebrados implicadas como reservorios de la Leishmaniasis, entre ellas están roedores silvestres, perezas, marsupiales, zorros, etc.

3.- Vector:

La Leishmaniasis del hombre es transmitida por mosquitos llebótomos, de las que se reconocen unas 600 especies. En el nuevo mundo corresponde al género Lutzomya y en el viejo mundo los Phlebotomus; los zancudos son muy pequeños, vuelo corto, y tiene una corta vida de adulto, ellos ocupan un rango de habitat que varía de áreas semiáridas en el viejo mundo y bosques lluviosos tropicales en el nuevo mundo.

4.- Modo de transmisión:

Por la picadura de la hembra del mosquito del género Lutzomia, infectado con el parásito.

5.- Huésped susceptible:

Toda la población es susceptible de contraer la enfermedad, el riesgo es mayor en la medida que habite o trabaje dentro o en la inmediata contigüidad de los focos, ya sea de manera permanente o esporádica. Después que una persona es picada por un mosquito infectado puede tardar desde una semana a varios meses para que aparezca la lesión

6.- Período de incubación:

Desde tres días a seis meses, en promedio de dos a seis semanas.

7.- Características epidemiológicas:

a) Tiempo:

Existe una relación estacional en la que en los períodos lluviosos ocurre la máxima transmisión. esta relación está dada por la fluctuación en la densidad y edad de la población de vectores y la dinámica de la población de reservorios.

b) Lugar:

La enfermedad se encuentra circunscrita a las áreas rurales, zonas boscosas, selváticas, y áreas de actividad agrícola. En los últimos tiempos ha habido un incremento de casos en áreas periurbanas, dada por la invasión de zonas donde existe la enzoótia por parte de grupos humanos en busca de lugares de residencia y recreación.

c) Persona:

La infección ocurre cuando la persona se introduce en el ciclo selvático de la Leishmaniasis, puede considerarse como una enfermedad ocupacional, donde la población más expuesta a riesgo son agricultores y su núcleo familiar, recolectores de madera, cazadores, exploradores, trabajadores de salud pública, constructures de caminos, personal militar, así como, las personas que se dedican a actividades recreativas y que duermen al aire libre, visitan zonas endémicas en paseos a campo y excursiones.

ESPECTRO CLINICO INMUNOLOGICO DE LA LEISHMANIASIS CUTANEA

1.- **Leishmaniasis Cutánea Localizada**

Frecuencia: 90-99%

Lesiones ulcerosas única o múltiples de bordes infiltrados, crecimiento en profundidad, fondo granuloso, indoloras, puede presentar lesiones satélites o adenopatías, las manfiestaciones clínicas dependen de la especie del parásito, tipo de ciclo zoonótico y respuesta del paciente, infección secundaria bacteriana frecuente, hipersensibilidad celular positiva a la reacción de Montenegro, buena respuesta al tratamiento

2.- Leishmaniasis Cutánea Intermedia

Frecuencia: 1-2%

Placas o lesiones proliferativas con apariencia verrugosa o vegetante, tienden a recidivar y cronificarse con frecuencia.

3.- Leishmaniasis Cutánea Difusa

Frecuencia: < 1%

Lesiones generalmente múltiples, nodulares o de placas, infiltradas, de diferentes tamaños, color de piel eritematosa, poca tendencia a la ulceración, abundantes Leishmanias en las lesiones, no responde a la terapia convencional, no hay manifestaciones de inmunidad protectora, las lesiones están generalmente localizadas en cara y en superficie externa de los miembros, puede producir mutilaciones.

4.- Leishmaniasis Cutánea Mucosa

Frecuencia: 1-2%

Las lesiones primarias son semejantes a las de la Leishmaniasis Cutánea Localizada. Posteriormente hay propagación metastásica a la mucosa oronasal/faríngea, la ulceración y la erosión destruyen progresivamente el tejido blando y el cartílago, las lesiones no curan espontáneamente, produciéndose mutilación notable, puede llegar a causar la muerte por complicaciones como bronconeumonía y malnutrición, respuesta terapéutica variable, poco satisfactoria, tendencia a recaídas y cronicidad, reacción exagerada a la prueba de Leishmanina.

MEDIDAS DE CONTROL CONTRA LA LEISHMANIASIS

Las medidas de control que se van a realizar, tienen por objeto romper el ciclo de transmisión, para impedir que la población susceptible se infecte, fundamentalmente dirigidas a las acciones contra los flebótomos transmisores o los reservorios y la promoción a la salud y protección específica.

1.- Medidas para reducir las poblaciones de flebótomos:

La lucha contra los vectores es el eslabón de la cadena epidemiológica, que actualmente suponemos más débil para cortar el ciclo de transmisión, se impide la transmisión del agente etiológico de una fuente de infección, reservorio animal, a un huésped susceptible, el hombre.

La utilización de insecticidas de acción residual puede considerarse eficaz cuando el rociamiento se hace en los muros de las habitaciones para destruir especies que habitan dentro de las casas, es realizada sobre las especies endófilas de vectores adultos solamente y se utilizan insecticidas de acción residual con efecto fumigante.

En el caso de las larvas de flebótomos, el uso de insecticidas es impráctico, por cuanto los criaderos son inaccesibles, o están dispersos en vastas extensiones como las selvas neotropicales.

En la práctica el empleo de insecticidas contra los vectores no es realizable sino en el domicilio doméstico *y* peridoméstico *y* en ciertas zonas rurales donde hay concentración de personas expuestas (por ejemplo, personas que trabajan la agricultura, explotación forestal, construcción minera, irrigación, actividades militares, etc.).

2.- Disminución de reservorios:

Las medidas de lucha contra los reservorios, tiene limitaciones en su realización, por cuanto estos son casi siempre salvajes y muchos de ellos inaccesibles para su control. La reducción de focos naturales, eliminando los reservorios por medio de la deforestación, es una medida que puede traer efeptos no deseados, como el traslado de esta fuente de infección a otras áreas anteriormente libres, o cambios ecológicos irreversibles en las zonas donde se practican estas deforestaciones, con destrucción del ecosistema.

3.- Educación para la salud:

Sobre prevención de la enfermedad y métodos de lucha respecto a los modos de transmisión, partiendo de actitudes y creencias de la población y haciéndola partícipe en la toma de decisiones respecto a estas medidas.

4.- Disminución del contacto hombre-flebótomo:

En estas situaciones las medidas de lucha pretenden reducir el contacto entre el hombre y el vector aplicando medidas de protección individual y reduciendo la población de vectores. En las vastas selvas neotropicales donde están ubicados los principales focos en el país, este último criterio es casi inaplicable o sumamente lento y costoso.

Medidas para reducir el contacto entre el hombre y los flebótomos

a) Mecánicos. Mosquiteros, con/sin impregnación de insecticidas, telas metálicas en puertas y ventanas.

b) Repelente en forma de lociones, cremas, vaporizadores o barras para la protección individual. Frente a las especies de vectores exófilos, son la única medida de protección diurna. Tiene la des ventaja de su elevado costo, su inexistencia en algunas zonas y el tiempo relativamente breve, de protección (aplicados a la piel sólo son eficaces durante 2 a 6 horas).

c) Uso de botas, pantalón y camisas largas, sombreros, ropas protectoras cuando es inevitable la exposición a los vectores.

La protección del huésped susceptible, a través de productos biológicos como la vacuna, sería una estrategia muy importante de realizar, ante las limitaciones que existen en estos momentos para Cortar- la cadena epidemiológica y disminuir la transmisión.

La disponibilidad de una vacuna eficaz nos permitirá reducir la susceptibilidad de las poblaciones de alto riesgo y modificar la incidencia de la enfermedad. Con este recurso inmunoprofiláctico se dispondrá de un recurso de bajo costo y fácil de preparar para el control de la Leishmaniasis, actuando sobre uno de los eslabones más débiles como lo es el hombre susceptible.

En el año 1991 el Instituto de Biomedicina dio inicio al Proyecto de Investigación "Inmunoprofilaxis de la Leishmaniasis Tegumentaria Americana" con el objeto de evaluar la eficacia de la vacuna en la profilaxis o protección del sujeto sano ante la enfermedad; esta investigación se lleva a cabo en la población de Sanare, Estado Lara, en una población de alto riesgo de 16.000 individuos y se ha insertado en un proyecto global regional de prevención y control de esta enfermedad. Los resultados, de ser satisfactorios, darían una poderosa arma de protección en la población de alto riesgo y de aquellos grupos que por razones ocupacionales o recreacionales tengan que incursionar en las zonas endémicas.

TAXONOMIA DE LAS LEISHMANIAS	
Familia	Trypanosomides
Género	Leishmania
Especies	Subespecies
L. Mayor	
L. Trópica	
L. Aethiopica	
L. Mexicana	
	L. m mexicana
	L. m amazonensis
	L. m pifanoi
	L. m garnhami
	L. m venezuelensis
L. brasiliensis	L. b brasiliensis
	L. b guyanensis
	L. b panamensis
L. peruviana	L. peruviana

BIBLIOGRAFIA

1.- OMS. Las Leishmaniasis. Serie de Informes Técnicos. N° 701. Ginebra, 1984.

2.- OMS. Control de la Leishmaniasis. Serie de Informes Técnicos. N° 793. Ginebra, 1990.

3.- Reed S. Leishmaniasis. VBC Tropical Disease Paper N° 8. Agency for International Development. USA. 1991.

4.- D'Suze C, García C, Sampson C. Propuesta para un programa de prevención y control de la leishmaniasis. Instituto de Biomedicina. Mimeografiado. 1991.

Sociedad Venezolana de Dermatología

ACTIVIDADES PROGRAMADAS PARA 1994

REUNIONES MENSUALES

Fecha	Lugar
29 de enero	Instituto de Bio-Medicina
26 de febrero	Hospital Universitario de Caracas
26 de marzo	Hospital Militar Carlos Arvelo, Caracas
30 de abril	Maracay
28 de mayo	Hospital de Niños, Caracas
16 de julio	Valencia
30 de julio	Hospital Domingo Luciani, El Llanito, Caracas

sigue en la pág. 46

REVISION

LEISHMANIASIS TEGUMENTARIA AMERICANA

CLINICA

Dr. Antonio José Rondón Lugo*

Las manifestaciones de la leishmaniasis pueden ser en piel y/o en mucosas.

Las lesiones cutáneas presentan una gran variedad y están determinadas por. las características inmunológicas del paciente, número de parásitos, condiciones ambientales, localización de las lesiones, etc.

Hay un espectro[1.2.3] de respuesta, en el polo caracterizado por una satisfactoria respuesta inmunológica ante el parásito leishmánico, se encuentran los pacientes con leishmaniasis localizada (LCL) y aquellos que no tienen respuesta competente, desarrollan en el otro extremo del espectro la leishmaniasis cutánea difusa (LCD). En la parte central se ubican los pacientes con la leishmaniasis de la zona intermedia.

* Jefe Sección Clínica. Jefe de Cátedra de Dermatología. Instituto de Biomedicina.

Leishmaniasis cutánea localizada (LCL) puede ser producida por leishmanias de los complejos mexicana o brasiliensis.

Son una o varias lesiones y están ubicadas en cualquier sitio de la piel. La presentación 'clásica", es una úlcera redondeada, de bordes algo elevados e indurados, superficie plana, con secreción escasa y piel alrededor aparentemente sana. Sin embargo son muchas y variadas las presentaciones clínicas: úlceras o placas de aspecto, tamaño y forma diversa, que semejan muchas enfermedades dermatológicas y a veces constituyen un reto para el diagnóstico acertado. Puede confundir con frecuencia con esporotricosis, carcinomas, piodermitis. etc. Se inicia luego de la picadura del insecto, por una pequeña pápula discretamente infiltrada y eritematosa, que crece progresivamente y aparece en el centro una pequeña costra adherida, que al desprenderla revela una úlcera que tiende e extenderse. En algunos pacientes la lesión es más eritematosa e infiltrada, la úlcera es más profunda y los bordes más gruesos y eritematosos. Lesiones papulosas o nodulares alrededor o en la cercanía de las lesiones principales, así como trayectos linfáticos y adenopatías satélites regionales palpables no son infrecuentes. Pueden presentarse una variedad de formas que semejan enfermedades conocidas, fueron descritas por el Dr. Pifano[4] como la forma "Esporotricoide", que son los casos donde aparecen nódulos o pápulas que siguen un trayecto linfático y recuerda la forma linfangítica de la Esporotricosis; la forma "Cromomicoide". que son lesiones verrugosas. costrosas, que dan el aspecto de una cromomicosis, la forma 'Furunculoide" que semejan furunculos. El Dr. Borelli ha llamado formas 'Pioverrugoide" para resaltar ese

aspecto clínico que se observa con frecuencia. La extensión, profundidad de la(s) úlcera(s) es variable, así como la persistencia, secreción serosa o purulenta e infección bacteriana. Han sido descritos en Centro América casos que semejan una cortadura, con atrofia y hundimiento, así como también lesiones óseas y aumento de volumen que semejan micetomas.[5,6,7,9,9,10,,1,12,13,14,15 y 16]

El diagnóstico clínico diferencial es con: Espdrotricosis, cromomicosis, piodermitis, carcinomas, micetomas y en ocasiones sarcoidosis y hasta con psoriasis y Herpes Zoster (ver Fotos N° 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13).

Foto N° 1: *Ulcera en la mejilla. Diag. Dif.: Piodermitis, esporotricosis.*

Foto Nº 2: *Ulcera con infección bacteriana asociada*

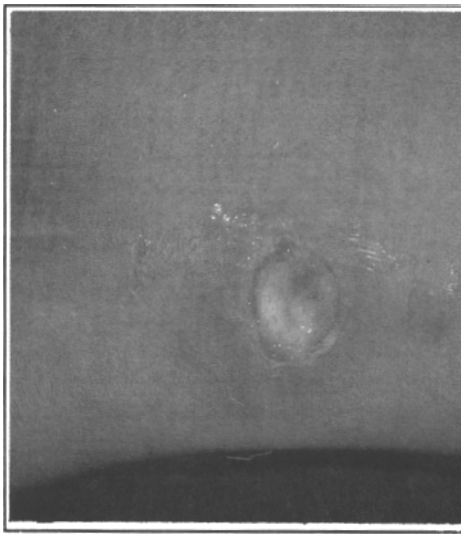


Foto N° 3: *Ulcera con lesiones satélites.*

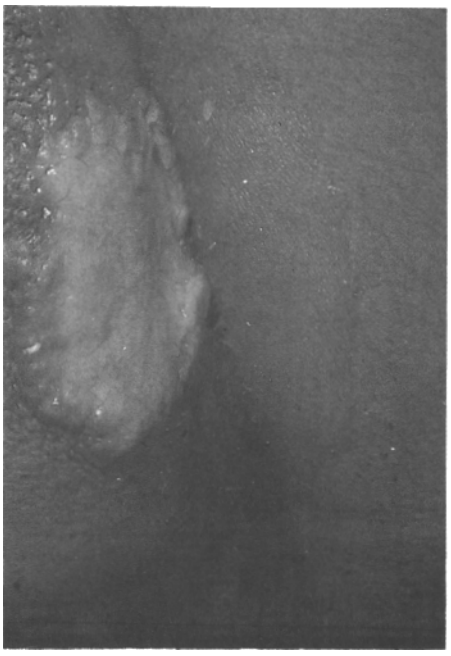


Foto N° 4: *Lesión en región glútea. Diag. Dif.. Amibiasís, paracoccidiodomicosis.*

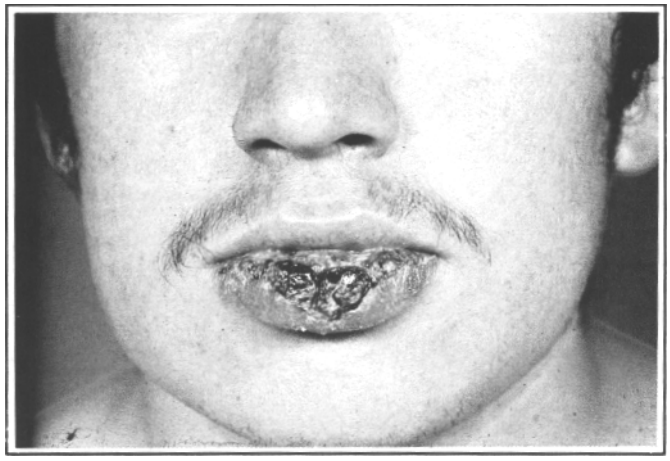


***Foto N° 5**: Lesión primaria en labio inferior.*

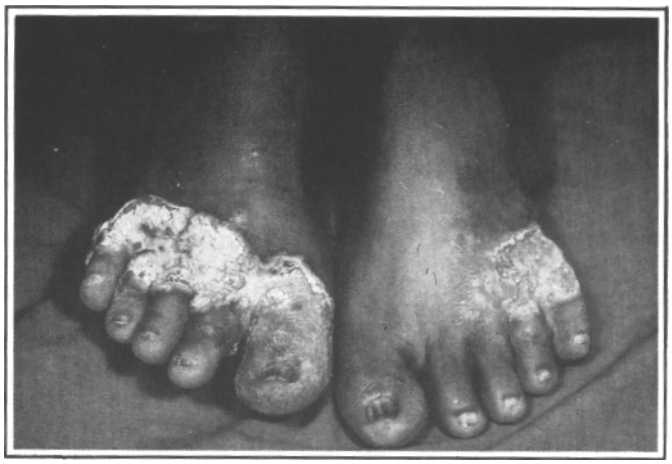


***Foto N° 8:** Lesiones ulcerosas, costrosas v en parte verrugosas. Diag. Dif.: Cromomicosis, tuberculosis.*

***Foto N° 6**: Placa descamativa en codo. Diag. Dif:. Psoriasis.*

***Foto Nº 9**: Lesiones verrugosas en dorso de pie. Diag. Dif. Cromomicosis, tuberculosis.*

***Foto N° 7:** Destrucción de parte del pabellón auricular. Diag. Di f.: Carcinoma.*

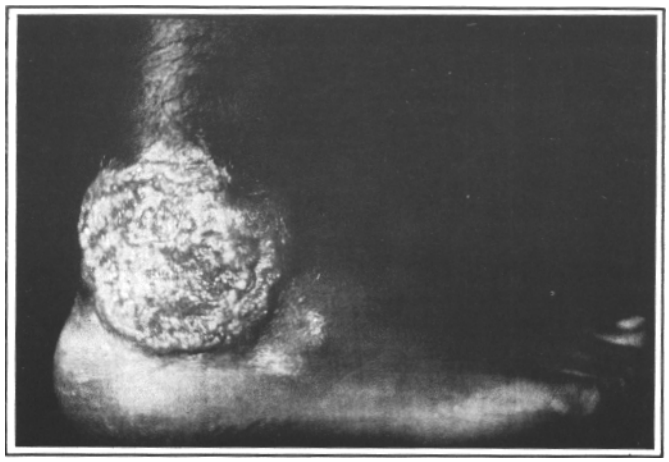


***Foto N° 10:** Lesión en región maleolar. Diag. Dif.: Tumor*

Foto N° 11: *Aumento de volumen, costras, nódulos. Diag. Dif.: Micetomia, tuberculosis.*

Foto N° 13: *Ulcera en región escapular con múltiples lesiones satélites con localización zosteriforme.*

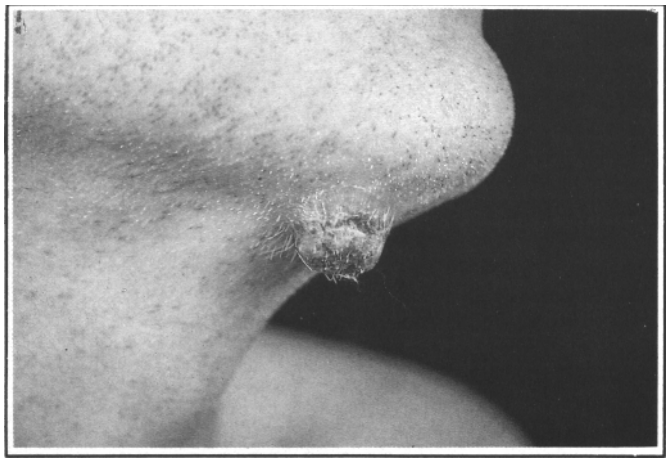


Foto N° 12: *Lesión de aspecto tumoral. Diag. Dif.: Queratoacantoma.*

La Leishmaniasis Cutánea Difusa (LCD) es producida por Leishmanias del complejo Mexicana. El inicio es por pápulas, nódulos o placas algo infiltradas del mismo color de la piel o eritematosas, sin embargo casi desde el comienzo las lesiones son múltiples; con pápulas y nódulos de diferentes tamaños en la superficie corporal. Aparecen en forma rápida, pequeñas pápulas que sugieren la diseminación hematógena de la enfermedad. En algunos sitios, por el traumatismo o como resultado del tratamiento se van formando cicatrices atróficas algo pigmentadas. Generalmente las lesiones no se *ul*ceran. salvo ocasionalmente en zonas que se traumatizan con frecuencia; no desarrollan lesiones mucosas. El diagnóstico diferencial es con lepra lepromatosa, principalmente, pero casos de xantomatosis a veces también pueden confundir, así como la neurofibromatosis (ver Fotos N° 14 y 15). En el centro del espacio se encuentran los casos de la zona intermedia, con variada presentación clínica, pero son generalmente recidivantes, y con respuestas pobres a los tratamientos habituales. Son lesiones verrugosas y desde el punto de vista inmunológico pueden incluirse también las lesiones mucosas (ver Foto N° 16).

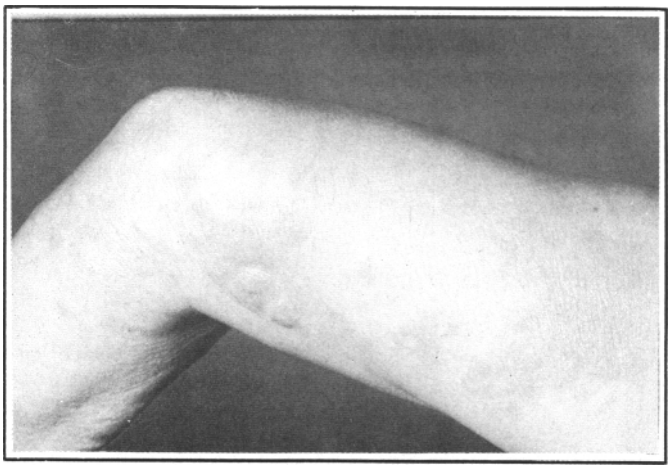


Foto N° 14: *LCD múltiples placas y nódulos en miembro superior.*

Foto N° 15: *LCD múltiples pápulas y nódulos.*

Foto N° 16: *Leishmaniasis de la zona intermedia: en el centro una cicatriz de LCL tratada un alío antes con antimoniales, presenta lesiones recidivantes que forman un círculo alrededor de la cicatriz.*

LESIONES MUCOSAS (LCM)

Son producidas en aquellos pacientes que fueron infectados por leishmaniasis del complejo brasiliensis. Las manifestaciones pueden ser simultáneas con la lesión cutánea o aparecen hasta muchos años (45) después de haber curado la localización cutánea, ya espontáneamente o con tratamientos convencionales. Posiblemente existen más lesiones mucosas, pero que son leves y no son debidamente diagnosticadas. Aquí también podemos hablar de un espectro.[2.7]

1.- Lesiones únicamente de la mucosa nasal, sin invasión del paladar, con grados variables de compromiso mucoso.

2.- Invasión nasal y del paladar blando.

3.- Invasión nasal, paladar y faringe (Espundia).

4.- Invasión nasal, palatina, faringe y laríngea.

5.- Invasión nasal, palatina, faríngea, laríngea y parte superior de la tráquea.

Las lesiones se inician a veces con molestias nasales, epistaxis y es cuando se observa el eritema, infiltración, exulceración y cierta infiltración en la mucosa nasal, perforación del tabique nasal, así como también ocurre la destrucción del cartílago, caída de la nariz dando el aspecto de "Nariz de Tapir", luego de este proceso destructivo, con tratamiento o incluso espontáneamente, la nariz queda deformada y hasta destruida, parcial o totalmente. El labio superior generalmente está envuelto y presenta además de úlcera en la zona adyacente a la nariz, un proceso de infiltración e induración. En ocasiones se presentan episodios de inflamación aguda perinasal e incluso con pequeñas úlceras en su superficie, constituyen procesos infecciosos bacterianos que deben ser tratados adecuadamente, lesiones oculares han sido descritas pero en contadas oportunidades (ver Fotos N° 17 y 18).

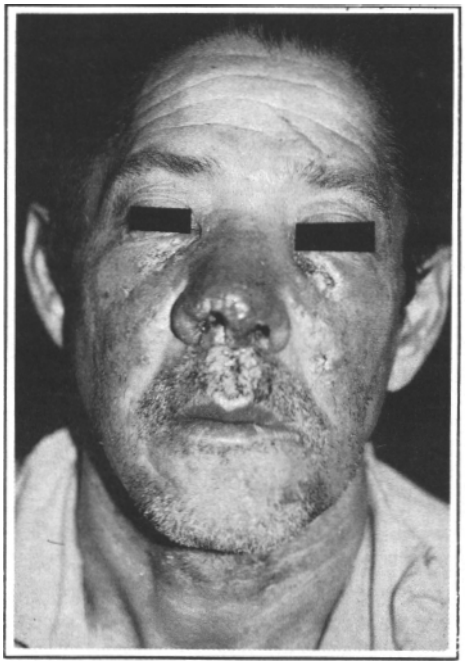


Foto N° 17*: LCM paciente con lesión en mucosa nasal. Presenta reacción inflamatoria en la cara.*

***Foto N° 18**: Lesión ulcerosa nasal que destruye el tabique, lesiones infiltradas en paladar. El paciente presentaba además lesión en laringe.*

COMPLICACIONES

La leishmaniasis puede infectarse secundariamente, puede destruir zonas importantes de piel y mucosas, son clásicos los cuadros de úlcera del chiclero, donde se destruye a veces, casi totalmente el pabellón auricular,[14] en casos mucosos la destrucción del septum nasal, de la nariz, uvula y cuerda vocales, pueden presentarse lesiones oculares que son raras, así como la localización ósea de osteitis, periostitis; la diseminación con localización hepatoesplénica también ha sido reportada.[917] La reactivación de lesiones por traumas ha sido reportado en pacientes que se sometieron a cirugía plástica reconstructiva y prontamente resurgieron lesiones que destruyeron el área intervenida.

BIBLIOGRAFIA

1.- Convit J, Pinardi ME. Cutaneous leishmaniasis, the clinical and immunological spectrum in South America. Ciba Foundation Symposium. 1974.

2.- Rondón Lugo A, Convit J. Spectrum of American Cutaneous Leishmaniasis. Dermatology in five continents. Springler Verlag Berlin. 1988; 789-92.

3.- Convit J, Ulrich M, Fernández MT, Tapia F, Cáceres G, Castés M, Rondón A. The clinical and immunological spectrum of American Cutaneous Leishmaniasis. Trans Roy Soc Trop Med. 1983 (enviado y aceptado para publicación).

4.- Pifano C F. Aspectos de medicina tropical en Venezuela. Temas de Cátedra. Capítulo Leishmaniasis Tegumentaria Americana. 1964; pp. 229-47.

5.- Rondón Lugo AJ, Anidjar E. Leishmaniasis Tegumentaria Americana. Rev Infectologfa. 1992; 914.

6.- Rondón Lugo AJ, Anidjar E. Leishmaniasis Tegumentaria Americana. Med Priv. 1991; 39-41.

7.- Rondón Lugo AJ, Anidjar E. Algunas variantes clínicas de la Leishmaniasis Cutánea Localizada. 1991; 29(3): 83-8.

8.- Rondón Lugo AJ, Reyes O, Ulrich M, Tapia F. Leishmaniasis Cutáneo Mucosa. Derm Venez. 1985; 23(3-4): 11-24.

9.- Medina R, Calebotta A. Caso de Leishmaniasis Cutánea en el que se evidenciaron parásitos Leishmánicos en médula ósea. Derm Venez. 1972; 11(2): 304-9.

10.- Medina R, Henríquez JJ, Convit J. Clínica de la Leishmaniasis. Derm Venez. 1968; 7(1-2): 465-74.

11.- Castro Coto, Hidalgo H, Solano E, Coto Chacón. Leishmaniasis en órganos gentales. Med Cut ILA. 1987; 15: 145-50.

12.- Medina Rafael. Leishmaniasis Tegumentaria con múltiples lesiones cutáneas y mucosas. Derm Venez. 1961-1962; 3(1-2): 83-90.

13.- Rondón Lugo AJ, Battan VJ, Pinardi ME. American Cutaneous Leishmaniasis. Canadian J Dermatol. 1993; 5: 462-6.

14.- Medina R, Lizardo C. Leishmaniasis en la oreja. Derm Venez. 2(1-2): 54-7.

15.- Medina R. Leishmaniasis Genital. Derm Venez. 1963-1964; 4(1-2): 52-5.

16.- Satti M, Path Ahmed M. Et peripheral neural involvement in cutaneous leishmaniasis. Int J Derm. 1989; 28(4): 243-7.

17.- Coura JR, Galvao-Castro B, Grimaldi. Disseminated American Cutaneous Leishmaniasis in a patient with Aids. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1987; 82(4).

REVISION

DIAGNOSTICO PARASITOLOGICO DE LEISHMANIASIS CUTANEA AMERICANA

María Eugenia Pinardi, B.S.*
Lic. Miguelángel Barrios**

INTRODUCCION

La léishmaniasis tegumentaria americana, es una enfermedad producida por parásitos del género **Leishmania** los cuales son transmitidos a través de la picadura de un insecto vector del género **Lutzomyla,** que afecta la piel y en algunos casos produce compromiso mucoso afectando las cavidades oro y naso faríngeas.

La Leishmaniasis es una enfermedad que clínicamente puede ser confundida con otras patologías tales como tuberculosis cutánea, cromomicosis, micosis, esporotricosis, sarcoidiosis, cáncer de la piel, etc., por lo cual se hace necesario la identificación parasitológica del agente causal (diagnóstico parasitológico) antes de poder instaurar un tratamiento adecuado.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico de la leishmaniasis está basado en cuatro criterios fundamentales: clínico, epidemiológico, inmunológico y parasitológico. Los primeros tres dan una sospecha diagnóstica, el último representa el diagnóstico definitivo de la enfermedad.

Diagnóstico Clínico:

La forma más común de la leishmaniasis cutánea es la úlcera; sin embargo, el espectro de una úlcera puede ser muy amplio. Las úlceras tienen características muy importantes que nos sirven como referencias para llegar a un diagnóstico clínico. Entre las principales podemos mencionar las siguientes: la forma es usualmente redondeada, la superficie es granulosa, secretante y recubierta por costras. Los bordes característicamente son elevados e indurados y lo que es más importante, de un color eritematovioláceo. Aunque las úlceras son la forma más común de la leishmaniasis cutánea, también se han observado formas menos frecuentes de infección como crecimientos verrugosos y nodulares, característicos de leishmaniasis cutánea intermedia y difusa respectivamente.

La principal complicación de las lesiones uicerativas es la infección secundaria, la cual al ser moderada o severa puede llegar a cambiar el aspecto de la úlcera y ocasionar la formación de costras purulentas y la aparición de fenómenos inflamatorios más o menos importantes como induración, dolor o hipertermia de las áreas vecinas con compromiso de los ganglios linfáticos regionales. De las diversas condiciones dermatológicas que pueden confundirse con la leishmaniasis cutánea, la que comúnmente induce mayor error diagnóstico es la infección por esporotricosis. Tanto la leishmaniasis como la esporotricosis muestran úlceras de crecimiento lento que no responden a los antibióticos comunes y ambas pueden asociarse a nódulos subcutáneos que representan una diseminación linfática de la infección. Adicionalmente existen otras condiciones que, aunque menos frecuentes, pueden llegar a confundirse con la leishmaniasis cutánea, tal es el caso del micetoma, la tuberculosis cutánea en su forma verrugosa y la cromomicosis.

Diagnóstico Epidemiológico:

A través del criterio epidemiológico, se establece una relación del paciente con su permanencia en áreas de conocida endemicidad, Se evalúan familiares con cicatrices o lesiones sospechosas y animales extra o intra domiciliares que

* Coordinador Sección de Leprologia.

** Investigador Asociado.

presenten igualmente lesiones sospechosas. De esta forma se construye un antecedente de gran ayuda para la evaluación de casos de leishmaniasis.

Diagnóstico Inmunológico:

La respuesta inmune a la leishmaniasis cutánea, está caracterizada por tres parámetros:

1.- Inducción de una respuesta inmune celular detectable por métodos in vivo e in vitro

2.- Bajos niveles séricos de anticuerpos anti **Leishmania**

3.- Generación de inmunidad sólida y duradera después de curación espontánea de la leishmaniasis.

La inoculación por vía intradérmica en el antebrazo, de una suspensión de promastigotes de **Leishmanla** muertos por calor en una concentración de 6,25 x 10^6 promastigotes por ml (Prueba de Montenegro) permite evaluar la inmunidad mediada por células y sirve de ayuda en el diagnóstico diferencial de la leishmaniasis cutánea causada por las diferentes especies conocidas. La lectura de la prueba se realiza a las 48 horas utilizando la técnica del bolígrafo. considerando como positiva la reacción cuando el diámetro de la induración es de 10 o más milímetros.

A pesar del consenso general de que el mecanismo inmune de protección contra infecciones por **Leishmania** es principalmente celular, la respuesta inmune humoral puede ser esencial no sólo para el estudio de la enfermedad sino también en la patogénesis de algunas de las formas más severas. Por ejemplo, en la leishmaniasis mucocutánea se ha observado una relación inversa entre los niveles séricos de anticuerpos y el grado de desarrollo de las lesiones.

Los niveles séricos de anticuerpos anti-Leishmania han sido determinados por diferentes métodos tales como la inmunoflorescencia indirecta (IF) que ha sido utilizada por su alta sensibilidad y especificidad y el ensayo inmunoenzimático ELISA que ha demostrado tener una sensibilidad igual o mejor a la obtenida por la IF para el diagnóstico de las infecciones por **Leishmania.**

Diagnóstico Parasitológico:

El aislamiento e identificación de los parásitos a partir de lesiones de leishmaniasis, reviste gran importancia, tanto para la interpretación del diagnóstico clínico y epidemiológico de la enfermedad, como para la adecuada evaluación de los resultados obtenidos con el tratamiento.

La identificación de los parásitos del género **Leishmanla** requiere de una serie de parámetros, los cuales evaluados conjuntamente permiten además una aproximación más firme al grupo especie y subespecie.

El diagnóstico parasitológico comprende los siguientes parámetros:

1.- Visualización directa de los parásitos a través de frotis por aposición y por escarificado, cultivo del parásito, e histología de las lesiones

2.- Identificación y taxonomía del parásito **Leishmanla,**

3.- Diagnóstico rápido utilizando el método de la reacción en cadena de la polimerasa.

Visualización directa de los parásitos a partir de biopsias tomadas a pacientes:

a) frotis por aposición,

b) por escarificado,

c) cultivo,

d) inoculación a hamster y

e) estudio histopatológico

La biopsia es tomada del centro de la lesión cuando la misma está cerrada y no presenta ulceración ni signos de contaminación. Cuando la lesión está ulcerada el material se toma de los bordes cerrados de la misma pero cuando exista evidencia de contaminación, debe realizarse frotis (coloración Gram) y cultivo de la secreción, para indicar el tratamiento antiséptico y/o antibiótico antes de tomar la biopsia. Una vez tomada la muestra, se divide en tres partes: una para frotis, una para cultivo y otra para estudio histopatológico, manteniendo en todo lo posible las condiciones de esterilidad.

a) Frotis por aposición: Se realiza presionando suavemente el trozo más pequeño de la biopsia sobre una lámina porta objeto en varios sitios. Se deja secar a temperatura ambiente, se fija durante 10 minutos con alcohol metílico y posteriormente se colorea con Giemsa.

b) Frotis por escarificado: Se realiza presionando con una pinza hemostática el borde de una lesión, de donde se tomará con una hoja de bisturí la linfa; esta se coloca en la lámina porta objeto y se sigue luego el mismo procedimiento de secado y tinción del frotis por aposición.

Los frotis son evaluados al microscópico de luz utilizando el objetivo de 100 x, con el objeto de determinar la presencia o no de la forma amastigote del parásito.

c) Cultivo: El cultivo de los parásitos leishmánicos se realiza a partir de un trozo de biopsia, la cual es macerada estérilmente en 1 a 2 mil de solución tampón fosfato salino pH 7,2 usando una tijera de punta fina. Parte del macerado es sembrado en medio base agar sangre (Difco), 4% peso/volumen al cual se le agrega 10% de sangre de conejo desfibrinada y 200 unidades de penicilina por ml. El cultivo es evaluado al cuarto o quinto día para detectar la presencia o no de promastigotes de Leishmania. Si el mismo es

positivo, se repica a medio fresco y luego se realiza mantenimiento del aislado repicando cada 7 días.

d) Inoculación en hamster: Otro de los criterios utilizados en el diagnóstico de la leishmaniasis es la inducción de la enfermedad en animales de experimentación. Parte de la suspensión preparada para el cultivo se inocula a razón de 0,1 ml en la almohadilla plantar de las patas traseras de hamsters. Cada 15 días se examinan los hamster para observar el desarrollo de lesiones en el sitio de la inoculación. Si después de 1 año no se ha producido lesión, se suspende la observación y se considera el caso como negativo. Si bien este procedimiento, no constituye un criterio de diagnóstico práctico, es muy valioso como apoyo a otros criterios utilizados de rutina, y además, lo que es muy importante, resulta muy útil en algunos casos donde las infecciones secundarias asociadas con la leishmaniasis son difíciles de controlar especialmente en los casos mucosos. En estos casos por lo general el hamster controla una posible infección producida por hongos o bacterias que estén como contaminantes del material biológico sin llegar a superar la infección producida intracelularmente por las leishmanias.

e) Estudio histopatológico: Los estudios histopatológicos constituyen otro criterio diagnóstico en la leishmaniasis. La tercera parte de la biopsia se fija en formol al 10%, y después de un tratamiento apropiado se realizan cortes histológicos los cuales son coloreados con la tinción hematoxilina-eosina que permitirá evaluar las condiciones histopatológicas y la presencia o no de parásitos en el tejido. Sin embargo, se ha determinado que los procesos granulomatosos producidos por la leishmaniasis no son distinguibles de otros procesos del mismo orden tales como los que ocurren en la esporotricosis ya que el infiltrado celular no parece ser diferente, por lo que el diagnóstico se restringe a la identificación del parásito.

2.- Identificación y taxonomía de la Leishmania:

Tradicionalmente, la clasificación de estos parásitos se ha basado en una serie de criterios, alguno de ellos subjetivos entre los cuales están: las manifestaciones clínicas producidas por la infección parasitaria en el huésped vertebrado, distribución geográfica, comportamiento en medios de cultivo y en animales de experimentación.

Esto demuestra lo difícil que es realizar una taxonomía basada en estos criterios, si tomamos en cuenta que la leishmaniasis es una enfermedad con un amplio intervalo de respuesta del hospedador lo que podría enmascarar las características del parásito.

Recientemente, criterios clínicos, biológicos, bioquímicos e inmunológicos han permitido realizar esquemas de identificación taxonómica más detallados entre los que se destacan: tipo de lesión en el humano, lugar o región geográfica donde ocurre la enfermedad, densidad de flotación del ADN nuclear y del kinetoplasto, patrones de ADN del kinetoplasto generados por digestión con enzimas de restricción (análisis de esquizodemos), patrones de isoenzimas, hibridación de ADN nuclear y de kinetoplasto con sondas específicas y ensayo inmunoenzimático ELISA con anticuerpos monoclonales y policlonales inmunoabsorbidos.

3.- Diagnóstico rápido utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La reacción de polimerasa es un método in vitro de amplificación de ADN, a partir de un ADN de cualquier origen: bacteria¡, vira¡, de planta o animal. La PCR es un procedimiento enzimático que se lleva a cabo en ciclos discretos de amplificación cada uno de los cuales puede duplicar la cantidad de ADN blanco en la muestra, esto es, N ciclos, pueden producir 2 veces tanto ADN como estuviere presente en la muestra original.

La PCR ha tenido un gran impacto en diversas áreas: biología molecular, genética humana, diagnóstico de enfermedades humanas infecciosas y biología evolutiva. Las razones son básicamente las siguientes:

a) Reduce la dificultad de aislamiento y manipulación de un ADN específico.

b) La simplificación en el aislamiento de secuencias de ADN por métodos in vitro usando PCR ha hecho posible el análisis de genes en forma más sencilla.

c) La PCR ha hecho posible estudiar problemas biológicos sin necesidad de grandes cantidades de material biológico. A su vez, la velocidad y sensibilidad de la técnica la hacen ideal para su aplicación en una gran variedad de problemas.

La reacción comienza por denaturar la doble cadena de ADN, seguida por la alineación de los primers (uno a cada cadena), para acompañar la secuencia blanco. La adición de la ADN polimerasa y deoxi-nucleótidos trifosfatos, genera una nueva cadena de ADN, comenzando en el primer y extendiéndose a través de la secuencia blanco, para hacer una copia de la secuencia.

Si el ADN blanco, se duplica en cada ciclo, en 20 ciclos podríamos tener aproximadamente un millón más de ADN que en la muestra original, y este proceso se lleva a cabo en tan sólo una hora.

Aplicación de la PCR:

a) En biología molecular, la PCR ha sido utilizada para simplificar un número de técnicas que incluyen: clonamiento molecular, secuenciación y modificación de secuencias específicas de ácidos nucléicos,

b) En el diagnóstico prenatal de enfermedades genéticas hace posible a los padres estar informados sobre algún problema hereditario que pueda afectar al feto.

La PCR, juega un papel importante en el diagnóstico de enfermedades donde la naturaleza molecular del defecto genético es conocido. En tales casos, pueden ser sintetizados primers para PCR con la idea de amplificar la forma mutada del gen que causa la enfermedad genética.

El diagnóstico por PCR dura un día comparado con varias semanas que tarda un diagnóstico utilizando procedimientos convencionales.

En el caso específico de leishmaniasis, y particularmente en la de tipo mucoso, la PCR ha jugado un papel principal, ya que por ser la región mucosa una zona de alta contaminación se hace casi imposible el aislamiento y crecimiento de los parásitos leishmánicos a partir de biopsias de dicha zona, y por ende no es fácil precisar el diagnóstico. La PCR aporta en estos casos un método confiable para confirmar el diagnóstico clínico indicado, ya que no precisa el aislamiento y crecimiento del parásito si no tan sólo de su presencia como tal.

BIBLIOGRAFIA

1.- Arena B, Castillo L, Velásquez V, Silva LE. Evaluación de la prueba de Montenegro en pacientes con leishmaniasis cutánea en Guatemala. En Memorias del VIII Congreso Latinoamericano de Parasitología y I Congreso Guatemalteco de Parasitología y MedicinaTropical. 1987, 284.

2.- Arena FE. Diagnóstico de leishmaniasis cutánea por el método directo de cultivo. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1987.

3.- Arnot DE, Barker DC. Bichemical characterization of cutaneous leishmaniasis by analysis of kinetoplast DNA. II Secuence homologies in **Leishmania** kDNA. Mol Biochem Parasitol. 1981; 3: 47-56.

4.- Aston DL, Thorley AP. Leishmaniasis in Central Brazil resutls of a Montenegro skin test survey among amerindians in Xingu Nacional Park. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1970: 63: 671-8.

5.- Barker DC. DNA diagnosis of hwnau leishmaniasis. Parasitology Today. 1987, 3 6.

6.- Castés M, Agnelli A, Verde O, Rondón A. Characterization of the cellular immune response in american cutaneous leishmaniasis. Clin Immunol Immunophatol. 1983; 27: 176.

7.- Convit J, Pinardi M. Cutaneous leishmaniasis, the clinical and immunophatological spectrum in South America Trypanosomiasis and leishmaniasis with special reference to chagas disease. (Ciba) Fundation Symposium 20 (New serie) Publishers. Elseviers. Excepta Medica North Holland. Amsterdam. 1974, pp, 160.

8.- Convit J. Leprosy and leislunaniasis. Similar clinical immunological pathological models. Ethiop Med. 1974; 12: 187.

9.- Desjeux P, Mollinedo S, Le Pont F, Paredes A, Ugarte G. Cutaneos leishmmaniasis in Bolivia. A study of 185 human cases from Alto Beni (La Paz Departament). Isolation and isoenzyme characterization of 26 strains of leishmania braziliensis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1987; 81: 742-6.

10.- Evans DA, Lanham SM, Baldwim CI, Peters W. The isolation and isoenzyme characterization of **Leishmania braziliensis** sub sp. from patients with cutaneous leishmaniasis acquired in Belize. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1984; 78: 35.

11.- Giannini SH, Schittini M, Keithly JS, Warburton PW, Cantor CR, Lex HT Van der Ploeg. Karyotype analysis of **Leishmania sp** and its use in classification and clinical diagnosis. Science. 1986; 232762-5.

12.- Lainson R, Shaw JJ. Epidemiology and ecology of leishmaniasis in Latin America. Nature. 1978; 273: 595.

13.- Morel CM. Problems and significante of parasite classification molecular tools in classification and diagnosis: Workshop report. Molecular Biology of Host Parasite hiteractios. 1984; 337-40.

14.- Ulricb M. Inmunología de la leishmaniasis. Immunol Clin. 1979: 2. 125.

15.- Ulrich M, Centeno M, Mattout Z, Convit J. Serological pattems and specificity in american cutaneous leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg. 1988; 39: 179-84.

16.- Voller A, de Savigny D. Diagnostic serology of tropical parasitic diseases. Journal of Immunological Methods. 46: 1-29.

17.- Wirth DF, McMahon Pratt D. Rapid identification of **Leishmania** species by hibridization of kinetoplast DNA in cutaneous lesions. Proc Nat Acad Sci USA. 1982; 79: 6999-7003.

18.- Scorza 1V. Cambios epidemiológicos de la leishmaniasis en Venezuela. Boletín de la Dirección de Malariologfa y Saneamiento Ambiental. 1985; Vol XXV, N° 1 y 2.

REVISION

HISTOPATOLOGIA DE LA LEISHMANIASIS

Dr. Oscar Reyes Flores*

SITIO DONDE TOMAR LA BIOPSIA

Es aconsejable seleccionar el sitio de la toma de la biopsia de acuerdo al tipo de lesión a estudiar. En las lesiones nodulares y en placas el material debe ser tomado de la zona más infiltrada, evitando los sitios erosionados, ulcerados y/o costrosos. En las úlceras el mejor sitio es el borde de la lesión, procurando interesar la zona infiltrada y parte de la úlcera propiamente dicha.

El material puede ser retirado, bajo anestesia local, pon "punch" o escisión con bisturí, cuidando de no ejercer presiones con la pinza, hecho que posteriormente se traduce en deformación del segmento a estudiar y obstaculiza su interpretación.

En las lesiones mucosas deben también seleccionarse áreas infiltradas, preferiblemente no costrosas ni ulceradas, debiendo emplear un instrumental adecuado, por lo habitualmente difícil del abordaje de las zonas lesionadas y el frecuente sangramiento.

El o los segmentos retirados deben ser fijados en formo) al 10% y enviados al laboratorio de dermatopatología para el procesamiento de rutina. Las tinciones de hematoxilina-eosina y de Giemsa son suficientes para el estudio de los cambios tisulares y para evidenciar las leishmanias (amastigotes).

* Jefe de la Sección de Histopatología del I.B.M. y del Servicio de Dermatología del H.U.C.

ESTUDIO HISTOLOGICO

Diversos cambios epidérmicos pueden observarse en las lesiones cutáneas de leishmaniasis activa, hiper y paraqueratosis, escamocostras, ulceraciones de fondo variablemente necrótico y/o purulento, acantosis e hiperplasia pseudocarcinomatosa, atrofia y erosiones, exocitosis por células mono y polinucleadas.

En la dermis se observa un infiltrado predominantemente macrofágico, invadido y/o rodeado por variable cantidad de células linfoides y células plásmáticas, células multinucleadas gigantes, de tipo Langhans y eventualmente de tipo cuerpo extraño.

Puede observarse cantidad variable de polimorfonucleares neutrófilos (PMNs) y eventualmente escasos eosinófilos, áreas o focos de necrosis de variable extensión con o sin PMNs íntegros o fragmentados (polvo nuclear).

Las diversas formas clínicas de leishmaniasis ofrecen una imagen histopatológica más o menos característica.

La relación clínico-patológica de la leishmaniasis es comparable a la de la lepra, constituyendo un modelo clínico-patológico, con similitudes en las manifestaciones clínicas, características inmunológicas, microbiológicas e histopatológicas. Así, las formas polares de la lepra (lepra lepromatosa. LL y lepra tuberculoide, TT) son comparables a la leishmaniasis cutánea difusa (LCD) y a la leishmaniasis cutánea localizada (LCL).

Las formas intermedias de la leishmaniasis ofrecen semejanzas con las formas del espectro borderline de la lepra.

En las lesiones de leishmaniasis cutánea localizada encontramos cambios epiteliales variables. En los nódulos y en las placas la epidermis puede estar aplanada perdiéndose la línea ondulada del límite dermo-epidérmico ocasionado por la normal distribución alternada de conos interpapilares y papilas dérmicas. El grosor de la epidermis habitualmente disminuye y puede estar francamente atrófica.

En las úlceras, la epidermis se pierde abrupta o suavemente en la zona ulcerada, quedando el resto habitualmente acantótica, de grado variable y con cierta frecuencia se observa un epitelio con hiperplasia pseudo-carcinomatosa.

La dermis está ocupada por un infiltrado macrofágico con grado variable de diferenciación epitelioide, difuso, focal y/u ocupando áreas de variable extensión en todo el espesor de la dermis. El grado de diferenciación epitelioide está modulado por mecanismos inmunológicos y/o por la especie de leishmania causal de la lesión.

Una cantidad variable de células linfoides y células plasmáticas, rodean y/o invaden el infiltrado macrofágico. Frecuentemente se observa escaso a moderado número de células gigantes de tipo Langhans. No es infrecuente observar cantidad variable de PMNs aislados o agrupados tendiendo a formar micro-abscesos o situados en zonas necrobióticas

donde se observan fragmentos (polvo nuclear). Eventualmente puede apreciarse escaso número de eosinófilos (ver Foto N° 1).

Los amastigotes deben ser buscados principalmente intracelulares, intramacrofágicos, y las zonas recomendables para su hallazgo son el límite entre el borde de la lesión y el comienzo de la úlcera, alrededor y/o en las zonas donde se observa polvo nuclear y en los espacios dérmicos circunscritos por las áreas hiperplásicas y anastomosante de la epidermis.

Las lesiones ocasionadas por leishmanias del complejo mejicano muestran habitualmente infiltrado macrofágico con menor grado de diferenciación epitelioide y mayor número de parásitos. En las lesiones ocasionadas por leishmanias del complejo brasiliensis se observa .mayor grado de diferenciación epitelioide y menor número de parásitos.

Las formas clínicas intermedias de la leishmaniasis ofrecen cambios inflamatorios celulares similares a la forma localizada, siendo. habitualmente menos intensa la diferenciación epitelioide y más frecuentes las alteraciones epidérmicas, con proliferación epitelial, hiperqueratosis, paraqueratosis, escamo-costras, saliencias cuneiformes y en dedo de guante, con grado variable de hiperplasia.

Los parásitos están también en número variable y su búsqueda debe hacerse en la misma forma recomendada para la leishmaniasis localizada.

En las lesiones mucosas observamos un infiltrado mixto linfo-histioplasmocitario, generalmente difuso. o en focos mal definidos. Habitualmente el infiltrado macrofágico muestra discreto a moderado grado de diferenciación' epitelioide. Los amastigotes están presentes en escaso número o no pueden ser identificados.

La leishmaniasis cutánea difusa (LCD) presenta un cuadro histopatológico con importantes semejanzas a las observadas en lepra lepromatosa. La epidermis está habitualmente atrófica, con rectificación del límite dermo-epidérmico.

La dermis está intensa y ampliamente ocupada por un infiltrado macrofágico denso, muy vacuolado, con escasa a moderada cantidad de células linfoides y células plasmáticas en los intersticios conjuntivos situados entre las células vacuoladas. La infiltración puede rechazar en tal forma a la epidermis, que puede erosionarla. La inflamación puede invadir la grasa sub-cutánea. Se observan numerosos amastigotes, la mayoría en el interior de los macrófagos vacuolados donde se organizan formando una hilera o collar adherido a la cara interna de la membrana celular, o bien se disponen irregularmente aislados o en pequeños grupos en el seno de la célula (ver Foto N° 2).

Las leishmanias, en esta forma clínico-patológica de la enfermedad pertenecen al complejo mejicano.

Hemos observado lesiones donde las células vacuoladas predominan hacia la dermis superior y dermis media, y los macrófagos, con grado variable de diferenciación epitelioide, predominan hacia la dermis profunda. El número de parásitos disminuye de la superficie a la profundidad donde son escasos o inexistentes. A esta forma la hemos denominado "bordeline" y su importancia e interpretación es objeto de estudio e investigación.

Las lesiones cutáneas de la leishmaniasis, al regresar, espontáneamente o por tratamiento (quimioterapia y/o inmunoterapia) ofrecen cambios histológicos que comienzan por la disminución progresiva de la extensión del infiltrado, hasta la fibrosis y cicatrización, donde histopatológicamente observamos ausencia de parásitos y de inflamación y un espesamiento del tejido conjuntivo con variable proliferación fibroblástica.

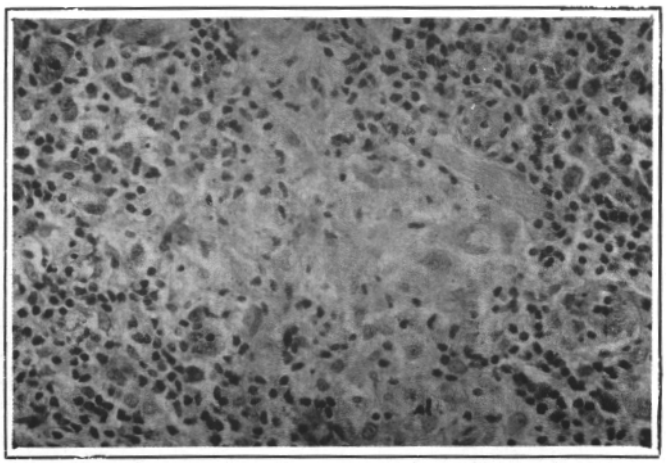


Foto N° 1: *L. C.L. Granuloma macrofágico con diferenciación epitelioide. rodeado y parcialmente invadido por células linjóides y células plasmáticas.*

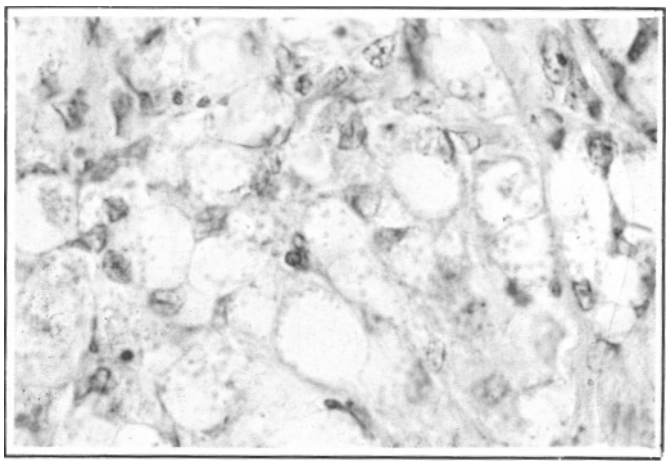


Foto N º 2: *L.C.D. Macrófagos grandes indiferenciados. Muy vacuolados. Contienen gran cantidad de Leishmanias.*

REVISION

RESPUESTA INMUNOLOGICA MEDIADA POR CELULAS EN LA LEISHMANIASIS CUTANEA AMERICANA HUMANA

Dra. Marianella Castés*

La leishmaniasis es causada por un protozoario 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. [1.2] 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.[3] 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 .[4]

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 .5 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 .[4]

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.5 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.[4.6]

Los modelos murinos han sido utilizados intensamente para investigar las respuestas inmunológicas asociadas con la leishmaniasis cutánea experimental .[7 8] 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-Y) 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.[9]

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,[10-11] la cual parece estar completamente ausente en la LCD.12 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 [.13.14] 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[15] 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 co1,16 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 (rslL-2). Es posible que el rslL-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.17 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 Thl (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[18] utilizando la técnica de PCR.

En el extremo benigno del espectro se ubican los pacientes con LCL. Estudios previos [4,13.14] 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 reciente15 confirmamos que una alta proporción (77%) de estos pacientes producen niveles significativos de INF- Y en respuesta no solo al antígeno de Leishmanla 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[19] y el hecho de que una proporción de ellos puede curar espontáneamente.[3] 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.[20] Esto también se confirma por el hecho de que una alta proporción de estos pacientes (63%) producen rslL-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.[21] Nuestros resultados sugieren que los pacientes con LCL se caracterizan por un patrón de citoquinas tipo Thl (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,[16] 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 demostramos4,13,14 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. Recientemente15 hemos demostrado que una alta proporción de estos pacientes con LCM eran capaces de pro-

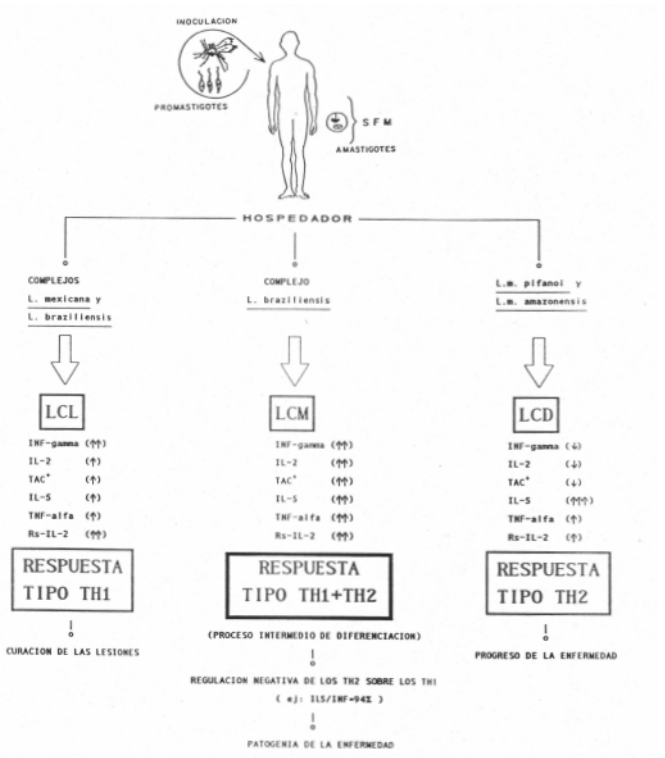
ducir INF- Y (81%) e IL-2 (62%) en respuesta al antígeno de Leishmania, así como al PPD y a la PHA. Los mismos pacientes que producían tanto IL-2 como INF- Y en respuesta al antígeno leishmánico, también producían niveles séricos elevados de IL-5. El 94% de los pacientes con LCM producían ambas citoquinas: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

También reportamos[15] que un 64% de los pacientes con LCM tenían niveles séricos significativamente más elevados de TNF- a que las otras dos formas clínicas de LCA. Liew y Cox[21] han demostrado que el INF- y activa a los macrófagos para producir otras citoquinas, tales como el TNF- a 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- a es responsable de la patología asociada con la malaria cerebral.[22] Un 64% de los pacientes con LCM fueron positivos tanto para TNF- a como para el INF- Y Con respecto al rslL-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 Thl y Th2 (ver Figura). Sugerimos que cuando ambos tipos de citoquinas son producidas, la respuesta tipo Th2 puede predominar sobre la tipo Thl 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 hospedador 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.[19] Las formas diseminadas de los pacientes con LCD, resistentes a la quimioterapia, se caracerizan 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 Thl 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-Y. 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 Leishmnniasis with special reference to Chagas' disease. Amsterdam. Ciba Foundation Symposium 20. Elsevier. Excerp 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. Accademic 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, Pearse E, Sher A. Immunoregulation of cutaneous leishmaniasis. T cell lines that transfer protective immunity or exacerbation belong do different helper subsets and responde to distinct parasite antigens. J Exp Med. 1988; 168: 1675

8.- Heinzel FP, Sadick MD, Holaday BJ, Coffman Rl, Locksley RM. Reciprocal expressión of interferon- of interleukin-4 during the resolution or prógressión of murine leishmaniasis. J Exp Med. 1989; 169: 59-72.

9.- Locksley RM, Scott P. Helpter Tcell 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 Imniunol. 1976; 2: 126.

12.-Convit J, Pinardi ME, Rondón AJ. Diffuse cutaneous leishmaniasis: a disease due to and 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 immu-noregulation 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- Y 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: Thl/Th2 responses. (en prensa). 1994.

16.-Pisa P, Gennene 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 supression 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, Pinardo 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- Y induction in human peripheral blood cell by exogenous and edogenously 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 (chachectin) as an essential mediator in murine cerebral malaria. Science. 1987; 237. 1210.