

REVISION DE TEMAS

La respuesta celular inmune en la leishmaniasis cutánea americana

Ana Milena Lenis

Resumen

En la leishmaniasis, los macrófagos pueden actuar como células presentadoras de antígenos que activan los linfocitos T quienes contribuyen en la eliminación del parásito. Los linfocitos T activados inducen la producción de citocinas que participan en la resolución o exacerbación de la leishmaniasis. Citocinas como el IFN γ , favorecen el control de la enfermedad, mientras que la IL-4 y la IL-10 favorecen su progresión. En el modelo murino, se observa una clara dicotomía en la respuesta inmune asociada con el desarrollo (respuesta Th2) o resolución (respuesta Th1) de la enfermedad, lo cual no ocurre en el humano, donde se presenta una mezcla de respuestas tipo Th1 y Th2. La enfermedad es el resultado de la interacción de diferentes factores como la especie y la virulencia de la *Leishmania* junto con la respuesta inmune del hospedero, que llevan a la presentación de diferentes formas clínicas, tales como la leishmaniasis cutánea, la mucocutánea, la difusa y la visceral asociadas con diferentes especies, pero que, en circunstancias especiales, pueden resultar de la infección por una misma especie. El tratamiento de primera línea de la leishmaniasis está basado en compuestos antimoniales pentavalentes; sin embargo, la inmunoterapia se ha estudiado como una alternativa para el tratamiento de esta enfermedad. Por otro lado, el desarrollo de vacunas contra la leishmaniasis constituiría un gran avance para el control de la enfermedad. El conocimiento de la respuesta inmune, tanto en la patogénesis como en la adquisición de resistencia y resolución de la leishmaniasis, es fundamental para el mejor manejo y prevención de esta enfermedad.

Immune cell response in American cutaneous leishmaniasis

In leishmaniasis, macrophages can act as antigen presenting cells, activating T cells which participate in parasite elimination. Activated T-cells induce the production of the cytokines which mediate the disease's resolution (Th1 response) or exacerbation (Th2 response). Some cytokines, such as IFN γ , help to control the disease, whilst IL-4 and IL-10 promote disease progression. The mouse model has shown a clear dichotomy in immune response associated with the development and progression or resolution of the disease. By contrast, a mixed response involving Th1 and Th2 cytokines is observed in humans. The disease is the result of the interaction of different factors, such as the *Leishmania* specie and its virulence, combined with the host's immune response, leading to the presentation of different clinical types, such as cutaneous, mucocutaneous, diffuse and visceral leishmaniasis, all being associated with particular species. Yet, under special circumstances, a single species may cause

any of these disease forms. Antimonial pentavalent compounds (SbV) are the first-line treatment for leishmaniasis, although immunotherapy is considered as an alternative for treatment of the disease. Furthermore, the development of vaccines against leishmaniasis could become an important means of controlling the disease in endemic areas. Therefore, an understanding of the immune response in the pathogenesis and resolution of leishmaniasis is fundamental for its clinical management and prevention.

Presentación clínica y epidemiológica

La enfermedad presenta un amplio espectro de manifestaciones clínicas agrupadas en cuatro categorías: leishmaniasis cutánea, mucocutánea, difusa y visceral.

En el Nuevo Mundo, la leishmaniasis cutánea americana (LCA) incluye la leishmaniasis cutánea localizada (LCL) que se caracteriza por la presencia de una o pocas lesiones granulomatosas y ulceradas con abundantes linfocitos y pocos parásitos; la leishmaniasis cutánea difusa (LCD) caracterizada por la presencia de numerosos nódulos y placas granulomatosas sin ulceración con abundantes macrófagos y parásitos y poco infiltrado linfocitario. En la LCD, suelen presentarse recaídas después del tratamiento y se asocia con una deficiencia severa en la respuesta de linfocitos T específicos para los antígenos de *Leishmania* (1). La otra manifestación de la LCA, que involucra tejidos mucosos de la nasofaringe, es la forma mucocutánea (LMC), en la cual las lesiones son generalmente crónicas, con pocos parásitos y las recaídas son frecuentes luego de la quimioterapia (2).

La leishmaniasis es una enfermedad causada por diferentes especies de protozoarios del género *Leishmania*, en su mayoría zoonótica y excepcionalmente, antroponótica. Los parásitos son transmitidos accidentalmente al hombre a través de la picadura de insectos vectores (hembras del género *Lutzomyia* para las especies de *Leishmania* del Nuevo Mundo y del género *Phlebotomus* para las especies del Viejo Mundo (3)), que se infectan al ingerir sangre de reservorios animales que incluyen perezosos, marsupiales, perros y roedores, infectados con las especies patógenas para el hombre (4-6).

El resultado de la infección con *Leishmania* depende de varios factores tales como la

especie o cepa del parásito y la susceptibilidad o resistencia del hospedero. El parásito presenta dos formas: el promastigote, una forma infectiva flagelada, alargada, extracelular y replicativa que se encuentra en el intestino del vector y en cultivos axénicos, y el amastigote, forma replicativa no flagelada que se multiplica en los fagolisosomas de las células fagocíticas del hospedero mamífero (figura 1).

¿Cómo se produce la infección por *Leishmania*?

La infección por *Leishmania* involucra un proceso de adherencia, entrada y establecimiento del parásito en los macrófagos. La entrada del parásito en los fagocitos mononucleares por el parásito está mediada por interacciones específicas entre los receptores

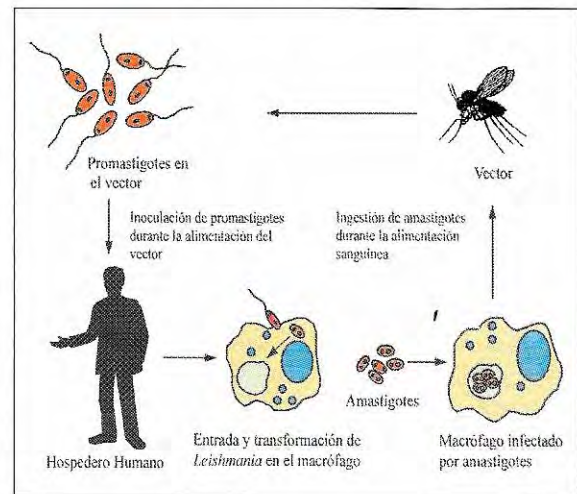


Figura 1. Formas de *Leishmania* en el vector y en el humano. Los parásitos de *Leishmania* presentan dos formas en su ciclo de vida; los promastigotes, formas replicativas y flageladas en el intestino del vector que se transforman en amastigotes una vez entran a los macrófagos de mamíferos, por ejemplo, en el hombre, y se alojan en la vacuola del macrófago donde continúan multiplicándose para luego invadir otras células fagocíticas.

de membrana del macrófago y los ligandos localizados en la superficie del parásito (7).

Los ligandos difieren de una especie a otra ya que en un estudio de interacción de *L. (V) panamensis* con los fagocitos mononucleares *in vitro*, se observó que la invasión de la célula hospedera por el parásito dependía de la opsonización de los promastigotes con componentes del complemento, mientras que otras especies de *Leishmania* no requieren opsonización previa. Este trabajo demostró, además, que los receptores para el complemento CR1 y CR3 participaban tanto en el proceso de adherencia como en el de ingestión de los parásitos por parte de las células fagocíticas (8).

Otros receptores importantes en el proceso de infección de las células fagocíticas son el receptor para la fracción Fc de la inmunoglobulina G (IgG) o FcR, el receptor para la fibronectina (FnR) y el receptor para manosa y fucosa (FMR) (9-12). Los ligandos involucrados en la adherencia y en la invasión son moléculas propias de la membrana del parásito, la glicoproteína de 63 Kd (gp63) y el lipofosfoglicano (LPG) (12-14), y algunas moléculas asociadas a *Leishmania* (las proteínas de la cascada del complemento C3b y C3bi, productos terminales de glicosilación y fibronectina) (12, 15-17).

Una vez que suceden estas interacciones específicas, los promastigotes entran en el macrófago del hospedero donde se transforman en amastigotes con capacidad para resistir los mecanismos de defensa intracelular (12, 18). Los amastigotes liberados en la destrucción del macrófago infectan otros macrófagos adyacentes al sitio de inoculación y el parásito intracelular puede diseminarse desde la lesión inicial en la piel a otros órganos y tejidos (bazo, hígado y médula ósea) a través de vasos linfáticos y sanguíneos (19, 20). Existe controversia acerca de la aparición de lesiones en diferentes partes del cuerpo, pues algunos autores postulan que es debido a un defecto inmunológico específico (1), mientras que otros sugieren que se trata de especies de *Leishmania* con mayor tendencia a diseminarse (21).

La respuesta inmune en leishmaniasis

La respuesta inflamatoria inducida por la picadura del vector y la inoculación del parásito atrae células fagocíticas (macrófagos y células de Langerhans) que actúan como células presentadoras de antígenos a los linfocitos T, necesarios para iniciar la modulación de la respuesta inmune de tipo celular (22).

Como ocurre con diferentes agentes infecciosos, la respuesta inmune desencadenada contra *Leishmania* tiene componentes de respuesta innata y adquirida. La inmunidad innata actúa en la fase inicial de la infección primaria y está mediada por los macrófagos, mientras que la inmunidad adquirida, específica para antígeno, se desencadena cuando los linfocitos del sistema inmune reconocen determinantes antigénicos del patógeno que han sido previamente presentados a los linfocitos T (23, 24).

Los macrófagos y demás células fagocíticas tienen la capacidad de eliminar los patógenos intracelulares por medio de diferentes mecanismos que incluyen la respuesta oxidativa y la producción de enzimas lisosómicas y proteínas catiónicas; dichos mecanismos se pueden potenciar por las citocinas producidas por los linfocitos T y conllevar a la eliminación del microorganismo fagocitado (25-27). La producción de citocinas al inicio de la infección es lo que determinará el perfil subsecuente de citocinas y el establecimiento o no del parásito (28, 29).

La respuesta inmune celular innata

En el caso de la leishmaniasis experimental en el modelo murino, la activación de los macrófagos por citocinas como el interferón gamma (IFN γ) constituye un mecanismo efector importante para la eliminación de parásitos intracelulares mediante la producción de óxido nítrico (ON) (28, 30). El efecto leishmanicida del óxido nítrico en el modelo murino se ha demostrado por el bloqueo de la vía L-arginina a óxido nítrico *in vitro* y este bloqueo impide la eliminación de los parásitos intracelulares (31). En la leishmaniasis humana, aún no se ha

demostrado la producción del óxido nítrico después de la infección, pero sí se ha demostrado la producción de otro producto del oxígeno, el peróxido de hidrógeno, por los macrófagos luego de la infección con *Leishmania*, como un mecanismo para la eliminación del parásito (32).

Las células asesinas naturales (*natural killer*) o NK, también están involucradas en la respuesta inmune no específica a la infección primaria con *Leishmania*, ya que estas células pueden controlar localmente la diseminación del parásito mediante la producción de IFN γ , la regulación del macrófago y la eliminación de los parásitos que aún no han entrado al macrófago (33).

Inmunidad adquirida

En el modelo murino, una vez degradado el parásito por los macrófagos, los antígenos de *Leishmania* son presentados a los linfocitos T y se inicia la respuesta inmune de tipo celular mediada principalmente por linfocitos T CD4+. Estos linfocitos se diferencian en subpoblaciones productoras de citocinas que pueden favorecer o no la resolución de la enfermedad. Las células T CD8+ también se encuentran involucradas en la respuesta de memoria y resistencia a la reinfección por *Leishmania*, caracterizada por una producción alta y rápida de IFN γ (34).

La respuesta inmune humoral en la leishmaniasis

En la década de los ochenta, se realizaron varios estudios para determinar qué factores estaban involucrados en la resistencia o susceptibilidad del hospedero a la infección por *Leishmania*. En uno de ellos, se crearon por radiación quimeras de ratones susceptibles o resistentes que luego se reconstituyeron por inyección de células de médula ósea de ratones susceptibles o resistentes no infectados. Después de la infección con *Leishmania*, se observó que la susceptibilidad o resistencia de los ratones era conferida por los descendientes de las células hematopoyéticas inyectadas del donante. Este estudio permitió determinar que

la susceptibilidad de ratones a la infección por *Leishmania* era determinada genéticamente por células descendientes de la línea hematológica (35). Más tarde, en los trabajos realizados por Sacks et al. en 1984 (36), se analizó la respuesta inmune en leishmaniasis murina usando anticuerpos contra la inmunoglobulina M (anti-IgM) para suprimir la respuesta humoral. En este trabajo se determinó que no se requiere la presencia de una respuesta inmune de anticuerpos para que haya cura de la enfermedad en los ratones resistentes. Sin embargo, la respuesta de linfocitos B o de anticuerpos es necesaria para la activación de los linfocitos T supresores que, en ratones genéticamente susceptibles, conlleva a exacerbar la enfermedad. Estos trabajos y otros relacionados fueron la base para que comenzaran a desarrollarse estudios sobre la respuesta inmune en leishmaniasis, más enfocados a entender la respuesta inmune celular que la humoral. En los humanos, aunque puede ocurrir una respuesta inmune mediada por anticuerpos específicos para *Leishmania*, el papel que juegan los anticuerpos en la resolución de la infección o en la progresión hacia la enfermedad aún no está claro (37).

En la LCL, se induce una fuerte respuesta de tipo celular mediada por citocinas, al igual que la producción de anticuerpos específicos para el parásito. En la LCD, la respuesta inmune celular está ausente, mientras que la respuesta de anticuerpos contra *Leishmania* se conserva o puede acentuarse. En la LMC, las reacciones de inmunidad celular específicas para el antígeno de *Leishmania* están aumentadas, al igual que los niveles de anticuerpos circulantes (38, 39). La respuesta de anticuerpos puede asociarse con la cronología de la infección en leishmaniasis tegumentaria. Por ejemplo, la presencia de inmunoglobulina M (IgM) específica en suero, generalmente indica una infección primaria reciente, mientras que la inmunoglobulina G (IgG) se detecta en pacientes con lesiones de largo tiempo de evolución (40). En pacientes con leishmaniasis mucocutánea, se han detectado niveles mayores de IgA en comparación con los de

pacientes que tuvieron leishmaniasis cutánea; esta diferencia fue independiente del tiempo de evolución de las lesiones (39). En otro estudio se demostró que, en los pacientes con leishmaniasis crónica, los niveles de IgE específica para *L. (V) panamensis* son mayores que los observados en pacientes con enfermedad aguda (41). En este estudio, la respuesta de isotipos y subclases de anticuerpos se ha postulado como un indicativo de la respuesta tipo Th1 o Th2 que se presenta como resultado de la interacción parásito-hospedero.

La respuesta inmune celular en la leishmaniasis

La respuesta inmune celular incluye diferentes componentes como la hipersensibilidad cutánea retardada, la respuesta proliferativa de células mononucleares y la producción de citocinas por diferentes células del sistema inmune. En varios trabajos se ha observado que la respuesta celular, tanto de hipersensibilidad cutánea retardada como proliferativa de linfocitos estimulados con el antígeno de *Leishmania*, es más alta en pacientes con leishmaniasis mucosa que en pacientes con leishmaniasis cutánea (39). En este trabajo, la respuesta inmune observada se ha atribuido a la larga duración de la enfermedad en pacientes con lesiones mucosas ya que la intensidad de la respuesta se correlaciona con la duración de la enfermedad. No obstante, aun cuando se controle el tiempo de evolución, se observa una asociación de mayor reactividad en la prueba cutánea intradérmica con leishmanina (Montenegro) en la presentación mucosa que en la cutánea y con infección por *L. braziliensis* comparado con *L. panamensis*, respectivamente. Sin embargo, no es claro si la hipersensibilidad es causa o consecuencia de la enfermedad crónica.

Una respuesta inmune tipo Th1 caracterizada por una prueba intradérmica positiva, altos índices de proliferación de linfocitos y alta producción de IFN γ en respuesta a antígenos de *Leishmania*, *in vitro*, se ha observado en tres clases de individuos expuestos a *Leishmania*: los individuos con historia de leishmaniasis

cutánea en el Viejo Mundo, los individuos expuestos a transmisión sin historia de leishmaniasis pero con reacción de Montenegro positiva y en individuos que presentaron autocicatrización (42, 43). Es interesante observar que, aunque hay grandes diferencias en el desenlace clínico de la leishmaniasis, la respuesta inmune celular puede presentar notables similitudes; respuesta que, en cada caso, podría estar dada por diferentes factores del parásito o del hospedero.

La respuesta de citocinas en el modelo murino

En el modelo murino, está claramente definido el perfil de citocinas que se produce. Las citocinas que se asocian con el control y la cura de la enfermedad en los ratones resistentes son de respuesta tipo Th1, tales como el IFN γ , el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y la interleucina 12 (IL-12). Por el contrario, las citocinas que promueven la progresión o exacerbación de la enfermedad en los ratones resistentes son de tipo Th2, como las interleucinas 4, 5 y 10 (IL-4, IL-5, IL-10) y el factor de crecimiento y transformación beta (TGF β) (figura 2) (28, 30, 44-50). Este modelo

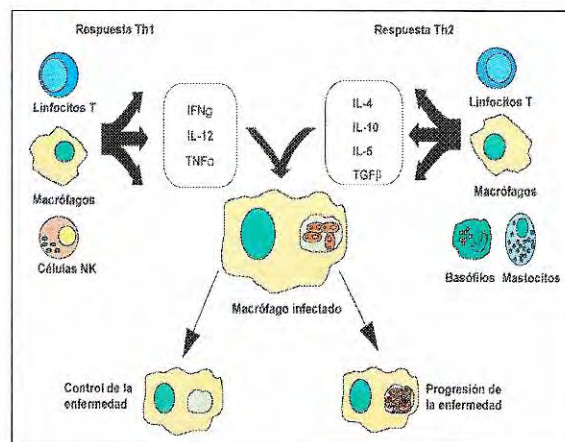


Figura 2. Respuesta inmune en el modelo de leishmaniasis murina. Diferentes tipos de células contribuyen al desarrollo de una respuesta inmune protectora o no protectora luego de la infección. Se ha establecido una clara dicotomía de la respuesta inmune en la infección por *Leishmania* en el modelo murino, donde, una respuesta tipo Th1 se asocia con resistencia a la enfermedad y una respuesta tipo Th2 se asocia con progresión de la enfermedad.

murino de infección con *Leishmania* ha proporcionado una vía instructiva para definir algunos de los factores que influyen en el desarrollo de las subpoblaciones de células T CD4+ *in vivo*, el patrón de citocinas que producen y la influencia de estas citocinas en el resultado de la infección, además de incentivar el estudio de estos factores en el hospedero humano (46-48, 51).

La respuesta de citocinas en la leishmaniasis humana

Aunque existe un patrón de diferenciación Th1 y Th2 en otras infecciones en humanos que puede ser dependiente de la estructura del antígeno, de las condiciones de inmunización y de factores intrínsecos del hospedero (52), en la leishmaniasis humana no existe un patrón claro de diferenciación de linfocitos T en las diferentes formas de la enfermedad, como sí ocurre en los modelos experimentales murinos. Por el contrario, se ha observado una mezcla o coexistencia de citocinas tipo Th1 y Th2. Este patrón de citocinas se ha descrito en dos formas crónicas de leishmaniasis cutánea americana: la leishmaniasis difusa y la mucocutánea. En ellas, las células presentes en las lesiones de los pacientes producen IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10. En la leishmaniasis cutánea localizada, se presenta una mezcla de citocinas con predominio de IFN γ , TNF α , IL-6, IL-1 e IL-8 y niveles bajos de IL-4, IL-5 e IL-10. Estos resultados sugieren que el desenlace de la leishmaniasis cutánea humana no está claramente definido por un patrón de citocinas Th1 o Th2 (53). Por otro lado, la IL-4 en la infección humana con *L. donovani* inhibe la producción de peróxido de hidrógeno por monocitos, dependiente de IFN γ y, además, suprime la capacidad leishmanicida de los monocitos activados por IFN γ . La IL-4 también inhibe la expresión de genes para la producción de la IL-1 α y el TNF α por los monocitos humanos, alterando así las funciones inmunorreguladoras y efectoras del macrófago e impidiendo la eliminación del parásito (32, 54). La IL-10, por su parte, tiene la capacidad de bloquear la proliferación de células mononucleares de la sangre periférica

estimuladas con *Leishmania*, favoreciendo la replicación no controlada de parásitos en los macrófagos del hospedero y la progresión de la enfermedad (30). Como se puede apreciar, la IL-4 y la IL-10 pueden contribuir a la progresión de la leishmaniasis tanto en el modelo murino como en los humanos.

En estudios de leishmaniasis cutánea causada por *L. mexicana*, los pacientes con lesiones con un tiempo de evolución mayor de cuatro meses presentan una alta expresión de genes para IL-1 α , TNF α , IL-10 y TGF β en sus lesiones, en comparación con pacientes con lesiones con un tiempo de evolución menor de dos meses, lo que sugiere que la IL-10 y el TGF β juegan un papel importante en la patogénesis de las formas crónicas de la leishmaniasis cutánea (55, 56). En el otro extremo, está la producción de IFN γ por las células de individuos con leishmaniasis autocicatrizante que coincide con la capacidad de esta citocina para controlar la multiplicación del parásito y la progresión de la enfermedad, de manera similar a lo que ocurre en los ratones resistentes a la leishmaniasis. Igualmente, la baja producción de anticuerpos específicos contra *Leishmania* en estos pacientes sugiere una regulación a través de una respuesta tipo Th1 (43).

Respuesta al tratamiento y producción de citocinas

La respuesta inmune en la leishmaniasis puede llegar a cambiar una vez se haya suministrado un tratamiento y, por otro lado, el resultado de la terapia puede estar influido por la respuesta inmune celular previa al tratamiento. Esto se observó en estudios de respuesta al tratamiento en leishmaniasis cutánea difusa activa, donde se presenta una expresión baja o ausencia de IFN γ en las lesiones. Las células mononucleares de estos pacientes no expresan ácido ribonucleico mensajero (ARNm) para el IFN γ durante la enfermedad activa, pero sí expresan ARNm para IL-2, IL-4, e IL-10. Luego de la cicatrización debida al tratamiento, se observó expresión de IFN γ y expresión baja de IL-10. En los pacientes que presentaron recaída, se encontró una expresión de IFN γ disminuida y ausencia de expresión de IL10. Este hecho

sugiere que, aunque haya una expresión de IFN γ aún en expresión baja de IL10, esto no es suficiente para inducir una cura completa, lo que indica la existencia de otros mecanismos, además de las citocinas de tipo Th1, que pueden estar participando en la resolución de la enfermedad (57). En la leishmaniasis murina, la polarización de la respuesta hacia un fenotipo Th2 en ratones susceptibles a *L. major* antes de la quimioterapia conlleva a una alta frecuencia de recaídas después del tratamiento. Cuando la quimioterapia es exitosa, la respuesta inmune cambia de un patrón Th2 a Th1, lo que conduce a una resistencia a la reinfección (58).

Inmunoterapia de la leishmaniasis

El tratamiento de la leishmaniasis con sales de antimonio (antimoniato de meglumina-Glucantime® o estibogluconato de sodio-Pentostam®) es la terapia de elección (59); sin embargo, este compuesto suele producir efectos adversos en algunos pacientes que hacen necesaria la suspensión del tratamiento (60). Además, hay pacientes que presentan deficiencias en la respuesta inmune específica a *Leishmania* en los cuales este tratamiento puede no ser efectivo (1). Por tanto, se ha estudiado la posibilidad de tratar la leishmaniasis con compuestos potenciadores de la respuesta inmune, proceso conocido como inmunoterapia. Uno de los inmunógenos más utilizados ha sido el BCG (bacilo Calmette-Guérin) vivo (61). Se ha comparado la eficacia del tratamiento de la leishmaniasis con promastigotes muertos en presencia de BCG con el tratamiento con antimoniales pentavalentes. Aunque los dos tratamientos fueron igualmente efectivos, la inmunoterapia produjo efectos colaterales leves menos frecuentes que los producidos por el antimonio pentavalente (61, 62). Estos resultados sugieren que la inmunoterapia puede ser una buena alternativa en el tratamiento de la leishmaniasis. Adicionalmente, se disminuiría el riesgo de abandono del tratamiento por el paciente debido a la apatía que suele presentarse por el tratamiento inyectable que se requiere en el caso de los antimoniales pentavalentes.

El conocimiento del estado inmunológico de los pacientes con leishmaniasis puede ser una gran herramienta para lograr un tratamiento efectivo de las formas clínicas crónicas de difícil resolución con antimoniales pentavalentes. Por ejemplo, en algunos estudios con modelos experimentales en los que se utilizó IL-12, se ha observado que esta citocina tiene un papel importante en la iniciación o establecimiento de una respuesta Th1 protectora con alta producción de IFN γ que, a su vez, inhibe la generación de una respuesta Th2 (50, 63). En los ratones susceptibles, la inmunoterapia con IL-12 durante las primeras semanas de infección previene el desarrollo de una respuesta tipo Th2 y promueve el desarrollo de una respuesta tipo Th1 dependiente de IFN γ que conlleva a la cura de las lesiones (49). Por otro lado, la IL-12 también se ha utilizado para el tratamiento de la leishmaniasis murina en combinación con compuestos antimoniales (Pentostam). En este trabajo se observó que cuando se logra disminuir los niveles de antígeno o carga parasitaria por quimioterapia, hay un cambio en el patrón de la respuesta inmune de un tipo Th2 a una respuesta Th1 protectora (64). Estos estudios apoyan el papel de la IL-12 como una citocina que participa en la inducción de una respuesta inmune protectora contra leishmaniasis.

La mayoría de los trabajos con inmunoterapia (por ejemplo, el uso del IFN γ) se han realizado con pacientes con leishmaniasis visceral (65, 66) y pocos con pacientes con leishmaniasis cutánea; de manera que hay un gran campo por explorar en este tema.

Es importante, entonces, seguir desarrollando investigaciones dirigidas a la búsqueda de nuevas estrategias inmunoterapéuticas y a la comprobación de los resultados obtenidos con las ya existentes que puedan servir para el control y el tratamiento eficiente de la leishmaniasis.

La vacunación en la leishmaniasis

El objetivo de una vacuna contra la leishmaniasis es inducir en el hospedero una

respuesta protectora y de memoria para un posterior encuentro con el parásito. El desarrollo de vacunas es una estrategia que se ha venido trabajando con el fin de prevenir la leishmaniasis en zonas endémicas y evitar su expansión a zonas no endémicas. En estudios con una vacuna compuesta por una mezcla de cepas muertas de leishmanias americanas y dermatópicas en humanos, se encontró una conversión de la reacción intradérmica de Montenegro de negativa antes de la vacunación a positiva, en algunos individuos. La respuesta linfoproliferativa a antígenos de *Leishmania* fue mayor después de la inmunización. Hubo producción de IFN γ en respuesta *in vitro* a *Leishmania* después de la vacunación pero no antes de la vacunación y no hubo producción de IL-2 ni de IL-4. Estas observaciones sugieren que la vacuna induce una respuesta inmune celular contra *Leishmania* (67).

Las vacunas genéticas que utilizan el gen que codifica para la glicoproteína de superficie de *L. major*, la gp63, en ratones susceptibles, han inducido resistencia contra infección por *L. major* y altos niveles de IL-2 e IFN γ , pero ausencia de IL-4 (68). De manera similar, otra vacuna que usa el gen de *L. braziliensis* (LeIF), homólogo al de la proteína ribosómica eucariótica, eIF4A, estimula la producción de citocinas que favorecen la cura de las lesiones y no de citocinas que promueven la progresión de la enfermedad en células de pacientes con leishmaniasis cutánea. Por otro lado, este LeIF recombinante (rLeIF) también induce la producción de IL-12 en células de pacientes e individuos no infectados (69).

También se han desarrollado vacunas de ácido nucleico (ADN) del receptor para la proteína cinasa C activada (LACK), la cual protege ratones susceptibles a la infección con *L. major* de manera dependiente de IL-12 (70). Estos hallazgos proporcionan evidencia de la factibilidad de inducir una respuesta protectora en el hospedero que le permita controlar la multiplicación del parásito y que, finalmente, conlleve a su eliminación de manera efectiva. Aunque la eficacia de éstas y otras vacunas

para inducir una respuesta que proteja contra la leishmaniasis humana está todavía por conocerse.

El estudio de la respuesta inmunológica en la leishmaniasis constituye una herramienta de gran ayuda en el entendimiento de algunos factores que pueden influir en el desarrollo de determinada forma clínica de la enfermedad, así como también las razones por las cuales algunos individuos responden o no al tratamiento con antimoniales. También permite determinar los mecanismos o factores que pueden contribuir a mejorar la respuesta clínica de los pacientes cuando se suministra un tratamiento y, adicionalmente, puede permitir la evaluación de la eficacia de vacunas que prevengan la enfermedad.

Agradecimientos

A COLCIENCIAS, Programa de Investigadores Jóvenes, por el apoyo a la autora de esta revisión.

A las doctoras Nancy Saravia, Sara Robledo y Liliana Valderrama por su colaboración con sus comentarios, sugerencias y correcciones del documento.

Referencias

1. **Convit J, Pinardi ME, Rondón AJ.** Diffuse cutaneous leishmaniasis: a disease due to an immunological defect of the host. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1972;66:603-10.
2. **Convit J, Ulrich M, Fernández CT, Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G, Castés M, et al.** The clinical and immunological spectrum of American cutaneous leishmaniasis. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1993;87:444-8.
3. **Lewis DJ, Ward RD.** Transmission and vectors. In: Peters W, Killick-Kendrick R, editors. *The leishmaniases in biology and medicine*. Vol. I. London: Academic Press Inc.; 1987.p.235-62.
4. **Chable-Santos JB, Van Wynsberghe NR, Canto-Lara SB, Andrade-Narvaez FJ.** Isolation of *Leishmania* (*L.*) *mexicana* from wild rodents and their possible role in the transmission of localized cutaneous leishmaniasis in the state of Campeche, Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 1995;53:141-5.
5. **Semiao-Santos SJ, Abranches P, Silva-Pereira MC, Santos-Gomes GM, Fernandes JP.** Reliability

- of serological methods for detection of leishmaniasis in Portuguese domestic and wild reservoirs. Mem Inst Oswaldo Cruz 1996;91:747-50.
6. Travi BL, Osorio Y, Guarín N, Cadena H. *Leishmania (Leishmania) chagasi*: clinical and parasitological observations in experimentally infected *Didelphis marsupials*, reservoir of New World visceral leishmaniasis. Exp Parasitol 1998; 88:73-5.
 7. Wyler DJ, Suzuki K. *In vitro* parasite-monocyte interactions in human leishmaniasis: effect of enzyme treatments on attachment. Infect Immun 1983;42:356-61.
 8. Robledo S, Wozencraft A, Valencia AZ, Saravia N. Human monocyte infection by *Leishmania (Viannia) panamensis*. J Immunol 1994;152:1265-76.
 9. Shepherd VL, Lee YC, Schlesinger PH, Sthal PD. L-Fucose terminated glycoconjugates are recognized by pinocytosis receptors on macro-phages. Proc Natl Acad Sci USA 1981;78:1019-22.
 10. Pommier CG, O'Shea J, Chused T, Yancey K, Frank MM, Takahasi T, et al. Studies on fibronectin receptors of human peripheral blood leukocytes. J Exp Med 1984;159:137-51.
 11. Looney RJ, Abraham GN, Anderson CL. Human monocytes and U-937 cells bear two distinct Fc receptors for IgG. J Immunol 1986;136:1641-7.
 12. Bogdan C, Röllinghoff M, Solbach W. Evasion strategies of *Leishmania* parasites. Parasitol Today 1990;6:183-7.
 13. Chang CS, Chang KP. Monoclonal antibody affinity purification of a *Leishmania* membrane glyco-protein and its inhibition of *Leishmania*-macrophage binding. Proc Natl Acad Sci USA 1986;83:100-4.
 14. Russell DG, Talamas-Rohana P. *Leishmania* and the macrophage: a marriage of inconvenience. Immunol Today 1989;10:328-33.
 15. Mosser DM, Edelson PJ. The mouse macrophage for C3bi (CR3) is a major mechanism in the phagocytosis of *Leishmania* promastigotes. J Immunol 1985;135:2785-9.
 16. Wyler DJ, Sypek JP, McDonald JA. *In vitro* parasite-monocyte interactions in human leishmaniasis: possible role of fibronectin in parasite attachment. Infect Immun 1985;49:305-11.
 17. Mosser DM, Vlassara H, Edelson PJ, Cerami A. *Leishmania* promastigotes are recognized by the macrophage receptor for advanced glycosilation endproducts. J Exp Med 1987;165:140-5.
 18. Antoine JC, Prina E, Jouanne C, Bongrand P. Parasitophorous vacuoles of *Leishmania amazonensis* infected macrophages maintain an acidic pH. Infect Immun 1990;58:779-87.
 19. Martínez JE, Arias AL, Escobar MA, Saravia NG. Haemoculture of *Leishmania (Viannia) braziliensis* from two cases of mucosal leishmaniasis: re-examination of haematogenous dissemination. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1992; 86:392-4.
 20. Sousa ADQ, Parise ME, Pompeu MML, Coehlo-Filho JM, Vasconcelos IAB, Lima JWO, et al. Bubonic leishmaniasis: a common manifestation of *Leishmania (Viannia) braziliensis* infection in Ceara, Brazil. Am J Trop Med Hyg 1995;53:380-5.
 21. Martínez JE, Travi BL, Valencia AZ, Saravia NG. Metastatic capability of *Leishmania (Viannia) panamensis* and *Leishmania (Viannia) guyanensis* in golden hamsters. J Parasitol 1991;77:762-8.
 22. Blank C, Fuchs H, Rappersberger K, Röllinghoff M, Moll H. Parasitism of epidermal Langerhans cells in experimental cutaneous leishmaniasis with *Leishmania major*. J Infect Dis 1993;167:418-25.
 23. Ezekowitz RAB, Williams DJ, Koziel H, Armstrong MYK, Warner A, Richards FF, et al. Uptake of *Pneumocystis carinii* mediated by the macrophage mannose receptor. Nature 1991;351: 155-8.
 24. Sher A, Coffman RL. Regulation of immunity to parasites by T cells and T cell-derived cytokines. Ann Rev Immunol 1992;10:385-409.
 25. Stout RD, Bottomly K. Antigen-specific activation of effector macrophages by INF- γ producing (T_H1) T cell clones: failure of IL-4-producing (T_H2) T cell clones to activate effector function in macro-phages. J Immunol 1989;142:760-5.
 26. Swallow CJ, Grinstein S, Rotstein OD. Regulation and functional significance of cytoplasmic pH in phagocytic leukocytes. In: Current topics in membranes and transport. Academic Press, Inc. 1990;35:227-47.
 27. Janeway CA Jr, Travers P. Immunobiology: the immune system in health and disease. Second editin. London, San Francisco and Philadelphia: Current Biology Ltd., and New York and London: Garland Publishing Inc., 1996.
 28. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cytokines. In: Cellular and molecular immunology. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: W.B. Saunders Company; 1991.p.225-43.
 29. Milon G, Del Giudice G, Louis JA. Immunobiology of experimental cutaneous leishmaniasis. Parasitol Today 1995;11:224-47.
 30. Reed SG, Scott P. T-cell and cytokine responses in leishmaniasis. Curr Opin Immunol 1993;5:524-31.
 31. Liew FY, Millott S, Parkinson C, Palmer RMJ, Moncada S. Macrophage killing of *Leishmania* parasite *in vivo* is mediated by nitric oxide from L-arginine. J Immunol 1990;144 4794-7.

32. **Lehn M, Weiser WY, Engelhorn S, Gillis S, Remold HG.** IL-4 inhibits H_2O_2 production and anti-leishmanial capacity of human cultured monocytes mediated by IFN- γ . *J Immunol* 1989;143:3020-4.
33. **Ridel PR, Esterre P, Dedet JP, Pradinaud R, Santoro F, Capron A.** Killer cells in human cutaneous leishmaniasis. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1988;82:223-6.
34. **Müller I, Kropf P, Etges RJ, Louis JA.** Gamma interferon response in secondary *Leishmania major* infection: role of CD8⁺ T cells. *Infect Immun* 1993; 61:3730-8.
35. **Howard JG, Hale C, Liew FY.** Genetically determined susceptibility to *Leishmania tropica* infection is expressed by haematopoietic donor cells in mouse radiation chimaeras. *Nature* 1980; 288:161-2.
36. **Sacks DL, Scott PA, Asofsky R, Sher A.** Cutaneous leishmaniasis in anti-IgM-treated mice: enhanced resistance due to functional depletion of a B cell-dependent T cell involved in the suppressor pathway. *J Immunol* 1984;132:2072-7.
37. **Frankenburg S, Jonas F, Gross A, and Klaus S.** Development of *in vitro* parameters of cell-mediated immunity in the course of human cutaneous leishmaniasis infection. *Am J Trop Med Hyg* 1993;48:512-8.
38. **Carvalho EM, Johnson WD, Barreto E, Marsden PD, Costa JLM, Reed S, et al.** Cell mediated immunity in American cutaneous and mucosal leishmaniasis. *J Immunol* 1985;135:4144-8.
39. **Saravia NG, Valderrama L, Labrada M, Holguín AF, Navas C, Palma G, et al.** The relationship of *Leishmania braziliensis* subspecies and immune response to disease expression in New World leishmaniasis. *J Infect Dis* 1989;159:725-35.
40. **Labrada M, Weigle K, Valderrama L, Saravia NG.** Evaluación de la respuesta de isotipos de inmunoglobulina específica a *Leishmania* en leishmaniasis tegumentaria Americana. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1989;84:409-16.
41. **O'Neil CE, Labrada M, Saravia NG.** *Leishmania (Viannia) panamensis*-specific IgE and IgA antibodies in relation to expression of human tegumentary leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 1993;49:181-8.
42. **Kemp M, Hey AS, Kurtzhals JAL, Christensen CBV, Gaafar A, Mustafa MD, et al.** Dichotomy of the human T cell response to *Leishmania* antigens. I. Th1-like response to *Leishmania major* pro-mastigote antigens in individuals recovered from cutaneous leishmaniasis. *Clin Exp Immunol* 1994; 96:410-5.
43. **Carvalho EM, Filho DC, Bacellar O, Almeida RP, Lessa H, Rocha H.** Characterization of the immune response in subjects with self-healing cutaneous leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 1995;53:273-7.
44. **Belosevic M, Finbloom DS, Van Der Meide PH, Slayter MV, Nacy CA.** Administration of mono-clonal anti-IFN- γ antibodies *in vivo* abrogates natural resistance of C3H/HeN mice to infection with *Leishmania major*. *J Immunol* 1989;143:266-74.
45. **Titus RG, Sherry B, Cerami A.** Tumor necrosis factor plays a protective role in experimental murine cutaneous leishmaniasis. *J Exp Med* 1989; 170:2097-104.
46. **Boom WH, Liebster L, Abbas AK, Titus RG.** Patterns of cytokine secretion in murine leishmaniasis: correlation with disease progression or resolution. *Infect Immun* 1990;58: 3863-70.
47. **Scott P.** IFN- γ modulates the early development of Th1 and Th2 responses in a murine model of cutaneous leishmaniasis. *J Immunol* 1991;147: 3149-55.
48. **Barral-Netto M, Barral A, Brownell CE, Skeiky YAW, Ellingsworth LR, Twardzik DR, et al.** Transforming growth factor- β in leishmanial infection: a parasite escape mechanism. *Science* 1992;257:545-8.
49. **Heinzel FP, Schoenhaut DS, Rerko RM, Rosser LE, Gately MK.** Recombinant interleukin 12 cures mice infected with *Leishmania major*. *J Exp Med* 1993;177:1505-9.
50. **Sypek JP, Chung CL, Mayor SEH, Subramanyam JM, Goldman SJ, Sieburth DS, et al.** Resolution of cutaneous leishmaniasis: interleukin 12 initiates a protective T helper type 1 immune response. *J Exp Med* 1993;177:1797-802.
51. **Heinzel FP, Sadick MD, Mutha SS, Locksley RM.** Production of interferon γ , interleukin 2, interleukin 4 and interleukin 10 by CD4⁺ lymphocytes *in vivo* during healing and progressive murine leishmaniasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:7011-5.
52. **Romagnani S.** Human Th1 and Th2 subsets: doubt no more. *Immunol Today* 1991; 12: 256-7.
53. **Cáceres-Dittmar G, Tapia FJ, Sánchez MA, Yamamura M, Uyemura K, Modlin RL et al.** Determination of the cytokine profile in American cutaneous leishmaniasis using the polymerase chain reaction. *Clin Exp Immunol* 1993;91:500-5.
54. **Essner R, Rhoades K, McBride WH, Morton DL, Economou JS.** IL-4 down-regulates IL-1 and TNF gene expression in human monocytes. *J Immunol* 1989;142:3857-61.
55. **Barral A, Barral-Netto M, Yong EC, Brownell CE, Twardzik DR, Reed SG.** Transforming growth factor β as a virulence mechanism for *Leishmania braziliensis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90: 3442-6.

56. **Melby PC, Andrade-Narvaez FJ, Darnell BJ, Valencia-Pacheco G, Tryon W, Palomo-Cetina A.** Increased expression of proinflammatory cytokines in chronic lesions of human cutaneous leishmaniasis. *Infect Immun* 1994;62:837-42.
57. **Bomfim G, Nascimento C, Costa J, Carvalho EM, Barral-Netto M, Barral A.** Variation of cytokine patterns related to therapeutic response in diffuse cutaneous leishmaniasis. *Exp Parasitol* 1996;84: 188-94.
58. **Nabors GS, Farrell JP.** Successful chemotherapy in experimental leishmaniasis is influenced by the polarity of the T cell response before treatment. *J Infect Dis* 1996;173:979-86.
59. **Berman JD.** Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. *Clin Infect Dis* 1997;24:684-703.
60. **Chulay JD, Spencer HC, Mugambi M.** Electrocardiographic changes during treatment of leishmaniasis with pentavalent antimony (sodium stibogluconate). *Am J Trop Med Hyg* 1985;34:702-9.
61. **Convit J, Castellanos PL, Ulrich M, Castés M, Rondón A, Pinardi M, et al.** Immunotherapy of localized, intermediate and diffuse forms of American cutaneous leishmaniasis. *J Infect Dis* 1989;160:104-15.
62. **Convit J, Rondón A, Ulrich M, Bloom B, Castellanos PL, Pinardi ME, et al.** Immuno-therapy versus chemotherapy in localised cutaneous leishmaniasis. *Lancet* 1987;401-4.
63. **Manetti R, Gerosa F, Giudizi MG, Biagiotti R, Parronchi P, Piccinni MP, et al.** Interleukin 12 induces stable priming for interferon γ (IFN- γ) production during differentiation of human T helper (Th) cells and transient IFN- γ production in established Th2 cell clones. *J Exp Med* 1994;179: 1273-83.
64. **Nabors GS, Afonso LCC, Farrell JP, Scott P.** Switch from a type 2 to a type 1 T helper cell response and cure of established *Leishmania major* infection in mice is induced by combined therapy with interleukin 12 and Pentostam. *Immunol* 1995; 92:3142-6.
65. **Sundar S, Murray HW.** Effect of treatment with interferon gamma alone in visceral leishmaniasis. *J Infect Dis* 1995;172:1627-9.
66. **Sundar S, Singh VP, Sharma S, Makharia MK, Murray HW.** Response to interferon-gamma plus pentavalent antimony in Indian visceral leishmaniasis. *J Infect Dis* 1997;176:1117-9.
67. **Mendonça SCF, De Luca PM, Mayrink W, Restom TG, Conceicao-Silva F, Da-Cruz AM, et al.** Characterization of human T lymphocyte-mediated immune responses induced by a vaccine against American tegumentary leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 1995;53:195-201.
68. **Xu D, Liew FY.** Genetic vaccination against leishmaniasis. *Vaccine* 1994;12:1534-6.
69. **Skeiky YA, Guderian JA, Benson DR, Bacelar O, Carvalho EM, Kubin M, et al.** A recombinant *Leishmania* antigen that stimulates human peripheral blood mononuclear cells to express a Th1-type cytokine profile and to produce interleukin 12. *J Exp Med* 1995;181:1527-37.
70. **Gurunathan S, Sacks DL, Brown DR, Reiner SL, Charest H, Glaichenhaus N, et al.** Vaccination with DNA encoding the immunodominant LACK parasite antigen confers protective immunity to mice infected with *Leishmania major*. *J Exp Med* 1997;186:1137-47.