

Desarrollo de inmunoterapia de la leishmaniasis cutánea americana en el Instituto de Biomedicina

Drs. Jacinto Convit*, Marian Ulrich, Pedro L. Castellanos, Marianela Castés, María E. Pinardi, Héctor De Lima, Olga Zerpa, Nelly Hernández, Adriana Herz

Instituto de Biomedicina, Caracas, Venezuela.

RESUMEN

El desarrollo de la inmunoterapia de la leishmaniasis cutánea americana en el Instituto de Biomedicina, fue un proceso complejo de más de dos décadas que involucró diversas disciplinas. Un aspecto importante fue la comparación de la leishmaniasis cutánea difusa con otras formas clínicas. Este estudio comparativo constituyó la base para proponer un espectro para la leishmaniasis cutánea americana, que se presentó en el Simposium CIBA 20 en 1974.

Otra etapa importante fue el estudio de la prueba de competencia, respuesta macrofágica del enfermo de leishmaniasis cutánea difusa a la inyección intradérmica de una suspensión de promastigotes de cultivo de Leishmania. Comparando esta respuesta con la respuesta de estos mismos enfermos a la inyección intradérmica de bacilos de Calmette-Guerin pudimos demostrar que al mezclar ambos antígenos (promastigotes de Leishmania con bacilos de Calmette-Guerin) en una prueba intradérmica, se obtenía un nódulo de estructura tuberculoide con desaparición de los parásitos inoculados; esto sugirió una vacuna combinada para inmunoterapia de leishmaniasis. Esta vacuna fue estudiada en 217 pacientes con leishmaniasis cutánea localizada, en una experiencia doble ciego al azar, en el que se estudió comparativamente la inmunoterapia con quimioterapia, con meglumine antimonato y con bacilos de Calmette-Guerin solos. Los resultados demostraron que no había diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento con inmunoterapia o quimioterapia.

Palabras clave: Leishmaniasis cutánea americana. Inmunoterapia. Quimioterapia. Promastigotes. BCG.

SUMMARY

The development of immunotherapy of american cutaneous leishmaniasis at the Instituto de Biomedicina was a complex and more than two decades long process which involved various disciplines. An important aspect was the comparison of diffuse cutaneous leishmaniasis with other clinical forms. This comparative study was the basis to propose a spectrum for american cutaneous leishmaniasis, as presented in the CIBA Symposium 20 in 1974.

Another important step was the study of the competency test, macrophagic response of diffuse cutaneous leishmaniasis patients to injection of a suspension of culture Leishmania promastigotes. Comparing this response with the response of those same patients to the intradermal injection of Calmette-Guerin bacilli (BCG), we determined that when these two antigens (Leishmania promastigotes with BCG) were injected together in an intradermal test, we obtained a nodule with tubercloid structure and elimination of the inoculated parasites; this suggested a combined vaccine for immunotherapy of leishmaniasis. This vaccine (dead promastigotes plus live BCG) was studied in 217 patients with localized cutaneous leishmaniasis in a double blind random trial where immunotherapy was compared with chemotherapy with meglumine antimonate, and with BCG alone. Results showed there were no statistically significant differences between immunotherapy and chemotherapy.

Key words: American cutaneous leishmaniasis. Immunotherapy. Chemotherapy. Promastigotes. BCG.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la inmunoterapia de la leishmaniasis cutánea americana (LCA) en el Instituto de Biomedicina fue un proceso complejo

* Individuo de Número, Academia Nacional de Medicina.

que tuvo una duración de dos décadas, en el cual intervinieron diversas disciplinas tales como clínica, histopatología, parasitología, bioquímica, inmunología y biología molecular.

La investigación se inició con el estudio de la leishmaniasis en sus diversas formas, especialmente de la leishmaniasis cutánea difusa (LCD), con base en características clínicas, histopatológicas, inmunológicas y parasitológicas, describiéndose sus aspectos clínicos e histopatológicos (1-3) y más tarde los aspectos inmunológicos y de biología molecular (4). El estudio comparativo de la LCD con las otras manifestaciones clínicas, permitió desarrollar el espectro de la LCA, presentándose esta investigación en el Simposium CIBA 20 (5).

Consideramos que las características de la leishmaniasis cutánea en una comunidad determinada, siguen un patrón similar al de otras enfermedades granulomatosas comunes producidas por microorganismos intracelulares, como la lepra. En estas afecciones, las características en cada individuo dependen, en su mayor parte, de la respuesta inmunológica frente al parásito, explicándose de esa manera el polimorfismo clínico y anatomopatológico de la enfermedad, así como su evolución y respuesta al tratamiento. La influencia parasitaria es un factor de menos importancia.

Basándonos en los aspectos antes señalados, propusimos un espectro con dos formas polares para la LCA. El polo maligno, representado por la forma difusa de la enfermedad (LCD), se caracteriza por lesiones cutáneas extensas, formadas por nódulos y placas cuya estructura muestra un granuloma macrófagico con una enorme población parasitaria intracelular, respuesta negativa a la leishmanina (reacción de Montenegro) y a la prueba de proliferación linfocitaria "in vitro" (LTT) (6) y muy deficiente respuesta al tratamiento. Esta forma presenta una respuesta de tipo Th2 (7) o T2 (8) de los linfocitos CD4+, cuyo perfil se caracteriza por un índice <1 de la relación CD4-CD8 y presencia de linfoquinas IL4, IL5 e IL10.

En el otro polo, ubicamos la forma localizada benigna de la enfermedad (LCL), caracterizada por favorable respuesta al tratamiento, pocos parásitos en las lesiones y reacción positiva a la leishmanina y la LTT. Presenta una respuesta de inmunidad celular (IC) Th1 o T1, cuyo perfil se expresa por un índice >1 de la relación CD4/CD8 y presencia de linfoquinas IL2 e interferón gamma.

Entre los dos polos describimos un área intermedia donde ubicamos la forma mucocutánea (LMC) que, frecuentemente, tiene escasos parásitos, es resistente al tratamiento con recaídas frecuentes y en cerca del 50% de los pacientes, presenta reacciones fuertemente positivas a la leishmanina. Además de esta forma, el área intermedia incluye la forma verrugosa y formas de recaída. La respuesta de IC tiene tendencia a mostrarse como híbrida, con componentes de ambos tipos Th1 y Th2 (Figura 1).

Un hecho que se derivó del estudio del espectro fue el concepto de la inmunodeficiencia antígeno-específica, cuya intensidad varía de acuerdo con la ubicación en el espectro: la LCD está caracterizada por una acentuada inmunodeficiencia específica y el polo LCL caracterizado por una inmunodeficiencia muy discreta, desde normalidad en la respuesta, evidenciada por curación espontánea de la lesión, hasta los casos más rebeldes que se pueden manifestar por recaídas, colindando con el área intermedia. Este polo en general responde satisfactoriamente al tratamiento. En el área intermedia los fenómenos inmunes son aberrantes, mezclándose la respuesta protectora con la de hipersensibilidad tardía en una relación no armónica, haciendo la afección difícil de tratar.

La especificidad de la respuesta inmunodeficiente se comprueba por las pruebas negativas "in vivo" e "in vitro" de la LCD al parásito leishmánico, observándose respuestas positivas a otros antígenos como PPD (proteínas purificadas derivadas de medio de cultivo de *Mycobacterium tuberculosis*), histoplasmina, tricofitina, etc.

Una etapa importante en estos estudios sobre el desarrollo de la inmunoterapia fueron las observaciones en lepra y leishmaniasis, en el cual se pudieron estudiar las respuestas del polo lepromatoso de la enfermedad de Hansen y el polo difuso de la leishmaniasis. Es conocido que en ambos polos, cuando se realiza una prueba intradérmica con 0,1 ml de una suspensión de microorganismos muertos por calor (*M. leprae*) o promastigotes de *Leishmania* a una concentración de $1,6 \times 10^6/\text{ml}$, el resultado de dichas pruebas es negativo.

Cuando se aumenta la concentración de los microorganismos al inyectar una dosis de $6,4 \times 10^8$ de *M. leprae* para el enfermo lepromatoso, y de $6,4 \times 10^8$ promastigotes para la LCD, a las 3 ó 4 semanas se observa la formación de un nódulo de entre 5 y 8 mm de diámetro. El estudio estructural de este nódulo, muestra formación de un granuloma



Figura 1. Espectro de leishmaniasis cutánea americana.
 Izquierda. Lesión característica de LCL, ulcerada (abajo) y cerrada (arriba).
 Centro. Formas intermedias, lesión mucosa (arriba) y cutánea intermedia (abajo).
 Derecha. Lesiones de leishmaniasis cutánea difusa.

macrofágico con numerosos microorganismos intracelulares que permanecen en dicho granuloma por varios meses. El resultado de la prueba mencionada contrasta con la respuesta que se produce cuando se inyectan, por vía intradérmica, enfermos con lepra lepromatosa (LL) o con LCD con una suspensión de bacilos de Calmette-Guerin (BCG) a una concentración de 0,1 mg/ 0,1 ml, y es la estructura de esta última respuesta, la de un granuloma tuberculoide.

La prueba en LL con concentraciones altas de los microorganismos estudiados fue descrita con la denominación de CCB test (“competency in clearing bacilli test”) (9). Su comparación con la respuesta a la prueba por inyección de BCG solo (granuloma tuberculoide con desaparición de los microorganismos inoculados) nos orientó hacia el siguiente experimento.

Cuando a un enfermo LL o LCD se le inyecta por vía intradérmica una mezcla de *M. leprae* muertos por calor + BCG vivo en LL, o de promastigotes muertos por calor + BCG vivo en LCD, observamos el interesante fenómeno de la formación de un granuloma tuberculoide con desaparición de los microorganismos de la mezcla en un período de 4 semanas.

Este simple, pero ingenioso experimento, fue la demostración de la posibilidad de cambiar “in situ” la inmunodeficiencia, en los polos con inmunodeficiencia profunda de ambas enfermedades.

El cambio de la inmunodeficiencia “in situ” con la mezcla *M. leprae* + BCG en LL o promastigotes de *Leishmania* + BCG en LCD, nos indujo a pensar sobre la formación de inmunógenos activos que se producirían “in situ”, y de manera general estimularían el sistema inmunológico deficiente en esas formas de las enfermedades (10).

Considerando que un cambio de la respuesta inmune de dichos enfermos, sólo se lograría con base en más de un estímulo, se estimó necesario repetir varias veces la aplicación de dosis de la mezcla, de acuerdo con el grado de inmunodeficiencia, en los diferentes grupos del espectro.

Para la LCL, que varía entre normalidad de la respuesta inmune en aquellos que curan espontáneamente, a inmunodeficiencia discreta, por diversas observaciones, se consideró necesario aplicar 3 ó 4 dosis separadas durante 6 a 8 semanas. Para los enfermos de LCD y formas intermedias (lesiones mucocutáneas y verrugosas), debido al tipo de trastorno inmunológico, se consideró necesario

aplicar series de 6 dosis en un total de 1, 2 ó 3 series separadas por intervalos de varias semanas, conjuntamente con quimioterapia antimonial. Esto constituyó un tratamiento mixto inmuno-quimioterapia.

El BCG, utilizado como adyuvante en nuestros estudios, posee características de gran interés. Se emplea en muchas partes del mundo como control de la tuberculosis, con variaciones en efectividad que dependen de subtipos entre las diferentes cepas en uso, el número de bacilos viables en las preparaciones y cuidado en su manejo, contacto previo de la población con micobacterias del ambiente y otros factores no definidos. Es considerado como el mejor adyuvante para inducir inmunidad mediada por células en el ser humano y su toxicidad es mínima (11,12), ha sido administrado a más de cuatro mil millones de personas en el mundo entero, en programas de control de la tuberculosis con muy escasos efectos adversos (13), es de bajo costo y se puede administrar a todos los grupos de edad, incluyendo recién nacidos. La dosis normal es de 0,1 mg y se usó en nuestros trabajos en personas no reactivas al PPD; megadosis entre 18 y 125 mg han sido utilizadas en tratamiento de algunos tumores sin mayores consecuencias que la de artritis inducida por BCG en un 6% de los pacientes (14). Actualmente, existen programas muy avanzados para el desarrollo de vacunas recombinantes que emplean el BCG como vector para el control de la enfermedad de Lyme, infecciones urinarias y neumonías bacterianas, debido a la posibilidad de incorporar grandes cantidades de ácido desoxirribonucleico (ADN) extraño que luego expresa lipoproteínas altamente inmunogénicas en la superficie en un vehículo de gran seguridad y fuerte actividad inmunológica (15). El antígeno gp63 de *Leishmania* ha sido expresado en BCG como un candidato para vacunación en leishmaniasis (16).

Entre las características inmunológicas que pueden influir en la actividad del BCG como adyuvante, se incluyen la inducción de un granuloma inmune con presencia de abundantes células presentadoras de antígeno activadas y otras células accesorias involucradas en la respuesta inmune (17), aumento en la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de la clase II (18) y síntesis aumentada de IL-1 (19). Estos factores, podrían jugar un papel fundamental en la inducción de una respuesta, frente a antígenos parásitospecíficos liberados en el microambiente del granuloma

inmune, como consecuencia de la presencia de células activadas. Adicionalmente, la presencia de linfoquinas asociadas a la respuesta normal frente al BCG (IL2, IFN-gamma) podría jugar un papel importante en modular la respuesta inmune y en corregir algunas inmunodeficiencias de la respuesta inmunológica a nivel linfocitario, debido a la actividad no-específica de estas citoquinas.

Algunos protocolos experimentales permiten demostrar una actividad inmunosupresora del BCG en ciertos esquemas de inmunización. Este fenómeno depende de muchas variables, incluyendo la dosis de BCG, especie de animal, vía de inoculación, uso previo o simultáneo de un segundo antígeno y otros. Un análisis serio y responsable no permite generalizaciones basadas en modelos tan variables. Sin subestimar la importancia de este fenómeno, nunca ha sido implicado como contraindicación para el uso de BCG en la vacunación masiva de poblaciones humanas en condiciones socio-económicas precarias. No se observaron fenómenos de inmunosupresión en los estudios previos de la vacuna combinada con la infección en cobayos con *L. enriettii*, modelo idóneo, en muchos aspectos, para el estudio experimental de la leishmaniasis cutánea (20). En lepra lepromatosa, la inmunoterapia con BCG + *M. leprae* se asocia a una disminución de la inmunosupresión que normalmente se observa en esta forma de la enfermedad (21).

En publicaciones previas (22,23), hemos postulado esquemas para visualizar los posibles mecanismos inmunológicos de las vacunas combinadas. El esquema presentado en la Figura 2 representa un resumen de nuestro concepto actual de estos mecanismos.

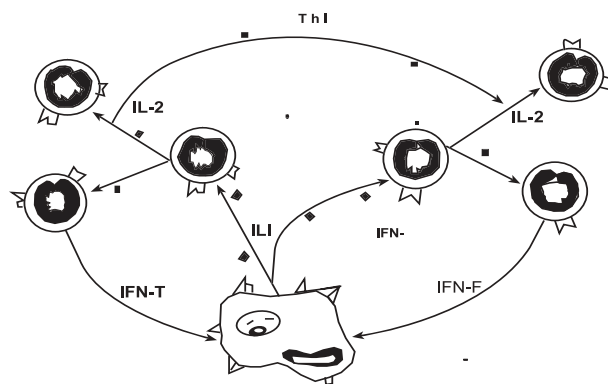


Figura 2. Posible mecanismo inmunológico de la combinación BCG + *Leishmania*; activación macrofágica y estimulación linfocitaria por el BCG aumenta la respuesta a la leishmania.

Disponiendo de la base teórico-práctica previamente descrita, se planificó un estudio del efecto de la inmunoterapia en leishmaniasis cutánea americana (LCA) en todas las formas detalladas en el espectro. Con este objetivo, se dieron los pasos siguientes:

- 1°. En colaboración con el Instituto Nacional de Higiene (INH), se procedió a realizar los trabajos necesarios para desarrollar las prácticas de manufactura adecuadas para la suspensión de promastigotes. El Instituto Nacional de Higiene efectúa un estricto control de calidad del producto final, gracias al convenio establecido entre esa institución y el Instituto de Biomedicina.
- 2°. Evaluación inicial de la vacuna combinada promastigotes + BCG en un modelo experimental, para lo cual se escogió el cobayo infectado con *Leishmania enriettii*. Grupos de seis animales fueron sensibilizados con BCG y vacunados con dos dosis intradérmicas de promastigotes de *L. enriettii* o *L. braziliensis* autoclavados + BCG y también con cada componente por separado. En los animales vacunados con la combinación promastigotes + BCG, se desarrolló una respuesta intensa de hiper-sensibilidad tardía. Todos los animales, incluyendo un grupo testigo, fueron infectados por vía intradérmica con 5×10^3 amastigotes de *L. enriettii*; las lesiones desarrolladas fueron medidas semanalmente durante 14 semanas. Las lesiones fueron más pequeñas y de curación espontánea mucho más rápida en el grupo vacunado con *L. enrietti* + BCG. No se observó evidencia alguna de inmunosupresión inducida por el BCG.

Realizadas las dos primeras etapas (estudio de la calidad del producto en el INH y prueba en un modelo experimental en cobayos infectados por *L. enriettii*), se procedió a utilizar el producto combinado promastigotes + BCG en un pequeño grupo de 20 personas con LCL (experiencia abierta) a fin de estudiar las características de la respuesta y los efectos secundarios, en enfermos sometidos a 3 ó 4 dosis de la mezcla separadas, una de otra, por un espacio de 6 a 8 semanas. También se estudió la infección secundaria en lesiones ulceradas en habitantes del medio rural. Los resultados obtenidos fueron altamente positivos y sin fenómenos secundarios.

Superadas todas las etapas arriba mencionadas, así como la presentación a la Comisión Ética del Instituto de Biomedicina y obtenido el permiso

correspondiente de la Dirección de Salud Pública del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, se procedió a la evaluación de la eficacia de la mezcla (promastigotes + BCG) en el tratamiento de la LCL, formas intermedias del espectro y un grupo de casos de LCD, en una investigación científica operacional que fue realizada siguiendo, en forma estricta, todos los requisitos metodológicos.

Con esa finalidad, se le propuso al Dr. Pedro Luis Castellanos, destacado epidemiólogo de la Oficina Panamericana de la Salud, que asumiera la dirección de dicha investigación y escogiese los investigadores que cooperarían en los aspectos clínicos, inmunológicos, histopatológicos, parasitológicos, de biología molecular y microscopía electrónica. El equipo de trabajo, además del Dr. Castellanos, estuvo constituido por los doctores Marian Ulrich, Marianella Cástes, José Luis Avila, Félix Tapia, Gisela Cáceres y la Sra. María Eugenia Pinardi. La evaluación clínica en cuanto a la evolución de las lesiones fue realizada por el Dr. Antonio Rondón, actualmente Profesor Jefe de la Cátedra de Clínica Dermatológica de la Escuela de Medicina "José María Vargas" y el Dr. Leonardo García, Adjunto al Departamento de Dermatología Sanitaria. En microscopía electrónica se contó con la colaboración del Profesor de la Universidad de Kyoto (Japón) S. Nishiura y el Dr. Antonio Bretaña. Algunos estudios inmunológicos se efectuaron en colaboración con el Departamento de Microbiología e Inmunología de la Escuela de Medicina "Albert Einstein" de Nueva York (24).

El desarrollo del proyecto de investigación operacional sobre inmunoterapia de la leishmaniasis cutánea, con el gran esfuerzo que representó, se debió a la importancia que esta endemia ha adquirido en la mayoría de los países latinoamericanos. En Venezuela, en el último año 1995, se han detectado algo más de 3 000 casos y en razón de que existe un subregistro importante, se ha estimado cerca de 5 000 casos nuevos por año. El desarrollo de la agricultura y las comunicaciones y el aumento de la densidad demográfica donde esta zoonosis existe, han contribuido a un rápido aumento en los últimos 10 años.

El método convencional de tratamiento de la LCA con derivados antimoniales presenta numerosas dificultades, necesitándose 2 ó 3 series de 20 inyecciones de aplicación diaria, es su costo alto y se requiere una infraestructura de salud no disponible, por lo general, en la áreas endémicas. Además, la

quimioterapia se acompaña frecuentemente de efectos secundarios que pueden llegar a ser graves, comprometiendo en algunas oportunidades el corazón y los órganos renales, y requiriendo control profesional especializado.

El control de la transmisión de la LCA es extremadamente difícil por las características selváticas del vector y de los reservorios y no se dispone de una droga para prevenir la enfermedad. El desarrollo de la inmunoterapia podía, además de lograr un tratamiento eficaz y sin fenómenos secundarios, orientar nuestras investigaciones hacia la obtención de una vacuna inmunoproláptica, por ser un objetivo relevante en el control efectivo de la endemia leishmánica.

Inmunoterapia

Se inició la investigación operacional sobre inmunoterapia de la LCA con un estudio aleatorio en 94 pacientes en el que se comparó una vacuna que combina promastigotes de *Leishmania* (*L. mexicana*) muertos por autoclave con BCG vivo, con un régimen estándar de quimioterapia antimonial (meglumine antimoniato). Se administraron tres vacunas en un período de 32 semanas, y se obtuvieron resultados de curación similares (94%) al antimonial. Los efectos secundarios del grupo vacunado fueron escasos y discretos (5,8%), mientras que en el grupo tratado con quimioterapia fueron muy frecuentes (52,4%) y en algunos casos severos (25). Como resultado de esta experiencia inicial, concluimos que la inmunoterapia era una alternativa de bajo riesgo y bajo costo, para el tratamiento de la LCA, y aplicable por los servicios primarios de salud en áreas rurales (26).

Basándonos en esa experiencia inicial, desarrollamos una segunda experiencia en un estudio clínico controlado sobre 217 pacientes de LCA, distribuidos en tres grupos: uno tratado con tres dosis de 0,5 ml de una vacuna combinada que contiene $6,4 \times 10^8$ promastigotes muertos por autoclave más BCG vivo en una dosis de 0,1 mg para pacientes PPD negativos y 0,01 mg para pacientes PPD positivos. El segundo grupo fue tratado con meglumine antimoniato (Glucantime®) en tres series de inyecciones aplicadas diariamente con un descanso de 15 días entre cada serie, a una concentración de sal de antimonio de 50 mg por kilo de peso corporal. Un tercer grupo se vacunó con BCG sólo a las mismas dosis aplicadas en el primer

grupo.

Los 217 pacientes provenientes del Estado Miranda que cumplían los criterios de ingreso al estudio, recibieron un número y fueron distribuidos en forma aleatoria a los tres grupos arriba mencionados. Debido a que se calculó que 35 era el número mínimo de pacientes, por grupo, con capacidad para demostrar un 20% de diferencia en la respuesta a un nivel de confianza de 95%, se asignó un número ligeramente mayor a los grupos tratados con quimioterapia (51 pacientes) y BCG solo (42 pacientes). Los 121 pacientes restantes fueron asignados al grupo de inmunoterapia, a fin de aumentar las posibilidades de detectar diferencias en el comportamiento.

Los requerimientos para ingreso en el estudio fueron: clasificación de la enfermedad como LCL con menos de un año de evolución, sin contraindicación para el uso de quimio o inmunoterapia, 12 o más años de edad y consentimiento formal del paciente o de su representante legal para participar.

Fueron excluidas personas con compromiso cardíaco, renal o hepático, hiperreactivos al PPD (> de 30 mm) y pacientes bajo tratamiento esteroide o con otros inmunosupresores. Asimismo fueron excluidas pacientes embarazadas y personas en estado de desnutrición o con enfermedades que afectan el estado general.

Antes de ingresar a la experiencia, todos los pacientes fueron evaluados desde un punto de vista general y dermatológico, evaluación cardiovascular incluyendo electrocardiograma, estudio hematológico, biopsia y frotis para detección de parásitos, prueba de Montenegro y de PPD y fotografía de las lesiones. La mitad de los casos fueron estudiados en detalle y se buscó presencia de infección secundaria por flora microbiana aeróbica o anaeróbica en las úlceras. La confirmación parasitológica del diagnóstico clínico estuvo basada en tinción por Giemsa y cultivo del parásito en medio agar sangre (DIFCO) conteniendo 15% de sangre desfibrinada de conejo y 200 unidades de penicilina/ml. Los parásitos aislados fueron clasificados por anticuerpos monoclonales, suero policlonal enriquecido, estudios de hibridación de DNA del quinetoplasto se usaron enzimas de restricción y reacción en cadena de polimerasa (PCR) con iniciadores específicos.

Los estudios inmunológicos consistieron en pruebas "in vitro" de inmunidad celular y humoral con diversos antígenos y, en especial, con los del

parásito leishmánico, subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica y antígenos definidos como laminina y nidogen. Estos estudios fueron hechos antes y después de la curación. Los pacientes fueron evaluados cada dos semanas por un investigador clínico que desconocía a qué grupo pertenecían. Esto se aseguró cubriendo los lugares de vacunación con adhesivo antes del examen. Los efectos secundarios fueron evaluados como leves, moderados y severos. El criterio clínico de curación consistía en cicatrización completa, ausencia de infiltración periférica o de lesiones satélites, adenopatías, linfangitis o lesiones nuevas. Después de la curación clínica se realizaron observaciones periódicas cada seis meses para determinar recaídas cutáneas, lesiones mucosas o reinfecciones.

Durante la inmunoterapia, todos los pacientes fueron instruidos en el tratamiento local de sus lesiones con agua y jabón, quitando las costras y aplicando solución antiséptica tres veces al día. Los antisépticos locales usados fueron solución de Alibour, solución boricada o yodo polivinil pirrolidona. Si la infección local no era controlada con el tratamiento antiséptico, se indicó tratamiento sistémico con antibióticos.

Análisis estadístico

La posibilidad de comparación inicial fue evaluada por las variables edad, género, número, localización y tipo de lesiones, reacción de Montenegro (leishmanina) y PPD, así como tiempo de evolución previa. Se usó la prueba de Student de dos colas para pares de muestras independientes, X^2 para estudiar la distribución al azar y prueba de Fisher para significancia de la hipótesis nula (diferencias en el porcentaje de curación de cualquiera de los grupos). Las diferencias en el tiempo promedio de curación fueron evaluadas por análisis de varianza para muestras independientes. Las diferencias antes y después del tratamiento, fueron evaluadas usando la prueba t de Student para muestras no independientes. Los grupos fueron comparados entre ellos, usando análisis de varianza, la prueba t para muestras independientes y la prueba de Fisher de probabilidad exacta.

RESULTADOS

Leishmaniasis cutánea localizada

En LCL, el porcentaje acumulativo de curaciones

clínicas en pacientes tratados con inmunoterapia o quimioterapia (Cuadro 1 y Figura 3), fue muy similar a las 32 semanas de observación, y fue más de 90% en ambos grupos. Las primeras curaciones fueron observadas a las 8 semanas. La evaluación bisemanal mostró diferencia significativa entre los dos grupos sólo entre las 18 y 20 semanas, en el que la quimioterapia parece ser más efectiva. El tiempo promedio para curación fue de 18,3 semanas para inmunoterapia y de 16,3 semanas para quimioterapia; esta diferencia no fue estadísticamente significativa por análisis de varianza. Por el contrario, las primeras curaciones en el grupo de BCG sólo aparecieron a las 14 semanas de iniciado el tratamiento. El porcentaje acumulativo de curaciones en este grupo fue mucho menor al final de las 32 semanas y significativamente menor al de los otros dos grupos en la evaluación cada dos semanas, alcanzando un 42,9% a las 26 semanas y quedando en ese nivel hasta las 32 semanas de observación. Considerando sólo los curados hasta la semana 32, el tiempo promedio para curación fue de 27 semanas. Los fracasos de tratamiento fueron excepcionales en los grupos de inmuno y quimioterapia (8,1% y 5,8% respectivamente), pero alcanzaron un 57% en el grupo que recibió BCG solo.

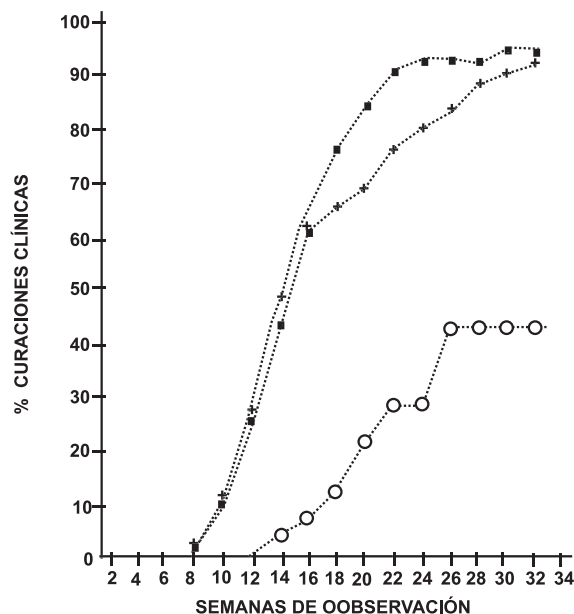


Figura 3. Porcentajes acumulados de curación clínica a intervalos bisemanales en LCL tratada con quimioterapia (•-----•), inmunoterapia (+-----+) o BCG solo (o-----o).

Cuadro 1

Número de pacientes con LCL curados y porcentaje de curación acumulado luego de tratamiento con quimioterapia, inmunoterapia y BCG solo

Semanas de tratamiento	Quimioterapia		Inmunoterapia		BCG	
	Nº pacientes curados	% acumulado de curación	Nº pacientes curados	% acumulado de curación	Nº pacientes curados	% acumulado de curación
0-7	0		0		0	
8-9	1	2,0	4	3,2	0	
10-11	4	9,8	10	11,3	0	
12-13	8	25,5	20	27,5	0	
14-15	9	43,1	26	48,5	2	4,8
16-17	9	60,7	16	61,4	1	7,2
18-19	8	76,4	5	65,4	2	12,0
20-21	4	84,2	4	68,6	4	21,5
22-23	2	90,2	9	75,9	3	28,6
24-25	2	92,2	5	79,9	0	28,6
26-27	1	92,2	5	83,9	6	42,9
28-29	0	92,2	5	87,9	0	42,9
30-31	1	94,2	3	90,3	0	42,9
32-33	0	94,2	2	91,9	0	42,9
Fracasos	3	5,8	10	8,1	24	57,1
Total	51		124		42	

BCG= Bacilo de Calmette Guerin

Los tres grupos estudiados fueron comparables en todas las variables evaluadas. Sin embargo, el número de pacientes con lesiones linfáticas fue mayor en el grupo con BCG solo. Al repetir el cálculo del porcentaje de curaciones a las 32 semanas y el tiempo promedio necesario para curación ajustándolos para estas dos variables, no se alteraron las conclusiones.

De esos pacientes, todos los aislados de parásitos de fueron identificados como *L. braziliensis*. Más del 90% de los pacientes estudiados que tenían infección secundaria mostraron *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* como gérmenes predominantes. La mayoría respondió satisfactoriamente al tratamiento antiséptico local. Se usaron antibióticos sistémicos en 11,9% del grupo de quimioterapia, 12,9% del grupo de inmunoterapia y 15,4% del grupo BCG.

Las características inmunológicas de los tres grupos, no fueron significativamente diferentes después de la curación. El tamaño promedio de la reacción de Montenegro, en cada grupo, aumentó ligeramente, pero la diferencia entre grupos y dentro de cada grupo no fue estadísticamente significativa.

Sin embargo, 31% en el grupo de quimioterapia, 45,6% en el de inmunoterapia y 40% en el grupo de BCG, mostraron un aumento mayor o igual a 5 mm de la reacción de Montenegro después de curados. Aunque estos aumentos no fueron significativos, sugieren un estímulo de la respuesta inmune. Estos resultados coincidieron con los reportados en otros trabajos. No se observó respuesta exagerada de hipersensibilidad en ninguno de los grupos tratados.

Respecto de la infección secundaria, se estudiaron 75 pacientes de LCL ulcerados con menos de un año de evolución, 46 varones y 29 mujeres entre 12 y 70 años de edad y sin tratamiento previo. El examen microbiológico demostró infección en 73,3%; en 83,1% de estos se comprobó flora Gram positiva y Gram negativa en 16,9%. Los agentes más frecuentes fueron *S. aureus*, *S. epidermidis* y *Enterobacter spp.* Los agentes anaeróbicos correspondieron a *Fusobacterium* y *P. acnes*. Entre las bacterias Gram positivas destacó un caso de *Corynebacterium psuedotuberculosis* (27).

La diferencia más importante entre los grupos tratados fue la observada en los efectos secundarios, que fueron 5% en inmunoterapia y BCG (Cuadro 2).

INMUNOTERAPIA DE LA LEISHMANIASIS CUTÁNEA AMERICANA

Estos efectos secundarios estaban limitados a lesiones locales >10 mm en el lugar de la inyección y fiebre ligera, no requirieron tratamiento específico. El diámetro promedio de la cicatriz después de la primera inyección fue de 7,2 y 6,9 mm respectivamente, muy similar al diámetro promedio observado en la vacunación BCG en los programas internacionales de control de tuberculosis. Después de dosis sucesivas, la cicatriz promedio fue de 5,1 y 5,3 mm respectivamente.

Cuadro 2

Frecuencia expresada en porcentaje de efectos colaterales indeseables durante el tratamiento de pacientes con leishmaniasis cutánea localizada

Grado	Inmunoterapia	Quimioterapia BCG	
Leves	4,0	11,1	2,4
Moderados	0,8	17,8	2,4
Severos	0	20,0	0
Total	4,8	48,9	4,8

BCG= Bacilo de Calmette Guerin

Como marcado contraste, se observó un 48,9% de efectos secundarios en el grupo tratado con quimioterapia, de los cuales, 20% fueron clasificados como severos. Los efectos secundarios más frecuentes fueron leves o moderados y consistieron en dolores musculares o articulares, cefalalgia y fiebre. Los efectos severos observados en nueve pacientes consistieron en trastornos cardiovasculares (hipotensión o alteraciones del ritmo cardíaco en 4

pacientes), parestesia y cólico en un paciente e intensos dolores osteomusculares en 5 pacientes. Los efectos secundarios severos obligaron a suspender temporalmente el tratamiento.

El seguimiento de los pacientes abarcó de 3 meses a 2,5 años. Solamente se observó una recaída en el sitio de la lesión original. Se detectaron lesiones mucosas en 3 pacientes de los 217.

Inmunoterapia realizada en los Servicios de Dermatología Sanitaria de los Estados Sucre, Miranda y Anzoátegui

En esta parte del proyecto colaboraron los Drs. Jorge Maldonado en Sucre, Mario Roa en Miranda y Helena Villaroel en Anzoátegui. La investigación estuvo orientada a observar los resultados de inmunoterapia en LCL en el medio rural. Fue una experiencia abierta, cuyos resultados podrían estar influidos por las variaciones que significan la irregularidad de la asistencia de los enfermos a control, así como a las fallas en el tratamiento tópico de la infección secundaria, en vista de que es el mismo enfermo el que realiza este tratamiento.

El Cuadro 3 muestra que la proporción de curaciones por dosis de vacuna aplicada es diferente en los Estados Miranda, Sucre y Anzoátegui, pero que hay bastante similitud en lo que se refiere a curaciones totales obtenidas, que 91,4% en Miranda, 96,8% en Sucre y 93,8% en Anzoátegui, no existió diferencia estadísticamente significativa. Dichos resultados coinciden con los resultados obtenidos en la experiencia controlada descrita anteriormente.

Cuadro 3

Inmunoterapia de leishmaniasis cutánea localizada: curación por dosis y por entidad federal, Estados Anzoátegui, Miranda y Sucre, Venezuela 1989-1994

Momento de curación	Anzoátegui			Miranda			Sucre			Total		
	N°	%	% AC	N°	%	% AC	N°	%	% AC	N°	%	% AC
1 dosis	129	17,4	17,4	31	13,4	13,4	13	10,5	10,5	173	15,8	15,8
2 dosis	194	26,1	43,5	48	20,7	34,10	43	34,7	45,2	285	25,9	41,7
3 dosis	232	31,2	74,7	77	33,2	67,2	39	31,4	76,6	348	31,7	73,4
4 dosis	142	19,1	93,8	56	34,1	91,4	25	20,2	96,8	223	20,3	93,7
Fracasos	45	6,2	100,0	20	8,6	100,0	4	3,2	100,0	69	6,3	100,0
Total	742			232			124			1 098		

X²= 16,71

P= 0,03329

Sólo Curaciones y Fracasos X²= 4,1808

P= 0,12364

Leishmaniasis cutánea intermedia

Leishmaniasis mucocutánea: se realizó una experiencia abierta (28) en 35 pacientes, 20 de los cuales fueron tratados con la combinación inmuno-quimioterapia y los otros 15 con quimioterapia sola. El Cuadro 4 muestra que en esa pequeña experiencia, el tratamiento mixto (85% de éxito) fue más eficaz que la quimioterapia sola (66,6% de éxito).

Cuadro 4

Respuesta de pacientes con LCM al tratamiento con quimioterapia sola y con la combinación de ésta con inmunoterapia

	Inmunoterapia más quimioterapia	Quimioterapia sola
Total pacientes tratados	20	15
Curados	17	10
Fracasos	3	5
% de Fracasos	15	33,3

Lesiones verrugosas. La Figura 4 muestra la lesión original y su respuesta clínica después de terapia combinada (inmuno-quimioterapia). Esta paciente había sido tratada durante más de 20 años con quimioterapia sola, recibiendo múltiples y prolongadas series de meglumine antimoniato. El tratamiento combinado inmuno-quimioterapia logró la cicatrización de la lesión en un período de meses. Esta paciente ha sido observada durante más de 6 años sin haber presentado recaídas.

Leishmaniasis cutánea difusa

Esta poco frecuente forma de la LCA se caracteriza por su falta de respuesta a la quimioterapia antimonial. Inicialmente, el paciente mejora de sus lesiones para recaer después de suspendido el tratamiento. En series de inyecciones posteriores a estas recaídas, los pacientes responden lentamente, llegando a ser resistentes al tratamiento. Los pacientes tratados hasta el presente con la mezcla inmuno-quimioterapia habían estado en control entre 3 y más de 20 años, durante los cuales habían recibido múltiples series de quimioterapia con posteriores recaídas. En este grupo de pacientes los efectos secundarios de la quimioterapia eran moderados y menos intensos que los observados en casos de LCL.

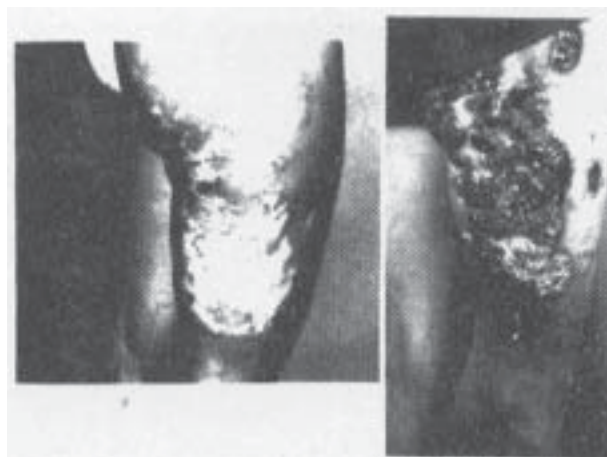


Figura 4. Paciente con leishmaniasis cutánea intermedia, antes de tratamiento con la combinación de inmunoterapia y quimioterapia (izquierda). Lesión libre de actividad clínica y parasitológicamente negativa (derecha).

Todos los pacientes tenían gran abundancia de parásitos en sus lesiones, las cuales tenían estructura de granuloma macrofágico vacuolizado. Con microscopio electrónico de transmisión o barrido se pueden observar estos parásitos en las vacuolas macrofágicas (Figura 5). Los fenómenos de inmunidad celular están totalmente ausentes. El Cuadro 5 muestra los casos tratados y sus resultados hasta el presente; podemos observar que diez pacientes desarrollaron leishmanina positiva, seis de ellos inactivos y cuatro activos.

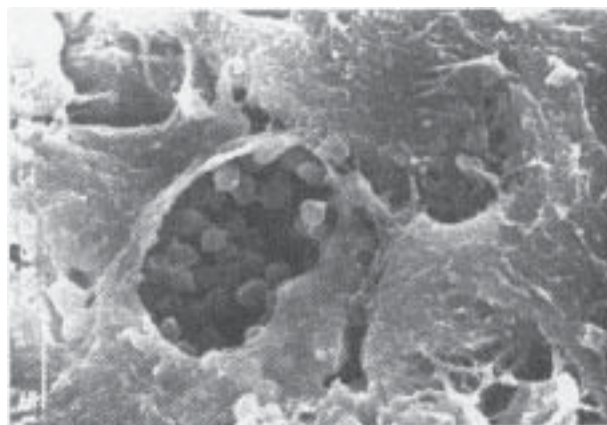


Figura 5. Microscopia electrónica por barrido en el que se aprecia vacuola macrofágica con gran número de formas amastigotes en su interior.

INMUNOTERAPIA DE LA LEISHMANIASIS CUTÁNEA AMERICANA

Cuadro 5

Reactividad inmunológica en pacientes con leishmaniasis cutánea difusa tratados con una combinación de inmunoterapia y quimioterapia

Paciente	Situación clínica	Reacción de Montenegro (mm)		Test de ELISA*	
		Inicial	Final	Inicial	Final
LR	Inactivo	0	36,0	NR†	0,160
CA	Inactivo	0	24,0	0,957	0,116
MP	Inactivo	0	20,0	1,151	0,314
EB	Inactivo	0	19,0	NR†	0,307
MV	Inactivo	0	13,5	1,222	0,687
CAL	Inactivo	0	10,5	1,181	0,306
ZC	Activo	0	24,0	1,111	0,800
MA	Activo	4,5	15,0	1,111	0,836
EM	Activo	0	15,0	0,990	0,701
AV	Activo	0	10,0	1,155	0,993
MM	Activo	5	7,0	1,301	0,119
AO	Activo	0	6,0	1,387	NR†
AM	Activo	0	6,0	1,017	0,396
JC	Activo	0	5,0	NR†	NR†
MR	Activo	0	5,0	0,926	1,212
AY	Activo	0	3,0	0,342	0,137
OH	Activo	0	0,0	0,988	1,275
AO	Activo	0	0,0	1,308	1,339
OF	Activo	6,5	0,0	0,920	0,950
PL	Activo	0	0,0	1,223	0,751

*Densidad óptica A 490 NM; † No realizados

DISCUSION

La LCA se manifiesta por un espectro clínico e inmunológico consecuencia de los diferentes grados de respuesta inmune del hospedador humano hacia el parásito leishmánico. Esta variación de la respuesta, va desde el polo difuso (LCD) con ausencia total de fenómenos de inmunidad celular, hasta el polo benigno localizado (LCL), donde el defecto es bastante discreto con variaciones en ciertos casos, pasando por el área intermedia en el que los casos presentan trastornos aberrantes de los fenómenos de inmunidad celular y pueden predominar fenómenos de hipersensibilidad tardía expresados por la reacción de Montenegro.

Las lesiones de LCL muestran tendencia a la curación espontánea en un cierto porcentaje de casos, especialmente si la infección secundaria es controlada. En el polo difuso LCD, al estudiar el granuloma de las lesiones con técnicas de biología molecular, se observa ausencia de interferón-gamma

y de linfoquina IL2, en tanto que están presentes las linfoquinas IL4, IL5 e IL10. Esto caracteriza las respuestas descritas experimentalmente como Th2 o como T2. El polo localizado LCL se caracteriza por presencia de interferón-gamma y de IL2 y ausencia de IL4, IL5 y IL10, un tipo de respuesta Th1 o T1. En el área intermedia, las técnicas mencionadas demuestran una respuesta híbrida, en el que alternan, la presencia de interferón-gamma e IL2 con IL4, IL5 e IL10. Antes de ser estudiada con estas técnicas, este tipo de respuesta había sido catalogada como aberrante, lo que se ponía en evidencia durante el uso de inmunoterapia, por intensificación de la reacción de Montenegro que, al final del tratamiento, se estabiliza en un nivel inferior al inicial.

Al analizar en su conjunto el espectro de la LCA, éste refleja una inmunodeficiencia variable antígeno-específica del hospedador humano. Esta teoría tiene,

además, apoyo en estudios epidemiológicos que demuestran a nivel de áreas endémicas que entre el 5% y 15% de la población general de dichas áreas, sin lesiones ni historia clínica de leishmaniasis, da reacción de Montenegro positiva (P.L. Castellanos, datos no publicados). Otros investigadores han reportado individuos positivos sin historia de enfermedad. Estas observaciones sugieren formas subclínicas o curas espontáneas. Estas formas ocuparían un espacio antes de la LCL, consecuencia de una respuesta de protección altamente eficiente.

En estudios realizados en el que el protocolo no incluyó un grupo control por razones éticas, las respuestas obtenidas con el grupo de BCG sólo pueden deberse a curaciones espontáneas, lo cual es comparable con los datos publicados sobre curas espontáneas de lesiones producidas por *L. braziliensis braziliensis*.

En nuestra experiencia, las formas intermedias y difusas de la LCA son refractarias al tratamiento con quimioterapia, observándose recaídas después de mejorías temporales. En las formas intermedias, la variedad mucocutánea (LMC) puede mostrar invasión extensa de la mucosa nasal y faríngea que en ciertos casos, puede extenderse a la laringe, ocasionando una enfermedad grave que puede ser fatal.

El desarrollo del tratamiento combinado inmuno-quimioterapia, ha venido a aliviar una situación grave en estos casos que presentan ausencia general de respuesta a la quimioterapia sola. Los casos de lesiones verrugosas extensas, así como otras variedades cutáneas de este grupo, han respondido en su totalidad a la asociación inmuno-quimioterapia.

También se ha encontrado solución para cierto porcentaje de los casos mucosos, cuando se aplican los dos procedimientos terapéuticos simultáneamente. Tenemos bajo observación varios casos avanzados de LMC que se han presentado después de tratamientos repetidos con quimioterapia antimonial, los cuales están siendo tratados con el procedimiento combinado; los resultados obtenidos serán reportados en el futuro.

Un hecho de interés durante el tratamiento de las formas verrugosas de la leishmaniasis intermedia, lo constituye una respuesta exagerada a la reacción de Montenegro, después de las dos primeras dosis de inmunoterapia aplicadas durante el tratamiento inmuno-quimioterapia. Esto fue de particular interés en el estudio del tratamiento de la LMC, porque no se podía emplear la mezcla ante la posibilidad de

que se produjera una respuesta exagerada que pudiese intensificar los efectos destructivos en la mucosa nasal y bucal.

Para tratar de controlar dicho fenómeno en el grupo de formas verrugosas antes mencionado, utilizamos, experimentalmente, la administración de antiinflamatorios no esteroides por varios días, durante la aplicación de la inmunoterapia en dichos enfermos, obteniéndose un control adecuado del fenómeno. Esta observación nos permitió, posteriormente, el uso de terapéutica combinada para tratar casos de LMC.

Como consecuencia de los resultados obtenidos con inmunoterapia y, especialmente, tomando en cuenta que en el espectro leishmánico algo más del 90% de los casos son formas de LCL, demostrando que la mayor parte de la población de las áreas endémicas tiene capacidad para desarrollar un conveniente nivel de inmunidad protectora, hemos emprendido una experiencia de inmunoprofilaxis con un estricto protocolo, en el cual los grupos de estudio, han sido aleatorios y evaluados doble ciego. Dicha experiencia actualmente está en pleno desarrollo y sus resultados deben estar disponibles para fines de 1996.

Posterior a la evaluación de los resultados obtenidos y antes de utilizar la inmunoterapia en el Programa Nacional de Control de la Leishmaniasis Cutánea, se procedió a hacer una prueba de inmunoterapia en LCL en forma abierta en 1 098 enfermos de los Servicios de Dermatología Sanitaria de los Estados Sucre, Miranda y Anzoátegui.

Esta experiencia se consideró necesaria, porque la metodología de trabajo de campo en esta oportunidad no tendría las características estrictas que usamos en la experiencia aleatoria doble ciego, cuyos resultados comparativos entre quimioterapia antimonial, inmunoterapia y BCG solo, hemos expuesto anteriormente. Las diferencias estarían en ciertas variaciones del tratamiento tópico antiséptico, como consecuencia de la observación mensual y no quincenal de los pacientes, además de variación del tiempo entre vacunaciones debido a las distancias, por estar muchos de los pacientes ubicados en el medio rural. Esta parte de la investigación operacional fue de considerable importancia por haber demostrado la eficacia del procedimiento en las condiciones del medio rural, y permitió dar una base sólida a su aplicación por personal de salud local bien entrenado.

Un hecho relevante en la inmunoterapia de la LCL y de la LMC es la infección secundaria de las lesiones. Dicha infección es extraordinariamente frecuente por ser la LCL una lesión ulcerada y por el hecho de que en el medio rural, y especialmente en el campesino dedicado a labores agrícolas, dicha infección secundaria se adquiere con gran facilidad.

El estudio de las lesiones de LCL y de su infección secundaria se pudo realizar en biopsias tomadas de pacientes con tiempos de evolución menores de un año. En las lesiones de evolución más reciente y especialmente en biopsias tomadas del borde infiltrado, observamos el granuloma provocado por el parásito leishmánico, caracterizado por la existencia de nódulos constituidos por células gigantes y células epitelioides con abundantes células linfoides y plasmocitos. Por lo general, el granuloma está discretamente desorganizado presentando, en algunos lugares, células polimorfonucleares.

En los casos en los que la infección secundaria había persistido durante varios meses, existía un proceso granulomatoso provocado por dicha infección, caracterizado por hiperplasia de vasos finos, infiltrado por células macrofágicas, polimorfonucleares, células linfoides y células plasmáticas, cuyo número aumenta a medida que la infección se hace crónica.

Un hecho de particular interés y que debe influir en los fenómenos de inmunidad celular que se desarrollan "in situ", es la desaparición progresiva del granuloma leishmánico que, en casos de mucho tiempo de evolución, desaparece totalmente y, su reemplazo por el granuloma crónico provocado por la infección secundaria. A este proceso de infección secundaria le hemos dado mucha importancia en el tratamiento con inmunoterapia de la LCL.

Hemos observado una situación muy parecida en biopsias tomadas de LMC, donde posiblemente la infección secundaria de tipo crónico destruye parcial o totalmente la mucosa nasal y se agrega al proceso destructivo provocado por la respuesta al parásito leishmánico. En las lesiones mucosas se observan importantes lesiones con edema, infiltración de células linfoides y macrófagos y pequeños focos de inflamación aguda, así como presencia de células gigantes.

Los cultivos efectuados con el fin de estudiar la infección secundaria en lesiones de LMC, demostraron alta frecuencia de infección bacteriana (82,6%) con predominio de gérmenes Gram

positivos, entre los cuales el más frecuente fue el *S. aureus* (70,4%); otros agentes aislados fueron enterobacterias, *S. epidermidis*, bacilos Gram negativos no fermentadores y estreptococos del grupo D en menor proporción.

Basándonos en todas estas investigaciones, se presentó el plan de aplicación de la inmunoterapia en 11 Estados de Venezuela, de donde provienen la mayoría de los casos.

Para emprender un programa nacional para el tratamiento de una determinada enfermedad en el que el número de nuevos casos se mide anualmente en varios miles, se debe disponer de personal entrenado en la zonas donde la enfermedad es endémica y sobre todo, disponer de un procedimiento terapéutico efectivo, de fácil aplicación y que no produzca efectos secundarios que puedan comprometer la salud de las personas tratadas, porque esto obligaría a disponer de una infraestructura médica especializada para su tratamiento. Además, el tratamiento a aplicar debe tener un costo relativamente bajo.

La LCA es una enfermedad endémica que afecta la población de áreas rurales apartadas, donde generalmente se carece de recursos económicos adecuados. El tratamiento convencional de la LCL consiste en inyección de antimoniales pentavalentes que, además de ser extremadamente costoso, produce efectos secundarios muy frecuentes y acentuados, pudiendo afectar la salud tanto durante el tratamiento, como comprometerla para el futuro por las secuelas que ocasiona.

La inmunoterapia de la LCA, cuyo desarrollo en el Instituto de Biomedicina tomó dos décadas, ha demostrado en investigaciones operacionales controladas, así como en experiencias abiertas, que es un procedimiento de fácil aplicación por el personal de salud local y tan efectivo como los antimoniales pentavalentes, pero sin producir prácticamente efectos secundarios indeseables.

El disponer de dicha herramienta y el tener amplia experiencia en su aplicación, nos permitió preparar un Plan Nacional a usarse en once Estados del país donde se originan más de 3 000 casos nuevos anuales. Una vez que el Plan se haya desarrollado en esas áreas, se cubrirá el resto de las áreas endémicas, que corresponden a un 10% del problema. Este Plan Nacional está basado en una publicación del Instituto de Biomedicina sobre Normas, Pautas y Procedimientos.

REFERENCIAS

1. Convit J, Lapenta P. Sobre un caso de Leishmaniasis tegumentaria de forma diseminada. *Rev Policlínica Caracas* 1948;17:153-158.
2. Convit J. Leishmaniasis tegumentaria difusa. Nueva entidad clínico-patológica y parasitaria. *Rev Min San Asist Soc* 1958;23:1-28.
3. Convit J, Kerdel Vegas F, Gordon B. Disseminated anergic cutaneous leishmaniasis. *Bristh J Dermatol* 1962;74:132-135.
4. Modlin RL, Tapia FJ, Bloom BR, Gallinoto ME, Castés M, Rondón AJ. In situ characterization of the cellular immune response in american cutaneous leishmaniasis. *Clin Exp Immunol* 1985;60:241-248.
5. Convit J, Pinarci ME. Cutaneous leishmaniasis. The clinical and immunopathological spectrum in South America. *Ciba Foundation Symposium 20 (new series) ASP*. North Holland: Elsevier-Excerpta Médica, 1974;159-169.
6. Convit J, Pinarci ME, Rondón AJ. Diffuse cutaneous leishmaniasis: A disease due to an immunological defect of the host. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1972;66:603-610.
7. Mossman TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986;136:2348-2357.
8. Bloom BR, Salgame P, Diamond B. Revisiting and revising suppressor T cells. *Immunol Today* 1992;13:131-136.
9. Convit J, Avila JL, Goihman M, Pinarci ME. A test for the determination of competency in clearing bacilli in leprosy patients. *Bull WHO* 1972;46:821-826.
10. Convit J, Ulrich M, Aranzazu N, Castellanos PL, Pinarci ME, Reyes O. The development of a vaccination model using two microorganisms and its application in leprosy and leishmaniasis. *Leprosy Review* 1986;57(2):263-273.
11. Bloom J. Learning from leprosy: A perspective on immunology and the Third World. *J Immunol* 1986;137:i-x.
12. Frommel D, Lagrange PH. BCG: A modifier of immune responses to parasites. *Parasitol Today* 1989;5:188-190.
13. Lotte A, Wasz-Hockert O, Poisson N, Dumitrescu N, Veron M, Couvert E. BCG complications. *Adv Tuberc Res* 1984;21:107-193.
14. Torisu M, Miyahara T, Shinohara N, Ohsato K, Sonozaki H. A new side effect of BCG immunotherapy-BCG-induced arthritis in man. *Cancer Immunol Immunother* 1978;5:77-83.
15. Holzman D. Vaccines against several infections mark progress. *ASM News* 1995;61:570-571.
16. Conell ND, Medina Acosta E, McMaster WR, Bloom BR, Rusell DG. Effective immunization against cutaneous leishmaniasis with recombinant bacille Calmette-Guerin expressing the Leishmania surface proteinase gp63. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:11473-11477.
17. Kaye PM. Antigen presentation and the response to parasitic infection. *Parasitol Today* 1987;3:293-299.
18. Beller DI, Keily JM, Unanue ER. Regulation of macrophage populations. I. Preferential induction of Ia-rich peritoneal exudates by immunologic stimuli. *J Immunol* 1980;124:1426-1432.
19. Meltzer MS, Oppenheim JJ. Bidirectional amplification of macrophage-lymphocyte interactions: enhanced lymphocyte activation factor by activated adherent mouse peritoneal cells. *J Immunol* 1977;118:77-82.
20. Mehra V, Convit J, Rubinstein A, Bloom BR. Activated suppressor T cells in leprosy. *J Immunol* 1982;129:1946.
21. Brito E, Ulrich M, Convit J, Centeno M. Influencia de vacunación previa en la infección de cobayos con *Leishmania enriettii*. *Acta Cient Venez* 1976;27(1 Suppl):133S.
22. Convit J, Aranzazu N, Ulrich M, Pinarci ME, Castellanos PL, Zúñiga M. Vaccination in leprosy. En: Casal M, editor. *Mycobacteria of clinical interest*. North Holland: Excerpta Medica, 1986:336-344.
23. Convit J, Ulrich M. Antigen-specific immunodeficiency and its relation to the spectrum of american cutaneous leishmaniasis. *Biol Res* 1993;26:159-166.
24. Salgame P, Abrahams JS, Clayberger C, Goldstein H, Convit J, Bloom BR. Differing lymphokine profiles of functional subsets of human CD4 and CD8 T-cell clones. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:2598-2602.
25. Convit J, Castellanos PL, Rondón AJ, Pinarci ME, Ulrich M, Castés M, Bloom B, García L. Immunotherapy versus chemotherapy in localized cutaneous leishmaniasis. *Lancet* 1987;I:401-405.
26. Convit J, Castellanos PL, Ulrich M, Castés M, Rondón AJ, Pinarci ME, Rodríguez N, Bloom B, Formica S, Valecillos L, Bretaña A. Immunotherapy of localized, intermediate and diffuse forms of american cutaneous leishmaniasis. *Infect Dis* 1989;160:104-115.

27. Urrestarazu MI, Serrano N, Carvajal Z, Fernández C, Rodas A. Infecciones bacterianas en lesiones nasales de pacientes con leishmaniasis mucocutánea. *Rev Soc Chilena Parasitol* 1995;19 (Nº extraordinario).
28. 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 R Soc Trop Med Hyg* 1993;87:444-448.

* Este trabajo fue financiado parcialmente por el Programa de Nuevas Tecnologías del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Venezuela (Programa BID-CONICIT), Petróleos de Venezuela, Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, Cámara Venezolana de la Industria Cervecera, Instituto de Salud Pública de los EE.UU. y la Organización Panamericana de la Salud.

La perforación de los lóbulos de las orejas en 1894 “Condiciones patológicas consecutivas a la perforación de los lóbulos de las orejas”

“La costumbre de perforar los lóbulos de las orejas data de la más remota antigüedad histórica, se menciona por primera vez en el Libro de la Génesis. Fue practicada por los pueblos del Oriente y por aquellos del Occidente, y transmitida por las razas de la antigüedad clásica, a través de la Edad Media , hasta la época presente. Los anillos en las orejas fueron tenidos, entre ciertas naciones, en alta reputación como talismanes o amuletos. Ellos fueron, y creo que aún lo son, supersticiosamente valorados como remedios para afecciones de los ojos. Pero su principal uso fue en todos los tiempos, y ciertamente ahora, el de ornamentos, para ser usado, generalmente, por mujeres. Y así sucede que las madres que, en otras circunstancias, protegen a sus hijas de todo daño o dolor, no tiemblan al someterlas a innecesarios, inexcusables y dolorosos procedimientos, sólo para adornarlas con apetecibles joyas. Esto explica por qué tal bárbara costumbre, como la de la perforación de las orejas, ha sobrevivido hasta los presentes tiempos.

Es, sin embargo, bárbara, no sólo por su origen y por los crudos métodos con la cual se practica; sino más bien, porque, en pocas ocasiones, se han observado consecuencias, más o menos molestas y aun fatales, después de este procedimiento. Hoy les reportaré una de esas secuelas de la perforación de las orejas...

Hufeland vio a una niña morir de trismus después de la perforación del lóbulo de la oreja. Severa inflamación del lóbulo, erisipelas de los oídos, grandes granulaciones alrededor de la herida, corte del anillo a través del lóbulo y gruesas cicatrices hipertróficas, estas son algunas de las posibles conse-

cuencias mencionadas por Dieffenbach. Fibrosis (queloides) han sido observadas por muchos autores y son mencionadas por Knapp, Agnew, Turnbull, Finley, Bürkner, Schwartz, Politzer, Bacon y otros. Ocurren en tamaños hasta de un huevo de gallina y se dice que son más comunes en la raza de color que en la blanca. Politzer dice que son benignos y que no hay recurrencia después de la extirpación total. Sin embargo, refiere un caso de Agnew, en el cual, el tumor originado en la cicatriz volvió de nuevo y de nuevo. De acuerdo con algunos observadores la recurrencia de estos tumores no es del todo infrecuente. Knapp ha llamado la atención, especialmente, al hecho de que estos tumores tienen tendencia a recurrir y que, por recurrencias frecuentes, pueden resultar malignos.

Sexton habla de lóbulos hendidos por el zarcillo y vio una porción del lóbulo desprendido. Kichner dice que el lóbulo no infrecuentemente es asiento de eczema, originado de preferencia en el orificio de perforación. Altschul ha reportado muerte por gangrena , después de perforación de los lóbulos en una niña de 9 meses; y erisipelas a menudo fatales, son comunicadas recientemente por Haug como causadas ocasionalmente por la reprensible práctica de perforar los lóbulos.

Puede ser fácil multiplicar los casos, pero éstos deben ser suficientes para mostrar que hay abundantes observaciones registradas para hacerlo a uno reflexionar sobre por qué las voces de los médicos, o por los menos de los otólogos, no se han pronunciado contra esta “costumbre ciertamente bárbara”... (JAMA 1894;22:110-112)”. (JAMA 1994;271 (enero 26).