

Un caso de leishmaniasis mucosa: ventajas del uso de la reacción en cadena de la polimerasa para el diagnóstico

HIRONORI ONUMA, CHIHIRO MATSUI, KUMIKO INOUE, HIROSHI VEZATO, SHIGEO NONAKA, YOSHIHISA HASHIGUCHI, MASAOKI MOROHASHI

Departamento de Dermatología Facultad de Medicina, Universidad de Medicina y Farmacia de Doyama, Departamento de Dermatología, Hospital General Tonami, Departamento de Dermatología, Facultad de Medicina de la Universidad Ryuku y Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Kochi, Japón

Introducción

Una mujer de 36 años, que había emigrado desde Japón a Paraguay con cuatro años de edad y volvió a Japón en 1991, visitó nuestra clínica el 10 de noviembre de 1997. Sufrió una úlcera persistente en el antebrazo a los seis años de edad y fue tratada con inyecciones intravenosas durante unos pocos meses, aunque no recordaba los detalles del tratamiento. Desde mayo de 1997 había experimentado enrojecimiento e inflamación de la nariz y había sido tratada con corticosteroides tópicos, pero no había notado ninguna mejoría. En la exploración física se encontró una placa eritematosa con costra desde la parte interna de la nariz hasta la región nasolabial (Figura 1a). En el antebrazo derecho se observó una placa atrófica debida a la ulceración prolongada (Figura 1b). En una muestra de biopsia de la placa eritematosa de la región nasolabial se vió un infiltrado dérmico mononuclear compuesto de linfocitos e histiocitos (Figura 2a). En una muestra teñida con Giemsa se encontraron histiocitos llenos de cuerpos de Leishman-Donovan (L-D) (Figura 2b). En la exploración fibroscópica se vieron placas blancas en la faringe. La biopsia de la mucosa afectada mostró el mismo resultado histopatológico que la piel.

Se purificó todo el ADN de la muestra de la biopsia de piel para análisis de reacción en cadena de la polimerasa (RCP), usando un cebador específico de *L(V) braziliensis* (1,2). Se amplificó un producto de 70 pares de bases (Figura 3a); además, se confirmó la especificidad del producto de la RCP mediante hibridación *southern* con la sonda de *L(V) braziliensis* (Figura 3b) y análisis de secuencia del ADN (datos no publicados). Desde el 2 de diciembre de 1997, la paciente recibió 20 mg/kg/día de estibogluconato sódico (Pen-

tostam™) por vía intravenosa durante 20 días. Después de cinco días de tratamiento, el enrojecimiento y la inflamación mejoraron pero quedó un eritema tenue a los 20 días de tratamiento. Se dejó un intervalo sin tra-



Figura 1. (a) Placa eritematosa con costra desde la nariz interna izquierda hasta la región nasolabial. (b) Placa atrófica en el antebrazo derecho.

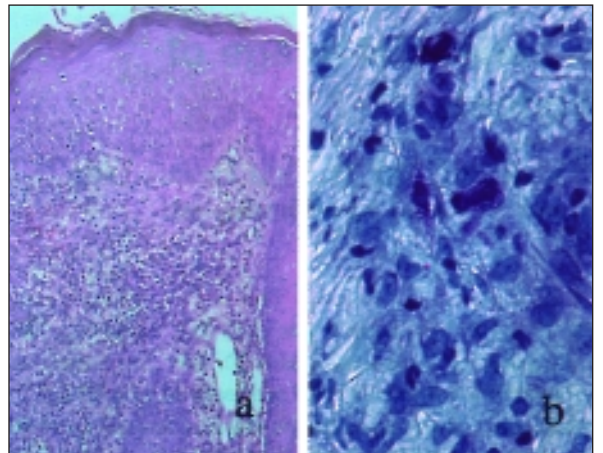


Figura 2. (a) En la muestra de biopsia de la placa eritematosa de la región nasolabial se observa un infiltrado dérmico de células mononucleares, compuesto de linfocitos e histiocitos (tinción de hematoxilina y eosina x 100) (b) En el interior de los linfocitos se encontraron cuerpos de Leishman-Donovan (tinción de Giemsa x 400).

Onuma H, Matsui C, Inoue K, Vezato H, Nonaka S, Hashiguchi Y, Morohashi M. A case of mucosal leishmaniasis: beneficial usage of polymerase chain reaction for diagnosis. *International Journal of Dermatology* 2001; 40: 765-767. ©Blackwell Science Ltd.

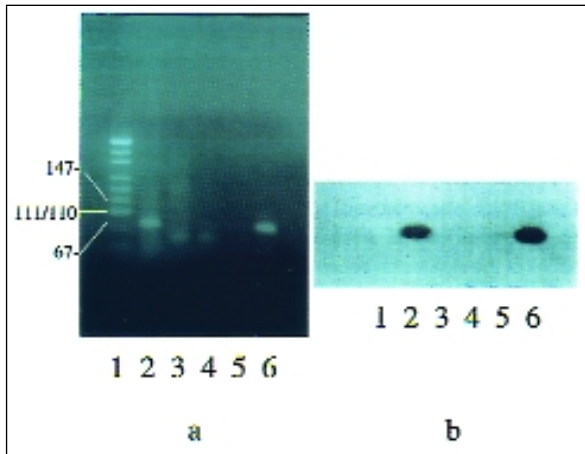


Figura 3. (a) Resultados de la RCP. Aparecen bandas de 70 pares de bases en las trayectorias 2 y 6. Trayectoria 1, un marcador lateral (pUC19/HapII); trayectoria 2, ADN extraído de la muestra del paciente fijada en formalina; trayectoria 3, ADN extraído una muestra de control fijada en formalina; trayectoria 4, ADN (-); trayectoria 5, ADN extraído de *L(V) tropica*; trayectoria 6, ADN extraído de *L(V) braziliensis*. (b) Resultados de la técnica *southern blot* usando productos de la RCP. Los productos de la RCP se transfirieron desde un gel de agarosa, como se muestra en la Figura 3 (a). Las sondas específicas se hibridaron con bandas de 70 pb en las trayectorias 2 y 6.

tamiento de dos semanas, pero, puesto que todavía permanecía el eritema, se realizaron otros 20 días de tratamiento. Todas las lesiones de la piel se convirtieron en tejido cicatrizado y no se encontraron cuerpos L-D en una muestra de biopsia de piel. Sin embargo, se encontraron cuerpos L-D en una biopsia de la mucosa faríngea que tenía una apariencia normal. Aunque se intentó realizar un tratamiento complementario, la paciente lo rechazó.

Discusión

La leishmaniasis, una enfermedad transmitida por un vector y debida a un protozoo obligado de los macrófagos, se caracteriza por su diversidad y complejidad. Se incluyen en el término leishmaniasis muchos síndromes clínicos, como leishmaniasis visceral, cutánea y mucosa, que proceden de la replicación del parásito en los macrófagos, respectivamente, en el sistema fagocítico mononuclear, dermis y mucosa nasofaríngea. Los parásitos de *Leishmania* se transmiten por moscas de la arena del género *Phlebotomus*.

Las moscas de la arena se distribuyen ampliamente a lo largo de los trópicos y subtropicos, en diversos hábitats, como desiertos, selvas tropicales y montañas (3-5). La leishmaniasis se clasifica como cutánea o visceral. Sin embargo, las especies que producen la enfermedad visceral pueden producir lesiones de piel. La leishmaniasis mucosa (LM), una secuela nefasta de la

leishmaniasis cutánea del Nuevo Mundo, se debe a *L(V) braziliensis* en la mayoría de los casos y procede de la diseminación hematológica o linfática de los amastigotas, una forma tisular del parásito de la piel o de la mucosa nasofaríngea. El área endémica de la LM del Nuevo Mundo es Sudamérica (3-5). En la mayoría de los casos, la enfermedad se manifiesta varios años después de aparecer las lesiones cutáneas originales, pero puede permanecer hasta décadas después de que las lesiones cicatricen, como fue el caso de nuestra paciente. Aunque los factores de riesgo de LM no se conocen completamente, el tratamiento sistémico adecuado de las lesiones cutáneas reduce el riesgo de afectación mucosa (6,7). Por esto, el tratamiento de la lesión cutánea de nuestra paciente en la infancia pudo ser insuficiente.

Las lesiones de la leishmaniasis cutánea (LC) cicatrizan espontáneamente en un mes a tres años, mientras que las lesiones de LM y de leishmaniasis visceral (LV) pocas veces cicatrizan sin tratamiento. Como consecuencia, todos los casos de LM y LV requieren tratamiento, pero el tratamiento no siempre es esencial en la LC. Sin embargo, los pacientes con lesiones de la cara u otras áreas estéticas importantes deberían tratarse para reducir el tamaño de la cicatriz. Además, la infección por *L(V) braziliensis* también debería tratarse para reducir el riesgo de desarrollo de LM (3-5).

El compuesto de antimonio pentavalente estibogluconato sódico (Pentostam™) sigue siendo el fármaco terapéutico convencional.

Este fármaco parece inhibir la actividad glicolítica de los amastigotas y la oxidación de los ácidos grasos. Los principales efectos secundarios son elevación de las enzimas hepatocelulares y alteraciones del electrocardiograma. Los pacientes con LM no tratados previamente responden al antimonio pentavalente en una dosis de 20 mg/kg/día si se administra diariamente durante 3-4 semanas. Sólo el 20% de los pacientes en fase de recaída responderán a este fármaco (6,7). Se han utilizado múltiples tratamientos sistémicos y tópicos alternativos para tratar la leishmaniasis. Aunque la mayoría de los tratamientos no se han analizado en estudios controlados, algunos fármacos, como pentamidina y anfotericina B, han demostrado relativa eficacia en el tratamiento de LC, LV y LM (8,9).

Puesto que el conocimiento de las especies que producen la leishmaniasis es importante para el diagnóstico, evaluación del tratamiento y pronóstico de la enfermedad, se han desarrollado algunas técnicas de laboratorio para identificar las especies de *Leishmania*. Actualmente se realizan cultivos *in vitro* de los tejidos infectados acompañados de anticuerpos monoclonales y análisis de isoenzimas en áreas endémicas. Recientemente, se han utilizado cebadores oligonucleótidos específicos de las especies, basados en las secuencias de ADN del cinetoplasto y se han utilizado en la RCP pa-

ra distinguir las distintas especies de *Leishmania* (1). Puesto que el análisis de RCP tiene gran sensibilidad, esta técnica molecular debería ser un instrumento muy poderoso para el diagnóstico, especialmente de las lesiones mucosas de la leishmaniasis, que, generalmente, presentan pocas formas amastigotas. Además, puesto que la RCP puede aplicarse a tejidos fijados en formalina (2), en médicos de áreas endémicas o no endémicas, que no tengan equipos de cultivo, es preferible utilizar este método que enviar muestras de biopsia a otros laboratorios.

Las leishmaniasis se transmiten exclusivamente por medio de la picadura de moscas de la arena infestadas. Como consecuencia del fenómeno global del descenso de la temperatura, la distribución de las moscas de la arena ha aumentado. El aumento de los huéspedes inmunocomprometidos, como los pacientes con VIH y los viajeros por distintos continentes, también hace más fácil el enquistamiento de la leishmaniasis. Es importante que los médicos reconozcan la leishmaniasis como una enfermedad epidémica importada, incluso en un área endémica como Japón.

Bibliografía

1. Uezato H, et al. A preliminary study aimed at the detection of *Leishmania* parasites in subjects with cutaneous leishmaniasis using polymerase chain reaction. *J Dermatol* 1998; 25 (5): 290-298.
2. Uezato H, et al. Rapid identification of *Leishmania* species from formalin-fixed biopsy samples by polymorphismspecific polymerase chain reaction. *Gene* 1998; 210 (2): 179-186.
3. Hepburn NC. Cutaneous leishmaniasis. *Clin Exp Dermatol* 2000; 25 (5): 363-370.
4. Herwaldt BL. Leishmaniasis. *Lancet* 1999; 354 (9185): 1191-1199.
5. Grevelink SA, Lerner EA. Leishmaniasis. *J Am Acad Dermatol* 1996; 34 (2, Part 1): 257-972.
6. Berman JD. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. *Clin Infect Dis* 1997; 24 (4): 684-703.
7. Koff AB, Rosen T. Treatment of cutaneous leishmaniasis. *J Am Acad Dermatol* 1994; 31 (5, Part I): 693-708.
8. Soto-Mancipe J, Grogil M, Berman JD. Evaluation of pentamidine for the treatment of cutaneous leishmaniasis in Colombia. *Clin Infect Dis* 1993; 16 (3): 417-425.
9. Sampaio SA, Castro RM, Dillon NL, Martins JE. Treatment of mucocutaneous (American) leishmaniasis with amphotericin B. report of 70 cases. *Int J Dermatol* 1971; 10 (3): 179-181.