

## Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical



Todo o conteúdo deste periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma Licença Creative Commons. Fonte:

[https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822002000400014&lng=pt&tlng=pt](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822002000400014&lng=pt&tlng=pt). Acesso em: 19 mar. 2021.

### REFERÊNCIA

GOULART, Isabela Maria Bernardes; PENNA, Gerson Oliveira; CUNHA, Gabriel. Imunopatologia da hanseníase: a complexidade dos mecanismos da resposta imune do hospedeiro ao *Mycobacterium leprae*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 35, n. 4, p. 363-375, maio/ago. 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822002000400014>. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822002000400014&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822002000400014&lng=pt&nrm=iso). Acesso em: 19 mar. 2021.

## Imunopatologia da hanseníase: a complexidade dos mecanismos da resposta imune do hospedeiro ao *Mycobacterium leprae*

Immunopathology of leprosy: the complexity of the mechanisms of host immune response to *Mycobacterium leprae*

Isabela Maria Bernardes Goulart<sup>1</sup>, Gerson Oliveira Penna<sup>2</sup> e Gabriel Cunha<sup>1</sup>

**Resumo** A hanseníase, cujo agente etiológico *Mycobacterium leprae*, é doença de amplo espectro clínico e imunopatológico. Suas apresentações clínicas estão correlacionadas com padrões imunológicos distintos, variando de uma vigorosa resposta imune mediada por células ao *M. leprae*, com padrão Th1 no pólo tuberculóide, a uma ausência de resposta celular específica aos antígenos do *M. leprae* no pólo lepromatoso, com predomínio da resposta Th2 e exacerbação da resposta humoral. É provável que a suscetibilidade ao *M. leprae* é determinada por diferentes genes polimórficos. Estudos adicionais são necessários para esclarecer os mecanismos das interações complexas entre as citocinas e a participação da diversidade fenotípica da rede de células que contribuem para a defesa do hospedeiro. O entendimento de tais mecanismos poderá oferecer novas abordagens para identificar agonistas e/ou antagonistas para os efeitos pró- ou anti-inflamatórios e em quais circunstâncias sua utilização seria apropriada para intervenções imunológicas e/ou imunoterapêuticas

**Palavras-chaves:** Hanseníase. *Mycobacterium leprae*. Imunopatologia.

**Abstract** Leprosy, whose etiologic agent *Mycobacterium leprae*, is an illness of ample clinical and immunopathological spectrum. Its clinical manifestations are correlated with distinct immunologic forms, varying from a vigorous immune response mediated by cells to *M. leprae*, with Th1 standard in the tuberculoid polar region, to an absence of specific cellular response to antigens of *M. leprae* in the lepromatous polar region, with predominance of Th2 response and exacerbation of humoral response. It is probable that different polymorphic genes determine susceptibility to *M. leprae*. Additional studies are necessary to clarify the complex interactions between cytokines and the role of the phenotypic diversity of cells network that contribute to the host defense. The comprehension of such mechanisms will provide new insights for the identification of agonists and/or antagonists for pro- or anti-inflammatory effects, and also will indicate possible situations for its appropriate use in immunologic and/or immunotherapeutic interventions.

**Key-words:** Leprosy. *Mycobacterium leprae*. Immunopathology.

Hanseníase é doença infecciosa transmitida de pessoa a pessoa através do convívio de suscetíveis com doentes contagiantes sem tratamento. Tem um período médio de incubação que vai de 2 a 5 anos, e é causada por *Mycobacterium leprae* que, de acordo com os conhecimentos atuais pode infectar além do homem, outros animais como tatus, chimpanzés e macacos<sup>75</sup>.

A forma do *M. leprae* é de um bastonete reto ou ligeiramente encurvado, de 1,5 a 8 micra de comprimento por 0,2 a 0,5 micron de largura. Cora-se em vermelho pela fucsina e não se descora pela lavagem no álcool e ácido – é portanto, um bacilo álcool-ácido resistente (BAAR). Nos esfregaços de pele e nos cortes histopatológicos os bacilos

são vistos isolados, em agrupamentos variados ou em arranjos especiais denominados globias, peculiar do *M. leprae*, e resultam da sólida união de bacilos através de uma substância chamada gléia<sup>62</sup>.

O *M. leprae* não é cultivável. Sua inoculação foi conseguida pela primeira vez por Shepard<sup>63</sup>, em 1960, em coxim de pata de camundongo, obtendo lesão localizada de hanseníase; e em camundongos timentomizados observou doença generalizada. Em 1971, Kirchheimer & Storrs<sup>27</sup>, conseguiram infectar tatus, verificando comprometimento de pele, nervos periféricos, medula óssea, fígado, baço, linfonodos, pulmões, meninges e olhos.

1. Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG. 2. Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília, Brasília, DF.

Endereço para correspondência: Prof<sup>a</sup> Isabela Maria Bernardes Goulart. Depto de Clínica Médica/ FM/UFU. Av. Pará 1720, Bloco 2H - Campus Umuarama, 38400-902 Uberlândia, MG.

Tel: 34 3218-2246 Fax: 34 3218-2349

e-mail: imbgoulart@ufu.br

Recebido para publicação em 14/8/2001.

O objetivo desse texto é contribuir para a discussão da fisiopatologia da hanseníase. Os aspectos relacionados à epidemiologia, ao quadro clínico, ao diagnóstico e diagnóstico diferencial, e os aspectos terapêuticos não serão portanto vistos nessa abordagem.

Necessário é, no entanto, ratificar o grande incremento que os programas de controle de países

endêmicos, que em parceria com a Organização Mundial da Saúde, implementaram nas últimas duas décadas, a poliquimioterapia no tratamento de pacientes de hanseníase. Surge portanto, a partir de 1981, a possibilidade da cura dessa doença, a despeito de alguns aspectos fisiopatológicos continuarem necessitando de elucidação.

### IMUNOPATOLOGIA DA HANSENÍASE

O estudo das interações entre patógenos e o sistema imune em pacientes portadores de doenças infecciosas têm fornecido modelos clínicos extraordinários para investigação dos mecanismos básicos da regulação da resposta imune humana. A hanseníase é um exemplo importante<sup>24</sup>.

Hanseníase é predominantemente uma doença da pele, mucosas e nervos periféricos. A infecção ativa pelo *Mycobacterium leprae* é caracterizada por uma grande

diversificação no curso clínico da infecção, variando de uma doença paucibacilar na qual poucos bacilos estão presentes, a uma doença multibacilar, na qual uma grande carga bacilar está presente nas lesões. O dano neural é atribuído a proliferação bacteriana ou a resposta imune do hospedeiro a relativamente poucos bacilos em nervos periféricos e áreas da derme adjacentes, que em última análise são responsáveis pela manutenção do estigma em relação à lepra<sup>15</sup>.

### INFECÇÃO E PATOGENICIDADE

O contato com o *M. leprae* se faz principalmente pelas vias aéreas superiores e a infecção subclínica ocorre em uma grande proporção de pessoas<sup>21</sup>. Em 1972, já havia sido demonstrado que células (linfócitos) de adultos, expostos uma única vez a pacientes com hanseníase, apresentavam alta reatividade (linfoproliferação *in vitro*) ao *M. leprae*. Mais recentemente, estudos soroepidemiológicos têm demonstrado que 15% de crianças entre 5 a 10 anos em região endêmica de hanseníase apresentam anticorpos específicos ao *M. leprae* sem evidência clínica de hanseníase em um período de observação de 5 anos<sup>28 36</sup>.

Em uma minoria de indivíduos infectados ocorre propagação do bacilo para nervos periféricos e pele onde é fagocitado por células de Schwann e macrófagos. Este período de incubação é de 5 anos

em média. É a epidemiologia de um bacilo lento, que faz uma divisão binária a cada 12 a 21 dias, e sua localização intracelular obrigatória no sistema fagocítico-mononuclear, que imprimem a característica de doença crônica à hanseníase.

A manifestação inicial da doença pode ser a forma clínica indeterminada (I), onde a resposta do hospedeiro é insuficientemente diferenciada para permitir classificação. Pode evoluir para cura espontânea ou desenvolver aspectos clínicos da doença estabelecida dentro do espectro, dependendo da sua capacidade em montar uma resposta imune celular contra o *M. leprae*. A medida padrão da imunidade mediada por célula ao patógeno é a reação de Mitsuda, uma reação de hipersensibilidade do tipo tardio, que é avaliada após uma injeção intradérmica de bacilos mortos aplicada nos pacientes, cuja induração é medida após 3 a 4 semanas<sup>51</sup>.

### ESPECTRO DA HANSENÍASE → CLASSIFICAÇÃO DE RIDLEY–JOPLING<sup>53</sup>: IMUNIDADE CELULAR (TESTE DE MITSUDA) X ÍNDICE BACILOSCÓPICO (CARGA BACILAR)

O teste de Mitsuda é positivo em pacientes com a forma clínica tuberculóide (TT), uma doença localizada, onde há uma vigorosa resposta celular, poucos bacilos e lesões limitadas. O teste é negativo nos pacientes com a forma clínica lepromatosa (LL), o pólo de extrema suscetibilidade ao *M. leprae*, no qual a proliferação disseminada do bacilo (em torno de  $10^{10}$  por grama de tecido) resulta em lesões de pele difusamente distribuídas na pele e está associada a uma potente resposta humoral (anticorpos anti- *M. leprae*) (Figura 1).

Nos pacientes borderlines, borderline-tuberculóide (BT), borderline-borderline (BB) e borderline-lepromatosa (BL), a progressiva redução da resposta imune mediada por célula é acompanhada por lesões de pele e nervos mais numerosas, aumento da carga bacilar e dos níveis de anticorpos.

Nessa doença espectral, a imunidade mediada por célula (CMI) tem um papel chave uma vez que, ela protege contra a doença (90% dos adultos são Mitsuda positivos) e contra a disseminação do bacilo, como acontece na forma tuberculóide. Por razões não entendidas, essa imunidade não somente não protege os indivíduos que desenvolvem a forma tuberculóide, como é exacerbada e está diretamente envolvida em causar a patologia do nervo e pele<sup>49 50</sup>.

A imunidade humoral está presente apenas no pólo lepromatoso do espectro (LL e BL) que exibe altos títulos de anticorpos específicos contra o glicolípido - fenólico1 (PGL-1), antígeno específico de *M. leprae*, sem contudo conferir proteção significativa, pois o indivíduo tem disseminação bacilar<sup>8 21 66</sup>. Há aumento de IgG e IgE, aumento de linfócitos B no sangue periférico e os

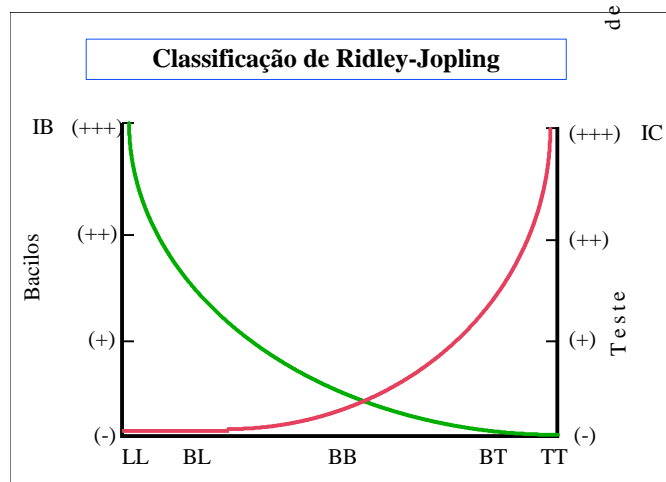


Figura 1 - Espectro clínico da hanseníase: a imunidade celular (IC) medida pelo teste de Mitsuda é inversamente proporcional à carga bacilar, medida pelo índice baciloscópico (IB). (Goulart, 1995<sup>16</sup>. Adaptado de Harboe, 1985<sup>21</sup>).

TT - forma polar Tuberculóide (estável); LL - forma polar Virchowiana ou Lepromatosa (estável); BT, BB e BL - Grupo Borderline (Instável).

anticorpos específicos anti-PGL-1 são predominantemente da classe IgM. O antígeno PGL-1, abundante na superfície do *M. leprae*, está presente nos tecidos e soro de pacientes BL e LL. A determinação dos níveis de anticorpos anti-PGL-1, por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA), tem sido utilizada para monitorar a resposta terapêutica, servindo como marcador de recidiva da doença pois, a correlação

positiva entre os níveis de anti-PGL-1 e índice baciloscópico, indica que este anticorpo específico do *M. leprae* é um reflexo da carga bacilar<sup>8 9 13 28</sup>.

Essas respostas imunes paradoxais, imunidade mediada por célula e humoral, são dinâmicas e apresentam variações espontâneas de reatividade com o tempo e tratamento, caracterizando as reações hansênicas agudas, tipo 1 e 2.

#### IMUNOHISTOLOGIA DAS LESÕES

**Histologia. Forma clínica TT:** formação de granuloma tuberculóide, constituído por agregado de células fagocitárias mononucleares com diferenciação epitelióide bem evidente e participação de células gigantes multinucleadas tipo Langhans no centro da lesão e com a presença de linfócitos que confere um halo denso contornando este granuloma<sup>11</sup>. Os granulomas do tipo TT estendem-se desde a derme profunda até a papilar, podendo inclusive atingir a camada basal da epiderme.

**Forma clínica LL:** a lesão histopatológica mostra um extenso infiltrado celular composto de histiócitos-macrófagos com citoplasma carregado de bacilos, que contém grandes quantidades de lipídeos em sua parede, conferindo o aspecto de células espumosas (células de Virchow) e às vezes multivacuoladas. A epiderme está achatada e a zona sub-epidérmica não está envolvida. O infiltrado lepromatoso mesmo quando exuberante não atinge a camada basal da epiderme, ficando separado por uma faixa de fibras colágenas correspondente à derme papilar retificada, conhecida como faixa de Unna<sup>54</sup>.

Grupo borderline da hanseníase é altamente complexo. Basicamente é instável e a distinção entre um sub-grupo de maior resistência (BT) para outro de

menor resistência (BL) basear-se-ia na indiferenciação progressiva da célula macrófaga, diminuição do número de linfócitos e no aumento do número de bacilos nos granulomas e ramos nervosos<sup>11</sup>. Na forma BT relativamente de alta resistência, as lesões podem mostrar raros bacilos e o granuloma é de células epitelióides focalizadas por zona periférica de linfócitos com presença de células gigantes tipo Langhans, algumas vezes numerosas, e tipo corpo estranho. Os casos BB são poucos e clinicamente tendem a mover-se para um dos pólos. O número de bacilos é maior, com células epitelióides difusamente espalhadas por todo o granuloma e não focalizadas por zonas de linfócitos. Células gigantes e linfócitos em geral são escassos e difusos. Há presença de edema intra e intercelular o qual é um aspecto comum do BB associado à sua tendência a reação. A forma BL mantém a faixa de Unna e apresenta granuloma composto de macrófagos indiferenciados que contém grande número de bacilos. Esse granuloma é diferenciado daquele do LL por áreas de densa infiltração linfocitária<sup>54</sup>.

**Populações de células T nas lesões.** Anticorpos monoclonais dirigidos contra subpopulações de células T tem permitido a investigação do fenótipo de células T

*in situ* por técnicas imunohistoquímicas. Esses estudos indicam diferenças na taxa CD4:CD8 (T-auxiliar: T-supressor) nos pólos do espectro da hanseníase<sup>37 44 77</sup>. Os dados mostram que em lesões TT, a população CD4 predomina com uma taxa CD4:CD8 de 1,9:1, enquanto em lesões LL a população CD8 predomina com uma taxa CD4:CD8 de 0,6:1. As taxas CD4:CD8 nas lesões são independentes daquelas encontradas no sangue dos pacientes, sugerindo alguma migração seletiva para dentro das lesões, proliferação ou mesmo retenção nas lesões<sup>38</sup>.

Enquanto a taxa CD4:CD8 é 2:1 em ambos, no sangue e nas lesões de pacientes TT, a população de células T no tecido não representa um filtrado aleatório do sangue. A taxa T-memória:T-naive é 1:1 no sangue mas, 14:1 nas lesões, isto é, as células CD4+ nas lesões TT expressam fenótipo T memória (CD45RO+). Ao contrário, nas lesões LL, a metade das células CD4+ pertencem à subclasse de células T-naive. A maioria das células CD8+ que infiltram as lesões lepromatosas

é de fenótipo CD28-, indicando que são células T-supressoras, enquanto células de fenótipo T-citotóxico (CD28+) predominam nas lesões tuberculoides<sup>39</sup>.

**Microambiente imunológico.** Estudos imunohistológicos revelam que células CD4+ estão em justaposição com macrófagos no centro do granuloma TT e células CD8+ restritas ao manguito que contorna o granuloma. As células CD4+ presentes no centro do granuloma TT são de fenótipo T-memória<sup>39</sup>. Por estarem localizadas perto dos macrófagos é concebível que elas possam ter um papel na mediação da localização, ativação e maturação do macrófago levando-o à restrição ou eliminação do patógeno. As células T-naive estão localizadas no manguito linfocitário envolta do granuloma, perto das células CD8+. Ao contrário, nos granulomas LL, as células CD8+ estão misturadas com macrófagos e células CD4+. Como essas células CD8+ são de fenótipo T-supressor, elas podem atuar suprimindo a resposta imune mediada por células<sup>65</sup>.

O PARADIGMA TH1-TH2

O principal paradigma sobre o entendimento da regulação da resposta imune às infecções resultou da análise do padrão de citocinas produzido por clones de células TCD4+ murinas. Em modelos murinos de infecção intracelular, resposta imune resistente versus suscetível, parece ser regulada por duas subpopulações de células T: Th1 e Th2<sup>41</sup> (Figura 2). Células T que produzem interleucina 2 (IL-2) e interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), chamadas Th1,

aumentam a imunidade mediada por células<sup>7</sup>. IFN- $\gamma$  ativa macrófago e IL-2 estimula o crescimento de células T antígeno-específicas, resultando em doença mais branda ou cura. Células T que produzem IL-4, IL-5 e IL-10, chamadas Th2, aumentam a resposta humoral<sup>74</sup>. IL-4 estimula a produção de IgE e ambas, IL-4 e IL-10 estimulam células B e inibem ativação de macrófago resultando em infecção progressiva<sup>67</sup> (Figura 2).

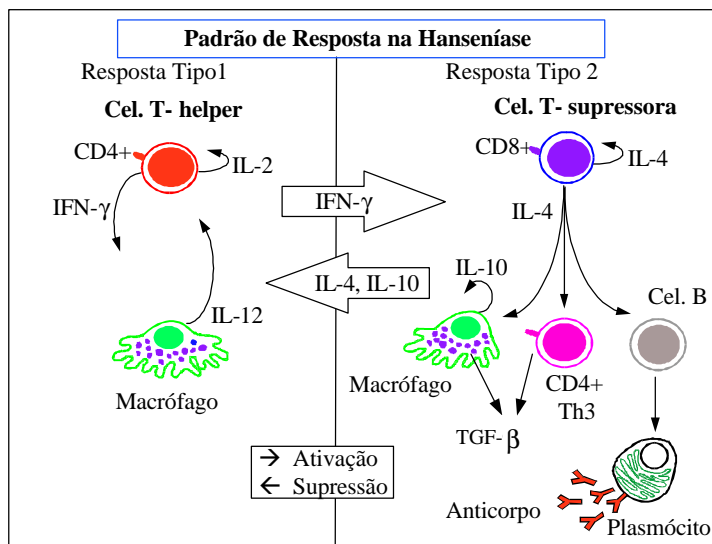


Figura 2 - Na forma TT, no padrão de resposta tipo 1, a IL-2 é um fator de crescimento autócrino para células T helper, que faz ativação de macrófago mediada pelo IFN- $\gamma$  (imunidade mediada por célula). No padrão de resposta tipo 2, na forma LL, IL-4 é um fator de crescimento para células T supressoras estimulando a diferenciação de células B para produção de anticorpos (imunidade humoral): Na presença de IL-4, uma subclasse de célula TCD4+ (Th3) são ativadas para produção de TGF- $\beta$ , potente fator supressor de macrófago. Citocinas de macrófagos são cruciais em cada padrão: no tipo 1, IL-12 é um poderoso estímulo para células T helper; no tipo 2, IL-10 suprime o próprio macrófago. Citocinas produzidas em um tipo de resposta podem mutuamente se inibir de um modo multifacetado, simplificado aqui por duas grandes setas. (Goulart, 1995<sup>16</sup>. Adaptado de Modlin & Bloom 1993<sup>38</sup>).

## PADRÃO DE CITOCINAS DAS SUBPOPLAÇÕES DE CÉLULAS T NA HANSENÍASE

Análise de clones de células T derivadas de lesões de pacientes com hanseníase tem revelado que diferentes padrões de citocinas encontradas em lesões cutâneas são produzidas por subclasses de CD4+ e CD8+ predominantes nestas lesões. Clones CD4+ de pacientes TT produzem altos níveis de IFN- $\gamma$  (citocina ativadora de macrófago), IL-2<sup>62 66 78</sup> e níveis indetectáveis de IL-4. Esses clones, que também são deficientes na atividade *helper* para formação de anticorpo, foram

designados como células T CD4+ *tipo 1*, favorecedores da imunidade mediada por célula. Clones de CD8+ derivados de lesões LL, produzem altos níveis de IL-4 *in vitro* e baixos níveis de IFN- $\gamma$ <sup>78</sup>. Considerando o padrão de secreção de citocinas dessas células T-supressoras, particularmente de IL-4, estes clones de células foram designados como células T CD8+ *tipo 2*, contribuindo para o aumento da produção de anticorpos, similares ao padrão das células Th2 murinas<sup>36</sup>.

## PADRÃO DE CITOCINAS NA HANSENÍASE

Estudos imunohistoquímicos e por hibridização *in situ* têm revelado que células positivas para IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  são mais numerosas em lesões de hanseníase TT do que em lesões LL. Níveis de IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ , detectados por ELISA, estão mais altos no soro e sobrenadantes de culturas de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) de pacientes TT do que LL. Também nos sobrenadantes de culturas de PBMC de pacientes TT, a IL-2 está em níveis bastante superiores aos níveis encontrados na forma LL, onde a IL-4 predomina no soro e sobrenadantes de culturas de PBMC<sup>12</sup>.

A presença de células T com potencial citotóxico também foi investigada usando uma sonda para um marcador enzimático, serina esterase, associado com células citotóxicas. Células contendo RNA mensageiro (mRNA) de serina esterase são mais numerosas em lesões tuberculóides do que em lesões lepromatosas, indicando que células T citotóxicas podem contribuir para a defesa do hospedeiro contra infecção micobacteriana por lisar células infectadas, sendo a

destruição da célula de Schwann, uma seqüela patológica deste mecanismo<sup>66</sup>.

Estudos feitos com amplificação de mRNA das lesões de hanseníase, através da reação em cadeia da polimerase (PCR), tem mostrado que mRNA codificadores de citocinas tipo 1 ou Th1, IL-2, IFN- $\gamma$  e linfotóxina, foram fortemente expressados em lesões TT, que são caracterizadas por resistência a proliferação do *M. leprae* e tendem à cura espontânea. Citocinas tipo 2 ou Th2, IL-4, IL-5 e IL-10, foram mais fortemente expressadas em lesões LL, correlacionadas a uma resposta imune celular ineficiente ou mesmo ausente ao *M. leprae* (Figura 2).

IL-7 é um fator de crescimento e diferenciação de células T, que é produzido no timo e baço e também por queratinócitos. A expressão de mRNA de IL-7 também foi investigada por PCR e apresentou maior expressão em lesões TT do que em lesões LL<sup>1 69</sup>. Em culturas de PBMC e de queratinócitos estimuladas pelo *M. leprae*, com adição de IFN- $\gamma$ , mRNA de IL-7 também foi detectado, indicando que IL-7 é liberada em lesões TT, em resposta a produção local de IFN- $\gamma$  e poderia potencializar a resposta de células T *in situ*<sup>33 69</sup>.

## RESPOSTA TIPO 1

A abundância de IL-2 e IFN- $\gamma$  em lesões TT provavelmente deve contribuir para o estado de imunidade resistente nesses pacientes (Figura 2). IFN- $\gamma$  é bem conhecido por sua atividade em aumentar a produção de reativos intermediários do oxigênio e nitrogênio por macrófagos, estimulando-os a matar ou restringir a proliferação de micobactérias e outros patógenos intracelulares<sup>42 45 46 57</sup>. IFN- $\gamma$  também aumenta expressão de HLA-DR (antígeno leucocitário humano de classe II, alelo DR) e molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), que facilitam a interação célula acessória - célula T<sup>10</sup>. A IL-2 pode contribuir para a defesa do hospedeiro por induzir a expansão clonal de células T imune ativadas e aumentar a produção de IFN- $\gamma$ <sup>26</sup>. A produção de TNF- $\alpha$  pelo macrófago em nível local, favorece uma ação sinérgica autócrina para manter o macrófago ativado e formar o granuloma imune<sup>71</sup> (Figura 3).

Papel regulador da IL-12: Um dos fatores que pode dirigir a resposta das células T para um padrão de citocinas tipo 1 é a IL-12<sup>23</sup>. IL-12 estimula células *natural killer* (NK) a liberar IFN- $\gamma$ , o qual predispõe as células T

em direção ao padrão Th1<sup>32 56 70</sup>. IL-12 induz células T *naive* a produzir citocinas Th1 quando estimuladas com antígeno e célula apresentadora de antígeno (APC). IL-12 aumenta a resposta de citocinas Th1 em modelos murinos de infecção. Em hanseníase, a expressão de mRNA de IL-12 apresentou maiores níveis em lesões TT quando comparados às lesões LL<sup>70</sup>. Isso indicou que a expressão de mRNA de IL-12 está relacionada com a expressão de citocinas Th1 em lesões de hanseníase (Figura 3).

IL-12 é um dos mais potentes fatores de crescimento de células T e parece conduzir as células T em uma resposta primária, em direção a um padrão de citocinas Th1. Para elucidar se IL-12 pode induzir uma resposta de células T por expansão preferencial de células previamente destinadas para Th1, clones de células T CD4+ específicas ao *M. leprae* com padrão de citocinas tipo 1 e CD8+ com o padrão de citocinas tipo 2, foram cultivados na presença de IL-12 recombinante (rIL-12) ou IL-2 recombinante (rIL-2) como controle<sup>70</sup>. rIL-12 induziu proliferação de células CD4+ tipo 1 mas não de

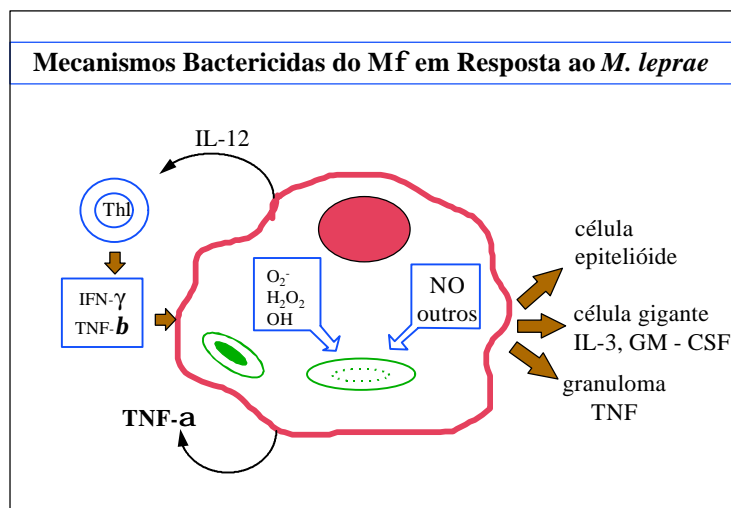


Figura 3 - Goulart, 1995<sup>16</sup>. Adaptado de Britton, 1993<sup>6</sup>. Macrófago ativado na forma clínica Tuberculóide produz IL-12, que estimula a sub população Th1 a produzir grande quantidade de IFN- $\gamma$ , principal ativador de radicais microbicidas (derivados do oxigênio e do nitrogênio) no macrófago. Esse macrófago ativado secreta de forma autócrina TNF-a que é o mantenedor do granuloma.

células CD8+ tipo 2<sup>33</sup>. Ambos os clones dessas subclasses de células proliferaram em resposta a IL-2. Estes resultados sugerem que a IL-12 tem atividade diferencial como fator de crescimento, seletivamente estimulando células T tipo 1<sup>22 67 68</sup>.

IL-15, uma citocina com potente atividade no crescimento de células T, tem sido descrita em hanseníase<sup>25</sup>. Uma maior expressão de mRNA de IL-15 foi encontrada em lesões de pacientes TT comparada a lesões de LL, e que a IL-15 recombinante (rIL-15) induzia a expansão de células T com fenótipo

CD56+ (células NK), presentes em maior quantidade em lesões de pele da hanseníase TT. Dessa forma, há um indicio que a IL-15 aumenta a resposta de células T ao *M. leprae*.

Maior expressão de mRNA de IL-18, também foi demonstrada em lesões de pacientes com hanseníase TT quando comparado com lesões de pacientes suscetíveis da forma LL<sup>14</sup>. IL-18, fator indutor de IFN- $\gamma$  (IGIF) e IL-12, ambas produzidas principalmente por macrófagos, têm papel crucial na expressão da imunidade mediada por células<sup>30</sup>.

## RESPOSTA TIPO 2

Ao contrário da lesões TT, a classe de mRNA de citocinas presentes em lesões LL, citocinas tipo 2 ou Th2, IL-4, IL-5 e IL-10, devem contribuir para a ineficácia da resposta imune e a falha de ativação do macrófago nesses indivíduos<sup>68 78</sup> (Figura 2). IL-4 está bastante aumentada em lesões LL comparada com lesões TT<sup>59 65</sup>. IL-4 pode contribuir para o aumento de anticorpos anti-PGL-1 em pacientes LL, e em sobrenadantes de clones de células TCD8+<sup>59 65</sup> e soro desses pacientes LL, via seu papel na diferenciação e mudança de classe de imunoglobulinas de células B, bem como sua habilidade para estimular proliferação Th2<sup>65</sup>. IL-4 também tem um efeito imunorregulatório negativo sobre a imunidade mediada por célula, que pode levar ao aumento da proliferação bacteriana porque: - bloqueia a proliferação dependente de IL-2 de células T humanas por inibir receptores de IL-2; - bloqueia a ativação de monócitos mediada pelo IFN- $\gamma$ ; - inibe a expressão de CD14 sobre monócitos e produção de IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ ; -

e bloqueia a geração de óxido nítrico (NO), necessário para destruição de patógenos intracelulares<sup>59 68</sup>.

Em adição a IL-4, a IL-13 tem sido incluída no mecanismo de supressão de células T em hanseníase, por seus efeitos sobre células B e macrófagos, similares aos da IL-4. Tem sido demonstrado que, apenas clones de células T tipo 2 de lesões lepromatosas produzem IL-13<sup>67 68</sup>. Isso sugere que a IL-13 pode ter um papel na imunossupressão em lesões de hanseníase LL<sup>67 68</sup>.

Papel imunossupressor da IL-10: Embora mRNA de IL-10 tenham sido proeminentes em lesões LL<sup>78</sup>, clones de células T de lesões produziram pequenas quantidades de proteína IL-10. A presença de IL-10 em lesões LL, uma citocina que pode inibir a produção de citocinas por células CD4+ na relativa ausência de IFN- $\gamma$  ou IL-2, sugere um possível papel para esta citocina nessa resposta imunológica ineficiente específica aos antígenos de *M. leprae*<sup>34 67 68</sup>. Também não tem sido encontrada diferença na liberação de proteína IL-10 em

culturas de PBMC estimuladas por *M. leprae*, de pacientes das formas clínicas TT e LL e doadores saudáveis.

A origem predominante de IL-10 foi demonstrada em macrófagos<sup>65</sup>. Anticorpo monoclonal neutralizante anti-IL-10 aumentou significativamente a proliferação de células T específicas ao *M. leprae* e a liberação de TNF- $\alpha$ , GM-CSF (fator estimulador de colônia macrófago-granulócito) e IFN- $\gamma$ .

Uma ativação crônica local de IL-10 pode levar a uma diferenciação de células T CD4+, originando uma subpopulação de células T regulatórias (Tr1) que produzem altos níveis de IL-10, mantendo a supressão da resposta imune antígeno-específica<sup>2</sup>.

Esses dados indicam que *M. leprae* induz a produção de IL-10, o qual inibe a proliferação de células T e liberação de citocinas com propriedades anti-bacterianas<sup>67 68</sup>.

Papel imunomodulador do fator transformador do crescimento-beta1 (TGF- $\beta$ 1): A presença de TGF- $\beta$ 1, um dos mais potentes fatores imunossupressores endógenos, foi revelada por imunohistoquímica em lesões de hanseníase, demonstrando grande quantidade de células macrófágicas positivas para esta proteína no infiltrado LL e ausência no granuloma TT<sup>16 18</sup>. Tem sido demonstrado também, que *M. leprae* induz a

produção de TGF- $\beta$ 1 ativo em sobrenadantes de culturas de macrófagos de portadores de hanseníase e indivíduos saudáveis, sendo que a produção de TGF- $\beta$ 1 em pacientes LL foi 10 vezes maior do que em pacientes TT<sup>17 19</sup>. O TGF- $\beta$ 1 tem ação supressora sobre macrófagos contrapondo os efeitos do IFN- $\gamma$  na ativação da atividade antimicrobiana mediada pelo óxido nítrico (NO) e inibindo a produção de TNF- $\alpha$ , e dessa forma poderia contribuir para a perpetuação da infecção<sup>5 20 47 64 73</sup>. Postula-se que a indução precoce do TGF- $\beta$ 1 seria essencial para estabelecer o curso da infecção hanseníase na ausência de IFN- $\gamma$ , determinando a proliferação bacilar dentro do macrófago e esta proliferação descontrolada promoveria o desenvolvimento do padrão de resposta Th2 que é observada na forma LL, com inibição da resposta Th1<sup>16 18</sup>.

Além disso, uma distinta subclasse de células T CD4+ supressoras (Th<sup>3</sup>) da imunidade mediada por células poderiam ser ativadas na presença de grandes quantidades de IL-4, como na forma LL, induzindo a produção de TGF- $\beta$ 1 por essas células nas lesões desses pacientes suscetíveis<sup>48 76</sup>.

Esses resultados demonstram o perfil supressor dessa citocina, liberada pela presença do bacilo, que a utiliza como um mecanismo de evasão da resposta imune competente<sup>16 18</sup>.

## REFLEXÕES SOBRE A INFECÇÃO PELO MYCOBACTERIUM LEPRAE

É importante entender que a interação do patógeno com o hospedeiro é complexa e multifatorial, porém nem sempre produzida diretamente pelo agente no macrófago. Após sua entrada dentro do macrófago, o *M. leprae* induz a produção de TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-10 e TGF- $\beta$ 1 por macrófagos infectados. Essas são citocinas opostas em muitas formas de ação, incluindo suas ações sobre o próprio macrófago<sup>16 18</sup>. De um lado, o TNF- $\alpha$  promove a ativação de macrófagos para a destruição intracelular de *M. leprae* e potencializa os efeitos do IFN- $\gamma$ , uma citocina produzida por células Th1, induzidas a proliferar na presença de IL-12, que também é produzida por macrófagos ativados na forma TT. Por outro lado, TGF- $\beta$ 1 e IL-10, citocinas macrófágicas, desativam os próprios macrófagos, aumentam a proliferação bacilar e contrapõem os efeitos do TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-12, com predomínio de resposta Th2 na forma LL<sup>16 18</sup>.

Postula-se que o parasita poderia induzir a produção de duas citocinas competitivas por macrófagos infectados: TNF- $\alpha$ , a qual atuaria como um sinal autócrino para amplificar a produção de óxido nítrico (NO) induzida por IFN- $\gamma$ , e TGF- $\beta$ 1, a qual atuaria como

um sinal autócrino para bloquear a produção de NO induzida por IFN- $\gamma$ . A presença de IFN- $\gamma$  é que vai determinar qual citocina prevalecerá. Portanto, fica implícito que a exposição de macrófagos à citocina apropriada, no tempo apropriado são os requisitos para a destruição do parasita intracelular<sup>4 20 55</sup>.

Tem sido considerado que a *imunidade natural* está envolvida em determinar o resultado da infecção, em que outras células, mais do que células T, poderiam rapidamente produzir citocinas que dirigem a resposta para o padrão de citocinas que será produzido por células T. Macrófagos infectados usualmente liberam IFN- $\gamma$  e IL-12, a qual estimulam células NK a liberar IFN- $\gamma$ , com um subsequente viés em direção à resposta Th1<sup>29 35</sup>.

Concluindo, o destino da infecção por *M. leprae* em um hospedeiro, como o que ocorre por *Leishmania* e *T. cruzi*<sup>3 72</sup> parece depender de quando e como uma determinada citocina está disponível no sítio da presença do parasita, em maior quantidade em relação a vários outros produtos. Nesse contexto, deve estar inserida a predisposição genética do indivíduo na suscetibilidade ou resistência à infecção por *M. leprae*<sup>16 18</sup>.

## FATORES GENÉTICOS EM HANSENÍASE

A ativação da resposta imune celular ao *M. leprae* é dependente da interação inicial de células T e células apresentadoras de antígeno (APC). Células da linhagem monócito/macrófago tem vários papéis na relação parasita-hospedeiro, servindo como habitat celular para

o *M. leprae*, ativadoras de células T como APC e, finalmente como células efectoras na destruição do bacilo<sup>36</sup>. A entrada do *M. leprae* para dentro do macrófago é seletivamente mediada pelos receptores de complemento, CR1 e CR3, os quais se ligam a



componentes do complemento ativados sobre a superfície do *M. leprae* pelo seu antígeno específico PGL-1<sup>31 66</sup>. A fagocitose por esta rota não está associada com ativação de mecanismos oxidativos bactericidas. Proteínas micobacterianas são depois processadas para produzir fragmentos, os quais são apresentados sobre a superfície de monócitos, em associação com moléculas de classe II do HLA. Esse requerimento para o reconhecimento de peptídeos estranhos em associação com HLA do hospedeiro evidencia a associação de certos fenótipos de HLA com hanseníase. Genes associados ao HLA não conferem suscetibilidade à hanseníase mas, ao padrão clínico da doença. Evidências ainda não comprovadas, sugerem que entre os indivíduos suscetíveis, aqueles com alelos HLA-DR2 e HLA-DR3 desenvolvem mais freqüentemente hanseníase tuberculóide, enquanto que aqueles com HLA-DQ1 desenvolvem hanseníase lepromatosa. Diferentes moléculas de HLA apresentam diferentes peptídeos de diferentes proteínas para células T, o que poderia induzir diferentes respostas de células T. DR3 poderia induzir uma vigorosa resposta de célula T e predispor à hanseníase TT. DQ1, ao contrário, poderia induzir uma resposta ineficiente, talvez pela indução

de células T supressoras específicas ao *M. leprae* e desta forma predisporia à hanseníase LL<sup>6</sup>.

No entanto, estes efeitos do MHC parecem insuficientes para explicar completamente os mecanismos genéticos do hospedeiro envolvidos na suscetibilidade. Recentemente, novas evidências sugerem o envolvimento de outros genes não relacionados ao MHC, tais como o NRAMP1 (gene da proteína 1 do macrófago associado à resistência natural) localizado no cromossomo 2 e o gene receptor de vitamina D (VDR) no cromossomo 12<sup>58</sup>.

Sobre o gene VDR tem sido demonstrada uma associação do genótipo *T/t* do polimorfismo *Taq1* com a suscetibilidade à hanseníase, provavelmente, por influenciar a resposta imune do hospedeiro em direção do pólo virchowiano<sup>58</sup>.

O gene NRAMP1 vem sendo apontado como principal gene envolvido com a resistência a parasitas intracelulares, por sua atividade estar diretamente ligada ao processamento de antígeno pelas células fagocitárias, contudo, ainda não foi encontrada associação significativa entre NRAMP1 e suscetibilidade à hanseníase<sup>58</sup>.

#### ESTADOS REACIONAIS

Sobre o espectro imunológico da hanseníase, impõe-se ainda os chamados *estados reacionais*, que podem ocorrer durante o curso natural da doença, durante o tratamento e mesmo após o tratamento, quando o paciente é considerado curado bacteriologicamente.

As reações hansênicas podem ser definidas como manifestações clínicas resultantes de alterações no balanço imunológico entre o hospedeiro e o agente infectante, *M. leprae*. Esses episódios agudos, que afetam principalmente pele e nervos, são a principal causa de morbidade e incapacidade da função do nervo periférico.

Essas reações são classificadas em dois tipos, de acordo com Ridley-Jopling<sup>53</sup>: reação tipo 1 e reação tipo 2.

Reação tipo 1 ou reação reversa (RR), que ocorre freqüentemente em paucibacilares, parece estar associada a um aumento abrupto da resposta imune mediada por célula contra antígenos do *M. leprae*. A histopatologia demonstra expansão do granuloma com presença de edema e um influxo de células CD4+ positivas. O número de receptores para interleucina-2 (IL-2R) bem como a expressão de HLA-DR em células do infiltrado e em queratinócitos na epiderme estão aumentados, um sinal evidente da produção de IFN- $\gamma$ <sup>29</sup>.

Usando a técnica da PCR, foi demonstrado que a expressão de mRNA das citocinas IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-2 e IFN- $\gamma$  está aumentada nas lesões, um padrão típico de resposta Th1. Outras citocinas do padrão Th2, como IL-4, IL-5 e IL-10 estão diminuídas. Pela técnica de imunohistoquímica, foi demonstrado a presença das proteínas IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , associadas à detecção da

enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) no citoplasma dos macrófagos, determinando uma atividade macrofágica competente<sup>79</sup>.

Reação tipo 2 ou reação tipo *eritema nodosum leprosum* (ENL), ocorre em pacientes multibacilares, LL e BL, e caracteriza uma reação inflamatória sistêmica, apresentando imunopatologia mais complexa. Pode ocorrer em pacientes não tratados mas, um percentual expressivo de pacientes sob tratamento, pode desenvolver um ou mais episódios. Em alguns pacientes, essa reação inflamatória pode se tornar crônica e aparecer mesmo após o término do tratamento<sup>43</sup>.

Além da pele e nervos, outros órgãos podem estar envolvidos: linfonodos, fígado, baço, peritônio, testículos, olhos, articulações, tendões, músculos e ossos. Pode haver febre, leucocitose, estimulação policlonal de anticorpos, queda do produto C3d do sistema complemento e presença de imunocomplexos nos tecidos lepromatosos, caracterizando uma síndrome por imunocomplexos<sup>43</sup>.

Não há consenso sobre o envolvimento da imunidade celular neste tipo de reação, a despeito de ter sido demonstrado células imunocompetentes expressando receptores para IL-2 (IL-2R) e HLA-DR, nas lesões, um indicativo da presença de IFN- $\gamma$ <sup>39 60</sup>.

Tem sido mostrado que, durante o ENL, há um aumento seletivo na expressão de mRNA de IL-6, IL-8 e IL-10 nas lesões, uma indicação de uma resposta do tipo Th2<sup>43 79</sup>. A expressão de IL-4 e IL-5 persistiu sem aumento. Além disso, TNF- $\alpha$  e TGF- $\beta$ 1 estão presentes

nos macrófagos das lesões nas reações ENL, bem como a presença da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) nos neutrófilos<sup>12</sup>. No soro de pacientes BL e LL com ENL, os níveis de TNF e IL-1 também estão aumentados<sup>40 61</sup>.

Em culturas de células aderentes de PBMC de doentes de hanseníase e doadores sadios, tem sido mostrado que o PGL-1 estimula a produção de TGF- $\beta$ 1<sup>17 19</sup>. Os níveis de TGF- $\beta$ 1 em pacientes BL e LL, com reação ENL, foram 5 vezes maiores do que os encontrados em pacientes BB e BT com RR e 60 vezes maior do que os níveis encontrados em pacientes TT sem reação<sup>17 19</sup>.

Esses resultados indicam que o TGF- $\beta$ 1 pode ter diferentes papéis em hanseníase: mediando uma ação supressiva localmente associada com a presença de

PGL-1, e induzindo efeitos pró-inflamatórios quando secretado sistemicamente por monócitos, dessa forma atuando como uma citocina modulatória na reação ENL, associada com a resposta imune Th2 nas formas multibacilares da hanseníase<sup>17 19</sup>.

Estudos adicionais são necessários para esclarecer os mecanismos das interações complexas entre as citocinas e a participação da diversidade fenotípica da rede de células que contribuem para a defesa do hospedeiro. O entendimento de tais mecanismos poderá oferecer novas abordagens para identificar agonistas e/ou antagonistas para os efeitos pró- ou anti-inflamatórios e em quais circunstâncias sua utilização seria apropriada para intervenções imunológicas e/ou imunoterapêuticas<sup>16 18</sup>.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ariizumi K, Meng Y, Bergstresser PR, Takashima A. IFN-gamma-dependent IL-7 gene regulation in keratinocytes. *Journal of Immunology* 154:6031-6039, 1995.
- Asseman C, Powrie F. Interleukin 10 is a growth factor for a population of regulatory T cells. *Gut* 42:157-158, 1998.
- Barral A, Barral-Netto M, Yong EC, Brownell CE, Twardzik DR, Reed SG. Transforming growth factor- $\gamma$  as a virulence mechanism for *Leishmania braziliensis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90:3442-3446, 1993.
- Barral-Netto M, Barral A. Transforming growth factor- $\beta$  in tegumentary leishmaniasis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 27:1-9, 1994.
- Bermudez LE. Production of transforming growth factor- $\beta$  by *Mycobacterium avium*-infected human macrophages is associated with unresponsiveness to INF- $\gamma$ . *Journal of Immunology* 150:1838-1845, 1993.
- Britton WT. Leprosy 1962-1992: immunology of leprosy. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 87:508-514, 1993.
- Cher DJ, Mosmann TR. Two types of murine helper T cell clone. II. Delayed-type hypersensitivity is mediated by Th1 clones. *Journal of Immunology* 138:3688-3694, 1987.
- Chin-A-Lien RAM, Faber WR, Van Rens MM, Leiker DL, Naafs B, Klatser PR. Follow-up of multibacillary leprosy patients using a phenolic glycolipid-I based ELISA. Do increasing ELISA-values after discontinuation of treatment indicate relapse? *Leprosy Review* 63:21-27, 1992.
- Cunha MGS. Níveis de anti-PGL-1 no soro de pacientes com hanseníase tratados com quinolona e poliquimioterapia. Tese de Mestrado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, 1998.
- Dustin ML, Singer KH, Tuck DT, Springer TA. Adhesion of T lymphoblasts to epidermal keratinocytes is regulated by interferon-gamma and is mediated by intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1). *The Journal of Experimental Medicine* 167: 1323-1340, 1988.
- Fleury, RN. Dificuldades no emprego da classificação de Ridley e Jopling: uma análise morfológica. *Hansenologia internationalis* 14:101-106, 1989.
- Foss NT. Aspectos imunológicos da hanseníase. *Medicina Ribeirão Preto* 30:335-339, 1997.
- Foss NT, Callera F, Alberto FL. Anti-PGL1 levels in leprosy patients and their contacts. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 26:43-51, 1993.
- Garcia VE, Uyemura K, Sieling PA, Ochoa MT, Morita CT, Okamura H, Kurimoto M, Rea TH, Modlin RL. IL-18 promotes type 1 cytokine production from NK cells and T cells in human intracellular infection. *Journal of Immunology* 162:6114-6121, 1999.
- Gaylord H, Brennan PJ. Leprosy: Antigens and host-parasite interactions. *In: Pearson TW (ed) Parasite Antigens. Toward New Strategies for Vaccines.* Marcel Dekker Inc, New York, p.49-89, 1986.
- Goulart IMB. Detecção de TGF- $\beta$ 1 em lesões cutâneas de diferentes formas clínicas de hanseníase. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 1995.
- Goulart IMB. Produção de TGF- $\beta$ 1 por células mononucleares do sangue periférico de portadores de hanseníase e seu papel na regulação da resposta inflamatória. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, 1999.
- Goulart IMB, Figueiredo F, Coimbra T, Foss NT. Detection of transforming growth factor- $\beta$ 1 in dermal lesions of different clinical forms of leprosy. *American Journal of Pathology* 148:911-917, 1996.
- Goulart IMB, Mineo JR, Foss NT. Production of transforming growth factor-beta 1 (TGF- $\beta$ 1) by blood monocytes from patients with different clinical forms of leprosy. *Clinical and Experimental Immunology* 122:330-334, 2000.
- Green JS, Scheller LF, Marletta MA, Seguin MC, Klotz FW, Slayter M, Nelson BJ, Nancy CA. Nitric oxide: cytokine-regulation of nitric oxide in host resistance to intracellular pathogens. *Immunology Letters* 43:87-94, 1994.
- Harboe M. The immunology of leprosy. *In: Hastings RC (ed) Leprosy, 1<sup>st</sup> edition,* Churchill Livingstone Inc, New York, p. 53-87, 1985.
- Heinzel FP, Schoenhaut DS, Reko RM, Rosser LE, Gately MK. Recombination interleukin 12 cures mice infected with *Leishmania major*. *The Journal of Experimental Medicine* 177:1505, 1993.
- Hsieh CS, Macatonia SE, Tripp CS, Wolf SF, O'Garra A, Murphy KM. Development of Th1 CD4+ T-cells through IL-12 produced by *Listeria*-induced macrophages. *Science* 260:547-549, 1993.

24. Jacobson RR, Krahenbuhl LJ. Leprosy. Seminar. Lancet 353:655-660, 1999.
25. Jullien D, Sielin PA, Uyemura K, Mar ND, Rea TH, Modlin RL. IL-15, an immunomodulator of T cell responses in intracellular infection. Journal of Immunology 158:800-806, 1997.
26. Kasahara T, Hooks JJ, Dougherty SF, Oppenheim JJ. Interleukin 2-mediated immune interferon (IFN-gamma) production by human T cells and T cell subsets. Journal of Immunology 130:1784-1789, 1983.
27. Kirchheimer WF, Storrs EE. Attempts to establish the armadillo (*Dasypus novencinctus* Linn.) as a model for the study of leprosy. International Journal of Leprosy 3:693-702, 1971.
28. Klatser PR. Serology of Leprosy. Tropical and Geographical Medicine 46:115-118, 1994.
29. Kobayashi M, Fitz L, Ryan M, Hewick RM, Clark SC, Chan S, Loudon R, Sherman F, Perussia B, Trinchieri G. Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biological effects on human lymphocytes. The Journal of Experimental Medicine 170:827-845, 1989.
30. Kobayashi K, Kai M, Giodoh M, Nakata N, Endoh M, Singh RP, Kasama T, Saito H. The possible role of interleukin (IL)-12 and interferon-gamma-inducing factor/IL-18 in protection against experimental *Mycobacterium leprae* infection in mice. Clinical Immunology and Immunopathology 88:226-231, 1998.
31. Krahenbuhl J, Adams B. The role of the macrophage in resistance to the leprosy bacillus. Immunology Series 60:281:302, 1994.
32. Manetti R, Parronchi P, Giudizi MG, Piccini M, Maggi E, Trinchieri G, Romagnani S. Natural killer cell stimulatory factor (interleukin [IL-12]) induces T helper type 1 (Th1)-specific immune responses and inhibits the development of IL-4 – producing Th cells. The Journal of Experimental Medicine 177:1199-1204, 1993.
33. Mehrotra PT, Grant AJ, Siegel JP. Synergistic effects of IL-7 and IL-12 on human T cell activation. Journal of Immunology 154:5093-5102, 1995.
34. Misra N, Selvakumar M, Singh S, Bharadwaj M, Ramesh V, Misra RS, Nath I. Monocyte derived IL-10 and PGE<sub>2</sub> are associated with the absence of TH1 cells and in vitro T cell suppression in lepromatous leprosy. Immunology Letters 48:123-128, 1995.
35. Modlin RL. Th1-Th2 paradigm: insights from leprosy. The Journal of Investigative Dermatology 102:828-832, 1994.
36. Modlin RL, Bloom BR. Immunoregulation: Learning from leprosy. Hospital Practice 28:71-84, 1993.
37. Modlin RL, Hofman FM, Taylor CR, Rea TH. T lymphocyte subsets in the skin lesion of patients with leprosy. Journal American Academic of Dermatology. 8: 182-189, 1983.
38. Modlin RL, Mehra V, Wong L, Fujimiya Y, Chang W-C, Horwitz DA, Bloom BR, Rea TH, Pattengale PK. Suppressor T lymphocytes from lepromatous leprosy skin lesions. Journal of Immunology 137:2831-2834, 1986.
39. Modlin RL, Melancon-Kaplan J, Young SMM, Pirmez C, Kino H, Convit J, Rea TH, Bloom BR. Learning from lesions: patterns of tissue inflammation in leprosy. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 85:1213-1217, 1988.
40. Moreira AL, Sampaio EP, Zmuidzinis A, Frindt P, Smith KA, Kaplan G. Thalidomide exerts its inhibitory action on tumor necrosis factor alpha by enhancing mRNA degradation. The Journal of Experimental Medicine 177:1675-1680, 1993.
41. Mosmann 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. Journal of Immunology 136:2348-2357, 1986.
42. Murray HW, Rubin BY, Rothermel CP. Killing of intracellular *L. Donovanii* By lymphokine-stimulated human mononuclear phagocytes. Evidence that interferon is the activating lymphokine. The Journal of Clinical Investigation 72:1506-1510, 1983.
43. Naafs B. Leprosy Reactions. Tropical and Geographical Medicine 46:80-84, 1994.
44. Narayanan RB, Bhutani LK, Sharma AK, Nath I. T cell subsets in leprosy lesions: *in situ* characterization using monoclonal antibodies. Clinical Experimental Immunology 51:421-429, 1983.
45. Nathan CF, Kaplan G, Levis WR, Nusrat A, Wintmer MD, Sherwin SA, Job CK, Horowitz CR, Steinman RM, Cohn ZA. Local and systemic effects of intradermal recombinant interferon-gamma in patients with lepromatous leprosy. The New England Journal of Medicine 315:6-15, 1986.
46. Nathan CF, Murray HW, Wiebe ME, Rubin BY. Identification of interferon-gamma as the lymphokine that activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. The Journal of Experimental Medicine 172:670-689, 1983.
47. Nelson BJ, Ralph P, Green SJ, Nancy CA. Differential susceptibility of activated macrophage cytotoxic effector reactions to the suppressive effects of transforming growth factor-beta1. Journal of Immunology 146:1849-1857, 1991.
48. O'Garra A, Steinman L, Gijbels K. CD4+ T-cell subsets in autoimmunity. Current Opinion in Immunology 9:872-883, 1997.
49. Ottenhoff THM. Immunology of leprosy. Tropical and Geographical Medicine 46:72-80, 1994a.
50. Ottenhoff THM. Immunology of leprosy: lessons from and for leprosy. International journal of Leprosy 62:108-121, 1994b.
51. Pfaltzgraff RE, Bryceson A. Clinical Leprosy. In: Hastings RC (ed) Leprosy, 1<sup>st</sup> edition, Churchill Livingstone Inc, New York, p. 134-176, 1985.
52. Rees RFW. The microbiology of leprosy. In: Hastings RC (ed) Leprosy, 1<sup>st</sup> edition, Churchill Livingstone Inc, New York, p. 31-52, 1985.
53. Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity: a five group system. International Journal of Leprosy. 34:255-273, 1966.
54. Ridley DS. Skin biopsy in leprosy. Documenta Geigy, 3<sup>rd</sup> edition. CIBA-GEIGY Limited. Basle, Switzerland, 1990.
55. Rojas-Espinosa O. Active humoral immunity in the absence of cell-mediated immunity in murine leprosy: lastly an explanation. International journal of Leprosy 62:143-147, 1994.
56. Romagnani S. Introduction of Th1 and Th2 responses: a key for the 'natural' immune response. Immunology Today 13:379-381, 1992.
57. Rook GAW, Steele J, Fraher L, Barker S, Karmeli R, O'Riordan J. Vitamin D3, gamma interferon, and control of proliferation of *Mycobacterium tuberculosis* by human monocytes. Immunology 57:159-163, 1986.
58. Roy S, Frodsham A, Saha B, Hazra SK, Mascie-Taylor CGN, Hill AVS. Association of Vitamin D Receptor Genotype with Leprosy Type. The Journal of Infectious Diseases 179:187-191, 1999.

59. Salgame P, Abrams JS, Clayberger C, Goldstein H, Convit J, Modlin RL, Bloom BR. Differing lymphokine profiles of functional subsets of human CD4 and CD8 cell clones. *Science* 254:279-282, 1991.
60. Sampaio EP, Sarno EN. Expression and cytokine secretion in the states of immune reactivation in leprosy. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 31:69-76, 1998.
61. Sarno EN, Grau GE, Vieira LM, Nery JA. Serum levels of tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta during leprosy reactional states. *Clinical and Experimental Immunology* 84:103-108, 1991.
62. Scollard DM. Inside the skin: the local immune and inflammatory milieu in leprosy. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 44:17-23, 1991.
63. Shepard CC. Multiplication of *Mycobacterium leprae* in the foot-pad of the mouse. *International Journal of Leprosy* 3:291-306, 1962.
64. Sher A, Gazzinelli RT, Oswald IP, Clerici M, Kullberg M, Pearce EJ, Berzofsky JA. Role of T-cell derived cytokines in the downregulation of immune responses in parasitic and retroviral infection. *Immunological Reviews* 127: 183-204, 1992.
65. Sieling PA, Abrams JS, Yamamura M, Salgame P, Bloom BR, Rea TH, Modlin RL. Immunosuppressive roles for IL-10 and IL-4 in human infection: In vitro modulation of T cell responses in leprosy. *The Journal of Immunology* 150:5501-5510, 1993.
66. Sieling PA, Modlin RL. T cell and cytokine patterns in leprosy skin lesions. *Springer Seminars in Immunopathology* 13:413-426, 1992.
67. Sieling PA, Modlin RL. Cytokine patterns at the site of mycobacterial infection. *Immunobiology* 191:378-387, 1994a.
68. Sieling PA, Modlin RL. Regulation of cytokine patterns in leprosy. *Annals of the New York Academy of Sciences* 730:42-52, 1994b.
69. Sieling PA, Sakimura L, Uyemura K, Yamamura M, Oliveros J, Nickoloff BJ, Rea TH, Modlin RL. IL-7 in the cell-mediated immune response to a human pathogen. *Journal of Immunology* 154:2775-2783, 1995.
70. Sieling PA, Wang X-H, Gately MK, Oliveros JL, McHugh T, Barnes PF, Wolf SF, Golkar L, Yamamura M, Yogi Y, Uyemura K, Rea TH, Modlin RL. IL-12 regulates T helper type 1 cytokine responses in human infectious disease. *Journal of Immunology* 153:3639-3647, 1994.
71. Silva CL, Foss NT. Tumor necrosis factor in leprosy patients. *The Journal of Infectious Diseases* 159:787-790, 1989.
72. Silva JS, Twardzik DR, Reed SG. Regulation of *Trypanosoma cruzi* infections *in vitro* and *in vivo* by transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ). *The Journal of Experimental Medicine* 174:539-546, 1991.
73. Stenger S, Thüning H, Rollinghoff M, Bogdan C. Tissue expression of inducible nitric oxide synthase is closely associated with resistance to *Leishmania major*. *The Journal of Experimental Medicine* 180:783-793, 1994.
74. Stevens TL, Bossie A, Sanders VM, Fernandez-Botran R, Coffman RL, Mosmann TR, Vitetta ES. Regulation of antibody isotype secretion by subsets of antigen-specific helper T cells. *Nature* 334:255-258, 1988.
75. Talhari S, Neves RG. *Dermatologia Tropical: Hanseníase*. Editora Tropical, Manaus, 1997.
76. Trinchieri G. Cytokines in inflammation. *The Immunologist* 7:26-28, 1999.
77. Van Voorhis WC, Kaplan G, Sarno EN, Horwitz MA, Steinman RM, Levis WR, Nogueira N, Hair LS, Gattas CR, Arrick BA, Cohn ZA. The cutaneous infiltrates of leprosy: cellular characteristics and predominant T-cell phenotypes. *New England Journal of Medicine* 307:1593-1597, 1982.
78. Yamamura M, Uyemura K, Deans RJ, Weinberg K, Rea TH, Bloom BR, Modlin RL. Defining protective responses to pathogens: cytokine profiles in leprosy lesions. *Science* 254:277-279, 1991.
79. Yamamura M, Wang X-H, Ohmen JD, Uyemura TH, Bloom BR, Modlin RL. Cytokine patterns of immunologically mediated tissue damage. *Journal of Immunology* 149:1470-1475, 1992.