

AVALIAÇÃO DA REAÇÃO DE MITSUDA EM PACIENTES VIRCHOVIANOS INATIVOS ANTES E APÓS IMUNOTERAPIA

Maria Sueli Parreira de Arruda, Raul Negrão Fleury, Maria Esther Salles
Nogueira, Somei Ura e Olavo Speranza de Arruda

Neste estudo investigou-se o potencial imunomodulador do levamisole e da mistura BCG/Mycobacterium leprae em pacientes virchovianos inativos, utilizando como parâmetro a reação de Mitsuda. Vinte pacientes, classificados como Mitsuda histologicamente negativos há 10 anos, foram divididos em três grupos: cinco pacientes que foram somente reavaliados frente a mitsudina; oito pacientes que receberam levamisole e, sete que receberam a mistura de BCG vivo mais M. leprae morto. Os resultados mostraram que: 1) o levamisole não alterou a reatividade à mitsudina em nenhum dos casos estudados; 2) as modificações da reatividade verificadas com o uso da mistura (tres casos) ou aquelas que ocorreram espontaneamente (tres casos) foram sempre de pequena amplitude e refletem variações próprias de pacientes com algum grau de resistência ao Mycobacterium leprae.

Palavras-chaves: Hanseníase. Imunoterapia. Levamisole. BCG/Mycobacterium leprae.

Em pacientes virchovianos, a anergia ao *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) resulta em lesões disseminadas com inúmeros bacilos no interior de macrófagos. Na maioria dos casos, a quimioterapia concorre para eliminação dos parasitas e regressão das lesões. Se estas condições são mantidas por pelo menos um ano, os pacientes são considerados inativos². A morte dos bacilos por quimioterápicos, contudo, não altera a condição imunológica dos pacientes que podem sofrer recidivas e tornarem-se novamente focos de infecção³.

Assim, muitos experimentos vêm sendo realizados na perspectiva de reverter este quadro¹⁵. Como os mecanismos envolvidos na anergia ao *M. leprae* não são bem conhecidos, vários recursos tem sido utilizados.

Entre os estimulantes químicos, o levamisole tem demonstrado resultados controversos pois embora apresente eficácia na redução do índice bacilar^{3 7 12}, os resultados imunológicos ora são favoráveis^{4 9 12}, ora desfavoráveis^{1 8 13} à sua utilização na hanseníase.

Entre os estimulantes biológicos, Convit e col⁵, desde 1974 vem avaliando o potencial imunoterápico de uma mistura contendo *M. leprae* autoclavado e BCG viável. Segundo os autores, pacientes virchovianos submetidos a essa mistura exibem alterações imunológicas importantes, principalmente através de manifestações reacionais histologicamente compatíveis com reação reversa.

Em pacientes inativos, o parâmetro mais utilizado na avaliação de estimulantes imunológicos é a reação de Mitsuda¹¹. O fato de contarmos com um grupo de pacientes inativos, com negatividade histológica ao antígeno de Mitsuda documentada há 10 anos, permitiu-nos comparar o comportamento dessa reação antes e após estimulação pelo levamisole e BCG/*M. leprae* visando avaliar o potencial imunomodulador destes elementos.

MATERIAL E MÉTODOS

Participaram do estudo 20 pacientes virchovianos inativos, classificados histologicamente como Mitsuda negativos há 10 anos. De acordo com a receptividade dos pacientes ao tratamento imunoterápico, estes foram distribuídos em 3 grupos: Grupo I, 5 pacientes apenas reavaliados frente a reação de Mitsuda (grupo controle); Grupo II, 8 pacientes que receberam levamisole (Stimamisol, Jansen Pharmaceutica) via oral,

Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista e Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, SP, Brasil.

Endereço para correspondência: Prof. Maria Sueli Parreira Arruda. Depto. de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências/UNESP. Av. Engo Luiz Edmundo Coube s/n, Vargem Limpa, 17033-360 Bauru, SP. Fax: (0142) 30 - 4470.

Recebido para publicação em 27/07/94.

na dose de 150mg/dia, divididas em 3 tomadas, duas vezes por semana, por dois meses consecutivos¹² e, Grupo III, 7 pacientes que receberam a mistura de BCG vivos (Fundação Ataufo de Paiva, Rio de Janeiro, Brasil) e *M. leprae* mortos pelo calor (Instituto de Dermatologia, Caracas, Venezuela) via intradérmica na região inter-escapular, em intervalos trimestrais, por 18 meses⁵.

A composição da mistura variou de acordo com a sensibilidade dos pacientes ao PPD; os PPD negativos foram provocados com 6×10^8 *M. leprae* mais 0,20mg de BCG e, os PPD positivos, com 6×10^8 *M. leprae* mais 0,04mg de BCG⁵.

Os pacientes foram avaliados frente ao PPD (partida RT 23, 2 UT - Divisão Nacional de Pneumologia) e a mitsudina (Antígeno de Mitsuda, partida 11/86, Instituto Lauro de Souza Lima) conforme metodologia anteriormente descrita². A resposta ao PPD foi verificada após 48 horas e avaliada em mm de induração. Foram consideradas positivas indurações com 10 ou mais mm de diâmetro.

A mitsudina foi aplicada antes e tres meses após os procedimentos imunoterápicos e a reação de Mitsuda avaliada aos 28 dias. Foram consideradas clinicamente positivas, indurações com 5 ou mais mm de diâmetro². Após avaliação macroscópica, o local foi biopsiado, o fragmento fixado em formalina e processado como usual para avaliação histológica. A reação foi morfolologicamente graduada como segue: *grau 1*, ausência de resposta ou reação inflamatória crônica focal e inespecífica; *grau 2*, reação inflamatória crônica histiocitária, esparsa, não tuberculóide; *grau 3*, reação inflamatória crônica granulomatosa não tuberculóide e, *grau 4*, reação inflamatória crônica granulomatosa tuberculóide. Os graus histológicos 1, 2, e 3 foram considerados como expressão de negatividade e o grau 4 como expressão de positividade.

RESULTADOS

Ao início da experimentação nenhum paciente apresentou positividade clínica à mitsudina. Nos casos em que ocorreram indurações mensuráveis, elas não ultrapassaram 3 mm de diâmetro. A imunoestimulação com BCG/*M. leprae* ou com levamisole não alterou este quadro. Dos

pacientes estudados, 10 eram reatores ao PPD e, destes, 2 apresentaram positividade histológica a mitsudina.

A Figura 1 demonstra os resultados histológicos da reação de Mitsuda antes e após terapia com BCG/*M. leprae*. A mistura induziu alterações em 4 casos; em 3 deles, a variação foi a favor da positividade e em 1, da negatividade. Após a primeira aplicação da mistura, todos os paciente apresentaram positividade ao PPD.

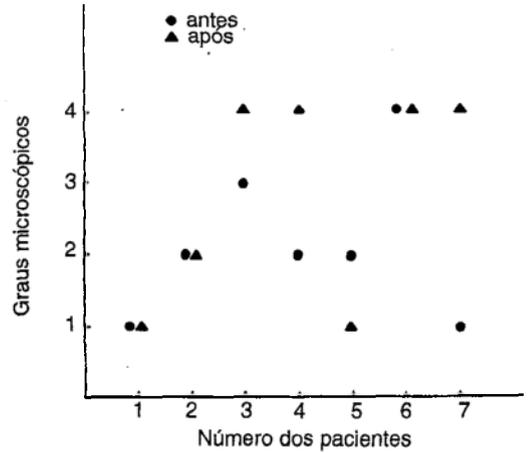


Figura 1 - Avaliação histológica da reação de Mitsuda observada em pacientes virchowianos inativos, antes e após estimulação com BCG/ *Mycobacterium leprae*.

A Figura 2 mostra os resultados obtidos antes e após terapia com levamisole. Esse procedimento usado não alterou a reatividade dos pacientes frente ao antígeno de Mitsuda.

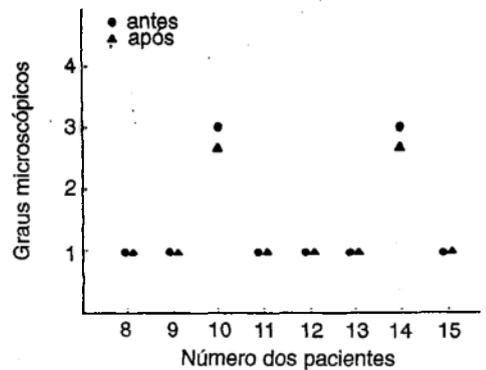


Figura 2 - Avaliação histológica da reação de Mitsuda observada em pacientes virchowianos inativos, antes e após estimulação com levamisole.

Os dados referentes aos pacientes que não foram submetidos à estimulação imunológica estão demonstrados na Figura 3. Dois casos apresentaram manifestação espontânea de positividade da reação e outro, negatização. Do mesmo modo que o observado nos pacientes imunoestimulados, as alterações histológicas não foram acompanhadas por alterações macroscópicas da reação de Mitsuda.

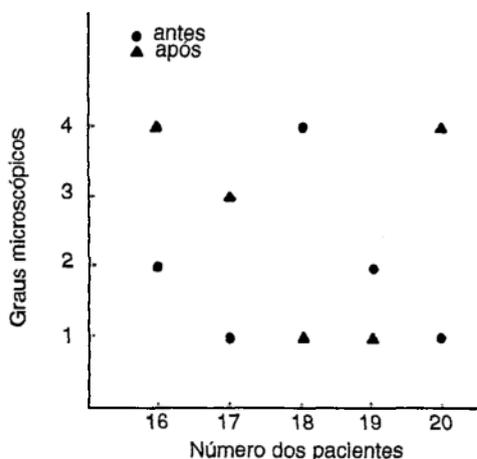


Figura 3 - Avaliação histológica da reação de Mitsuda observada em pacientes virchovianos inativos, com intervalo de 10 anos, sem qualquer procedimento imunoterápico.

DISCUSSÃO

Considerando a reação de Mitsuda clinicamente positiva quando o infiltrado nodular apresentava 5 ou mais mm de diâmetro², os imunoestimulantes empregados nesse estudo não promoveram a viragem macroscópica da reação.

Do mesmo modo, a administração do levamisole não alterou o quadro histológico no sentido de positividade da reação. Estudos realizados *in vitro* tem demonstrado que, sob a ação do levamisole, macrófagos de pacientes virchovianos têm restaurada a expressão de antígenos HLA-Dr, receptores para Fc e também a interação específica entre linfócitos e macrófagos⁴. Nossos resultados sugerem que tais alterações não ocorrem in vivo ou, caso ocorram, não seriam estes os mecanismos responsáveis pela ausência de resposta a mitsudina, verificada nos pacientes inativos.

A utilização da mistura BCG/*M. leprae* resultou na viragem histológica da reação de

Mitsuda em 42,85% dos pacientes. O fato de 3 pacientes permanecerem não reatores à mitsudina após imunoterapia com a mistura está de acordo com Convit e col⁶, quando demonstraram que nem todos os pacientes inativos eram susceptíveis a essa estimulação. Além disso, em todas as tentativas para promover a viragem da reação, apenas uma parcela da população hansênica foi susceptível a tal transformação^{15 16}.

Em pacientes que não foram imunoestimulados, a reavaliação da reação de Mitsuda demonstrou positividade espontânea em dois casos e negatização em outro. Embora possam ser tomados como casos isolados podemos questioná-los. O paciente que apresentou viragem no sentido da negatividade (caso 18) estava com 70 anos de idade e mostrou-se também não reator ao PPD. Sendo sabido que o sistema imunológico pode apresentar alterações com o envelhecimento, é possível que esse resultado esteja relacionado à depressão inespecífica da resposta imune.

Aos casos 16 e 20 que apresentaram viragem espontânea da reação no sentido da positividade podemos acrescentar o caso 6 que, em estudo progresso era Mitsuda negativo e, ao início da experimentação, mostrou-se Mitsuda positivo. Viragens espontâneas da reação de Mitsuda em pacientes inativos também foram descritas por outros autores^{10 17}, mas seus resultados são contestados devido a ausência de comprovação histológica da negatividade anterior.

Embora tenhamos estudado um pequeno número de casos, nossos resultados apoiam esses achados e, associados à literatura^{6 10 17}, falam a favor do caráter genético da resposta ao *M. leprae*¹⁵. Nesse sentido, pacientes virchovianos *reais* permaneceriam sempre Mitsuda negativos. As viragens ocorreriam em *falsos* virchovianos, independente da presença de imunoterápicos, que apenas a antecipariam. Nesses pacientes, a depressão imunológica específica poderia estar relacionada à persistência de antígenos bacilares nos tecidos. Utilizando imunoterápicos biológicos, a imunidade desencadeada contra antígenos cruzados poderia, de algum modo, estimular a reatividade contra estes antígenos, que seriam atingidos em qualquer ponto do organismo em que estivessem albergados. Uma vez eliminados os possíveis mantenedores da

tolerância, os pacientes poderiam expressar sua reatividade ao *M. leprae*, o que resultaria em reação de Mitsuda positiva.

Resta considerar que, existindo reação granulomatosa tuberculóide, não significa que o indivíduo seja um tuberculóide polar, mas sim que, por analogia com o que ocorre no espectro histológico, apresente maior grau de resistência que as formas de maior susceptibilidade ao *M. leprae*. A positividade da reação de Mitsuda nesses pacientes não seria, de fato, uma modificação da resistência intrínseca ao *M. leprae*, mas o reflexo da instabilidade, já bem documentada e característica do grupo dimorfo.

SUMMARY

In this study the immunopotentiator levamisole as well as a mixture of BCG/Mycobacterium leprae were investigated in inactive lepromatous leprosy patients by using the Mitsuda reaction as a parameter. Twenty lepromatous patients ten years ago classified as histologically negative for Mitsuda's test were divided into three groups: five patients that were only retested with Mitsuda antigen; eight patients that received oral levamisole and seven patients that received a mixture of alive BCG plus autoclaved M. leprae. The results indicated that: 1) the levamisole did not alter the reactivity to lepromin in any of the patients studied; 2) neither the changes in the reactivity to lepromin by using the mixture (3 cases) nor those that occurred spontaneously (3 cases) were clear. They properly reflected the natural variation of patients with some degree of resistance to Mycobacterium leprae.

Key-words: Leprosy. Immunotherapy. Levamisole. BCG/Mycobacterium leprae.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arora SK, Singh G, Sen PC. Effect of levamisole therapy on lepromin reaction in lepromatous leprosy cases. International Journal of Leprosy 53:113-114, 1985.
2. Arruda MSP, Arruda OS, Fleury RN, Oromolla DVA, Ura S. Estudo da imunidade celular em pacientes branqueados. Medicina Cutanea Ibero Latina Americana 10:231-238, 1982.
3. Bera DK, Sen PC. Effect of levamisole on bacterial index in BL and LL leprosy. International Journal of Leprosy 53:198-200, 1985.
4. Birdi TJ, Mistry NS, Mahadevan PR, Antia NS. *In vitro* studies on the effect of levamisole in lepromatous leprosy. Journal of clinical and laboratorial Immunology 13:93-96, 1984.
5. Convit J, Aranzazu N, Ulrich M, Pinardi ME, Reyes O, Alvarado J. Immunotherapy with a mixture of *Mycobacterium leprae* and BCG in different forms of leprosy and Mitsuda negative contacts. International Journal of Leprosy 50:415-424, 1982.
6. Convit J, Aranzazu N, Ulrich M, Pinardi ME, Reyes O, Alvarado J. The development of vaccination model using two microorganism and its application in leprosy and leishmaniasis. Leprosy Review 57(supl. 2):263-273, 1986.
7. Dharmendra MB. Levamisole in the treatment of ENL in leprosy. Indian Journal of Leprosy 47:1-10, 1985.
8. Kar HK, Bhatia VN, Zinod Kunar CHD, Siruban P, Roy RG. Evaluation of levamisole, an immunopotentiator in treatment of lepromatous leprosy. Indian Journal of Leprosy 58:592-600, 1986.
9. Kim WS, Cinn YW. Therapeutic trial of levamisole in patients with leprosy. Scientia Leprologica 3:65-72, 1980.
10. Las Aguas JT, Gatti CF, Herburger E. Modificaciones clinicas e histologicas de la reaccion de Mitsuda en enfermos de la lepra lepromatosa inactiva. Revista de leprologia - Fontilles 11:37-44, 1977.
11. Mitsuda K. On the value of a skin reaction to a suspension of leprous nodules. International Journal of Leprosy 21:347-58, 1953.
12. Ramu G, Segupta U. Preliminary trial of intervention. Levamisole therapy in persistently bacteriologically positive lepromatous leprosy. Leprosy in India 55:64-7, 1983.
13. Reitan LJ, Beleheu A. Failure of levamisole to restore in vitro lymphocyte responsiveness in lepromatous leprosy patients. Leprosy Review 54:153-154, 1983.
14. Rotberg A. Valor prognóstico da lepromino-reação de Mitsuda. Observação de 445 casos durante 5 a 6 anos. Revista Brasileira de Leprologia 12:367-377, 1944.
15. Tawar GP. Leprosy vaccine trials. International Journal of Leprosy 57:292-294, 1989.
16. Young DB. Immunology. International Journal of Leprosy, 57:275-277, 1989.
17. Waters MFR, Ridley DS, Lucas B. Positive Mitsuda lepromin reaction in long-term treated lepromatous leprosy. Leprosy Review 61:347-352, 1990.