

INTRODUÇÃO

O espectro de manifestações clínicas da hanseníase está diretamente relacionado à resistência do hospedeiro ao M.leprae. Nos extremos, situam-se as formas polares (Rabello, 1936) tuberculóide (HT) e virchowiana(HV), com diferenças clínicas, histológicas, bacteriológicas, imunológicas e evolutivas marcantes. A forma tuberculóide apresenta uma ou poucas lesões bem delimitadas, nas quais se observa, ao exame histológico, granuloma tuberculóide com grande número de linfócitos, células epitelióides e histiocitárias, onde raramente são encontrados bacilos intracelulares (Bechelli & Rotberg, 1951). A quantidade de anticorpos humorais é normal ou diminuída e a imunidade celular geralmente está aumentada.

Na forma virchowiana as lesões têm limites imprecisos e tendem a disseminar-se. A histologia revela infiltrado inflamatória com poucos ou raros linfócitos e numerosos macrófagos contendo quantidade variáveis de bacilos, até globias, constituindo as células de Virchow. Há elevada quantidade de imunoglobulinas e deficiência de imunidade celular. Os bacilos são tão

numerosos que nas biopsias de pele podem ser encontrados ao redor de 10^{10} bacilos/g. de tecido (Bloom, 1986), tendendo a invadir vasos sanguíneos e a produzir bacteremia assintomática, porém contínua. E a forma progressiva da doença na qual as lesões podem evoluir disseminando-se por todo organismo (Bechelli & Curban, 1988).

Esta disseminação reflete depressão ou falta de imunidade celular do hospedeiro ao M. leprae a qual poderia estar associada à deficiência de resposta linfoproliferativa na presença do bacilo (Godal et alii, 1971, Bjune et alii, 1976, Menzel et alii 1979 a e b, Pagnano et all, 1982, Tiraboschi-Foss et alii, 1990), ou b. supressão da resposta imune por células T supressoras (Mehra et alii, 1980).

No pólo tuberculóide a resposta linfoproliferativa ao M.leprae está exacerbada (Godal et all, 1971) e há evidência de que a eficiência da Imunidade celular seja a principal causa das lesões (Godal, 1984).

O tratamento com drogas bactericidas é fundamental para o controle epidemiológico da hanseníase nos doentes virchowianos. Quando se inicia a terapêutica, freqüentemente ocorre exacerbação do quadro clínico com comprometimento do estado geral, febre alta, acometimento neurológico (neurites), edema, eritema e calor nas articulações (artrite), e nódulos cutâneos eritematosos e dolorosos à palpação, caracterizando a reação hansênica (Bechelli & Rotberg, 1951). Nesta encontram-se alterações laboratoriais particulares: aumento da velocidade de hemossedimentação, aumento das proteínas da reação inflamatória aguda (mucoproteínas, proteína- C-reativa) e eventualmente, alteração da função renal.

A hanseníase tuberculóide em reação é, em geral, polimorfa.

Manifesta-se por máculas eritemato-escamosas, máculo-pápulas, pápulas, tubérculos e nódulos, cor vermelho arroxeadado ou francamente arroxeadado. Geralmente há infiltração das lesões pré-existentes, mas podem surgir lesões novas (Bechelli & Curban, 1988).

As reações hansênicas, que podem ser do tipo I (hipersensibilidade tardia) ou do tipo II (por imunocomplexo circulante), representam para o doente um estado temporário de exacerbação da moléstia; são debilitantes e apresentam-se em surtos recorrentes durante o tratamento (Pearson, 1986). A involução da reação e a resposta terapêutica podem ser acompanhadas, clínica e laboratorialmente, pela queda dos níveis de proteína-C-reativa, que são elevados na fase aguda (3+ e 4+) e negativos com o controle da reação inflamatória (Languillon, 1986).

Sabe-se que inflamação é basicamente uma resposta sistêmica do organismo à infecção ou lesão tecidual. Os estágios iniciais desta resposta são conhecidos como fase aguda, que é caracterizada, em parte, por um dramático aumento na produção e subsequente acréscimo da concentração sanguínea de um grupo de proteínas conhecidas como proteínas da fase aguda (Zahedi et alii, 1989).

Proteína-C-reativa (PCR) é um dos elementos da fase aguda e sua concentração sérica pode aumentar de níveis inferiores a 1,0mg/dl a 400mg/dl, nas primeiras 24-48 horas de reação inflamatória (Pepys et alii, 1983). A PCR é constituída de até cinco subunidades de 23,5 KDa cada (206 aminoácidos), ligadas não covalentemente, com massa molecular total de 117000 (Oliveira et alia 1977; Gewurz, 1982; Zahedi et alii, 1989).

Pouco se sabe sobre a participação da proteína-C-reativa nas

reações imunológicas presentes na hanseníase. É conhecido que a concentração de PCR é elevada em doenças infecciosas (Kaplan & Volanakis, 1974; Zahedi et alii, 1986; Balou et alii, 1989) e que, na hanseníase virchowiana, principalmente nos estados reacionais, está consideravelmente aumentada (Languillon, 1986).

Segundo Gotschlich (1989), a proteína-C-reativa tem sido associada a várias funções biológicas destacando-se entre elas:

- a) Capacidade reconhecer o "alvo" e centralizar os mecanismos de defesa de modo semelhante aos anticorpos.*
- b) Modificar o comportamento de células efectoras, principalmente leucócitos polimorfomucleares, linfócitos, monócitos e plaquetas.*
- c) Pode ser fracionada por enzimas proteolíticas, liberando peptídeos ativos que poderiam, também, exercer outras funções biológicas.*

Além destas atividades, PCR ativa a via clássica do complemento ligando-se b. fração Clq (Kaplan & Volanakis. 1974); e, ainda, liga-se a subpopulações de linfócitos que contenham receptor Fc da imunoglobulina G (James et al., 1981 a e b), assim como a monócitos (Gewurz, 1982; Zeller et alii, 1989) e a neutrófilos (Mullex & Fehr, 1986; Buchta et all, 1987). Estes resultados sugerem que PCR interage com uma variedade de células sanguíneas, através de receptores específicos ("specific binding sites") de células fagocitárias, desempenhando a função de fator de opsonização inespecífico da reação inflamatória (Balou et alii, 1989).

Bullock,(1978) descreveu que concentrações elevadas de PCR no

soro de virchowianos poderiam inibir a blastogênese de linfócitos, sugerindo que PCR possui atividade imunossupressora ou imunorreguladora da resposta linfoproliferativa.

Como é conhecido que em doentes virchowianos, especialmente os reacionais, os níveis séricos de PCR estão elevados, poder-se-ia supor que a depressão de resposta imune celular destes doentes esteja associada à atividade imunossupressora da proteína-C-reativa, atuando como fator sérico inibidor da blastogênese.

A presença de fatores Inibitórios da blastogênese no soro de virchowianos foi assinalada em investigações de Nelson et alia (1971); Bullock & Fasal (1971); Pagnano (1974); Beiguelman et alii (1975) e destacada por Bjune et alii (1976), demonstrando que plasma de virchowianos causava depressão da atividade blástica de linfócitos de doentes e de indivíduos não afetados. Esta depressão foi associada a fatores existentes no plasma do doente. A extensão com que estes fatores séricos ou plasmáticos deprimem a resposta linfoproliferativa de virchowianos permanece ainda desconhecida.

Por outro lado, existem atualmente evidências experimentais sugerindo que a produção de PCR seria induzida por citocinas, liberadas por macrófagos ativados como a interleucina-1 (IL1), o fator de necrose tumoral (TNF), a interleucina-6 (IL6) ou IL1 e 11.6 associadas (Kushner et alit, 1989; Taylor et alii, 1989). Estas citocinas, exercendo função reguladora, atuam diretamente sobre os hepatócitos induzindo a síntese de proteína-C-reativa (Yamada et alai, 1990).

Deve ser lembrado que as citocinas são peptídeos mediadores produzidos por células com a função de regular as respostas Imunológicas,

Inflamatórias e de cicatrização do hospedeiro à infecções, traumas ou tumores. A maioria delas é secretada durante a resposta imunológica ou Inflamatória. Quando são produzidas pelos linfócitos são denominadas linfocinas (interleucinas). Geralmente não estão presentes no soro e, ainda, as células produtoras de citocinas necessitam ser previamente estimuladas. As citocinas exercem atividade moduladora da resposta imunológica regulando o crescimento, mobilidade e diferenciação de leucócitos e outras células (Oppenheim et alii, 1991).

Na hanseníase Silva e Foss (1989) observaram, em culturas de macrófagos do sangue periférico, que doentes tuberculóides mantem acentuada estimulação macrofágica, com a conseqüente elevada produção de TNF, quando comparados com virchowianos e indivíduos não afetados sugerindo que macrófagos de virchowianos são menos reativos que os dos pacientes tuberculóides.

Entretanto, Sarno et alii (1991), estudando a produção de citocinas em doentes virchowianos com reação hansênica tipo eritema nodoso, observaram que 50% dos pacientes com eritema nodoso apresentaram níveis elevados de TNF e 11,1, concluindo que estas citocinas podem participar das alterações imunológicas presentes na reação tipo eritema nodoso.

Tem sido descrito que α TNF é uma citocina de peso molecular 17.400, constituída de 157 aminoácidos, produzida especialmente por macrófagos (Oppenheim, 1991). Tem numerosas atividades biológicas destacando-se entre elas a indução de febre (Dinarello, 1990), da resposta hepática, geralmente acompanhada de leucocitose, e com a produção de proteínas da fase aguda, como proteína-C-reativa (Gauldie et alii, 1989), a

diferenciação e/ou ativação das células T, linfócitos B e macrófagos (Van Snick, 1990) e estimula a produção das citocinas IL1, IL6 e do próprio aTNF (Beutler & Cerami, 1988; Dinarello, 1990; Heinrich et alii, 1990).

Deste modo pode-se supor que durante a reação hansênica, especialmente em virchowianos com eritema nodoso e com aumento da concentração de TNF, haja indução da produção de interleucinas (IL1, IL6 e TNF), e estas estimulariam o hepatócito a produzir as proteínas da fase aguda, como a proteína-C-reativa, elevada nos estados reacionais. Entretanto, na ausência de reação hansênica, os macrófagos de virchowianos apresentam deficiência de produção de TNF (Silva e Foss, 1989) e os níveis de PCR aproximam-se da faixa de normalidade (Languillon, 1986).

Logo, a reação de eritema nodoso caracteriza um estado transitório de alterações imunológicas, no qual o doente virchowiano adquire potencialidade de resposta celular com a produção de citocinas, mas a participação destas na resposta imunocelular permanece não esclarecida.

Sabe-se que TNF atua na diferenciação e ativação de linfócitos T (Van Snick, 1990) e que proteína-C-reativa modifica o comportamento de linfócitos (Gotschlich, 1989) e que ambos TNF e PCR apresentam concentrações elevadas durante a reação, porém pouco se conhece sobre a ação destas proteínas na resposta proliferativa de linfócitos T.

Sendo a resposta linfoproliferativa um dos principais mecanismos de defesa do hospedeiro ao M.leprae, julgamos interessante estudar a participação do TNF e da PCR na blastogênese de linfócitos de doentes de hanseníase.

Assim, definiu-se como objetivo fundamental deste estudo a

investigação do efeito da proteína-C-reativa sobre a resposta linfoproliferativa de doentes de hanseníase, para se verificar a atividade imunomoduladora desta proteína sobre a blastogênese de linfócitos de doentes. Determinou-se também, a concentração de TNF e proteína-C-reativa no soro dos Indivíduos estudados, correlacionando seus níveis séricos, para observar se na hanseníase as variações da concentração de PCR se associam com alterações dos níveis de TNF.

Conhecendo que doentes com hanseníase virchowiana apresentam diferença na resposta proliferativa das subpopulações de linfócitos T, com predomínio dos supressores e citotóxicos (CD8⁺) em relação n linfócitos auxiliares (CD4⁺), enquanto pacientes com hanseníase tuberculóides apresentam atividade maior de linfócitos CD4⁺ que CD8⁺, semelhante aos Indivíduos normais (Modlin & Rea, 1987), desenvolveu-se o estudo com doentes virchowianos (com e sem reação hansênica), tuberculóides (tórpidos sem reação e reacionais) e indivíduos normais.

Para observar a proliferação das sub-populações de linfócitos CD4⁺ e CD8⁺, utilizou-se os mitógenos fitohemaglutinina e concanavalina - A, pois é conhecido que a atividade mitogênica da última está relacionada a subpopulações de células Tsupressoras (Shou et alii, 1976 e Skane & Greene, 1977), enquanto a fitohemaglutinina é considerada boa ind u tora de proliferação celular "in vitro", especialmente das subpopulações com fenotipos CD4⁺ (Rottveel et alii, 1988; Bloemena et alii, 1989).

Deste modo o estudo de linfoproliferação "in vitro" foi desenvolvido em doentes de hanseníase (virchowiana e tuberculóide) com e sem reação hansênica e em indivíduos normais, sob estímulo de fitohemaglutinina,

concanavalina-A e proteína-C-reativa. A inclusão de doentes com reação hansênica foi programada com o objetivo de observar a relação entre as alterações imunológicas, presentes na reação inflamatória aguda, e a resposta linfoproliferativa.