

## HISTOPATOLOGIA DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR POR LEISHMANIA BRAZILIENSIS BRAZILIENSIS. 3. Reação celular nos tecidos (\*)

Albino Vergosa de MAGALHÃES (1), Mário A. P. MORAES (1), Alberto N. RAICK (1), Alejandro LLANOS-CUENTAS (2), Jackson M. L. COSTA (2), César C. CUBA (2), Philip D. MARSDEN (2)

### RESUMO

Os A.A. analisam as alterações histopatológicas observadas em 378 casos de Leishmaniose Tegumentar da localidade de Três Braços, Estado da Bahia, dos quais 307 eram de portadores de lesões exclusivamente cutâneas, 54 de portadores de lesões exclusivamente mucosas e 17 de portadores de lesões cutâneo-mucosas. A infiltração histioliinfoplasmocitária, na maioria dos casos, parece desempenhar o papel de resposta celular inespecífica à presença de um irritante tecidual, porém, nos casos de forma mucosa, não se pode afastar a possibilidade de que esse infiltrado esteja participando de uma reação de tipo auto-agressivo. O plasmócito constitui um elemento quase constante nas lesões desenvolvidas, mas não tem sido observado nas lesões residuais, quer em via de cura ou já cicatrizadas; sua presença nestes casos denota, quase sempre, tendência à recidiva. Os mastócitos foram observados em lesões tanto da forma cutânea como da forma mucosa, mas predominavam nas primeiras. Seu número foi significativamente maior no padrão de Reação Exsudativa e Necrótico-Granulomatosa, onde os fenômenos necróticos são bem desenvolvidos. Os eosinófilos apresentaram associação significativa com os mastócitos, confirmando a existência de um eixo bidirecional entre estas duas células, o qual deve participar da modulação inflamatória, na Leishmaniose Tegumentar. Dois tipos de reação granulomatosa foram observados: um desorganizado, em relação, muitas vezes, com a necrose tissular, e outro organizado, mais raro, do tipo tuberculóide. O primeiro foi interpretado como de origem pós-necrótica, surgindo com a redução da carga parasitária, propiciada pelos fenômenos necróticos: eliminado o antígeno e mantidos os níveis de anticorpos, surgem as condições necessárias ao estabelecimento do granuloma, semelhante àquele observado nas lesões por imunocomplexo em excesso de anticorpos. O outro tipo de reação foi o granuloma de células epitelióides, que surgiu em dois grupos de pacientes. Nos pacientes jovens, com doença de curto tempo de evolução e intradermorreação não exacerbada, este tipo de granuloma talvez seja a expressão da Hipersensibilidade Granulomatosa Específica, descrita por EPSTEIN (1977). No outro grupo de pacientes, havia em todos intradermorreação exacerbada. Nestes casos a hipersensibilidade granulomatosa, associando-se à hipersensibilidade mediada por células — agora ampliada pelo seqüestro do antígeno —, reforçaria o processo granulomatoso, através da reverberação do estímulo antígeno; isso tornaria o tratamento mais difícil e pior o prognóstico para o caso.

**UNITERMOS:** Leishmaniose tegumentar — *Leishmania braziliensis*.  
— Histopatologia — Reação celular nos tecidos.

(\*) Trabalho realizado com auxílio de CNPq (Processos n.º 40.633/84, 40.1186/85, 40.0837/85) e U.S. Public Health Service, Grant AI 16282

(1) Laboratório de Patologia do Departamento de Medicina Complementar da Universidade de Brasília, 70910 Brasília, D.F., Brasil

(2) Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília

## INTRODUÇÃO

O quadro histopatológico geral da Leishmaniose Tegumentar está representado por um infiltrado celular histiolinfoplasmocitário, frequentemente acompanhado por reação granulomatosa, que compromete o derma ou o córion da mucosa. Contém ainda, o infiltrado, em proporções variáveis, outras células como mastócitos e eosinófilos. Embora esse quadro seja o referido pela maioria dos A.A., que estudaram a histopatologia da Leishmaniose Tegumentar (AZULAY — 1952<sup>2</sup>, BITTENCOURT & ANDRADE — 1957<sup>3</sup>, BRITO — 1982<sup>7</sup>, BRYCE-SON — 1969<sup>8</sup>, ESPERANZA AZOGUE — 1983<sup>13</sup>, GROVÉ — 1978<sup>14</sup>, KERDEL-VEGAS & ESSENFELD YAHR — 1966<sup>19</sup>, KLOTZ & LINDENBERG — 1923<sup>20</sup>, KURBAN et al. — 1966<sup>21</sup>, LAWACHEE, ROSE & RIDLEY — 1983<sup>22</sup>, MAGALHÃES — 1979<sup>23</sup> — 1984<sup>24</sup>, MAGALHÃES CHIARINI & RAICK — 1982<sup>25</sup>, MARROQUIN & BIAGI — 1957<sup>29</sup>, NICOLIS et al. — 1978<sup>31</sup>, NOVALES — 1974<sup>32</sup>, PESSOA & BARRETTO — 1948<sup>33</sup>, RIDLEY — 1979<sup>35</sup>, RIDLEY et al. — 1980<sup>36</sup>, SANGUEZA & CARDENAS — 1981<sup>41</sup>) necessita ele de uma reavaliação, quanto à participação e ao significado das diversas células que compõem o infiltrado inflamatório. Continuando a série já iniciada (MAGALHÃES et al. 1985<sup>26,27</sup>), pretende-se no presente trabalho estudar a reação celular nos tecidos, com ênfase especial no desenvolvimento da reação granulomatosa.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 378 casos de Leishmaniose Tegumentar da localidade de Três Braços, dos quais 307 (81,4%) eram de portadores de lesões exclusivamente cutâneas, 54 (14,2%) de portadores de lesões exclusivamente mucosas e 17 (4,4%) de portadores de lesões cutâneo-mucosas. Três Braços fica situada na zona da mata do planalto da Conquista, nos limites dos municípios baianos de Cravolândia, Ubaíra e Wenceslau Guimarães. Trata-se de uma região endêmica para Leishmaniose Tegumentar por *Leishmania braziliensis braziliensis* (CUBA et al. — 1984<sup>11</sup>).

Para as biópsias utilizou-se um **punch** de 5 mm de diâmetro; os fragmentos removidos

foram fixados em FMA (de LOWY, modificado por RIDLEY & RIDLEY — 1975<sup>37</sup>), durante 2 a 4 horas, e depois transferidos para álcool a 80%, antes do envio ao Laboratório de Patologia, onde se efetuava o processamento do material. Após desidratação e diafanização eram os fragmentos embebidos em parafina e seccionados em cortes semi-seriados, na espessura de 3  $\mu$ m, por meio de micrótomo rotativo. A montagem em lâminas se fez com o uso de adesivo. Todos os cortes foram corados pelo método da Hematoxilina & Eosina e, quando necessário, pelos métodos de Giemsa e PAS. Um número limitado de biópsias (63 casos da forma cutânea e 7 casos da forma mucosa) foi fixado em formol tamponado a 10%, pH 7,0, a fim de possibilitar a identificação dos grânulos dos mastócitos; para corá-los, utilizou-se o método do Azul de Toluidina a 0,05%, pH 4,0.

Os achados histopatológicos receberam avaliação semi-quantitativa, mediante o uso da escala de graduação de RIDLEY (BJUNE et al. — 1976<sup>5</sup>), originalmente desenvolvida para hanseníase e modificada por um dos A.A. (MAGALHÃES — 1984<sup>24</sup>). Desse modo, atribuíram-se +, ++ e +++ para valores discretos, moderados e acentuados, respectivamente.

A fim de verificar a associação de variáveis, em escala nominal, empregou-se o teste estatístico do Qui-quadrado ( $X^2$ ), para grandes amostras, e o teste de FISHER, para pequenas amostras ( $n = 40$ ), e para medir a intensidade de correlação, o coeficiente de correlação linear de PEARSON ( $p = 0,05$ ). Na análise da diferença entre distribuições, em escala ordinal, utilizou-se o teste de KOLMOGOROV-SMIRNOV, para duas amostras relacionadas, e o teste de FRIEDMAN e o teste de comparações múltiplas de FRIEDMAN, para  $k$  amostras relacionadas. Finalmente, para medir a correlação ordinal entre variáveis, usou-se o coeficiente de correlação de postos de SPEARMAN ( $p = 0,005$ ) (CAMPOS — 1983<sup>9</sup>).

## RESULTADOS

A reação nos tecidos esteve constituída por vários tipos de células: linfócitos, plasmócitos, macrófagos e derivados (células epitelióides e células gigantes), mastócitos e eosinófilos.



T A B E L A I  
Presença de mastócitos nas secções segundo os padrões histopatológicos

Padrões histopatológicos	Ausência		Discreta		Níveis de participação				Sem dados	Total
	F	%	F	%	F	%	F	%		
Casos cutâneos										
Reação exsudativa celular	4	20,0	6	30,0	10	50,0	0	0	108	128
Reação exsudativa e necrótica	0	0	3	75,0	1	25,0	0	0	8	12
Reação exsudativa e necrótico-granulomatosa	0	0	5	35,7	8	57,2	1	7,1	68	82
Reação exsudativa e granulomatosa	1	5,2	15	79,1	3	15,7	0	0	53	72
Reação exsudativa e tuberculóide	0	0	2	33,3	4	66,7	0	0	14	20
Total	5	7,9	31	49,3	26	41,3	1	1,5	251	314
Casos mucosos										
Reação exsudativa celular	3	75,0	0	0	1	25,0	0	0	44	48
Reação exsudativa e necrótica	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reação exsudativa e necrótico-granulomatosa	1	100,0	0	0	0	0	0	0	5	6
Reação exsudativa e granulomatosa	1	50,0	0	0	1	50,0	0	0	5	7
Reação exsudativa e tuberculóide	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3
Total	5	71,5	0	0	2	28,5	0	0	57	64

nófilos e os mastócitos, nas lesões, demonstrou associação significativa ao nível dos padrões de Reação Exsudativa Celular e de Reação Exsudativa e Necrótico Granulomatosa, com predomínio dos mastócitos em ambos os padrões, no nível moderado de participação. A comparação entre a presença relativa dos eosinófilos e dos mastócitos nos diversos demonstrou associação significativa nos padrões de Reação Exsudativa e Granulomatosa e de Reação Exsudativa e Tuberculóide, com predomínio dos mastócitos. Pela escassez de casos examinados, não foi possível verificar a participação dessas duas células, comparativamente, entre os casos da forma cutânea e os da forma mucosa.

Em 26,1% dos casos da forma cutânea (82/314) e em 9,3% dos casos da forma mucosa (6/64), observou-se a reação granulomatosa desorganizada, ao redor ou nas proximidades das áreas de necrose tissular (Figura 2). Em 22,9% dos casos da forma cutânea (72/314) e em 10,9% dos casos da forma mucosa (7/64), essa reação veio isolada, mas guardando as

mesmas características exibidas quando associada à necrose (Figura 3). Tais características consistiram no desenvolvimento de granuloma desorganizado, formado por macrófagos ativados e células gigantes — geralmente do tipo corpo estranho —, muitas delas apresentando sinais de atividade fagocitária.

As células epitelióides somente foram observadas no granuloma característico do padrão de Reação Exsudativa e Tuberculóides, padrão encontrado em 6,3% dos casos da forma cutânea (20/314) e em 4,6% dos casos da forma mucosa (3/64) (Figura 4). O granuloma tinha, na maioria dos casos, uma organização peculiar, com células gigantes do tipo Langhans.

## DISCUSSÃO

A infiltração celular histiolinfoplasmocitária, que constituiu a característica do padrão de Reação Exsudativa Celular, foi observada em 40,9% dos casos da forma cutânea e em

T A B E L A II  
 Presença de eosinófilos nas secções segundo os padrões histopatológicos

Padrões histopatológicos	Ausência		Níveis de participação				Acentuada		Total
	F	%	F	%	F	%	F	%	
Casos cutâneos									
Reação exsudativa celular	69	54,0	53	41,4	6	4,6	0	0	128
Reação exsudativa e necrótica	4	33,3	7	58,4	0	0	1	8,3	12
Reação exsudativa e necrótico-granulomatosa	41	50,1	32	39,0	7	8,5	2	2,4	82
Reação exsudativa e granulomatosa	35	48,7	32	44,5	4	5,5	1	1,3	72
Reação exsudativa e tuberculóide	14	70,0	5	25,0	1	5,0	0	0	20
Total	163	52,0	129	41,1	18	5,7	4	1,2	314
Casos mucosos									
Reação exsudativa celular	31	64,7	15	31,2	2	4,1	0	0	48
Reação exsudativa e necrótica	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reação exsudativa e necrótico-granulomatosa	3	50,0	3	50,0	0	0	0	0	6
Reação exsudativa e granulomatosa	3	42,8	4	57,2	0	0	0	0	7
Reação exsudativa e tuberculóide	3	100,0	0	0	0	0	0	0	3
Total	40	62,6	22	34,3	2	3,1	0	0	64

75,2% dos casos da forma mucosa. Ela parece desempenhar o papel de resposta celular inespecífica à presença de um irritante tecidual. Em 81,8% dos casos da forma mucosa que apresentaram este padrão, no entanto, a resposta terapêutica foi pouco favorável (MAGALHÃES et al. 1985<sup>28</sup>), pressupondo-se então que o infiltrado histiolinfoplasmocitário possa desempenhar também papel mais agressivo do que simplesmente reacional. Essa pressuposição deverá ser comprovada pela utilização de anticorpos monoclonais contra as diversas subpopulações de linfócitos, permitindo a identificação nos tecidos dos tipos linfocitários que participam de reações auto-agressivas. Um projeto dessa natureza encontra-se agora em andamento.

Um elemento celular integrante do padrão de Reação Exsudativa Celular é o plasmócito. Constatou-se correlação altamente significativa entre o número de plasmócitos e o nível de imunoglobulinas nos tecidos, o mesmo não acontecendo entre o número de plasmócitos

nos tecidos e os títulos de imunoglobulinas no soro (MAGALHÃES et al. 1985<sup>27</sup>). Esta célula, embora variando em frequência, tem sido um elemento quase constante no infiltrado celular das lesões. Constitui elemento importante para sugerir o diagnóstico de Leishmaniose Tegumentar nos casos do padrão de Reação Exsudativa Celular, em que não se identificam os parasitos nos tecidos. Por outro lado, esta célula não tem sido observada nas lesões residuais de Leishmaniose Tegumentar, quer em via de cura ou já cicatrizadas. Sua presença nesses casos denota, quase sempre, tendência à recidiva.

Os mastócitos foram observados em lesões tanto da forma cutânea como da forma mucosa, mas predominavam nas primeiras. Em lesões da forma cutânea, seu número era significativamente maior que o esperado, no padrão de Reação Exsudativa e Necrótico-Granulomatosa em relação ao padrão de Reação Exsudativa Celular. Quanto à associação entre os níveis de participação dos mastócitos e os pa-

drões histopatológicos, constatou-se apenas frequência significativamente maior de mastócitos, no padrão de Reação Exsudativa e Granulomatosa, com nível discreto de participação.

THEOFILOPOULOS & DIXON (1980<sup>45</sup>) assinalaram que, naquelas situações em que o imunocomplexo surge nos tecidos, sua reação com o complemento leva a liberação dos fragmentos C3a e C5a, os quais atuam sobre os mastócitos, efetuando a liberação da histamina e conseqüente aumento da permeabilidade capilar. Isso foi corroborado por BJORK & SME DEGARD (1984<sup>4</sup>), na produção experimental do fenômeno de ARTHUS, ao observarem o aspecto desgranulado dos mastócitos, comparado com os do controle. Para esses A.A., tal desgranulação seria mediada pelo complemento e por imunocomplexos. Os últimos foram também responsabilizados pela liberação de histamina plaquetária, por intermédio ou não do complemento. O envolvimento das plaquetas na trombose e estase, comprovadas por BJORK & SMEDEGARD em seus experimentos, revelou um mecanismo patogênico secundário para explicar a necrose induzida por imunocomplexos, mecanismo também sugerido por CRAWFORD et al. (1982<sup>10</sup>). Para ASKENASE (1980<sup>1</sup>), as reações tipo ARTHUS, mediadas por produtos de ativação do complemento e por imunocomplexos contendo Ig G, liberam mediadores dos mastócitos, similares, porém não idênticos, aos liberados pela Ig E, o que explicaria a urticária por imunocomplexos observada no lupus eritematoso sistêmico. Ainda segundo ASKENASE, a saída de mediadores contidos nos mastócitos tissulares, basófilos e plaquetas parece ser necessária ao desenvolvimento de uma lesão por imunocomplexo, pois a liberação de aminas vasoativas abriria espaços entre as células endoteliais, permitindo a passagem dos leucócitos recrutados pelos produtos de ativação do complemento. O mesmo A. considera que, sem a participação dos mastócitos — via anticorpos anafiláticos ou via anafilotoxinas —, as lesões tissulares devidas a imunocomplexos seriam incompletas. Desta maneira fica justificada a presença dos mastócitos nos tecidos, principalmente no padrão de Reação Exsudativa e Necrótico-Granulomatosa, onde os fenômenos necróticos estão plenamente desenvolvidos. O

aparecimento destas células no padrão de Reação Exsudativa e Granulomatosa, sempre discreto, pode ser interpretado como um resíduo celular deixado pelos fenômenos necróticos. Além disso, reforçaria a idéia da existência de padrões sequenciais na Leishmaniose Tegumentar (MAGALHÃES et al. 1985<sup>26</sup>).

Os eosinófilos foram também observados tanto nas formas cutâneas quanto nas mucosas, mas não se constatou associação significativa entre a presença e níveis de participação dessas células com os padrões histopatológicos das lesões. Quando se compararam os níveis de participação nas lesões entre eosinófilos e mastócitos, verificou-se associação significativa entre essas células nos padrões de Reação Exsudativa Celular e Reação Exsudativa e Necrótico-Granulomatosa, com predomínio dos mastócitos em ambos no nível de participação moderado. A comparação da presença relativa entre eosinófilos e mastócitos, nos diversos padrões, mostrou associação significativa nos padrões de Reação Exsudativa e Granulomatosa e de Reação Exsudativa e Tuberculóide, também com predomínio dos mastócitos.

A associação eosinófilo-mastócito está bem definida, pois alguns peptídios com atividade quimiotática para o eosinófilo têm sido identificados nos grânulos dos mastócitos (ASKENASE — 1980<sup>1</sup>). Os eosinófilos também participam do processo denominado citotoxicidade mediada por células e dependente de anticorpos, bem demonstrado nas reações aos esquistossômulos (SPRAY & TAI — 1984<sup>44</sup>). Este processo é auxiliado pela secreção de produtos dos mastócitos ativados por imunocomplexos e contendo Ig G 2a. Nestas condições, a liberação de peptídeos mastocitários ativaria os eosinófilos pela alteração do número ou disponibilidade dos seus receptores de superfície (ASKENASE — 1980<sup>1</sup>). Para HUBSCHER (1975<sup>17</sup>), o eosinófilo, sob estímulo, libera um fator solúvel, por ele denominado inicialmente Inibidor Derivado do Eosinófilo, mas depois identificado como uma mistura de prostaglandinas (HUBSCHER — 1975<sup>18</sup>), o qual atuaria como bloqueador da liberação de histamina, mitigando seus efeitos e modulando a reação inflamatória alérgica. Para WELLER & GOETZL- (1980<sup>47</sup>), os produtos da ativação do comple

mento por imunocomplexos atraem os eosinófilos, juntamente com outros leucócitos, sem aparente preferência. Segundo estes A.A., a prostaglandina D<sub>2</sub>, liberada pelos mastócitos ativados, tem potente ação quimiotática sobre os eosinófilos, que, por sua vez, ao exercerem a fagocitose, liberariam histaminase, de importante ação na modulação da resposta inflamatória, já referida. Também ficou demonstrado que estas células exercem endocitose de imunocomplexos, nos linfonodos que drenam sítios de imunização em animais, e também fagocitam grânulos mastocitários contendo heparina (WELLER & GOETZL — 1980<sup>47</sup>). SPRY & TAI (1984<sup>44</sup>) acreditam que existe um eixo bidirecional mastócito-eosinófilo, e sugerem que a proteína principal do eosinófilo possa desempenhar um papel significativo na liberação e potencialização dos mediadores contidos nos mastócitos. Outra proteína referida por esses A.A., denominada proteína catiônica do eosinófilo, parece afetar o sistema intrínseco de coagulação e aumentar as propriedades trombogênicas das células endoteliais.

Apesar de não ter sido encontrada associação significativa entre a presença de eosinófilos e os padrões histopatológicos, estas células foram observadas em todos os casos dos vários padrões, onde podem ter participado da fagocitose de imunocomplexos, embora neste trabalho não existam evidências morfológicas nesse sentido. Também podem ter participado dos fenômenos de coagulação na microcirculação, junto às áreas de necrose, e menos provavelmente, da citotoxicidade mediada por célula e dependente de anticorpos. A associação significativa desta célula com o mastócito confirma a existência do eixo bidirecional, defendido por SPRY & TAI (1984<sup>44</sup>), que deve ter um papel importante na modulação da resposta inflamatória na Leishmaniose Tegumentar, notadamente em se tratando dos padrões de Reação Exsudativa Celular e Reação Exsudativa e Necrótico Granulomatosa.

Dois tipos de reação granulomatosa foram observados na Leishmaniose Tegumentar: um desorganizado, em relação, muitas vezes, com a necrose tissular, e outro organizado, do tipo tuberculóide. O primeiro tipo, associado ou não à necrose tissular, mostrou-se sempre

constituído por macrófagos ativados, sem arranjo definido, e por células gigantes de tipo corpo estranho. Segundo RIDLEY (1979<sup>35</sup>), este tipo de reação pode ser interpretado como de origem pós-necrótica. É possível que a escassa referência, na literatura, a esse tipo de reação granulomatosa deva-se ao fato de que sua existência só recentemente foi reconhecida na Leishmaniose Tegumentar. Assim, algumas lesões apontadas como pertencentes ao tipo tuberculóide seriam, na realidade, lesões do tipo granulomatoso desorganizado.

Na classificação de EPSTEIN (1977<sup>12</sup>), este primeiro tipo pode ser enquadrado entre os granulomas associados à injúria tissular. Com efeito, no presente trabalho, o granuloma esteve associado em quase a metade dos casos, com áreas de necrose tissular, onde se observam classes diversas de imunoglobulinas, fração C<sub>3</sub> do complemento e filamentos de fibrina. Está bem demonstrado que partículas opsonizadas pela IgG e pela IgE interagem com os receptores para a fração cristalizável (Fc) destas imunoglobulinas, existentes nos macrófagos, enquanto partículas ligadas ao terceiro componente do complemento ligam-se aos receptores para C<sub>3b</sub>, e ambos os receptores — para Fc e C<sub>3b</sub> — podem reagir com os imunocomplexos (WILLIAMS & JONES WILLIAMS — 1983<sup>28</sup>). A possibilidade de imunocomplexos provocarem a formação de granulomas foi demonstrada experimentalmente por SPECTOR & HEESON (1969<sup>42</sup>), que concluíram haver reação granulomatosa quando ocorre excesso disponível de anticorpo para tornar o imunocomplexo pouco solúvel. SPECTOR, MARIANAYAGAM & RIDLEY (1982<sup>43</sup>) verificaram, também, em granulomas experimentais por BCG, que, após uma fase fugaz granulomatosa, associada à imunidade mediada por células — também passageira —, surgia uma fase explosiva de multiplicação bacilar, associada à necrose, correspondendo a um decréscimo da imunidade mediada por células e a um aumento dos níveis de anticorpos circulantes. Por último havia a resolução da lesão por meio de um granuloma, com o retorno da imunidade celular. Para esses A.A., uma carga bacilar elevada e níveis altos de anticorpos causam necrose semelhante à doença por imunocomplexos com excesso de antígeno; ao reduzir-se, pela necrose, o nú-

mero de bacilos, mas permanecendo altos os títulos de anticorpos e elevada a imunidade celular, ocorrem granulomas semelhantes aos observados por imunocomplexos com excesso de anticorpos. Em trabalho seguinte, RIDLEY, MARIANAYAGAM & SPECTOR 1982<sup>39)</sup> estudando granulomas experimentais produzidos por BCG complexado com soro anti-BCG, verificaram que no ponto de equivalência havia formação de lesões necróticas semelhantes às observadas no fenômeno de ARTHUS, as quais envolveram rapidamente, segundo esses A.A., pela cooperação aumentada entre macrófagos e linfócitos B e T. Nos animais injetados com morreação tornar-se positiva, devido à fagocitose granulomas eram menores e de rápida involução, desaparecendo antes mesmo da intradermorreação torna-se positiva, devido à fagocitose acelerada, pelos macrófagos, dos bacilos opsonizados e à degradação lenta do complexo formado. Esses A.A., concluindo, afirmaram que a proporção entre antígeno e anticorpo é crucial na influência do balanço entre destruição tissular e cura das lesões. Recentemente, RIDLEY & RIDLEY (1984<sup>40)</sup> observaram amastigotas, revestidos de imunoglobulinas, sendo fagocitados por macrófagos jovens e polimorfonucleares, no estágio agudo, com necrose, da maioria das lesões cutâneas.

Como se vê, está demonstrada na literatura a possibilidade de reações granulomatosas ocorrerem por influência de imunocomplexos, sendo importante a proporção entre antígeno e anticorpo. Em trabalho recente MAGALHÃES et al. (1985<sup>26)</sup> demonstraram que a frequência de parasitos foi significativamente maior no padrão de Reação Exsudativa e Necrótico Granulomatosa que no padrão de Reação Exsudativa Celular, confirmando os achados experimentais referidos na literatura. As lesões necróticas observadas na Leishmaniose Tegumentar somente apareceram quando houve aumento significativo de parasitos, ou de seus antígenos, ao lado de níveis bem definidos de anticorpos, conduzindo provavelmente à formação de imunocomplexos, ao nível da região de equivalência ou discreto excesso de antígeno. Ao reduzir-se a carga antigênica, propiciada pelos fenômenos necróticos, e mantidos os níveis de anticorpos, surgiriam então as condições neces-

sárias ao estabelecimento do granuloma, semelhante àquele observado nas lesões por imunocomplexo em excesso de anticorpos, o que explicaria os achados observados nos padrões de Reação Exsudativa e Necrótico-Granulomatosa e de Reação Exsudativa e Granulomatosa.

O outro tipo de reação granulomatosa observado na Leishmaniose Tegumentar foi o granuloma tuberculóide, encontrado em proporções mais ou menos iguais, tanto nas formas cutâneas como nas mucosas (MAGALHÃES et al. — 1985<sup>26)</sup>). Na classificação de EPSTEIN (1977<sup>12)</sup>), correspondeu ele ao granuloma organizado de células epitelióides, onde os elementos celulares principais eram as células epitelióides organizadas em tubérculos. Para EPSTEIN (1977<sup>12)</sup>), as células epitelióides parecem originar-se diretamente de monócitos circulantes, os quais penetram nos tecidos e se diferenciam em macrófagos ativados, puramente secretores, que depois se associam para formar o tubérculo. Ainda segundo esse A., o estímulo para a formação de granulomas organizados de células epitelióides é a Hipersensibilidade Granulomatosa Específica que, na prática clínica, raramente é observada em forma pura, devido à carga variável dos agentes incitantes e à complexidade das doenças onde esta hipersensibilidade ocorre. Embora a hipersensibilidade granulomatosa tenha sido relacionada com a imunidade mediada por células, HSU & HSU (1976<sup>16)</sup>) encontraram granuloma epitelióide na esquistossomose experimental em camundongo nu, atímico. Apenas o acúmulo de eosinófilos, que geralmente ocorre precocemente, foi abolido, indicando que, nessas condições, somente o infiltrado eosinofílico estaria sob controle da imunidade mediada por células, enquanto o acúmulo de células epitelióides poderia escapar ao mesmo. BOLE, JOURDIAN & WRIGHT (1975<sup>6)</sup>), encontraram uma proteína de baixo peso molecular, que inibe a fagocitose, e sugeriram que ela, ou outra proteína similar, poderia desempenhar o papel de comutador da atividade fagocitária para a atividade secretora, constituindo-se então no fator iniciador do desenvolvimento do macrófago para a célula epitelióide. Para EPSTEIN (1977<sup>12)</sup>), a Hipersensibilidade Granulomatosa parece ser



uma entidade específica de natureza misteriosa; sua presença poderia não ser prenúncio de cura, nem causa de necrose tissular, contudo, os produtos secretados pelas células epitelióides exerceriam um impacto singular sobre o microambiente do granuloma.

Segundo HIRSH & JOHNSON (1984<sup>15</sup>), esta hipersensibilidade granulomatosa aparece somente em algumas doenças onde se observa a formação do granuloma epitelióide. Em outras, como a tuberculose, a imunidade mediada por células parece estar envolvida, pois o granuloma epitelióide surge como uma reação acelerada subsequente a uma exposição inicial (resposta anamnésica) aos antígenos. Este tipo de reação conta com a participação de linfócitos sensibilizados. Em casos assim a imunossupressão — que enfraquece ou abole a imunidade mediada por células — compromete a capacidade do hospedeiro de localizar os bacilos, e a disseminação da doença pode ocorrer. Estudos em granulomas da sarcoidose indicaram que as células epitelióides expressam antígenos de superfície HLA-DR (Ia), tendo, portanto, capacidade de interagir imunologicamente com linfócitos T ativados da vizinhança (WILLIAMS & JONES WILLIAMS — 1983<sup>48</sup>). VAN VOORHIS et al. (1982<sup>46</sup>) com a utilização de anticorpos monoclonais, para identificar subpopulações de linfócitos, reforçaram o papel da imunidade mediada por células na gênese do granuloma epitelióide. Esses A.A. encontraram em pacientes com hanseníase da forma tuberculóide, que as células T presentes no infiltrado pertenciam à subpopulação T helper (OKT-4), as quais se dispunham em redor da zona central de células epitelióides. Ao contrário, na hanseníase virchowiana, houve predomínio da subpopulação T supressora (OKT-8). MENDONÇA et al. (1983<sup>30</sup>) encontraram em 6 pacientes de Leishmaniose Tegumentar com teste significativo de transformação linfoblástica, infiltrado granulomatoso de células epitelióides e células gigantes; este tipo de resposta inexistia nos casos com teste não significativo de transformação linfoblástica.

A histopatologia do padrão de Reação Exsudativa e Tuberculóide mostra semelhança com a descrição feita por PETIT (1962<sup>34</sup>), para a Leishmaniose Cutânea do Velho Mundo, faltan-

do contudo a característica clínica de nódulos que persistiram na cicatriz, após a involução espontânea da doença. RIDLEY & RIDLEY (1984<sup>38</sup>), no mesmo tipo de Leishmaniose, verificaram que casos com granuloma tuberculóide, clinicamente não recidivantes (grupo D), confundiam-se com os demais no estágio agudo da doença (grupos B e C). Entretanto os casos de recidiva (grupo E), havia ausência de plasmócitos e escassez de linfócitos nas lesões. Um dado de distinção, todavia, foi a presença de níveis altos de antígeno na periferia do granuloma — embora sem atingir os níveis vistos nos casos agudos — e depósito da fração C<sub>3d</sub> do complemento — potente estimulador de macrófagos. Esses A.A. observaram também acúmulo de antígeno com formação de granulomas tuberculóides nos linfonodos de drenagem. Para RIDLEY & RIDLEY, nos casos tuberculóides de recidiva o antígeno estaria seqüestrado na pele e linfonodos, podendo desencadear uma resposta de maior hipersensibilidade no sítio primário da lesão.

No presente trabalho, os casos em que se observou a presença de granuloma tuberculóide foram classificados no padrão de Reação Exsudativa e Tuberculóide (MAGALHAES et al — 1985<sup>26</sup>). Intradermorreação exacerbada constatou-se apenas nos casos da forma cutânea em adultos, com longo tempo de evolução, e em todos aqueles da forma mucosa. Nos pacientes jovens da forma cutânea, com curto tempo de evolução, a intradermorreação não se mostrou exacerbada. É provável que neles o granuloma epitelióide seja a expressão da Hipersensibilidade Granulomatosa, descrita por EPSTEIN (1977<sup>12</sup>). Na ausência de hipersensibilidade celular exacerbada poderia haver modificações da reatividade celular, para formar granulomas tuberculóides, quando uma quantidade qualquer de estímulo antigênico estivesse presente; com a eliminação do antígeno, pela terapêutica adequada, ocorreria a reversão do processo. Nos outros casos, de longo tempo de evolução, esta hipersensibilidade granulomatosa, associando-se à hipersensibilidade mediada por célula — agora ampliada pelo seqüestro do antígeno — reforçaria o processo granulomatoso através da reverberação do estímulo antigênico; isso tornaria o tratamento mais difícil e o prognóstico pior.

## SUMMARY

### Histopathology of mucocutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis braziliensis*.

#### 3. Cellular reaction.

The Authors analyse the histopathological alterations observed in 378 cases of Mucocutaneous Leishmaniasis from Três Braços, Bahia, of whom 307 (81,4%) were only cutaneous, 54 (14,2%) only mucosae and in 17 (4,4%) both integuments were involved simultaneously. A cellular infiltration of lymphocytes and plasma cells was invariably present in all forms and during healing. In mucosal cases, this reaction may have an important role in maintaining an auto aggression in the presence of few or no parasites. The plasma cell is a constant element in well developed lesions but not present in healing lesions. Its presence almost always denotes a tendency to relapse. Mast cells were observed in both cutaneous and mucosal lesions but predominate in the former. Its number was significantly greater in those with an exudative and necrotic granulomatous reaction where necrotic phenomena are marked. Eosinophils were significantly associated with mast cells suggesting the existence of association between these cells in the modulation of the inflammatory response. Two types of granulomatous reaction were observed: a disorganized one, often related to tissue necrosis, and an organized, tuberculoid type granuloma. The first type is interpreted as of post necrotic origin resulting in a reduction in antigenic load with maintenance of antibody levels, creating the conditions to establish a granuloma similar to that observed in immunocomplex lesions with excess of antibody. The other type of reaction was the granuloma of epithelioid cells, which tend to arise in two groups of patients. In young patients, with short time cutaneous lesions and normal positive leishmanin skin tests, this type of granuloma perhaps similar to the specific hypersensitivity granuloma described by EPSTEIN (1977). In the other group of patients, the leishmanin skin test was always exaggerated. In these cases the hypersensitive granuloma is associated with a cellular hypersensitivity, perhaps amplified by sequestration of antigen, reinforcing the antigenic stimulus of the granuloma. As a result, treat-

ment of this group is more difficult and the prognosis worse in consequence.

## AGRADECIMENTOS

Os A.A. agradecem às Sras. Justina Martins Medeiros e Rosa Maria Parreira Antoino, pelo esmero na preparação das reações de imunohistoquímica e aos Srs. Pedro Berto de Araújo e Bráulio Santos Silva Filho, pela realização dos trabalhos de histotecnologia.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASKENASE, P. W. — Immunopathology of parasitic diseases: involvement of basophils and mast cells. Springer Semin. Immunopath., 2: 417-442, 1980.
2. AZULAY, R. D. — Leishmaniose tegumentar. Rio de Janeiro, 1952. (Tese).
3. BITENCOURT, A. L. & ANDRADE, Z. A. — Aspectos imunopatológicos na leishmaniose cutâneo-mucosa. Hospital (Rio de J.), 71: 975-983, 1967.
4. BJORK, J. & SMEDEGARD, G. — The microvasculature of the hamster cheek pouch as a model for studying acute immune-complex-induced inflammatory reactions. Int. Arch. Allergy, 74: 178-185, 1984.
5. BJUNE, G.; BARNETSON, R. S. T. C.; RIDLEY, D. S. & KRONVAL, G. — Lymphocyte transformation test in leprosy. Correlation of the response with inflammation of lesions. Clin. exp. Immunol., 25: 85-94, 1976.
6. BOLE, G. G.; JOURDIAN, G. W. & WRIGHT, J. E. — Isolation and chemical characterization of a granuloma glycoprotein that inhibits macrophages phagocytosis. J. Lab. clin. Med., 86: 1018-1031, 1975.
7. BRITO, A. C. — Aspectos histopatológicos da leishmaniose tegumentar americana. An. bras. Derm., 57: 145-146, 1982.
8. BRYCESON, A. D. M. — Diffuse cutaneous leishmaniasis in Ethiopia. I. The clinical and histological feature of the disease. Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 63: 708-737, 1969.
9. CAMPOS, H. — Estatística experimental não paramétrica. 4a. ed. Piracicaba, ESALQ, 1983.
10. CRAWFORD, J. P.; MOVAT, H. Z.; RENADINE, N. S. & HAY, J. B. — Pathways to inflammation induced by immune complexes development of the Arthus reaction. Fed. Proc., 41: 2583-2587, 1982.
11. CUBA, C. C.; MARSDEN, P. D.; BARRETO, A. C.; ROITMAN I.; VEENAT, A.; DE LIMA, L. & DE SA, M. H. — Identification of human stocks of *Leishmania* spp isolated from patients with mucocutaneous leishmaniasis in Três Braços, Bahia — Brazil. Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 78: 708-709, 1984.

12. EPSTEIN, W. L. — Granuloma formation in man. *Pathobiol. Ann.*, 7: 1-30, 1977.
13. ESPERANZA AZOGUE, C. — Diagnóstico histopatológico de la leishmaniasis cutánea y cutáneo-mucosa en Bolivia. *Mem Inst. Osw. Cruz.*, 78: 13-20, 1983.
14. GROVÉ, S. S. — The clinical and histological features of South West African cutaneous leishmaniasis. *S. Afr. med. J.*, 53: 712-715, 1978.
15. HIRSH, B. C. & JOHNSON, W. C. — Concept of granulomatous inflammations. *Int. J. Derm.*, 23: 90-100, 1984.
16. HSU, C.-K. & HSU, S. H. — Immunopathology of schistosomiasis in athymic mice, *Nature (Lond.)*, 262: 397-399, 1976.
17. HUBSCHER, T. — Role of eosinophil in the allergic reactions. I. EDI: an eosinophil-derived inhibits of histamine release. *J. Immunol.*, 114: 1379-1388, 1975.
18. HUBSCHER, T. — Role of eosinophil in the allergic reactions. II. Release of prostaglandins from human eosinophil leukocytes. *J. Immunol.*, 114: 1389-1393, 1975.
19. KERDEL-VEGAS, F. & ESSENFELD-YAHR, E. — Histopatologia de la leishmaniasis americana. *Med. Cut.*, 3: 267-276, 1966.
20. KLOTZ, O. & LINDENBERG, H. — The pathology of leishmaniasis of the nose. *Amer. J. trop. Med.*, 3: 117-141, 1923.
21. KURBAN, A. K.; MALAK, J. A.; FARAH, F. S. & CHAGLIASSIAN, H. T. — Histopathology of cutaneous leishmaniasis. *Arch. Derm.*, 93: 396-401, 1966.
22. LOWA-CHEE, R. M.; ROSE, P. & RIDLEY, D. S. — An outbreak of cutaneous leishmaniasis in Guyana: epidemiology, clinical and laboratory aspects. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 77: 255-260, 1983.
23. MAGALHÃES, A. V. — Leishmaniose tegumentar na região Amazônica e região Centro-Oeste. Estudo clínico-patológico comparativo. Belo Horizonte, 1979. (Tese de Mestrado).
24. MAGALHÃES, A. V. — Histopatologia da leishmaniose tegumentar em Três Braços (BA). Belo Horizonte, 1984. (Tese de Doutorado).
25. MAGALHÃES, A. V.; CHIARINI, L. H. & RAICK, A. N. — Histopatologia da leishmaniose tegumentar. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 24: 268-276, 1982.
26. MAGALHÃES, A. V.; MORAES, M. A. P.; RAICK, A. N.; LLANOS-CUENTAS, A.; COSTA, J. M. L.; CUBA, C. C. & MARSDEN, P. D. — Histopatologia da leishmaniose tegumentar por *Leishmania braziliensis braziliensis*. 1. Padrões histopatológicos e estudo evolutivo das lesões. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 28: 253-262, 1986.
27. MAGALHÃES, A. V.; MORAES, M. A. P.; RAICK, A. N.; LLANOS-CUENTAS, A.; COSTA, J. M. L.; CUBA, C. C. & MARSDEN, P. D. — Histopatologia da leishmaniose tegumentar por *Leishmania braziliensis braziliensis*. 2. Resposta humoral tissular. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 28:293-299, 1986.
28. MAGALHÃES, A. V.; MORAES, M. A. P.; RAICK, A. N.; LLANOS-CUENTAS, A.; COSTA, M. L.; CUBA, C. C. & MARSDEN, P. D. — Histopatologia da leishmaniose tegumentar por *Leishmania braziliensis braziliensis*. 4. Classificação histopatológica. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, (Enviado para publicação, 1986).
29. MARROQUIN, F. & BIAGI, F. — Estudio de 19 biopsias de leishmaniosis tegumentaria de Mexico. *Rev. lat-amer. Anat. pat.*, 1: 145-158, 1957.
30. MENDONÇA, S. C. F.; AMENDOEIRA, M. R. R.; PIRMEZ, C.; COUTINHO, S. G. & MARZOCHI, M. C. A. — Correlation of immunological and histopathological finds in human mucocutaneous leishmaniasis in Rio de Janeiro. In: REUNIÃO ANUAL DE PESQUISA BÁSICA EM DOENÇA DE CHAGAS, 10.º, Caxambu, 1983. Resumos.
31. NICOLIS, G. D.; TOSCA, A. D.; STRATIGOS, J. D. & CAPETANAKIS, J. A. — Clinical and histological study of cutaneous leishmaniasis. *Acta dermatovenerol. (Stockh.)*, 58: 521-526, 1978.
32. NOVALES, J. — Cutaneous leishmaniasis in Mexico. *Int. J. Derm.*, 13: 283-286, 1974.
33. PESSOA, S. B. & BARRETTO, M. P. — Leishmaniose tegumentar americana. Rio de Janeiro, Ministério de Educação e Cultura, 1948.
34. PETIT, V. H. S. — Chronic (lupoid) leishmaniasis. *Brit. J. Derm.*, 74: 127-131, 1962.
35. RIDLEY, D. S. — The pathogenesis of cutaneous leishmaniasis. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 73: 150-160, 1979.
36. RIDLEY, D. S.; MARSDEN, P. D.; CUBA, C. C. & BARRETO, A. C. — A histological classification of mucocutaneous leishmaniasis in Brazil and its clinical evaluation. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 74: 508-514, 1980.
37. RIDLEY, D. & RIDLEY, M. J. — Fixation of skin biopsies. *Leprosy Rev.*, 46: 309-310, 1975.
38. RIDLEY, D. S. & RIDLEY, M. J. — Late-stage cutaneous leishmaniasis: immunopathology of tuberculoid lesions in skin and lymph nodes. *Brit. J. exp. Path.*, 65: 337-346, 1984.
39. RIDLEY, M. J.; MARIANAYAGAM, Y. & SPECTOR, W. G. — Experimental granulomas induced by mycobacterial immune complexes in rats. *J. Path.*, 136: 59-72, 1982.

40. RIDLEY, M. J. & RIDLEY, D. S. — Cutaneous leishmaniasis: immunocomplex formation and necrosis in the acute phase. *Brit. J. exp. Path.*, 65: 327-336, 1984.
41. SANGUEZA, P. & CARDENAS, F. — Leishmaniasis cutánea y cutánea-mucosa. Nuevos aportes sobre el tema. *Med. Cut. ibero-lat.-amer.*, 9: 25-34, 1981.
42. SPECTOR, W. G. & HEESON, N. — The production of granuloma by antigen antibody complexes. *J. Path.*, 98: 31-39, 1969.
43. SPECTOR, W. G.; MARIANAYAGAM, Y. & RIDLEY, M. J. — The role of antibody in primary and reinfection BCG granulomas of the rat skin. *J. Path.*, 136: 41-57, 1982.
44. SPRY, C. & TAI, P. C. — Eosinophils in disease. *J. roy. Soc. Med.*, 77: 152-155, 1984.
45. THEOFILOPOULOS, A. N. & DIXON, F. J. — Immune complexes in human diseases. *Amer. J. Path.*, 100: 529-598, 1980.
46. VAN VOORHIS, W. C.; KAPLAN, G.; SARNO, E. N.; HORWITZ, M. A.; STEINMAN, R. M.; LEWIS, W. R.; NOGUEIRA, N.; HAIR, L. S.; GATTASS, C. R.; ARRICK, B. A. & COHN, Z. A. — The cutaneous infiltrates of leprosy. Cellular characteristics and the predominant T-cell phenotypes. *New Engl. J. Med.*, 307: 1593-1597, 1982.
47. WELLER, P. F. & GOETZL, E. J. — The human eosinophil-roles in host defense and tissue injury. *Amer. J. Path.*, 100: 793-820, 1980.
48. WILLIAMS, G. T. & JONES WILLIAMS, W. J. — Granulomatous inflammation: a review. *J. clin. Path.*, 36: 723-733, 1983.

Recebido para publicação em 5/11/1985.