

TRABAJOS ORIGINALES

ESTUDIO DE LOS PARAMETROS INMUNOLOGICOS EN PACIENTES PORTADORES DE LA ENFERMEDAD DE HANSEN

Raúl Patrucco

RESUMEN

En un grupo de 32 pacientes portadores de la enfermedad de Hansen, 20 de la forma lepromatosa, 8 de la tuberculoide y 4 de la intermedia, se realizó la determinación de los parámetros inmunológicos humorales y celulares.

Se encontró marcada alteración de la inmunidad celular con reducción de las cifras de linfocitos T, de la reactividad cutánea a la prueba de PPD, Candidina y 2-4-DNBC, e hiperactividad de la inmunidad humoral, evidenciada por aumento de los linfocitos B, de los valores de inmunoglobulinas y de anticuerpos específicamente dirigidos contra *M. leprae*. Las alteraciones fueron más marcadas en los pacientes de la forma lepromatosa o cercanas al polo de baja resistencia, pero también se detectaron anomalías en la forma tuberculoide.

Bajo la influencia de tratamientos adecuados (convencionales con Diamino Difanil Sulfora DDS y combinados con inmunoterapia con factor de transferencia) se detectaron modificaciones en los parámetros estudiados, en forma coincidente a la evolución del cuadro clínico. (Acta Médica Peruana 6: 101 - 107, 1979).

SUMMARY

In a group of 32 patients suffering from Hansen's disease, 20 with lepromatous leprosy, 8 with tuberculoide leprosy and 4 with intermedial form, we studied some humoral and cellular parameters.

Patients with lepromatous leprosy or with forms close related to the low resistance pole of that disease showed severe impairment of cellular immunity (low T-lymphocyte counts and depressed reactivity in cutaneous tests to several antigens) and hyperactivity of humoral immunity, evidenced by increased B-lymphocyte counts, high immunoglobulin levels and antibodies specifically directed against *M. leprae*. In tuberculoide forms, alterations were less significant but still present. Under therapeutic action of Diaminodiphenyl Sulfone (DDS) or modified by immunotherapy (Transference Factor), the studied parameters changed according with the clinical evolution of the disease.

(*) Departamento de Medicina: Laboratorio de Inmunología, Instituto de Medicina Tropical "Alexander Von Humbolt", Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Recibido: 7 - 8 - 1979

Aceptado: 23 - 10 - 1979

INTRODUCCION

Mycobacterium leprae es un parásito intracelular obligatorio que requiere de procesos inmunológicos mediados por células linfoides T y macrófagos "activados" para la eliminación efectiva, a la vez que es particularmente resistente a la acción de los anticuerpos humorales producidos por las células plasmáticas, derivadas de los linfocitos B (1,2,3,4).

Según cómo el sistema inmunitario del huésped desarrolle su función, la invasión del bacilo podrá ser restringida y eventualmente eliminada o desarrollarse progresivamente, dando como resultado una enfermedad que presenta un amplio espectro clínico, en cuyos extremos se encuentran formas polares bien definidas denominadas: Lepra Tuberculoide (LT), enfermedad de alta resistencia y autolimitada y Lepra Lepromatosa (LL), de baja resistencia, grave, extensa y progresiva (5,6).

Entre los dos extremos los pacientes pueden, bajo determinadas circunstancias, moverse en ambas direcciones a lo largo de lo que se ha llamado "espectro horizontal de la enfermedad" (Tabla I), desarrollando una variedad de formas intermedias con características propias (2,5,7)

TABLA I

ENFERMEDAD DE HANSEN

ESPECTRO CLINICO DE LA ENFERMEDAD

| | Forma Indeterminada | | Formas Intermedias | | Forma Tuberculoide | Forma Lepromatosa |
|---------------------------|---------------------|----------|--------------------|----------|--------------------|-------------------|
| | Alta resistencia | Variable | Variable | Variable | Baja Resistencia | |
| M. Leprae en tejidos | - | o | ± | + ++ | +++ | |
| Lepromina | | +++ | | --- | | --- |
| Infiltración linfocitaria | | +++ | | + | | --- |

A pesar que las formas lepromatosas son las que muestran una anergia más marcada a la lepromina y a otros antígenos usados en pruebas cutáneas (8,9), existen trabajos de observación clínica y de laboratorio que evidencian que prácticamente todas las formas de la enfermedad de Hansen presentan alteraciones de la inmunidad, más o menos generalizadas según las formas clínicas, la evolución y respuesta al tratamiento y los métodos empleados para el estudio (3,7,10,11).

Las alteraciones detectadas sugieren especialmente una deficiencia funcional de los linfocitos derivados del timo, mediadores de la inmunidad celular, en contraste con las marcadas hipergammaglobulinemias que desarrollan estos pacientes desde los primeros estadios de la enfermedad (3, 7, 12).

En el presente trabajo se reportan los hallazgos obtenidos al realizar un estudio del perfil inmunológico, tanto humoral como celular, en un grupo de pacientes portadores de la enfermedad de Hansen, provenientes de diferentes zonas del país, que durante los años 1978 y 79, fueron atendidos en el Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt" del Hospital Docente Cayetano Heredia. Estos datos constituyen parámetros para evaluar la capacidad de respuesta inmunitaria total, la evolución del cuadro y la respuesta a los tratamientos administrados.

MATERIAL Y METODOS

La evaluación fue realizada en un grupo de 32 pacientes provenientes de diferentes zonas del país, diagnosticados por el cuadro clínico y la evolución, reacciones cutáneas a la lepromina, biopsias y determinaciones baciloscópicas de las lesiones de piel y mucosas procesadas con coloraciones de Ziehl-Nielsen y Fite (13) y fluorescencia con el método de auramina-rhodamina-fenol (14).

De acuerdo a los criterios de Ridley y Jopling (5,6), fueron agrupados de la siguiente manera:

| | | |
|---------------------|--------|----------|
| Forma lepromatosa | (LL) : | 20 casos |
| Formas intermedias | (LI) : | 4 casos |
| Formas tuberculoide | (LT) : | 8 casos |

Todos los pacientes fueron portadores de enfermedad activa y varios (señalados en el texto) recién diagnosticados, no habiendo recibido tratamiento al realizarse los primeros estudios. La evaluación fue llevada a cabo utilizando los siguientes métodos:

a) Determinación de porcentajes y números absolutos de linfocitos totales, linfocitos T y linfocitos B de la sangre periférica heparinizada, separados mediante un sistema de gradiente de densidades constituido por Ficoll (PM 400,000, Pharmacia Fine Chemicals) e Hipaque (Winthrop Prod.) (15), usando la técnica de formación espontánea de rosetas E con hematíes de carnero lavados para linfocitos T (16) y para linfocitos B, la técnica de rosetas EAC con hematíes de carnero lavados recubiertos de anticuerpos (hemolisina de conejo), a dosis sub-aglutinante y en presencia de complemento fresco, para detectar receptores de superficie para el tercer componente del complemento (C₃) (17,18).

b) Los linfocitos B también fueron estudiados por la

técnica inmunofluorescente para determinar receptores inmunoglobulínicos de membrana, utilizando sueros anti-inmunoglobulinas marcados con isotiocianato de fluoresceína, manteniendo el sistema estrictamente a 4°C (19).

c) Tests cutáneos con tuberculina (PPD), tricofitina, candidina y sensibilización cutánea con 2-4-DNCB (dinitroclorobenceno) según las técnicas descritas (20).

d) La inmunidad humoral fue evaluada por determinaciones de: proteínas totales y fraccionadas, electroforesis del suero en acetato de celulosa (Sepraphore III, Gelman), inmunoelectroforesis y cuantificación de inmunoglobulinas por inmunodifusión radial con sueros monoespecíficos.

e) La presencia de anticuerpos autorreactivos fue estudiada para anticuerpos antinucleares, antitiroideos, antimúsculo estriado y antimúsculo liso mediante inmunofluorescencia indirecta y determinaciones de factores reumatoideos (látex) y fenómeno de células LE. La presencia del antígeno de superficie asociado al virus de hepatitis B (HB_sAg) en el suero, fue estudiada mediante contraelectroforesis.

f) Los anticuerpos específicos contra *M. leprae* fueron determinados por inmunofluorescencia indirecta de acuerdo a una modificación del método descrito (21), utilizando extendidos de linfa de lesiones cutáneas de las formas LL conteniendo gran cantidad de bacilos (demostrados previamente mediante fluorescencia con auramina-rhodamina-fenol), sobre los que se colocó el suero de los pacientes, lavando y tiñiendo posteriormente con sueros monoespecíficos contra inmunoglobulinas, marcados con isotiocianato de fluoresceína, detectando la actividad de anticuerpo y la clase de inmunoglobulina involucrada en la reacción.

Los estudios fluorescentes fueron realizados en un fotomicroscopio Leitz Dialux de investigación equipado con lámpara de cuarzo-mercurio Osram HB-200 para epi-iluminación y luz transmitida.

Todos los resultados fueron comparados con los obtenidos en un grupo control de 30 personas sanas. Cada paciente fue estudiado en diferentes oportunidades (por lo menos 3 determinaciones de linfocitos) con las técnicas señaladas para conocer los cambios producidos por el tratamiento y la evolución de los parámetros.

El factor de transferencia liofilizado (22) utilizado para el tratamiento de algunos pacientes, fue preparado a partir de linfocitos aislados y estimulados *in vitro*, obtenidos de donantes sanos y reactivos, utilizando técnicas previamente descritas en detalle (20,23).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos están representados en las Tablas II, III y IV, donde pueden apreciarse los diferentes grados de variaciones de los tres grupos estudiados.

En todas las determinaciones realizadas, las cifras de leucocitos y los porcentajes y números absolutos de linfocitos totales estuvieron dentro de los límites normales.

Los estudios de linfocitos T y B mostraron cambios significativos y estas cifras guardaron estrecha relación con

TABLA II
ENFERMEDAD DE HANSEN
DETERMINACION DE LINFOCITOS T Y B
EN SANGRE PERIFERICA

| | Leucocitos | Linfocitos | | Linfocitos T | | Linfocitos B | |
|--------------------|----------------------|-----------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| | mm ³ | % | mm ³ | % | mm ³ | % | mm ³ |
| GRUPO CONTROL | 6175 (4100-9000) | 31.9 (24-42) DS: 4.69 | 1974.6 (1107-2964) | 55.7 (37-66) DS: 5.38 | 1097 (619-1719) DS: 259.5 | 18.5 (14-23) DS: 2.34 | 363.4 (192-600) DS: 90 |
| FORMA LEPROMATOSA | 7153 (3500-15400) | 32.2 (16-55) DS: 7.30 | 2222.7 (1225-3485) DS: 694.65 | 37.4 (17-55) DS: 9.32 | 835 (310-1854) DS: 334.57 | 31.5 (19-52) DS: 6.62 | 692 (326-1331) DS: 223.54 |
| FORMAS INTERMEDIAS | 6212 (3850-8550) | 38 (28-45) DS: 6.16 | 2344 (1501-3420) DS: 728.59 | 45 (42-49) DS: 2.44 | 1062 (660-1539) DS: 353.24 | 29.5 (26-36) DS: 4.09 | 692 (300-923) DS: 223.81 |
| FORMA TUBERCULOIDE | 6398 (5100-8100) | 30.5 (20-36) DS: 5.07 | 1940 (1380-2916) DS: 414.77 | 52.2 (42-66) DS: 6.48 | 1016 (690-1545) DS: 259.87 | 19.7 (17-24) DS: 2.44 | 380.7 (262-495) DS: 79.15 |

Números entre parentesis: cifras máximas y mínimas
DS: Desviación Standard

la forma de la enfermedad y con la respuesta al tratamiento.

En el grupo de pacientes con la forma lepromatosa (LL), se observó una marcada disminución de los porcentajes y números absolutos de linfocitos T (37^oo, 835/mm³, comparado con los valores normales de 58^oo, 1097/mm³), llegando a veces a detectarse cifras tan bajas como 17^oo en un paciente con enfermedad de larga duración y pobre respuesta al tratamiento. En contraste, los linfocitos B se encontraron notoriamente aumentados, tanto al ser estudiados por el método de rosetas EAC (31^oo, 692/mm³ versus las cifras normales de 18^oo, 363/mm³) con valores máximos de hasta 52^oo, como por la técnica inmunofluorescente, en la que el valor medio fue más elevado (36^oo vs. 18-22^oo en los controles).

En el otro extremo del espectro, el grupo de pacientes portadores de la forma tuberculoide, mostró variaciones mínimas en las determinaciones. Las cifras de linfocitos T estuvieron comprendidas dentro de los límites normales o muy discretamente disminuidos (52^oo, 1016/mm³), en tanto que los linfocitos B, por ambos métodos, dieron valores normales (19^oo, 380/mm³). Los resultados encontrados en los pacientes portadores de formas intermedias de la enfermedad (LI, BT BL) mostraron diversos grados de variación. Estas fueron más marcadas a medida que el cuadro clínico y los hallazgos histopatológicos estuvieran más próximos a las formas de baja resistencia (T: 45^oo, 1062/mm³, B: 29^oo, 692/mm³).

Los estudios de los factores séricos e inmunidad

TABLA III
ENFERMEDAD DE HANSEN
PARAMETROS DE INMUNIDAD HUMORAL

| | Proteínas Totales g/100ml | Albumina g/100ml | Globulinas g/100ml | Albumina %o/g/100 ml | Electroforesis del suero | | | | Inmunodifusión Radial mg/100ml | | |
|----------------------|------------------------------|---------------------|-----------------------|----------------------------|--------------------------|---------|-------|-------|-----------------------------------|-----|-----|
| | | | | | Alfa -1 | Alfa -2 | Beta | Gamma | IgG | IgM | IgA |
| Grupo Control | 6.00 (*) | 3.5 | 1.5 | 54 | 2.5 | 7.0 | 10.0 | 14.0 | 1200 | 100 | 200 |
| | 8.00 | 5.5 | 3.0 | 65(**) | 5.6 | 10.0 | 14.0 | 20.0 | | | |
| ----- | | | | | | | | | | | |
| variaciones normales | | | | | | | | | | | |
| Grupo L.L. | 7.47 | 3.42 | 3.96 | 4.32 (***) | 0.20 | 0.56 | 0.80 | 1.12 | 596 | 47 | 61 |
| | | | | 5.20 | 0.44 | 0.80 | 1.12 | 1.60 | 1800 | 147 | 260 |
| Grupo L.I. | 7.15 | 3.27 | 3.96 | 46.74 | 4.50 | 10.03 | 11.38 | 27.35 | 2269 | 304 | 345 |
| | | | | 3.48 | 0.33 | 0.74 | 0.84 | 2.03 | | | |
| Grupo L.I. | 7.15 | 3.27 | 3.96 | 45.62 | 5.45 | 11.72 | 13.85 | 23.35 | 1990 | 260 | 288 |
| | | | | 3.27 | 0.37 | 0.82 | 0.98 | 1.66 | | | |
| Grupo L.T. | 7.70 | 3.88 | 3.81 | 52.50 | 4.90 | 7.45 | 14.0 | 23.15 | 1812 | 177 | 270 |
| | | | | 3.88 | 0.37 | 0.57 | 1.07 | 1.78 | | | |

(*) variaciones normales, (**) porcentajes, (***) gramos/100 ml.

TABLA IV

ENFERMEDAD DE HANSEN

EVOLUCION DE LAS CIFRAS DE LINFOCITOS T Y B EN PACIENTES CON FORMAS LEPROMATOSAS EN TRATAMIENTO CON DDS (*) Y DDS + FACTOR DE TRANSFERENCIA (**)

| | LEUCOCITOS | | LINFOCITOS | | LINFOCITOS T | | LINFOCITOS B | | BACILOSCOPIA |
|----------|-----------------|-----|-----------------|-----|-----------------|-----|-----------------|------|--------------|
| | mm ³ | o/o | mm ³ | o/o | mm ³ | o/o | mm ³ | Piel | |
| ICC (*) | 3500(+) | 35 | 1225 | 27 | 330 | 29 | 335 | ++++ | |
| | 4950 | 38 | 1881 | 20 | 376 | 28 | 526 | + | |
| | 5500 | 32 | 1760 | 42 | 739 | 28 | 492 | -- | |
| MC (*) | 7200 | 28 | 2016 | 26 | 524 | 30 | 604 | ++++ | |
| | 6900 | 30 | 2070 | 30 | 621 | 30 | 621 | + | |
| | 10250 | 34 | 3485 | 39 | 1359 | 25 | 871 | | |
| JR (**) | 6300 | 29 | 1827 | 17 | 310 | 31 | 566 | ++++ | |
| | 7250 | 31 | 2247 | 26 | 584 | 36 | 808 | ++ | |
| | 10250 | 26 | 2665 | 32 | 852 | 30 | 799 | + - | |
| JCH (**) | 5750 | 39 | 2242 | 48 | 1076 | 52 | 1166 | +++ | |
| | 5650 | 39 | 2203 | 47 | 1035 | 38 | 837 | ++ | |
| | 9500 | 22 | 2090 | 52 | 1086 | 36 | 752 | + | |

(-) Estudios realizados cada 3 meses después de iniciado el tratamiento

humoral, anotados en la Tabla III, demostraron también significativas alteraciones, siendo éstas mayores en las formas de baja resistencia. Lo más llamativo fue la marcada hipergammaglobulinemia, cuyas cifras compensaron la disminución de albúmina para dar valores normales o discretamente elevados de proteínas totales. En la separación electroforética del suero pudo verse mejor la hipoalbuminemia, la discreta elevación de alfa-2 y el incremento policlonal de la fracción gamma en la totalidad de los pacientes con formas lepromatosas y en menor proporción en las otras formas.

La técnica inmunolectroforética permitió observar el incremento de los arcos de inmunoglobulinas y la inmunodifusión radial demostró cuantitativamente el aumento de las tres inmunoglobulinas, a predominio de IgM e IgG y en menor proporción de IgA alcanzando en algunos casos valores tan altos como 490, 3100 y 420 mg/100 ml respectivamente.

No se detectaron componentes monoclonales, pero en dos pacientes LL se encontraron pequeñas cantidades de crioglobulinas, ambas de clase IgG.

Las determinaciones cuantitativas del tercer componente del complemento realizados en seis pacientes lepromatosos activos, dieron valores discretamente disminuidos en tres de ellos (80 mg/100 ml) y dentro de límites normales en los restantes (115mg/100 ml).

Mediante el estudio inmunofluorescente indirecto, se detectó la presencia de anticuerpos contra *M. leprae* en todos los casos de la forma LL estudiados. La actividad de anticuerpo estuvo dada por las tres clases mayores de inmunoglobulinas, pero la fluorescencia más intensa se obtuvo en la detección de IgM e IgG. También en las formas tuberculoides se detectó actividad específica de anticuerpos

contra *M. leprae* en 7 de 8 pacientes, pero de menor intensidad que en las formas lepromatosas.

El fenómeno de células LE fue negativo en todos los pacientes, los anticuerpos antinucleares débilmente positivos en un caso LL (patrón homogéneo), anticuerpos anti-músculo estriado débilmente positivos en dos pacientes LL y anticuerpos anti-músculo liso negativos. El estudio para factores reumatoides (latex) fue positivo en 6 pacientes LL, 4 de ellos con evidencias de eritema nodosum leprosum y en un paciente con la forma LT. Las determinaciones para HB_sAg fueron negativas en todos los casos.

Los test cutáneos empleando diferentes antígenos, también dieron resultados significativamente alterados. Las pruebas demostraron positividad para PPD de primera y segunda potencia, solamente en el 40% de pacientes LL y en el 68% de las otras formas. Las pruebas de candidina fueron negativas en 80% de pacientes LL y en el 40% de las otras formas.

Los intentos para producir sensibilización cutánea al 2-4-DNCB fueron infructuosas en el 60% de pacientes lepromatosos y en el 30% de formas LT.

La influencia de los diferentes tipos de tratamiento puede verse en los estudios seriados anotados en la Tabla IV.

En este grupo figuran dos pacientes jóvenes (*) portadores de la forma LL, en los que se inició por primera vez tratamiento con diaminodifenilsulfona (DDS), obteniéndose buena respuesta. En los resultados puede observarse la tendencia progresiva hacia la normalización de las cifras de linfocitos T y B coincidiendo estrechamente con la evolución favorable del cuadro clínico y la disminución de la concentración de bacilos en los extendidos de linfa obtenida de las lesiones.

En este grupo también aparecen tres pacientes con enfermedad lepromatosa severa (**) de larga evolución y con pobre respuesta al tratamiento convencional. Iniciando un estudio preliminar, al tratamiento con DDS se les asoció inmunoterapia con factor de transferencia, obtenido de donantes sanos y reactivos. Aunque a cada paciente le fue administrado solamente cinco unidades de factor de transferencia, repartidas en varias inyecciones durante un período de dos semanas, en dos de ellos se obtuvieron cambios de importancia (en el tercer paciente no pudo continuarse el tratamiento ni realizarse controles por hallarse fuera de nuestro alcance).

Después de las tres o cuatro primeras inyecciones (4-6 días), las lesiones dérmicas se "encendieron" tornándose eritematosas e induradas, ocasionando a los pacientes sensación de ardor y tensión locales, fiebre diaria irregular y crecimiento moderado de los ganglios linfáticos axilares e inguinales, por lo que hubo de asociarse tratamiento con prednisona (5-10 mg/día) hasta lograr el control del cuadro a los pocos días. Las pruebas cutáneas, previamente negativas en repetidas oportunidades, se positivizaron al PPD de primera y segunda potencia y en uno de los pacientes, también se observó una discreta pero significativa área de reacción al 2-4-DNCB. Ambas pruebas permanecieron positivas durante varias semanas. Concomitantemente se evidenció una tendencia a la normalización de las cifras de linfocitos T y B y los estudios baciloscópicos mostraron variaciones considerables, con fragmentación y marcada disminución de la concentración de bacilos.

DISCUSION

Los datos obtenidos en este trabajo confirman la existencia de diferentes grados de alteraciones inmunológicas funcionales en los pacientes portadores de los diferentes tipos clínicos de la enfermedad de Hansen.

En el grupo de pacientes con formas lepromatosas o intermedias cercanas al polo de baja resistencia del espectro, los hallazgos de cifras reducidas de linfocitos T circulantes en sangre periférica, concuerdan estrechamente con las características histopatológicas de las lesiones dérmicas, en las que se describen fundamentalmente, la masiva infiltración de bacilos empaquetados dentro de macrófagos histiocitos "espumosos" y la ausencia llamativa de infiltración linfocitaria (5), así como también el marcado despoblamiento de linfocitos derivados del timo en las áreas paracorticales de los ganglios linfáticos (24). Por estas razones, ha sido postulado que el defecto básico de las formas lepromatosas es la carencia o marcada disminución en el organismo, de linfocitos T específicamente reactivos contra el agente invasor. Sin embargo, la alteración de las células linfoides no es tan sólo numérica, sino también funcional. Múltiples estudios han evidenciado la disminuida capacidad de los linfocitos T para producir y liberar sustancias mediadoras y amplificadoras de la inmunidad celular (factor inhibidor de la migración de los macrófagos, etc.) (4,25) o para transformarse blásticamente al ser estimulados in vitro con antígenos de *M. leprae* (3,12,25) o con mitógenos inespecíficos como fitohemaglutinina (PHA) (26,27,28) y concavalina A (28). Si bien es cierto que la destrucción final de *M. leprae* es realizada directamente por los macrófagos activados (7), las alteraciones numéricas y funcionales de

linfocitos T detectadas en los pacientes lepromatosos, parecen sindicadas concluyentemente, que el problema radica en la incapacidad de las células tímicas para el reconocimiento y reacción contra el agente agresor lo que permite la multiplicación incontrolada del bacilo hasta alcanzar concentraciones tan altas como 10^8 a 10^{12} microrganismos por gramo de tejido.

Paralelamente, llama la atención la hiperactividad del sistema humoral, con aumento del número de linfocitos B circulantes y con marcada elevación policlonal de los niveles de inmunoglobulinas, demostrando actividad específica contra el germen, como se deduce de los estudios por métodos inmunofluorescentes. Este fenómeno puede considerarse una respuesta compensadora del sistema humoral ante la deficiencia del sistema celular. Sin embargo, la sobreproducción de inmunoglobulinas resulta inefectiva, ya que *M. leprae* es especialmente resistente a la acción de los anticuerpos (1) y ha sido sugerido, que la presencia de estos anticuerpos podría ser más perjudicial que beneficiosa, al actuar como factores bloqueadores o inhibidores de la respuesta de las células competentes (3, 7, 29).

Estas inmunoglobulinas son también las responsables de muchas de las lesiones que complican el curso de la enfermedad lepromatosa, al formar complejos antígeno-anticuerpo-complemento circulantes muy irritativos, que al depositarse en los endotelios, producen marcados fenómenos vasculíticos, entre los que se cuenta principalmente el eritema nodosum leprosum (30,31). Las cifras tan elevadas de linfocitos B detectadas por inmunofluorescencia, en aparente discordancia con los resultados obtenidos mediante la técnica de rosetas EAC, pueden deberse igualmente a la absorción inespecífica de aglomerados y precipitados de inmunoglobulinas o de complejos antígeno-anticuerpo-complemento circulantes, a los receptores para fragmentos Fc y C'3 en la superficie de los linfocitos B y de los monocitos, por lo que estos valores deben ser tomados con cautela.

En otras oportunidades, la respuesta inmune humoral exagerada puede distorsionarse también cualitativamente, produciendo anticuerpos contra los elementos constituyentes del propio organismo, aunque en nuestro estudio, la frecuencia de positividad de autoanticuerpos y factores reumatoides ha sido menor que las reportadas por otros autores (32).

En el otro extremo del espectro, en los pacientes portadores de formas tuberculoides, caracterizados por escasas lesiones muy bien delimitadas, con fuertes reacciones dérmicas a la lepromina, la adecuada capacidad para controlar el proceso se manifiesta en los cortes histológicos por ausencia de bacilos y abundante infiltración por células linfoides (5).

En este grupo, los estudios inmunológicos no detectan mayores alteraciones en las cifras de linfocitos T o linfocitos B y los niveles de inmunoglobulinas se encuentran discretamente elevados, aunque también con manifiesta actividad de anticuerpos específicos contra *M. leprae*.

A pesar de estos hallazgos, otros investigadores, mediante técnicas especiales, han demostrado que en las formas de alta resistencia, aún en períodos muy tempranos, también pueden detectarse algunas alteraciones inmunológicas en la capacidad de los linfocitos T para reaccionar

contra el bacilo de Hansen (3,29). Pero nunca alcanzando el grado de alteración observado en los pacientes del polo lepromatoso.

El grado de competencia inmunológica, permite a los pacientes de la forma tuberculoide, mantener controlada la enfermedad y eventualmente conducir a una curación espontánea, pero al mismo tiempo, esta hiperactividad inmune de tipo celular es la responsable del daño tisular, especialmente del neurológico.

La negatividad de las pruebas cutáneas ante diferentes antígenos, que ha sido clásicamente descrita para demostrar la anergia de los pacientes con la enfermedad de Hansen, especialmente en las formas lepromatosas, es también el reflejo superficial de la deficiencia celular. Aparte de las reacciones a la lepromina utilizadas desde hace muchos años, cuya positividad o negatividad ha servido para hacer automáticamente el diagnóstico de lepra lepromatosa o lepra tuberculoide respectivamente (33,34), las otras pruebas denotan igualmente que la severidad de la depresión es mayor a medida que los pacientes se aproximan al polo de baja resistencia (2,4,7,8).

En nuestro estudio, la falta de reactividad cutánea a la tuberculina, no ha sido tan manifiesta como la descrita en otros trabajos (4,8). Cuando algunos pacientes previamente negativos a dosis simples de PPD fueron retestificados con dosis de doble o triple potencia del mismo compuesto, muchos de ellos dieron reacciones positivas características. Debe considerarse aquí también, que el tipo y tiempo de tratamiento puede influir marcadamente en los resultados (4,6,7). Los pacientes que en el momento del estudio recibían tratamientos prolongados y efectivos, fueron los que dieron las reacciones positivas al PPD, coincidiendo además, con la mejoría de otros parámetros de evolución.

Se ha postulado que en la positividad de la prueba de tuberculina, pueden influir las reacciones cruzadas entre los antígenos de *M. tuberculosis* y *M. leprae* (35) y aunque éste es un fenómeno comprobado en estudios *in vitro*, su importancia *in vivo* no ha sido suficientemente verificada.

La elevada proporción de pacientes lepromatosos que dieron resultados negativos a la sensibilización cutánea con 2-4-DNCB es similar a la reportada por otros autores (36) y llama la atención, porque esta sustancia, a la vez que es cáustica en su primera aplicación (solución al 10⁰/o), se considera uno de los más potentes haptenos sensibilizantes de la piel y ante el cual responden la casi totalidad de personas normales.

Es importante tomar en cuenta que la marcada infiltración difusa de la piel que muestran los pacientes lepromatosos, puede interferir con la sensibilización cutánea inicial, con la expresión superficial de la reactividad o simplemente con la lectura de la prueba y constituir una importante fuente de error en este tipo de determinaciones.

Finalmente, algunas consideraciones en cuanto al tratamiento. La droga universalmente utilizada actualmente, es la Dapsona (diaminodifenilsulfona, DDS), que cuando se toma en forma regular y por largos períodos (varios años), produce marcada mejoría clínica, negatización de los estudios baciloscópicos y tendencia a la normalización de algunos parámetros inmunológicos alterados (Tabla IV).

El fracaso de la inmunidad celular depende en muchos casos, de la elevada concentración de microorganismos en los tejidos y al lograrse su reducción mediante la quimioterapia, puede ocurrir una mejoría de la capacidad de reacción inmunitaria.

Pero como frecuentemente se ha observado con el tratamiento único, una considerable proporción de pacientes presenta recaídas, encontrándose marcada resistencia de *M. leprae* a la droga (35).

Por éste y otros motivos, se ha considerado necesario realizar tratamientos adicionales con inmunoterapia, para intentar convertir en reactivos inmunológicamente a los pacientes lepromatosos y aumentar la destrucción bacilar. Han sido descritos múltiples esquemas, con inyecciones de toxoide diftérico (37) y vacunaciones repetidas con BCG (38). Ultimamente se ha intentado reconstitución inmunológica con transfusiones de linfocitos viables (39,40) o con factor de transferencia (41,42) y a pesar de los resultados controvertidos, es de esperarse que con estos métodos puedan lograrse objetivos alentadores.

En nuestro estudio piloto, la rápida modificación de las lesiones cutáneas observada en los pacientes a pocos días de haberse iniciado el tratamiento con factor de transferencia, representa posiblemente una reactivación de la respuesta inmune ante la presencia de los microorganismos en los tejidos y puede semejar el fenómeno espontáneo de "reversión de la enfermedad" que ocurre en pacientes lepromatosos que reciben durante muchos meses tratamiento efectivo con drogas, al lograrse una masiva destrucción bacilar (41). Estas reacciones, que aparecen en forma súbita y que son indicadoras de buen pronóstico, generalmente persisten durante períodos prolongados y son sumamente dolorosas, a diferencia de las modificaciones transitorias y no dolorosas obtenidas en nuestro trabajo. El inicio de ambos tipos de fenómenos, está dado por la activación de las células inmunocompetentes, previamente deficientes.

El carácter transitorio, puede deberse principalmente a dos factores importantes: el primero, a la escasa cantidad de factor de transferencia administrado, que si bien puede iniciar la respuesta, no es suficiente para preservarla, y el segundo, a la presencia de enormes cantidades de bacilos en los tejidos. Por tal motivo, es recomendable reducir mediante quimioterapia la masa antigénica, antes de iniciar el uso de factor de transferencia.

La positividad de las pruebas cutáneas al PPD y 2-4-DNCB, constituyen la expresión superficial de la activación inducida, al igual que la tendencia a la normalización de otros estudios inmunológicos realizados *in vitro*. De la misma manera, la posibilidad de desencadenar, mediante el tratamiento combinado, el fenómeno secundario de eritema nodosum leprosum, si bien representa una complicación peligrosa y molesta para los pacientes, afortunadamente controlable con Talidomida (30) refleja el inicio de la fragmentación y destrucción bacilar, cuyos antígenos ("polvo bacilar"), son rápidamente capturados por los anticuerpos específicos.

Mediante el uso de las modificaciones terapéuticas anotadas y otras, que posiblemente se implementarán en corto tiempo (por ejemplo hormonas y factores tímicos) (43,44) y el entendimiento de algunos fenómenos todavía

no bien conocidos, especialmente la actividad de las células T-supresoras y su control genético (45), es probable que el problema de la deficiencia inmunológica y tratamiento de los pacientes portadores de la enfermedad de Hansen, sean sustancialmente mejorados.

BIBLIOGRAFIA

1. Mackness GB, Blanden RV: Cellular immunity. *Prog. Allergy* 11:89, 1967.
2. Turk JL: Immunological phenomena in leprosy and related diseases. *Adv Immunol* 13:209, 1971.
3. Bullock W, Faal P: Studies of immune mechanisms in leprosy. *J Immunol* 106:888, 1971.
4. Talwar G, Krishnan D, Mehra V, Blum E, Pearson J: Evaluation of all mediated immune responses in untreated cases of leprosy. *Clin Exp Immunol* 12:195, 1972.
5. Ridley DS, Jopling WH: Classification of leprosy according to immunity. A five group system. *Int J Leprosy* 34:255, 1966.
6. Ridley DS, Waters MF: Significance of variations within the lepromatous group. *Lepr Rev* 40:143, 1969.
7. Godal T: Immunological aspects of leprosy. Present status. *Progress Allergy* 25:211, 1978.
8. Bullock WE: Studies on immune mechanisms in leprosy. Depression of delayed allergic response to skin test antigens. *N Engl J Med* 278:298, 1964.
9. Turk JL, Waters MF: Immunological basis for depression of cellular immunity and the delayed allergic response in patients with lepromatous leprosy. *Lancet* 2:436, 1968.
10. Sheagen J, Block J, Trautman J, Wolff S: Immunologic reactivity in patients with leprosy. *Ann Int Med* 70:295, 1969.
11. Rocklin RE: Clinical applications of in vitro lymphocyte tests. *Leprosy. Progr Clin Immunol* 2:21, 1974.
12. Godal T, Myklestad B, Samuel D, Myrvang B: Characterization of the cellular immune defect in lepromatous leprosy: A specific lack of circulating M. leprae-reactive lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 9:821, 1971.
13. Fite GL: Staining of acid-fast bacilli in paraffin sections. *Am J Path* 14:491, 1938.
14. Truant JP, Brett WA, Thomas W: Fluorescent microscopy of tubercle bacilli stained with Auramine-Rhodamine. *Henry Ford Med Bull* 10:287, 1962.
15. Böyum A: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand J Lab Clin Invest* 21:77, 1968.
16. Jondal M, Holm G, Wigzell H: Surface markers on T and B lymphocytes. *J Exp Med* 136:207, 1972.
17. Bianco C, Patrick R, Nussenzeig V: A population of lymphocytes bearing a membrane receptor for antigen-antibody-complement complex. *J Exp Med* 132:702, 1970.
18. Cohnen G, Augener W, Buka A, Brittinger G: Rosette-forming lymphocytes in normals and patients with malignant lymphomas. *Acta Haematol* 51:75, 1974.
19. Unanue E, Grey H, Rabellino E, Campbell P: Immunoglobulins on the surface of lymphocytes. *J. Exp Med* 133:1188, 1971.
20. Patrucco A, Castillo W: Candidiasis mucocutánea crónica. Estudios inmunológicos y tratamiento con Factor de Transferencia. *Acta Med Peruana* 5:20, 1978.
21. Abe M: Anti-M. leprae antibodies in leprosy patients as demonstrated by indirect immunofluorescence. *Int J Lepr* 41:549, 1973.
22. Lawrence HS: Transfer Factor. *Advances Immunol* 11:195, 1969.
23. Levin A, Spittler L, Stites D, Fudenberg H: Wiskott-Aldrich's syndrome, a genetically determined cellular immunologic deficiency: clinical and laboratory responses to therapy with transfer factor. *Proc Nat Acad Sci USA* 67:821, 1970.
24. Turk J, Waters M: Immunological significance of changes in lymph nodes across the leprosy spectrum. *Clin Exp Immunol* 8:363, 1971.
25. Katz S, De Betz B, Zaias N: Production of macrophage inhibitory factor by patients with leprosy. *Arch Dermatol* 103:358, 1971.
26. Dierks R, Shepard C: Effect of phytohemagglutinin and various mycobacterial antigens on lymphocytes cultures from leprosy patients. *Proc Soc Exp Biol Med* 127:391, 1968.
27. Nath I, Curtis J, Sharma AK, Talwak GP: Circulating T-cell numbers and the mitogenic potential in leprosy—correlation with mycobacterial load. *Clin Exp Immunol* 29:393, 1977.
28. Nelson DS, Nelson M, Thurston JM, Waters MF, Pearson JM: Phytohemagglutinin-induced lymphocyte transformation in leprosy. *Clin Exp Immunol* 9:33, 1971.
29. Mehra V, Talwar G, Balakrishnan K, Bhutani L: Influence of chemotherapy and serum factors on the mitogenic response of peripheral leucocytes of leprosy. *Clin Exp Immunol* 12:205, 1972.
30. Wernambu SN, Turck JL, Waters MF, Rees RJ: Erythema nodosum leprosum: A clinical manifestation of the Arthus phenomenon. *Lancet* ii:933, 1969.
31. Moran CI, Turk JL, Ryder G, Waters MF: Evidence for circulating immune-complexes in lepromatous leprosy. *Lancet* ii:572, 1972.
32. Bullock W: *Leprosy*. Ed: Max Santer Ed. "Immunological Diseases" Vol. 1, 1965, Little, Brown & Co, Boston.
33. Guinto RS: Skin tests in leprosy. *Ann NY Acad Sci* 154:149, 1968.
34. Rees RJ: The significance of the lepromin reaction in man. *Prog Allergy* 8:224, 1964.
35. World Health Organization: Report of the third IMMLEP Scientific Working group Meeting, 1977.
36. Waldorf DS, Sheagen JH, Trautman JR, Block JB: Impaired delayed hypersensitivity in patients with lepromatous leprosy. *Lancet* ii:773, 1966.
37. Collier DR: The use of diphtheria toxoid in the treatment of leprosy. *Int J Leprosy* 9:1, 1941.
38. Ruschar H, Faye I, Serrat H: Repeated administration of BCG in patients with lepromatous leprosy. *Int J Lepr* 41:494, 1973.
39. Paradisi ER, Bonaparte YP, Morgenfeld MC: Response in two groups of anergic patients to the transfer of leukocytes from sensitive donors. *N Engl J Med* 280:859, 1969.
40. Lim SD, Fusaro R, Good RA: Leprosy VI. The treatment of leprosy patients with intravenous infusions of leukocytes from normal persons. *Clin Immunobiol Immunopathol* 1:122, 1972.
41. Bullock WE, Fields JP, Brandriss MW: An evaluation of transfer factor as immunotherapy for patients with lepromatous leprosy. *N Engl J Med* 287:1053, 1972.
42. Hastings RC, Morales MJ, Shannon EJ, Jacobson RR: Preliminary results on the safety and efficacy of transfer factor in leprosy. *Int J Lepr* 44:275, 1976.
43. Friedman H: Thymus factors in immunity. *Ann NY Acad Sci* 249:36, 1975.
44. Goldstein A, Thurman G, Low T, Rossio J, Trivers G: Current status of the role of Thymosin in the regulation and modulation of immunity. *J Reticuloendothelial Soc* 23:253, 1978.
45. Klein J: Genetics of cell-mediated lymphocytotoxicity in the mouse. *Springer Sem Immunopathol* 1:31, 1978.