

Perfil histopatológico e imuno-histoquímico da leishmaniose tegumentar americana com ênfase nos dendrócitos dérmicos FXIIIa+*

*Histopathological and immunohistochemical profile of the American cutaneous leishmaniasis with emphasis on FXIIIa+ dermal dendrocytes **

Maria Luisa Duarte¹

Mayra Carrijo Rochael²

Resumo: FUNDAMENTOS: Leishmaniose tegumentar é doença parasitária infecciosa que apresenta aspectos imunológicos relevantes.

OBJETIVO: Estudar a histopatologia e aspectos imuno-histoquímicos de 21 biópsias de leishmaniose tegumentar.

MÉTODOS: Anticorpo policlonal anti-Leishmania foi utilizado para identificação das leishmânias. A classificação histopatológica adotada foi em grupos padrões de I a V. Foram analisados os dendrócitos dérmicos FXIIIa+, células de Langerhans CD1a+, macrófagos CD68+, linfócitos B CD20+ e T CD3+. As células FXIIIa+ foram quantificadas na derme papilar e comparadas a peles normais obtidas de área não exposta à luz solar, sendo o número de células FXIIIa+ avaliado estatisticamente através do teste de Mann-Whitney. As demais células foram contadas semiquantitativamente.

RESULTADOS: Entre os grupos histopatológicos, predominaram os I e II. Não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,157$) entre o número de células FXIIIa+ na leishmaniose e na pele normal. Não foi observada diferença significativa entre a presença das células CD1a+, CD68+, CD20+ e CD3+, quando comparadas entre si ou com as células FXIIIa+.

CONCLUSÃO: Não houve diferença no número de células dendríticas FXIIIa+ entre a leishmaniose e pele normal. No entanto, sugere-se que mais estudos sejam necessários para se entender o papel dessas células na leishmaniose.

Palavras-chave: Auto-imunidade; Células dendríticas; Fator XIIIa; Leishmaniose cutânea

Abstract: BACKGROUND: Mucocutaneous leishmaniasis is a parasitic infectious disease with relevant immunological aspects. OBJECTIVE: To study the histopathological and immunohistochemical aspects of 21 leishmaniasis tegumentary biopsies. METHODS: Polyclonal anti-Leishmania antibody was used to confirm the presence of Leishmania amastigotes. Histopathological classification comprised I-V standard groups. The immunopathological pattern was evaluated as to the presence of FXIIIa+ dermal dendrocytes, CD1a+ Langerhans cells, CD68+ macrophages, CD20+ B lymphocytes, and CD3+ T lymphocytes. The FXIIIa+ cells were quantified and compared to specimens of normal skin obtained from unexposed areas. The other cells were counted in a semi-quantitative way. The number of FXIIIa+ cells was statistically analyzed using the Mann-Whitney test. Results: Among the histopathological groups, I and II standards prevailed. The FXIIIa+ cells were observed for different aspects and compared to normal skin, without significant statistical differences ($p = 0.157$). There was no relation between the amount of CD1a+, CD68+, CD20+ and CD3+ cells when compared to each other or to FXIIIa+ cells. CONCLUSION: There was no difference between the number of FXIIIa+ cells in leishmaniasis and in normal skin. However, more studies are needed in order to understand the role of FXIIIa+ cells in leishmaniasis.

Keywords: Autoimmunity; Cutaneous leishmaniasis; Dendritic cells; Factor XIIIa

Recebido em 03.05.2006.

Aprovado pelo Conselho Consultivo e aceito para publicação em 22.11.2006.

* Trabalho realizado no Departamento de Patologia da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas - (UNCISAL), Maceió - (AL), Brasil, e no Departamento de Patologia da Universidade Federal Fluminense (UFF) - Niterói - (RJ), Brasil.

Conflito de interesse declarado: Nenhum

¹ Mestre e Doutora em Patologia, Professora Adjunta da Disciplina de Medicina Legal e Ética Médica do Departamento de Patologia da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas - (UNCISAL) - Maceió - (AL), Brasil.

² Doutora em Patologia, Professora adjunta do Departamento de Patologia, Coordenadora do Setor de Dermatopatologia da Universidade Federal Fluminense (UFF) - Niterói - Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

©2006 by Anais Brasileiros de Dermatologia

INTRODUÇÃO

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é doença parasitária, infecciosa não contagiosa, causada por protozoários de diversas espécies do gênero *Leishmania*, que acomete pele e mucosa.

Independentemente da espécie de *leishmânia* que parasite o indivíduo, o órgão inicialmente acometido é a pele. Os pacientes são infectados cronicamente com o parasito e posteriormente podem desenvolver a leishmaniose.

Moros *et al.*¹ relatam que não se conhece o mecanismo exato pelo qual o sistema imune intervém na destruição do parasito, porém se considera a imunidade celular fundamental na resolução da infecção.

Em uma revisão feita por Grimaldi em 1982², observou-se que os parasitos do gênero *Leishmania* induzem uma variedade de respostas complexas nos hospedeiros vertebrados, efetuadas ou moduladas pelo seu sistema imunológico. Foi também salientado que o destino da *leishmânia* no interior de macrófagos depende de relações particulares parasito-hospedeiro, envolvendo não apenas as propriedades intrínsecas do parasito, mas também às características geneticamente determinadas na célula hospedeira ou das suas interações com outras células imunocompetentes.

Neste estudo se investigou a reação imunológica tecidual representada pela análise histopatológica das lesões de LTA e imunohistoquímica dos dendrócitos dérmicos (DD), das células de Langerhans (CL), dos macrófagos (MO) e dos linfócitos B e T, utilizando respectivamente os marcadores FXIIIa, CD1a, CD68, CD20 e CD3, com relevância para os dendrócitos dérmicos FXIIIa+. Estes e as células de Langerhans são consideradas células dendríticas (Cd) apresentadoras de antígenos, responsáveis pela resposta imune celular e as primeiras células a entrarem em contato com o microorganismo invasor (*Leishmania*).

MATERIAL E MÉTODO

Foram submetidos a este trabalho 21 biópsias de LTA de pacientes, comunicados da pesquisa pelo termo de consentimento livre e esclarecido, após aprovação pelo comitê de ética em pesquisa.

Análise Histopatológica

Na coloração pela hematoxilina-eosina (HE) foram utilizados os cinco padrões histopatológicos identificados por Magalhães *et al.*^{3,4} para classificação da LTA, representada no quadro 1.

Método Imuno-histoquímico

O método utilizado foi o da estreptovidina-biotina-peroxidase. Os cortes histológicos de 4 μ m de espessura, colhidos em lâminas de vidro previamente

preparadas (DAKO Silanized Slides Code N°. S3003) foram desparafinados em xilol e reidratados em etanol e água. A atividade da peroxidase endógena foi bloqueada. Foi feita a recuperação antigênica em banho-maria a 96°C com tampão citrato (DAKO target retrieval solution), inibição das ligações específicas com o leite desnatado (30 ml de TRIS + NaCl + 0,3 gramas de albumina bovina MERCK + 0,3 gramas de leite em pó desnatado Molico). Após escorrer o leite os anticorpos primários foram utilizados nas diluições descritas abaixo e colocados em câmara úmida na temperatura ambiente por 30 min (incubação com o anticorpo primário específico). Foi utilizado o anticorpo secundário biotinilado do kit LSAB. A revelação (ligação antígeno-anticorpo) foi visualizada com diaminobenzidina, kit DAB+ marca DAKO, as lâminas contra-coradas com hematoxilina de Harris e montadas com lamínulas e Entellan.

No protocolo para o anticorpo policlonal anti-*Leishmania* foi modificada a etapa da incubação, ocorrendo durante toda à noite em câmara úmida à temperatura ambiente com este anticorpo diluído a 1/4000 em solução diluidora com redutor de ligações inespecíficas marca DAKO. A espécie de *leishmânia* utilizada foi a *L.(L.) amazonensis* (cepa MHOM/BR/73/M2269), isolada de um caso de leishmaniose tegumentar do Pará, classificada por anticorpos monoclonais e isoenzimas, no Instituto Evandro Chagas, Belém – PA.

Os protocolos de diluição para os anticorpos foram os seguintes: anti-FXIIIa, diluição de 1/800; anti-CD1a, diluição de 1/200; anti-CD68, diluição de 1/500; anti-CD20, diluição de 1/300; anti-CD3, diluição de 1/600; e um protocolo especial para o anticorpo anti-*Leishmania* com a diluição de 1/4000.

Análise das leishmânias

A positividade foi considerada pela observação de ao menos uma estrutura marcada em castanho (tonalidade conferida pelo cromógeno utilizado – diaminobenzidina) e morfológicamente compatível com amastigota. Nesse sentido, foram considerados, tamanho, forma e localização das estruturas no interior de vacúolos de macrófagos. A presença de marcação no citoplasma de células inflamatórias mononucleares, principalmente com características morfológicas de macrófagos e de células endoteliais também foi pesquisada. Tais padrões de positividade foram chamados de “celular” e “vascular,” respectivamente.^{5,6}

Análise dos dendrócitos dérmicos FXIIIa+ (DDFXIIIa+)

A análise foi realizada quanto à sua localização, distribuição e aspecto morfológico na derme e em

QUADRO 1: Classificação histopatológica da leishmaniose tegumentar

Grupos	Denominação	Características principais	Estimativa prognóstica
I	Reação exsudativa celular	Infiltrado histiolinfoplasmocitário dérmico ou do córion da mucosa com proporções celulares que tendem à equivalência	Prognóstico bom (formas cutâneas) Prognóstico mau (formas mucosas)
II	Reação exsudativa e necrótica	Necrose tissular no derma ou no córion da mucosa de amplitude variável, arredondada ou oval, além do infiltrado histiolinfoplasmocitário. A necrose pode apresentar-se sob os tipos granulocitário, poeira nuclear ou eosinofílico, associada à vasculite aguda	Prognóstico bom
III	Reação exsudativa e necrótico-granulomatosa	Reação granulomatosa desorganizada ao redor ou nas proximidades da área de necrose tissular, caracterizada pela presença de macrófagos ativados e de células gigantes. Presença de infiltrado histiolinfoplasmocitário. Vasculite aguda menos freqüente	Prognóstico bom
IV	Reação exsudativa e granulomatosa	Reação granulomatosa desorganizada isolada no seio do infiltrado inflamatório, sem a presença de necrose tissular. Presença de infiltrado histiolinfoplasmocitário	Prognóstico ótimo
V	Reação exsudativa e tuberculóide	Reação granulomatosa constituída por macrófagos, células epitelióides e células gigantes, dispostas em arranjos tuberculóides bem delimitados, além do infiltrado histiolinfoplasmocitário	Prognóstico regular (formas cutâneas) Prognóstico mau (formas mucosas)

FONTE: MAGALHÃES et al^{3,4}

meio ao infiltrado inflamatório através do método quantitativo. Foram examinados no microscópio óptico da marca Olympus CBA (Micronal - Indústria Brasileira), com objetiva de 40x e ocular de 10x (aumento final de 400x) e a somatória em cinco campos de grande aumento, seqüenciais, iniciando-se a partir da junção dermo-epidérmica.⁷ Nos casos em que tal procedimento não foi possível, como ulceração, dobra do corte, etc., foi contado o próximo campo em que estas alterações não estavam presentes. O resultado da contagem foi expresso pela soma do número de células nos cinco campos de grande aumento em cada lesão examinada.

Foram utilizados como controle do número de DDFXIIIa+, seis fragmentos de pele normal obtidas da região supra-púbica (não exposta ao sol), durante necropsia de cadáveres sem doença cutânea e com menos de 12 horas de morte.

Análise das células de Langerhans, macrófagos, linfócitos T e B

Estas células, após imunomarcadas com os respectivos anticorpos, foram analisadas quanto à sua presença e distribuição na epiderme e derme pelo método semiquantitativo, com a objetiva de 40x e ocular de 10x no mesmo microscópio como: ausentes (0), pouca quantidade, até 5 células (+), moderada quantidade, entre 5 a 10 células (++), e acentuada quantidade, acima de 10 células (+++).⁸

6) Análise Estatística

A quantidade de DDFXIIIa+ nas peles com leishmaniose e normais/controle foram comparadas pelo teste de Mann-Whitney.

A busca de associação entre a contagem de células FXIIIa+ com a classificação nos grupos histopatológicos e o grupo controle de peles normais foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis.

RESULTADOS

Dos 21 casos com diagnóstico clínico-epidemiológico de LTA confirmados através do anticorpo policlonal anti-*Leishmania* foram obtidos os resultados a seguir.

Todos os pacientes apresentavam leishmaniose cutânea. As lesões predominavam no sexo masculino, na terceira década, nos membros inferiores, como demonstrados no quadro 2.

No quadro 3 é apresentado o número das lesões em cada paciente, o tempo de evolução e o grupo histopatológico a que pertenciam. Pela análise histopatológica predominaram os grupos histopatológicos I e II.

Resultado do exame imuno-histoquímico

A demonstração da *Leishmania* e antígenos parasitários nas lesões de LTA foram representados pelas formas amastigotas e pela "marcação celular". Como material controle foram utilizadas lesões com

QUADRO 2 - Localização da lesão, gênero e idade dos pacientes de leishmaniose tegumentar

Caso	Localização da Lesão	Gênero	Idade
1	Ombro esquerdo	♀	36
2	Braço e antebraço esquerdo	♂	50
3	Região frontal	♂	37
4	Braço esquerdo	♂	50
5	Região cervical	♂	21
6	Perna direita	♀	38
7	Não informado	♀	27
8	Punho direito	♂	29
9	Perna esquerda	♀	27
10	Região maleolar esquerda	♀	59
11	Dorso do pé direito	♂	67
12	Coxa esquerda	♀	65
13	Pé direito	♂	74
14	Região clavicular esquerda	♂	39
15	Coxa direita	♀	18
16	Perna direita	♂	65
17	Múltiplas lesões no quadril direito	♂	30
18	Região frontal	♂	14
19	Dorso do pé esquerdo	♂	40
20	Cotovelo direito	♀	28
21	Coxa direita	♀	31

as formas amastigotas evidenciadas pelas colorações de HE e Giemsa e uma biópsia de medula óssea com grande quantidade de formas amastigotas.

A morfologia dos DDFXIIIa+ era fusiforme, a localização ao nível da derme papilar, distribuída horizontalmente sob a junção dermo-epidérmica, em torno dos capilares ou vasos superficiais em associação com mastócitos, monócitos e macrófagos, e difusamente na derme reticular média e profunda, no tecido conjuntivo frouxo, ao redor dos anexos cutâneos, glândulas sudoríparas e folículos pilosebáceos como se observa na figura 1

No grupo controle de pele normal (Figura 2), obteve-se como resultado o número máximo de 60 e mínimo de 42 DDFXIIIa+.

Não foi constatada relação quantitativa significativa entre as células imunomarcadas pelos anticorpos FXIIIa+, CD1a (Figura 3), CD68 (Figura 4), CD20 e CD3, nas lesões de LTA, representadas no quadro 4.

Resultado da análise estatística

A análise dos dados da variável “quantidade de DDFXIIIa+” obtidos nas amostras de pele normal e de pele com leishmaniose, realizada pelo teste de Mann-Whitney ($U = 36$; valor- $p = 0,157$) indicou não haver evidência de diferença estatisticamente significativa.

Comparando-se a quantidade das células

Quadro 3: Número de lesões, tempo de evolução e grupo histopatológico dos pacientes de leishmaniose tegumentar

Caso	Quantidade de lesões	Tempo de evolução	Grupo histopatológico
1	01	3 meses	II
2	Várias	7 meses	II
3	01	Não informado	IV
4	01	Não informado	II
5	01	5 meses	V
6	01	Não informado	II
7	01	Não informado	I
8	01	1 mês	III
9	01	11 meses	II
10	01	3 meses	I
11	01	2 meses	I
12	02	1 mês	I
13	01	Não informado	I
14	01	Não informado	V
15	01	Não informado	III
16	01	Não informado	I
17	Várias	Não informado	II
18	02	4 meses	II
19	01	Não informado	I
20	01	6 meses	II
21	01	Não informado	I

FXIIIa+ de LTA e a classificação nos cinco grupos histopatológicos, ficou demonstrada significância estatística de maior quantidade de células FXIIIa+ no grupo II que no grupo I (teste de Mann-Whitney: $U = 12,5$; valor- $p = 0,036$).

A comparação entre os grupos predominantes I e II e a pele controle quanto ao número de DDFXIIIa+, pelo teste de Kruskal-Wallis, não evidenciou diferença ($p = 0,185$).

DISCUSSÃO

Na infecção pela leishmaniose as primeiras células-alvo dos parasitos são as células dendríticas - células de Langerhans e dendrócitos dérmicos - e os macrófagos.⁹

Devido aos aspectos relevantes dos DDFXIIIa+, ainda em estudo na literatura, optou-se por realizar esta pesquisa utilizando este marcador, comparando-o na leishmaniose cutânea e em pele normal controle, para observar o comportamento desse grupo de células dendríticas. Outras células também se agregam aos granulomas, como linfócitos, plasmócitos, eosinófilos e fibroblastos.¹

A análise da relação entre o tempo de evolução das lesões (tempo da doença) e o grupo histopatológico ou achados imuno-histoquímicos não foi possível, devido à ausência da primeira informação em 11 casos.

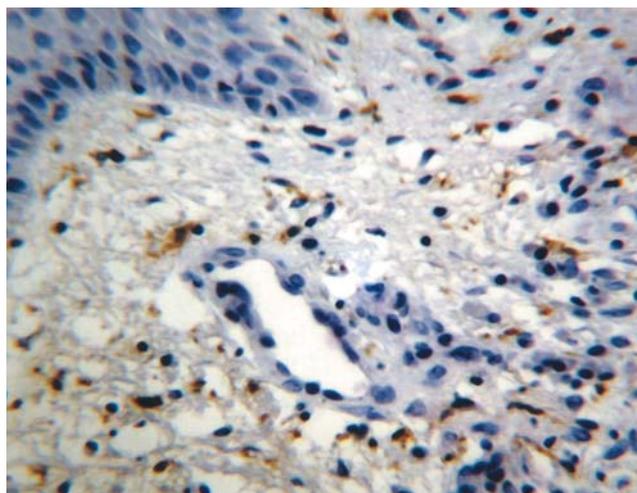


FIGURA 1: Dendrócitos dérmicos FXIIIa+ na derme em lesão de leishmaniose tegumentar (imunoperoxidase com anticorpo anti-FXIIIa, 400x)

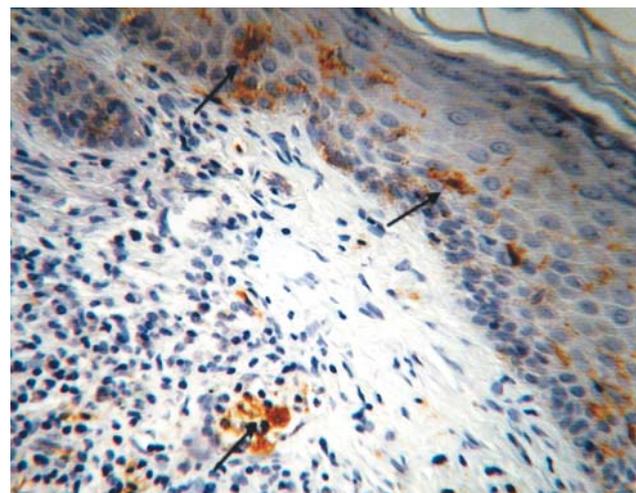


FIGURA 3: Células de Langerhans na epiderme e na derme (setas) em lesão de leishmaniose tegumentar (imunoperoxidase com anticorpo anti-CD1a, 400x)

Nesta pesquisa, em todos os grupos histopatológicos, estava presente a infiltração histio-linfo-plasmocitária, concordando com os relatos de Magalhães *et al.*¹¹, que parece desempenhar papel de resposta celular inespecífica à presença de agente estranho. Linfócitos foram encontrados em todas as lesões. Poeira nuclear, representada por fragmentos de neutrófilos e eosinófilos, esteve presente na maioria dos casos examinados. Nesta fase de poeira nuclear, plasmócitos não estavam presentes, ao contrário de lesões mais antigas. O infiltrado histio-linfo-plasmocitário talvez desempenhe também papel mais agressivo do que simplesmente reacional. Essa pressuposição deverá ser comprovada em outros estudos com utilização de anticorpos monoclonais contra as diversas subpopulações de linfócitos, permitindo a identi-

ficação nos tecidos dos tipos linfocitários que participam de reações auto-agressivas.

Nas lesões de LTA, as células FXIIIa+ estavam presentes em localizações semelhantes às descritas na literatura.¹²⁻¹⁷ Estes resultados sugerem que o mecanismo patogênico básico na formação do granuloma é similar, indiferentemente de sua origem, seja na sarcoidose, na tuberculose ou na leishmaniose.

A hipertrofia dos DD em dermatoses inflamatórias e granulomatosas, com aspecto clínico e histológico de reação de hipersensibilidade retardada, sugerem o provável papel de célula mediadora da resposta imune na pele. A localização destas células, subjacente à epiderme, perivasculares e no infiltrado inflamatório celular, é compatível com o papel de células apresentadoras de antígenos (APC).^{16,18-2}

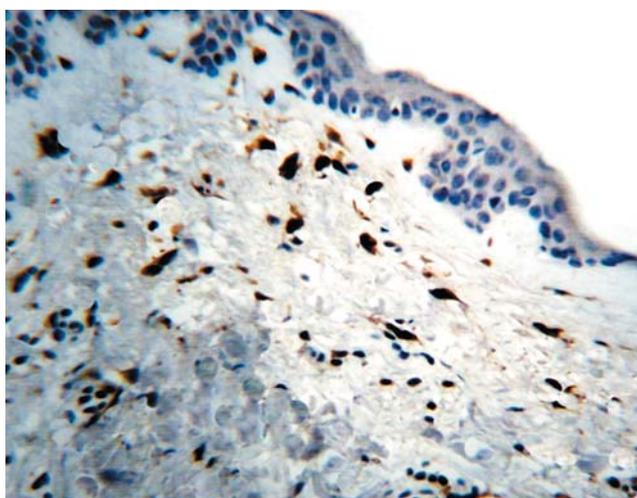


FIGURA 2: Dendrócitos dérmicos FXIIIa+ na derme de pele normal controle (imunoperoxidase com anticorpo anti-FXIIIa, 400x)

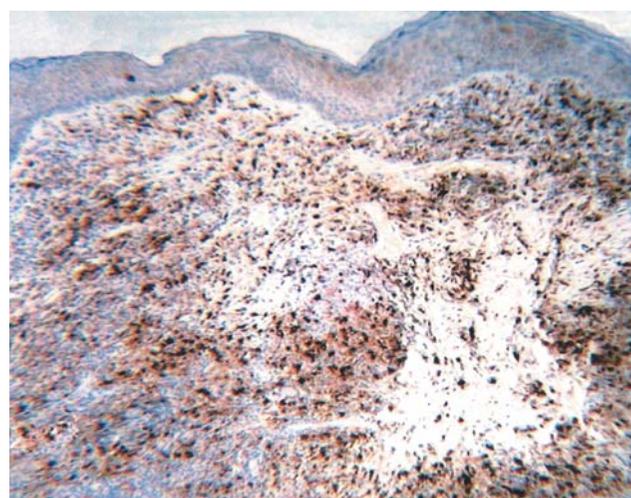


FIGURA 4: Macrófagos na epiderme e em meio ao infiltrado inflamatório dérmico em lesão de leishmaniose tegumentar (imunoperoxidase com anticorpo anti-CD68, 100x)

Quadro 4: Aspectos quanto à presença ou ausência de ulceração, grupos histopatológicos e quantificação das células imunomarcadas dos pacientes de leishmaniose tegumentar (todos positivos para o anticorpo anti-*leishmânia*)

Caso	Aspectos	Grupo histopatológico	FXIIIa+ (*)	CD1a	CD68	CD20	CD3
1	C/ulc	II	32	++	+++	++	+++
2	N/ulc	II	62	+	+++	+	++
3	C/ulc	IV	0	+	+++	++	+++
4	C/ulc	II	51	++	++	+++	++
5	N/ulc	V	63	++	++	+++	++
6	N/ulc	II	47	+++	++	++	+
7	N/ulc	I	30	+++	+++	++	+++
8	N/ulc	III	33	++	++	+++	++
9	ulceração	II	36	++	+++	+	++
10	C/ulc	I	20	++	++	+	++
11	C/ulc	I	52	+++	++	+++	++
12	N/ulc	I	40	++	++	+	++
13	C/ulc	I	51	++	++	++	+
14	ulceração	V	NR	++	+++	++	+++
15	C/ulc	III	19	++	+++	++	+
16	N/ulc	I	29	++	++	+	++
17	C/ulc	II	63	++	+++	+	+++
18	ulceração	II	0	0	++	+	+++
19	C/ulc	I	12	+	+++	+	++
20	C/ulc	II	38	++	+++	++	+++
21	C/ulc	I	31	++	+++	+	+++

(*) número de células em cinco campos seqüenciais de grande aumento (400x);

C/ulc: parcialmente ulcerada;

N/ulc: epiderme não ulcerada; ulceração: totalmente ulcerada;

0: ausência de marcação celular;

NR: contagem não realizada por problemas técnicos;

+ pouca quantidade de células imunopositivas;

++ moderada quantidade de células imunopositivas;

+++ acentuada quantidade de células imunopositivas

As lesões examinadas foram de áreas expostas à luz solar e os nossos achados contrariaram os resultados de Hoyo *et al.*¹³ que relatam que os raios ultravioleta estimulariam o aumento do número destas células, assim como diversas citocinas que estão presentes na LTA. Ao se comparar o número destas células na LTA com o número de células da pele normal da região supra-púbica, não exposta à luz solar, em que o número dos DD deveria estar diminuído, não se encontrou evidência estatística significativa.

Comparando-se a quantidade das células FXIIIa+ entre o grupo controle de pele normal e os grupos histopatológicos de LTA que predominaram (I e II), não houve diferença estatística significativa. Este achado deve ser analisado em outros estudos, relacionando o infiltrado inflamatório celular e o tempo da lesão.

Pagliari & Sotto¹⁴ pesquisaram os DDFXIIIa+, analisando os aspectos morfológicos e quantificando-os na pele com paracoccidioidomicose e na pele normal. Na pele com o fungo, as células FXIIIa+ foram observadas nas localizações similares às deste trabalho, com o número destas células reduzido nas peles

normais utilizadas como controle.

Ainda Sotto¹⁶, em pesquisa dos DDFXIIIa+ em 47 casos de LTA, teve como resultados a hipertrofia e aumento do número destas células, quando comparados ao grupo controle de pele normal (cinco espécimes de região torácica – área pouco exposta ao sol e cinco de região do joelho – área relativamente mais exposta ao sol). Esta população de DDFXIIIa+ não apresentou diferença ao comparar-se com a resposta tecidual granulomatosa ou inespecífica. Constatou ainda que estas células têm a capacidade de internalizar formas amastigotas de leishmânia. Concluiu, com base nos resultados, que os DDFXIIIa+ participam dos mecanismos patogênicos da LTA, atuando também como prováveis APC, conclusões semelhantes aos de pesquisa na cromoblastomicose.^{16,18}

Natah *et al.*¹⁸ não excluem a possibilidade de um subgrupo de células FXIIIa+ poderem representar células de Langerhans epiteliais, as quais não expressam ainda o marcador CD1a, determinante no seu caminho para o epitélio.

As localizações das CL observadas nesta pesquisa são compatíveis com os relatos da literatura,

pois, localizadas na epiderme, estariam sendo infectadas pelas leishmânias e, a seguir, algumas na derme superficial e profunda e de permeio ao infiltrado inflamatório presente na derme, estariam no trajeto de migração para áreas de células T²¹. Após a infecção cutânea pelas leishmânias, as CL são as responsáveis por transportar os parasitos da epiderme para a derme²². Por outro lado, estas células têm a habilidade única de ingerir os parasitos do local da infecção na pele, e levá-los para áreas de células T drenadas pelos linfonodos.²²

Cerio *et al.*²³ sugerem que as Cd dérmicas (DDFXIIIa+) seriam população celular pluripotencial capaz de, em várias circunstâncias, atuar com função macrófágica, função de APC e provavelmente se diferenciarem em células de Langerhans, migrando para a epiderme.

Os macrófagos, imunomarcados com o anticorpo anti-CD68, foram as células observadas em maior quantidade em relação às demais, tanto na epiderme, isoladas sob a forma de exocitose ou em microabscessos, quanto na derme, em meio ao infiltrado inflamatório, em concentrações focais ou difusas. Após análise semiquantitativa, estas células não apresentaram relação quantitativa significativa entre as células FXIIIa+, as células CD1a e as CD20 ou CD3.

Os linfócitos B imunomarcados com o anticorpo anti-CD20 variaram em intensidade de marcação e análise semiquantitativa com relação aos grupos histopatológicos. Não foram observadas na epiderme e estavam em ninhos ou grupamentos na derme em meio ao infiltrado inflamatório. Observou-se que há uma relação semiquantitativa inversa entre as células CD20 e CD3, ou seja, quanto maior a quantidade das células CD20, menor ou moderada a das células CD3 e vice-versa.

Os linfócitos T imunomarcados com o anticorpo anti-CD3, com relação aos linfócitos B, estavam sempre em localização diferente destes, ou de permeio a estes.

A presença dos dendrócitos dérmicos, segundo

a literatura, está relacionada à apresentação de antígenos aos linfócitos T.^{24,25} A análise dos linfócitos T e B, se bem que realizada de modo global, teve o objetivo de verificar a sua relação com os dendrócitos.

A similaridade do número dos DDFXIIIa+ constatado nesta pesquisa, em comparação com a quantidade encontrada na pele normal, seria conseqüente às alterações observadas na população de DDFXIIIa+ decorrentes de fatores presentes no ambiente cutâneo, relacionados com as características da resposta imune mediada por células da LTA. Especula-se se o achado de número não aumentado dos DDFXIIIa+, como em outras pesquisas^{16,19,20}, poderia ser decorrente da migração das CL /DD FXIIIa+ da pele para os linfonodos. Acredita-se que seria necessário um maior número de casos de LTA e a comparação da quantidade de DDFXIIIa+ com a pele normal de área exposta e não exposta à luz solar, para se conseguir um resultado significativo estatisticamente.

Sugere-se que os DDFXIIIa+ continuem sendo estudados na leishmaniose, para que se esclareça o seu papel como APC, que seja avaliada sua atuação no início da resposta imune celular, bem como sua relação com as células de Langerhans, macrófagos, linfócitos B e T.

CONCLUSÃO

1) Os grupos histopatológicos propostos por Magalhães *et al.*^{3,4} que predominaram foram o I (reação exudativa celular) e II (reação exsudativa e necrótica), com quantidade similar de casos. O número de DDFXIIIa+ foi estatisticamente maior no grupo II que no grupo I.

2) O número de dendrócitos dérmicos FXIIIa+ não evidenciou diferença estatisticamente significativa nas lesões de LTA quando comparado ao de controles normais.

3) As células CD1a+, CD68+, CD20+ e CD3+, quando comparadas entre si e com as células FXIIIa+, não apresentou relação relevante. □

AGRADECIMENTO

A Dra. Cláudia Gomes e Dr. Carlos Corbett, do Laboratório de Patologia de Moléstias Infecciosas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela doação do anticorpo anti-*Leishmania*.

Ao diretor do Hospital Escola Dr. Hélio Farias Auto, Dr. Marcelo Constant, e à equipe de médicos colaboradores: Dra. Simone D' Andrada Tenório Silva, Dr. Gilberto Salustiano de Lima, Dra. Rosa Rita Gomes dos Santos Vieira, Dr. Mac Dowell Fortes Silveira Cavalcanti, e Dra. Mirela Bernardina Borges.

Ao Dr. José Euclides de Oliveira, presidente da FAPEAL no período da pesquisa.

Suporte financeiro - agência de fomento que concedeu o auxílio:

FAPEAL - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas como Projeto Induzido (nº 2001099218-2)

Pesquisa aprovada pelo comitê de ética em pesquisa da UNCISAL (Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas - antiga FUNGLAF) sob o número 23/2001.

REFERÊNCIAS

- Moros ZC, Tapia FJ. Participación de los linfócitos T en la Leishmaniasis cutánea. *Dermatol Venez.* 1987;25:19-28.
- Grimaldi JRG. Leishmanioses tegumentares: aspectos clínicos e imunopatológicos. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1982;77:195-215.
- Magalhães AV, Moraes MAP, Raick AN, Llanos-Cuentas A, Costa JML, Cuba CC, et al. Histopatologia da leishmaniose tegumentar americana por *Leishmania braziliensis braziliensis*. Padrões histológicos e estudo evolutivo das lesões. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1986;28:253-62.
- Magalhães AV, Moraes MAP, Raick AN, Llanos-Cuentas A, Costa JML, Cuba CC, et al. Histopatologia da leishmaniose tegumentar americana por *Leishmania braziliensis braziliensis*. Classificação histopatológica. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1986;28:421-30.
- Schubach A, Cuzzi-Maia T, Oliveira AV, Sartori A, Oliveira-Neto MP, Mattos MS, et al. Leishmanial antigens in the diagnosis of active lesions and ancient scars of American tegumentary Leishmaniasis patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001;96:987-96.
- Sotto MN, Yamashiro-Kanashiro EH, Matta VLR, Brito T. Cutaneous leishmaniasis of the New World: diagnostic immunopathology and antigen pathways in skin and mucosa. *Acta Trop.* 1989;46:121-30.
- Fiverson DP, Nickoloff BJ. Distinctive dendritic cell subsets expressing factor XIIIa, CD1a, CD1b and CD1c in mycosis fungoides and psoriasis. *J Cutan Pathol.* 1995;22:223-8.
- Paukkonen K, Naukkarinen A, Horsmanheimo M. The development of manifest psoriatic lesion is linked with the appearance of ICAM-1 positivity on keratinocytes. *Arch Dermatol Res.* 1995;287:165-70.
- de Almeida MC, Vilhena V, Barral A, Barral-Netto M. Leishmanial infection: analysis of its first steps. A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003;98:861-70.
- Mariano M. The experimental granuloma. A hypothesis to explain the persistence of the lesion. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1995;37:161-76.
- Magalhães AV, Moraes MAP, Raick AN, Llanos-Cuentas A, Costa JML, Cuba CC, et al. Histopatologia da leishmaniose tegumentar americana por *Leishmania braziliensis braziliensis*. Reação celular nos tecidos. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1986;28:300-11.
- Brandão AAH. Estudo das células dendríticas FXIIIa+ na paracoccidiodomicose. [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1999.
- Hoyo E, Kanitakis J, Schmitt D. Le dendrocyte dermique. *Pathol Biol.* 1993;41:613-8.
- Pagliari C, Sotto MN. Correlation of factor XIIIa+ dermal dendrocytes with paracoccidiodomycosis skin lesions. *Med Mycol.* 2002;40:407-10.
- Probst-Cousin S, Poremba C, Rickert CH, Böcker W, Gullotta F. Factor XIIIa expression in granulomatous lesions due to sarcoidosis or mycobacterial infection. *Pathol Res Pract.* 1997;193:741-5.
- Sotto MN. Dendrócitos dérmicos fator XIIIa positivos na resposta tecidual cutânea da leishmaniose tegumentar americana. [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2004. p.54-82.
- Soub CRW, Rochaël MC, Cuzzi T. Granuloma anular: distribuição tecidual dos dendrócitos dérmicos fator XIIIa+, das células dérmicas trombomodulina+ e de macrófagos CD68+. *An Bras Dermatol.* 2003;78:289-98.
- Natah SS, Häyrynen-Immonen R, Hietanen J, Malmström M, Kontinen YT. Factor XIIIa-positive dendrocytes are increased in number and size in recurrent aphthous ulcers (RAU). *J Oral Pathol Med.* 1997;26:408-13.
- Pacheco LS, Sotto MN. Factor XIIIa+ dermal dendrocytes in erythema elevatum diutinum and ordinary cutaneous leukocytoclastic vasculitis lesions. *J Cutan Pathol.* 2000;27:136-40.
- Sotto MN, De Brito T, Silva AM, Vidal M, Castro LG. Antigen distribution and antigen-presenting cells in skin biopsies of human chromoblastomycosis. *J Cutan Pathol.* 2004;31:14-8.
- Wolff K. The Langerhans cell. *Curr Probl Dermatol.* 1972;4:79-145.
- Moll H. The role of dendritic cells at the early stages of *Leishmania* infection. *Adv Exp Med Biol.* 2000;479:163-73.
- Cerio R, Griffiths CE, Cooper KD, Nickoloff BJ, Headington JT. Characterization of factor XIIIa positive dermal dendritic cells in normal and inflamed skin. *Br J Dermatol.* 1989;121:421-31.
- Headington JT. The dermal dendrocyte. In: Callen JP, Dahl MV, Goltz LE, Rasmussen JE, Stegmen SJ, eds. *Advances in dermatology*. Chicago: Year Book Medical Publishers; 1986.p.159-71.
- Steinman RM, Nussenzweig MC. Dendritic cells: features and functions. *Immunological Rev.* 1980;53:127-47.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Maria Luisa Duarte
 Conjunto Jardim Petrópolis II-E, nº 55, Santa Amélia
 57063-210 - Maceió - Alagoas
 Tel: (82) 3314-1415, (82) 9972-5571
 Fax: (82)3314-2619
 E-mail: maraluduarte@uol.com.br

Como citar este artigo: Duarte ML, Rochaël MC. Perfil histopatológico e imuno-histoquímico da leishmaniose tegumentar americana com ênfase nos dendrócitos dérmicos FXIIIa+. *An Bras Dermatol.* 2006;81(6):541-8.