

VACINAS CONTRA A HANSENÍASE

João Renato Rebello Pinho¹
Heitor Franco de Andrade Júnior²
Ana Clara Guerrini Schenberg³

RESUMO - A única vacina contra a hanseníase já aprovada para uso humano é o uso de *Mycobacterium bovis* BCG, utilizada primariamente contra a tuberculose. Entretanto, a eficácia desta vacina contra a hanseníase é bastante variável na literatura científica. Desta forma, a pesquisa de outras vacinas com resultados mais reprodutíveis permanece. Neste artigo, revemos as vacinas já desenvolvidas contra a hanseníase e os possíveis novos desenvolvimentos que podem aparecer. Discutimos também a utilização de outras micobactérias, *M. leprae* inativado, antígenos recombinantes, DNA e mecanismos de modificação da apresentação antigênica.

Palavras-chave: Hansen íase. *Mycobacterium leprae*. Vacinas. Micobactérias. Antígenos recombinante

INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento do modelo de infecção experimental de camundongos^{30,35,36}, tornou-se possível a pesquisa de vacinas contra a hanseníase, estudando-se a proteção desencadeada após imunização com diferentes preparações. Um dos primeiros a ser examinado foi o *Mycobacterium bovis* BCG, que já era utilizado na vacinação contra a tuberculose, e que se mostrou também eficaz na proteção contra a infecção por *M. leprae* em camundongos (ou seja, capaz de diminuir a multiplicação de *M. leprae* inoculados na pata, em relação ao grupo-controle não inoculado)^{37,40,42}.

Posteriormente, demonstrou-se também certa proteção de camundongos à reinfecção com o próprio *M. leprae*^{20, 22, 39,41}. A imunização com *M. leprae* morto pelo calor mostrou ser

capaz de induzir proteção em tatus²¹. A indução de imunidade celular, monitorizada pelo edema de pata, foi verificada em 26 camundongos e 24 cobaias, imunizados com *M. leprae* irradiado.

Proteção, i.e., diminuição da multiplicação bacilar nas patas dos camundongos, foi observada em camundongos utilizando-se *M. leprae* inativado pelo calor^{41,43}. Observou-se, também, que a capacidade de induzir resposta de hipersensibilidade tardia e proteção contra infecção estavam relacionadas⁴⁴ e as preparações obtidas com *M. leprae* inativado por calor ou por irradiação eram equivalentes quanto a estes efeitos^{43,44}.

Para o uso humano, até o momento, a única vacina contra a hanseníase utilizada em larga escala é o BCG, cuja eficácia é bastante variável (20 a 80%), conforme o estudo considerado^{9,25,28,32}.

¹Laboratório de Biologia Molecular, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo - SP. E-mail: jrrpinho@vsp.br

²Laboratório de Protozoologia, Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Faculdade de Medicina da Universidade de S. Paulo.

³Centro de Pesquisas em Biotecnologia, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de S. Paulo.

DISCUSSÃO

Na busca de maior eficácia e reprodutibilidade do que aquelas proporcionadas pelo BCG, tomando por base os resultados obtidos nos experimentos com animais, tem-se utilizado *M. leprae* inativado isoladamente ou em associação com BCG, como vacina contra a hanseníase.

Verificou-se que a imunização de indivíduos sadios com *M. leprae* inativado por irradiação induz o aparecimento de resposta de hipersensibilidade tardia contra *M. Leprae*^{15,16,27,33,47}. A avaliação e a comparação dos resultados obtidos com estes ensaios é complexa, pois o uso de diferentes preparações de *M. leprae* como antígeno para os testes cutâneos pode levar a avaliações muito diferentes da eficácia da vacina testada²⁷.

O uso de BCG associado com *M. leprae* inativado foi baseado nos resultados obtidos em experimentos realizados em camundongos, nos quais a resposta celular contra *M. lepraemurium* era desencadeada por uma mistura desta com BCG¹⁹. Inicialmente, observou-se uma estimulação imunológica específica contra *M. leprae* em pacientes com a forma indeterminada da doença e em contatos Mitsuda - negativos^{3,4}. Estes resultados encorajaram o uso desta preparação como vacina e foram obtidos resultados satisfatórios do ponto-de-vista imunológico^{5,6}. Entretanto, os resultados iniciais de um grande estudo controlado, realizado na Venezuela, não demonstraram qualquer evidência de que esta mistura oferecesse melhor proteção do que o BCG isolado⁷. Estes resultados não são definitivos, pois a região estudada não apresenta uma grande endemicidade e o período de incubação da hanseníase é muito longo. Portanto, o número de casos novos encontrados ainda é muito baixo. Estudos em regiões de maior endemicidade estão sendo realizados para uma melhor avaliação desta vacina¹⁸.

A utilização de micobactérias cultiváveis não-patogênicas também se apresenta como uma alternativa¹⁷ e duas linhagens isoladas na

Índia estão atualmente sendo testadas em humanos: *Mycobacterium w*^{29,34,49} e *Mycobacterium* ICRC^{1,8}. Outra micobactéria cultivável, *M. habana* (atualmente conhecida como *M. simiae* serovar 1) mostrou também ser capaz de induzir proteção em camundongos contra a infecção por *M. leprae*, sendo que a proteção foi maior com o antígeno irradiado do que com o antígeno inativado pelo calor⁴⁶.

A utilização de antígenos recombinantes de *M. leprae* representa uma outra possibilidade para o desenvolvimento de uma vacina contra a hanseníase. Em relação às vacinas descritas anteriormente, o uso de proteínas recombinantes apresenta algumas vantagens. Em primeiro lugar, com o desenvolvimento de sistemas de expressão eficientes, estes antígenos podem ser obtidos em maior quantidade e com menores dificuldades de preparação. Em segundo lugar, podem-se utilizar apenas proteínas capazes de induzir resposta protetora, evitando-se aqueles antígenos supressores da resposta imunológica. Em terceiro lugar, os antígenos recombinantes serão iguais àqueles presentes em *M. leprae*, o que não acontece quando se utiliza outras micobactérias cultiváveis.

Entretanto, demonstrou-se que nenhum dos antígenos isolados de *M. leprae* até o momento é capaz de induzir resposta protetora duradoura, apesar de observar-se este tipo de resposta nos primeiros meses com os antígenos de 10 kDa e 65 kDa. Alguma proteção neste período também foi observada com o antígeno de 28 kDa, e, fato curioso, uma proteção ainda menor e fugaz foi verificada com o antígeno de 18 kDa produzido em *E. coli*², apenas na dose mais baixa empregada¹³. Por outro lado, a vacinação de camundongos com subunidades protéicas extraídas de *M. leprae* leva a proteção importante e duradoura, freqüentemente sem nenhuma micobactéria detectada nos animais vacinados^{11,12}, especialmente quando se utilizam frações que incluam polipeptídeos de peso molecular entre 1 a 3 kDa¹⁴. Estes resultados sugerem que misturas de diferentes antígenos recombinantes

poderiam potencializar o efeito individual de cada um deles e talvez levar a uma melhora da resposta protetora efetiva, especialmente em prazos mais longos^{11,13}.

A meta principal na vacinação contra a hanseníase consiste em estimular uma potente resposta celular, dado que a proteção contra esta doença está intimamente relacionada com este tipo de resposta imune^{9,31}. Com efeito, a avaliação da eficácia vacinal se faz pelo aparecimento de reação a testes cutâneos em indivíduos que previamente não respondiam a estes^{5,6,15,16,27,33,47}. A estimulação efetiva da resposta celular, tanto de células CD4+ como CD8+, pode ocorrer pela apresentação conjunta do antígeno junto aos antígenos de histocompatibilidade, o que pode ser feito usando-se vetores vivos, como, por exemplo, o BCG⁴⁸, ou pela imunização com macrófagos que expressam o antígeno

recombinante na membrana celular (conseguido com o antígeno de 65kDa de *M. leprae* por Silva *et al.*, em 1992)⁴⁵, ou ainda, por meio de imunização com DNA²³.

Outra maneira de alcançar este objetivo, é tornar a proteína em si mais reconhecível como estranha pelo sistema imune do hospedeiro. Este mecanismo parece ser o responsável pela maior imunogenicidade de materiais irradiados, provocado por alterações nas estruturas secundária e terciária da proteína, clivagem e formação de agregados ou mesmo pela modificação de alguns aminoácidos da cadeia polipeptídica⁵⁰. A irradiação poderia provocar um balanço ideal, produzindo antígenos que fossem suficientemente diferentes da conformação normal, para induzir potente imunidade, e, ainda suficientemente semelhantes à estrutura original para que a memória imunológica fosse ativada pela exposição ao agente infeccioso⁵¹.

SUMMARY - Only *Mycobacterium bovis* BCG have already been approved for human use as a vaccine against leprosy although the major goal for its use is protection against tuberculosis. Furthermore, a large variability (20-80%) in its efficacy have been reported. Many groups are studying new vaccines against leprosy in the search of preparations with better reproducibility and efficacy. In this paper, we review the alternative vaccines already studied and the recent new developments (other mycobacteria, inactivated *M. leprae*, recombinant antigens, DNA, and mechanisms to modify the antigenic presentation).

Key-words: Leprosy. *Mycobacterium leprae*. Vaccines. Micobacteria. Recombinant antigens.

Agradecimentos: Este trabalho foi financiado por World Health Organization/ Tropical Diseases Research Programme/ World Bank, Centro Brasileiro-Argentino de Biotecnologia, LIMHCFMUSP e CAPES.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAPAT, C.V., MODAK, M.S. Growth of ICRC bacilli in footpad of mice. *Leprosy India*, v.50, p.144-155, 1978.
2. BOOTH, R.J., HARRIS, D.P., LOVE, J.M. et al. Antigenic proteins of *Mycobacterium leprae*: complete sequence of the gene for the 18kDa protein. *J. Immunol*, v.140, p.597-601, 1988.
3. CONVIT, J., ARANZAZU, N., ULRICH, M. Immunological changes observed in indeterminate and lepromatous leprosy patients and Mitsuda-negative contacts after the inoculation of a mixture of *Mycobacterium leprae* and BCG. *Clin. Exp. Immunol*, v.36, p. 214-220. 1979.
4. CONVIT, J., ARANZAZU, N., ULRICH, M. et al. Immunotherapy with a mixture of *Mycobacterium leprae* and BCG in different forms of leprosy and in Mitsuda-negative contacts. *Int. J. Leprosy*, v.50, p. 415-424, 1982.

5. CONVIT, J., ARANZAZU, N., ULRICH, M. et al. Investigations related to the development of a leprosy vaccine. *Int. J. Leprosy*, v.51, p.531-539, 1983.
6. CONVIT, J., ULRICH, M., ARANZAZU, N. et al. The development of a vaccination model using two organisms and its application in leprosy and leishmaniasis. *Leprosy Rev.*, v.57, p.263-273, 1986.
7. CONVIT, J., SAMPSON, C., ZUÑIGA, M. et al. Immunoprophylactic trial with combined *Mycobacterium leprae*/BCG vaccine against leprosy: preliminary results. *Lancet*, v.339, p.446-450, 1992.
8. DEO, M.G., BAPAT, C.V., BHALERAO, V. et al. Antileprosy potentials of the ICRC vaccine: a study in patients and health volunteers. *Int. J. Leprosy*, v. 51, p.540-549, 1984.
9. FINE, P.E.M., PONNIGHAUS, J.M., MAINE, N.P. The relationship between delayed type hypersensitivity and protective immunity induced by mycobacterial vaccines in man. *Leprosy Repr.*, v.57 (supl. 2), p.275-283, 1986.
10. FINE, P.E.M., RODRIGUEZ, L.C. Modern vaccines: mycobacterial diseases. *Lancet*, v.335, p.1016-1020, 1990.
11. GELBER, R.H., BRENNAN, P.), HUNTER, S.W. Effective vaccination of mice against leprosy with subunits of *Mycobacterium leprae*. *Inf. Immun.*, v.58, p.711-718, 1990.
12. GELBER, R.H., MURRAY, L.P., SIU, P. et al. Vaccination of mice with a soluble protein fraction of *Mycobacterium leprae* provides consistent and long-term protection against *M.leprae* infection. *Inf. Immun.* v.60, p.1840-1844, 1992.
13. GELBER, R.H., MEHRA, V., BLOOM, B. et al. Vaccination with pure *Mycobacterium leprae* proteins inhibits *M. leprae* multiplication in mouse footpads. *Inf. Immun.*, v.62, p.4250-4255, 1994.
14. GELBER, R.H., HUNTER, S.W., MURRAY, L.P. et al. Effective vaccination of mice against *Mycobacterium leprae* with density gradients subfractions of soluble *M. leprae* proteins: clues to effective proteins epitopes. *Leprosy Rev.*, v.65, p.175-180, 1994.
15. GILL, H.K., MUSTAFA, A.S., GODAL, T. Induction of delayed-type hypersensitivity in human volunteers immunized with a candidate leprosy vaccine consisting of killed *Mycobacterium leprae*. *Bull. WHO*, v.64, p.121-126, 1986.
16. GILL, H.K., MUSTAFA, A.S., GODAL, T. Vaccination of human volunteers with heat killed *M. leprae*: local responses in relation to the interpretation of the lepromin reaction. *Int. J. Leprosy*, v. 56, p.36-44, 1988.
17. GUPTA, M.D. Vaccines against leprosy. *Indian J. Leprosy*, v.63, p.342-349, 1991.
18. GUPTA, M.D., ANATHARAMAN, D.S., LOURDURAJ, R. et al. Sensitization potential and reactogenicity of BCG with and without various doses of killed *Mycobacterium leprae*. *Int. J. Leprosy*, v.60, p.340-352, 1992.
19. HANKS, J.H., FERNANDEZ, J.M.M. Enhancement of resistance of murine leprosy by BCG plus specific antigen. *Int. J. Leprosy*, v.24, p.65-73, 1956.
20. KAWAGUCHI, Y. Superinfection with leprosy bacilli in mice. *Int. J. Leprosy*, v.40, p.91-92, 1972.
21. KIRCHHEIMER, W.F., SANCHEZ, R.M., SHANNON, E.J. Effect of specific vaccine on cell-mediated immunity in armadillos against *M. leprae*. *Int. J. Leprosy*, v.46, p.353-363, 1978.
22. LEVY, L. Superinfection in mice previously infected with *Mycobacterium leprae*. *Inf. Immun.*, v.11, p.1094-1099, 1975.
23. LOWRIE, D.B., TASCONE, R.E., COLSTON, M.J. et al. Towards a DNA vaccine against tuberculosis. *Vaccine*, v.12, p.1537-1540, 1994.
24. MEHRA, V.L., BLOOM, B.R. Induction of cell mediated immunity to *Mycobacterium leprae* in guinea pigs. *Inf. Immun.*, v.23, p.787-794, 1979.
25. MEHRA, V.L., SALGAME, R, SNAPPER, S.B. et al. Vaccines against leprosy. In: PLATKIN, S.A., MORTIMER JR., E.A., eds. *Vaccines*. Philadelphia: WB Saunders, 1988.
26. PATEL, R. J., LEFFORD, M.J. Induction of cell-mediated immunity to *Mycobacterium leprae* in mice. *Inf. Immun.*, v.19, p.87-93, 1978.

27. PÖNNINGHAUS, J.M., FINE, P.E.M. Sensitization studies with potential leprosy vaccine preparations in Northern Malawi. **Int. J. Leprosy**, v.54, p.25-37, 1986.
28. PÖNNINGHAUS, J.M., FINE, P.E.M., STERNE, J.A.C. et al. Efficacy of BCG vaccine against leprosy and tuberculosis in Northern Malawi. **Lancet**, v.339, p.636-639, 1992.
29. REDDI, P.P., AMIN, A.G., KHAANDEKAR, P.S. Molecular definition of unique species status of *Mycobacterium w* a candidate leprosy vaccine strain. **Int. J. Leprosy**, v.62, p.229-236, 1994.
30. REES, J.F.W. Limited multiplication of acid-fast bacilli in the foot pads of mice inoculated with *Mycobacterium Leprae*. **Br. J. Exp. Pathol.**, v.45, p. 207-216, 1964.
31. REES, J.F.W. Enhanced susceptibility of thymectomized and irradiated mice to infection of *Mycobacterium leprae*. **Nature**, v.211, p.657-658, 1966.
32. RODRIGUES, M.L.O. et al. Protective effect of intradermal BCG against leprosy: a case-control study in central Brazil. **Int. J. Leprosy**, v.60, p.335 - 339, 1992.
33. SAMUEL, N.M., STANFORD, J.L., REES, R.J.W. et al. Human vaccination studies on normal and contacts of leprosy patient. **Indian J. Leprosy**, v.56, p.36-47, 1984.
34. SAXENA, V.K., SINGH, U.S., SINGH, A.K. Bacteriological study of a rapidly growing strain of *Mycobacterium*. **Leprosy India**, v.50, p.588-596, 1978.
35. SHEPARD, C.C. The experimental disease that follows the injection of human leprosy bacilli into foot-pads of mice. **J. Exp. Med.**, v.112, p.445-454, 1960.
36. SHEPARD, C.C. Acid-fast bacilli in nasal excretions in leprosy and result of inoculation of mice. **Am. J. Hyg.**, v.71, p.147-157, 1960b.
37. SHEPARD, C.C. Vaccination against experimental infection with *Mycobacterium Leprae*. **Am. J. Epidemiol.**, v.81, p.150-163, 1965.
38. SHEPARD, C.C., RIBI, E. Cell walls from *Mycobacterium tuberculosis* (BCG) as a vaccine against *Mycobacterium Leprae* infection in mice. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.127, p.517-521, 1968.
39. SHEPARD, C.C., VAN LANDIGHAM, R.V., WALKER, L. Immunity to *Mycobacterium leprae* infections in mice stimulated by *M.leprae*, BCG and graft- versus - host reactions. **Inf. Immun.**, v.14, p.919-928, 1976.
40. SHEPARD, C.C., WALKER, L.L., VAN LANDIGHAM, R.V. Immunity to *Mycobacterium leprae* infections induced in mice by BCG vaccination at different times before or after challenge. **Inf. Immun.**, v.19, p.391-394, 1978.
41. SHEPARD, C.C. WALKER, L.L., VAN LANDIGHAM, R.V. Heat stability of *Mycobacterium leprae* immunogenicity. **Inf. Immun.**, v.22, p.87-93, 1978.
42. SHEPARD, C.C., VAN LANDIGHAM, R.V., WALKER, L. Searches among mycobacterial cultures for antileprosy vaccines. **Inf. Immun.**, v.29, p.1034-1039, 1980.
43. SHEPARD, C.C., DRAPER, P., REES, R.J.W. et al. Effect of purification steps on the immunogenicity of *Mycobacterium Leprae*. **Br. J. Exp. Pathol.**, v.61, p.376-379, 1980.
44. SHEPARD, C.C., MINAGAWA, F., VAN LANDIGHAM, R.V. et al. Foot pad enlargement as a measure of induced immunity to *Mycobacterium leprae*. **Int. J. Leprosy**, v.48, p.371-381, 1980.
45. SILVA, C.L., PALÁCIOS, A., COLSTON, M.J. et al. *Mycobacterium leprae* 65hsp antigen expressed from a retroviral vector in a macrophage cell line is presented to T cells in association with MHC class II in addition to MHC class I. **Microb. Pathogen.**, v.12, p.27-38, 1992.
46. SINGH, N.B., LOWE, C.R.E., REES, R.J.W. et al. Vaccination of mice against *Mycobacterium Leprae* infection. **Inf. Immun.**, v.57, p.653-655, 1989.
47. SMELT, A.H.M., REES, R.J.W., LIEW, F.Y. Induction of delayed type hypersensitivity to *Mycobacterium leprae* in healthy individuals. **Clin. Exp. Immunol.**, v.44, p.501-506, 1981.
48. STOVER, C.K., DE LA CRUZ, V.F., BANSAL, G.P. et al. Use of recombinant BCG as a vaccine delivery vaccine. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v.327, p.175 -182, 1992.

49. TALWAR, G.P., ZAHEER, S.A., MUKHERJEE, R. et al. Immunotherapeutic effects of a vaccine based on a saprophytic cultivable mycobacterium, *Mycobacterium w*, in multibacillary patients. **Vaccine**, v.8, p.121-129, 1990.
50. VON SONNTAG, C. The chemical basis of radiation biology. London: Taylor & Francis, 1987.
51. WALES, A., KUSEL, J.R. Biochemistry of irradiated parasite vaccines: suggested models for their mode of action. **Parasit. Today**, v.8, p.358-363, 1992.