

# Leishmaniose Tegumentar Americana: mecanismos imunológicos, tratamento e profilaxia

ROBERTA OLMO PINHEIRO,  
farmacêutica, doutoranda em Ciências Biológicas, Instituto de Ciências Biológicas -UFRJ. Docente da  
Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade Severino Sombra, Vassouras (RJ).  
E-mail do autor responsável: [roberta@biof.ufrj.br](mailto:roberta@biof.ufrj.br)

## LEISHMANIOSE

Atualmente, a leishmaniose afeta aproximadamente 12 milhões de pessoas, em 88 países (WHO/TDR, 2003). Somente a flebotomíneo fêmea transmite o protozoário, infectando-se com os parasitas contidos no sangue que ela suga do hospedeiro humano ou outro mamífero. As leishmanioses são importantes em termos de morbidade e algumas são severas em termos de mortalidade (MAYRINK & MAGALHÃES, 1999). No homem, a doença ocorre em quatro formas clínicas principais: cutânea, mucocutânea, difusa e visceral.

A forma visceral é a mais grave da doença e pode causar febre, perda de peso, hepatoesplenomegalia, hipergamaglobulinemia, chegando a ser fatal, se não for tratada (MODABBER, 1993). Já as formas tegumentares, são causadas principalmente por *Leishmania major* e *L. tropica* no Velho Mundo e por membros dos complexos *L. mexicana* e *L. braziliensis* no Novo Mundo (BERMAN, 1997).

No Brasil, a *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e a *L. guyanensis* são as principais causadoras das formas tegumentares da

doença (COUTINHO, 1987). Todas as três espécies podem produzir a forma clínica mais comum da doença, a cutânea localizada, causando uma lesão na pele que pode curar espontaneamente, após algumas semanas ou meses, mas pode deixar marcas permanentes. A forma mucocutânea inicia-se com úlceras simples de pele, as quais podem produzir metástases na região oronasal, causando destruição tecidual, em alguns casos extremamente mutilantes.

A forma cutânea-difusa produz lesões crônicas e disseminadas, as quais se assemelham às da lepra e são mais difíceis de curar. Estas lesões múltiplas contêm alto número de parasitos e são causadas pela *L. amazonensis*, no Brasil. Ao contrário da forma mucocutânea, que induz a um aumento da imunidade celular do hospedeiro, a leishmaniose cutânea difusa é caracterizada por ausência de resposta celular e não responde ao teste de Montenegro (LAINSON, 1983).

A leishmaniose cutânea começa com uma pápula ou nódulo no sítio de inoculação pelo mosquito infectado. A pápula aumenta lentamente e ulcera para formar uma úlcera crônica. Uma ou mais úlceras podem se desenvolver, dependendo das espécies de *Leishmania*. O período de incubação da leishmaniose cutânea é

tipicamente de duas a quatro semanas, mas pode se estender de dias ou até mesmo três anos (ROSEN, 1994).

Estima-se que ocorram 2 milhões de novos casos da doença, anualmente, sendo de 1-1,5 milhões de casos de leishmaniose cutânea e 500 mil de leishmaniose visceral. No entanto, somente 600.000 casos são oficialmente declarados, anualmente, pois a declaração é obrigatória em somente 32 dos 88 países afetados por leishmaniose. No Brasil, por exemplo, a notificação não é obrigatória. Mais de 90% dos casos de leishmaniose visceral ocorrem, em países como o Brasil, Bangladesh, Índia e Sudão. Já os casos de leishmaniose cutânea são encontrados, principalmente, no Irã, Arábia Saudita, Brasil, Peru e Afeganistão (WHO/TDR, 2003).

No Brasil, foram notificados 11.689 casos de leishmaniose tegumentar e 2.153 casos de leishmaniose visceral, no período de janeiro a dezembro de 1998 (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO, 1998), sendo a maior incidência de casos, nos Estados do Pará, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Maranhão e Rondônia.

### Aspectos imunológicos da doença

A produção de IFN- $\gamma$  por células "Natural Killer" (NK) em resposta a IL12 e a produção de IL4, por células tais como os mastócitos e basófilos, pode ser importante na iniciação de respostas Th1 e Th2. As células NK têm sido descritas como fonte de IFN- $\gamma$ , o qual auxilia na diferenciação da sub-população de células CD4<sup>+</sup> e induz resistência à *L. major* em camundongos (SCHARTON & SCOTT, 1993).

As células CD8<sup>+</sup> também podem produzir quantidades substanciais de IFN- $\gamma$  (SALGAME *et al*, 1991) e podem participar na regulação inicial das respostas de citocinas pela célula CD4<sup>+</sup>. Além disso, a presença de células CD8<sup>+</sup> com um padrão de citocinas similar ao da célula Th2 também já foi descrito na leishmaniose humana (UYEMURA *et al*, 1993).

As células T CD4<sup>+</sup> também podem ser fontes de citocinas no meio local da ativação primária de células T específicas a *Leishmania*. A secreção local de IFN- $\gamma$  poderia direcionar a resposta de célula T específica ao parasita a desenvolver uma resposta do tipo Th1. As características diferentes das sub-populações Th1 e Th2 implicam em funções diferentes no curso da elaboração da resposta imune.

As células Th1 estão envolvidas principalmente na eliminação de patógenos intracelulares e nas respostas imunológicas do tipo celular. Por outro lado, os linfócitos ditos do tipo Th2 estão envolvidos na indução da resposta humoral e nos fenômenos de eosinofilia. As células do tipo Th1 são caracterizadas pela secreção de IL2, IFN- $\gamma$  e TNF. Já as células do tipo Th2 produzem IL4, IL5, IL6, IL9, IL10 e IL13. As sub-populações Th1 e Th2 também induzem a síntese de anticorpos de isotipos diferentes. A estimulação policlonal de células B *in vitro* e a indução de respostas de anticorpos específicas a um antígeno, *in vitro* ou *in vivo*, demonstram que as células Th1 induzem respostas de anticorpos dominadas pelo isotipo IgG2a, enquanto as células Th2 favorecem a síntese de isotipos IgG1, IgE e IgA (COFFMAN & CARTY, 1986; COFFMAN *et al*, 1988).

Apesar das respostas Th1 e Th2 serem bem documentadas, há células que expressam citocinas dos dois tipos e por isso são denominadas Th0. Já as células que produzem altas quantidades de TGF -  $\beta$  são chamadas de Th3 (MOSMANN & SAD, 1996). O modelo de infecção melhor estudado é o da infecção de camundongos por *L. major*.

A realidade funcional das sub-populações Th1 e Th2 foram particularmente bem estabelecidas no modelo experimental de infecção de camundongos por *Leishmania* em função da existência

de camundongos geneticamente sensíveis ou resistentes a esses parasitas. Os camundongos geneticamente sensíveis (BALB/c, por exemplo) desenvolvem lesões cutâneas no sítio de injeção; já os camundongos geneticamente resistentes (C57Bl/6, CBA, C3H), parecem curar rapidamente e se mostram resistentes a novas reinfecções.

Numerosos trabalhos demonstram que a progressão da doença está associada à ativação de células Th2. A dicotomia funcional está associada à produção de IL4 em camundongos sensíveis e de IFN- $\gamma$  em camundongos resistentes no que concerne à *L. major* (HEINZEL *et al*, 1989). O desenvolvimento de uma resposta predominantemente do tipo Th2 pode ser um componente importante na extrema susceptibilidade de camundongos BALB/c a *Leishmania*, mas parece ser menos importante na manutenção das infecções crônicas, não fatais, associadas com as infecções de *L. amazonensis* em camundongos C57Bl/10 (SCOTT & AFONSO, 1993), onde a involução da resposta Th1 é que parece determinar a maior susceptibilidade.

A dicotomia Th1 x Th2 também é observada em casos humanos, onde uma maior gravidade da infecção por *L. braziliensis* aparece associada ao fenótipo Th2. Os pacientes que contraem a forma cutânea de leishmaniose, desenvolvem uma resposta do tipo Th1 ao nível das lesões, enquanto uma resposta do tipo Th2 aparece no nível das lesões mucocutâneas dos pacientes que sofrem da forma crônica associada a uma destruição das mucosas (PIRMEZ *et al*, 1993).

Apesar da importância da resposta Th1 na cura da infecção, é importante salientar que não são todos os clones Th1 que são sempre protetores, já que dentre os vários epítotos T CD4<sup>+</sup> identificados na principal glicoproteína de superfície da forma promastigota de *L. major*, gp63, apenas um epítoto é capaz de estimular células Th1 e proteger camundongos contra a infecção (JARDIM *et al*, 1990). Além disso, a molécula recombinante PSA-2 (Antígeno de Superfície de Parasita - de *L. major*), purificada de *Escherichia coli* e administrada em lipossomos ou *Corynebacterium parvum* como adjuvante, é capaz de gerar uma forte resposta do tipo Th1, mas não protege os camundongos contra a infecção (SJÖLANDER *et al*, 1998).

Alguns estudos sugerem que a ativação das células Th1 ou Th2 é influenciada pela associação peptídeo-molécula de classe II apresentada às células T. Diferentes variantes do peptídeo dominante 12-26 da proteína cI do repressor do fago  $\lambda$  foram produzidos com a ajuda de mutações pontuais. Esses variantes diferem de forma a induzir uma resposta de hipersensibilidade dependente de IL4 e uma produção de anticorpos, o que indica que a natureza do epítoto reconhecido pelas células T CD4<sup>+</sup> pode modificar o tipo das células efetoras (SOLOWAY *et al*, 1991).

A dose do antígeno também pode modificar a natureza celular ou humoral da resposta imune por sua influência sobre a orientação da diferenciação Th1 ou Th2. No modelo de infecção murina por *L. major*, camundongos no início da infecção desenvolvem uma reação de hipersensibilidade quando desafiados com um extrato de *Leishmania*. Estes animais se tornam resistentes a infecções subsequentes com doses de parasitas que levariam a lesões cutâneas irreversíveis (BRETSCHER *et al*, 1992).

A forma solúvel ou particulada do antígeno pode influenciar na diferenciação dos linfócitos T CD4<sup>+</sup> ativados. O tratamento de camundongos com Ovalbumina (OVA) polimerizada, resulta em uma diminuição da resposta de anticorpos IgE e um aumento da taxa de IgG2a produzida em resposta à OVA nativa (HAYGLASS & STEFURA, 1991). Além disso, a administração *in vivo* da OVA polimerizada induz uma produção maior de IFN- $\gamma$  quando compa-

rada à injeção de OVA nativa (GAZZINELLI *et al*, 1992). Estes resultados podem sugerir que antígenos de alto peso molecular orientam a resposta T CD4<sup>+</sup> para um perfil Th1.

### Tratamento

A base terapêutica da leishmaniose é o antimonial pentavalente complexado a um carboidrato (BERMAN, 1988). Dois produtos equivalentes são usados: o Estibogluconato de Sódio (Pentostam®), utilizado, primeiramente, em países de língua inglesa, e o Antimoniato de meglumina (Glucantime®), usado predominantemente em países de língua não-inglesa. Os antimoniais começaram a ser usados no tratamento da leishmaniose, em 1912, e a formulação corrente tem sido usada, desde 1945. Porém, há inúmeros problemas na terapia usando antimoniais. Um deles está no fato de que os antimoniais devem ser administrados pela via parenteral.

Nas zonas rurais, onde há os maiores índices de leishmaniose, a administração parenteral da droga é cara e difícil de acompanhar, se comparada à terapia oral. Há ainda os efeitos colaterais, que incluem variações eletrocardiográficas transientes, elevação dos níveis de transaminase séricos, reações dérmicas locais, anorexia, náuseas, vômitos e mialgia. Os antimoniais são contra-indicados na gravidez e em pacientes com doenças renais, hepáticas e cardíacas (ROSEN, 1994).

A resistência aos antimoniais também parece ser um fenômeno crescente em todas as formas de leishmaniose (GROGL, THOMASON & FRANKE, 1992) e estudos recentes sugerem um novo mecanismo de resistência a drogas no qual a proteína de múltipla resistência a Drogas de *Leishmania* (LaMDR1) está localizada na membrana mitocondrial e, isso pode ser um indicativo de que novas drogas tenham que ter como alvo a membrana mitocondrial do parasita e não a membrana externa (KATAKURA *et al*, 1999).

No momento, é impossível combater a leishmaniose, utilizando-se um único enfoque. Um conjunto de fatores deve ser observado, tais como o controle do vetor e a própria terapia antimonial, cuja administração induz severa toxicidade. A vacinação, desta forma, parece ser uma exceção, já que a obtenção de uma vacina segura e eficaz poderá ser utilizada, de forma profilática, impedindo a disseminação da doença (PINHEIRO, 2000).

As novas colonizações em áreas rurais, mudanças no meio-ambiente e urbanização não-planejada aumentaram o contacto do homem com o vetor e a interação com o reservatório animal. Pelo fato de haver várias espécies de *Leishmania* que estão relacionadas às diferentes manifestações clínicas da doença; é quase impossível a obtenção de um único enfoque capaz de controlar e combater a leishmaniose em geral. Uma medida profilática simples parece ser o controle do vetor e também de reservatórios da doença. No entanto, medidas de controle como estas requerem uma certa infraestrutura que a maior parte dos países não consegue manter (MODABBER, 1992). Assim sendo, o desenvolvimento de uma vacina que seja eficaz contra diferentes formas de leishmaniose cutânea, no Velho e no Novo Mundo, torna-se necessário.

Estudos iniciais, realizados em Israel e na União Soviética, tornaram tradicional a prática de "leishmanização", que tem como base a observação de que, após a cura da lesão primária da leishmaniose cutânea, existe a imunidade duradoura contra a reinfeção (WHO/TDR, 2003). A leishmanização é efetuada expondo certas áreas da pele à picada de mosquitos possivelmente contaminados ou escarificando a pele com material de lesões em atividade. A variabilidade no tamanho e na duração das lesões resultantes da inoculação de cepas virulentas fez com que a prática fosse abandonada.

Muitas das vacinas testadas atualmente utilizam parasitas mortos. Ensaaios clínicos de imunização profilática com promastigotas de *Leishmania* mortos começaram nos anos 40 e têm mostrado taxas variáveis de proteção, variando de 82% a nenhum efeito (GRIMALDI, 1995). As informações sobre eficácia e segurança das vacinas em humanos decorrem do uso de parasitas mortos, como os de *L. amazonensis* no Brasil e de vacinas de segunda e terceira gerações que ainda estão sendo testadas em macacos.

Na Venezuela, CONVIT e cols (1987) estão usando promastigotas mortas de *L. mexicana* (com e sem BCG) ou *L. braziliensis* (com BCG) em um estudo envolvendo 14000 pessoas. Alguns parâmetros, tais como o padrão de citocinas, foram estudados em alguns indivíduos inoculados e pôde-se verificar a produção de IFN- $\gamma$ , sem indícios de IL4. No Irã, uma vacina usando *L. major* morta é misturada com BCG antes da injeção. Os efeitos de diversas doses desta vacina combinada com BCG já tiveram seus testes de fase I e II realizados (BAHAR *et al*, 1993).

No Brasil, ANTUNES e cols (1986) realizaram diversos testes clínicos, com êxitos diferentes, com cada indivíduo recebendo três injeções intra-musculares de uma vacina contendo antígeno total de quatro espécies de *Leishmania*: *L. mexicana* (cepa BH6), *L. amazonensis* (cepa PH8), *L. guyanensis* (cepa M1176), e *L. major* like (cepa BH121 e cepa BH49). Os resultados deste estudo mostraram testes positivos da vacinação pela reação intradérmica de Montenegro em cerca de 70% dos indivíduos. Atualmente, uma versão simplificada da vacina, usando antígeno total de apenas uma espécie (*L. amazonensis*), está sendo preparada dentro das Boas Práticas de Manipulação pela BIOBRÁS. Esta vacina produz uma resposta predominantemente de células CD8<sup>+</sup>, conforme observado no estudo utilizando a vacina composta (DELUCA, 1995; MENDONÇA *et al*, 1995). No entanto, uma resposta proliferativa foi observada mesmo no grupo placebo e isso pode ter sido resultado da administração do antígeno para a análise da Reação Intradérmica de Montenegro (DELUCA, 1997).

Em um estudo usando macacos *rhesus* imunizados com a vacina simples (Leishvacin®, BIOBRÁS), o grupo imunizado apesar de ter respondido com intradermorreação, quando desafiados com promastigotas de *L. amazonensis*, desenvolveram uma infecção mais exacerbada que os controles não imunizados. Foram necessárias doses relativamente altas de IL12 e/ou alumínio como adjuvantes para que a vacina induzisse a proteção parcial contra a infecção (KENNEY *et al*, 1999).

Estas observações levantam a questão sobre a eficácia e segurança da vacina aplicada em humanos, além do emprego da reação de Montenegro para monitorar a eficácia da vacina. Neste sentido, outros estudos em humanos vacinados com *L. braziliensis* na Venezuela e *L. major* na Rússia (GRIMALDI, 1995) também atestaram a falta de correlação entre a positividade da intradermorreação (Teste de Montenegro) e proteção à infecção.

O foco da pesquisa moderna de vacinas é o uso de proteínas recombinantes, parasitas vivos atenuados e vacinas de DNA. Essa idéia parte do princípio de que uma boa vacina contra a leishmaniose deve ser molecularmente definida e capaz de induzir memória imunológica na ausência de organismos vivos persistentes. Além disso, essa vacina não deve induzir respostas do tipo Th2 que no caso da leishmaniose é deletéria e pode levar a uma patologia severa (HANDMAN, 1997).

As diferentes espécies de *Leishmania* possuem variações na expressão de proteínas durante o seu processo de diferenciação e as formas amastigotas e promastigotas de *Leishmania* não apresentam o mesmo padrão antigênico (quantidade e qualidade). Assim sendo, nenhuma evidência exclui a possibilidade que diferen-

tes antígenos estejam relacionados a mecanismos imunes efetores diferentes.

Alguns antígenos de *Leishmania* usados são: LACK (*Leishmania* homologue of receptors for activated C kinase), LPG (Lipofosfoglicana), gp 63 e outros. No entanto, esses antígenos ainda estão sendo usados em modelo experimental e algumas questões ainda não estão totalmente esclarecidas. Com relação a vacinas de DNA, por exemplo, ainda não se pode afirmar com precisão os possíveis efeitos deletérios do seu uso.

Conforme observado, ainda há muito que se pesquisar até que se chegue a uma vacina contra a leishmaniose. Qualquer que seja a estratégia utilizada, essa vacina deve, tanto quanto possível ser eficaz, segura, estável e de baixo custo. Quando se pensa em custo, sabe-se que este é relativo. Em termos de orçamento destinado à saúde, especialmente nos países em desenvolvimento, algumas vacinas – e na realidade muitas das mais baratas – ainda estão claramente fora do alcance da população comum.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTUNES, CMF *et al.* Controlled field trials of a vaccine against New World Cutaneous leishmaniasis. *Inst. J. Epidemiol.*, v.15, p.572-579, 1986.
- BAHAR, K. *et al.* Overview of human vaccine studies using killed *L. major*. In 13<sup>th</sup> International Congress for Tropical Medicine and Malaria Faculty of Tropical Medicine. Mahidol University, Bangkok, Abstracts, v. 1, p. 183. 1993.
- BERMAN, JD. Chemotherapy for leishmaniasis: biochemical mechanisms, clinical efficacy and future strategies. *Rev. Inf. Dis.*, v.10, p.560-586, 1988.
- BERMAN, JD. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic and chemotherapeutic developments in the last ten years. *Clin. Infect. Disease*, v.24, p.684-703, 1997.
- BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO – Fundação Nacional de Saúde, Ministério da Saúde, ano III, n.4, p.11. 1998.
- BRETSCHER, PA *et al.* Establishment of stable, cell-mediated immunity that makes “susceptible” mice resistant to *Leishmania major*. *Science*, v.257, p.539-542, 1992.
- COFFMAN, RL & CARTY, J. A T cell activity that enhances polyclonal IgE production and its inhibition by IFN-g. *J. Immunol.*, v.136, p.949-954, 1986.
- COFFMAN, RL *et al.* IFN-g regulates the isotypes of Ig secreted during *in vivo* humoral immune responses. *J. Immunol.*, v.140, p.1022-1027, 1988.
- CONVIT, J. *et al.* Immunotherapy versus chemotherapy in localized cutaneous leishmaniasis. *Lancet* I, 401-404. 1987.
- COUTINHO, SG *et al.* Pathogenesis and Immunopathology of leishmaniasis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v.82, p.214-228, 1987.
- DELUCA, P. M. *et al.* Resultados parciais de um ensaio clínico de fase 2 com a vacina BIOBRÁS contra a leishmaniose. Anais do XV Congresso Brasileiro de Parasitologia. P. 50. 1997.
- DELUCA, PM. *et al.* Imunogenicidade da vacina BIOBRÁS de cepa única contra a leishmaniose tegumentar americana. Anais do XX Congresso Brasileiro de Imunologia, resumo 323. 1995.
- GAZZINELLI, RT. *et al.* IL10 inhibits parasite killing and nitrogen oxide production by IFN-g-activated macrophages. *J. Immunol.*, v.148, p.1792-1796, 1992.
- GRIMALDI Jr.,G. (1995). Meetings on vaccine studies toward the control of leishmaniasis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* v.90, p.553-556, 1995.
- Grogl, M.; Thomason, TN.; Franke, ED. Drug resistance in leishmaniasis: its implications in systemic chemotherapy of cutaneous and mucocutaneous disease. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v.47, p.117-126, 1992.
- HANDMAN, E. *Leishmania* vaccines: old and new. *Parasitology Today*, v.13, p.236-237, 1997.
- HAYGLASS, KT. & STEFURA, BP. Anti-interferon-g treatment blocks the ability of glutaraldehyde-polymerized allergens to inhibit specific IgG responses. *J. Exp. Med.*, v.173, p.279-285, 1991.
- HEINZEL, FP *et al.* Reciprocal expression of interferon g or interleukin 4 during the resolution or progression of murine leishmaniasis. *J. Exp. Med.* v.169, p.59-72, 1989.
- JARDIM, A. *et al.* Immunoprotective *Leishmania major* synthetic T-cell epitopes. *J. Exp. Med.*, v.72, p.645-648, 1990.
- KATAKURA, K. *et al.* Structural and functional analysis of the L-MDR1 multidrug resistance gene in *L. amazonensis*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v.255, p.289-294, 1999.
- KENNEY, RT. *et al.* Protective immunity using recombinant human IL-12 and alum as adjuvants in a primate model of cutaneous leishmaniasis. *J. Immunol.*, v.163, p.4481-488, 1999.
- LAINSON, R. The american leishmaniasis: some observations on their and epidemiology. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v.77, p.569, 1983.
- MAYRINK, W. & MAGALHÃES, P.A. Leishmaniose: Uma experiência de trinta e quatro anos com uma vacina anti-leishmaniose tegumentar americana. Minas Gerais. p. 3-6. 1999.
- MENDONÇA, SCF. *et al.* Characterization of human T lymphocyte-mediated immune responses induced by a vaccine against American Tegumentary leishmaniasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v.53, p.195-201, 1995.
- MODABBER, F. Leishmaniasis. In: Tropical Diseases Research Progress 1991-1992. World Health Organization. Geneve, 77-87. 1993.
- MODABBER, F. Leishmaniasis. WHO/TDR – Eleventh Programme Report. 77-87pp. 1992.
- MOSMANN, TR.& SAD, S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol. Today* v.17, p.138-146, 1996.
- Pinheiro, RO. Efeito suppressor do antígeno de *Leishmania amazonensis*: a apoptose como mecanismo de supressão. 2000. 91f. Monografia de Mestrado – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho – UFRJ, Rio de Janeiro, 2000.
- PIRMEZ, C. *et al.* Cytokine patterns in the pathogenesis of human leishmaniasis. *J. Clin. Invest.*, v.91, p.1390-1395, 1993.
- ROSEN, T. & Koff, A. Treatment of cutaneous leishmaniasis. *Dermatology*, 31 (5): 693-708. 1994.
- SALGAME, P. *et al.* Differing lymphokine profiles of functional subsets of human CD4 and CD8 T cell clones. *Science* v.254, p.279, 1991.
- SCHARTON, T & SCOTT, P. NK cells are a source of IFN-g that drives differentiation of CD4<sup>+</sup> T cell subsets and induces early resistance to *Leishmania major* in mice. *J. Exp. Med.* v.178, p.567-577, 1993.
- SCOTT, P. & AFONSO, L.C. Immune responses associated with susceptibility of C57Bl/10 mice to *Leishmania amazonensis*. *Infection and Immunity*, v.61, p.2952-2959, 1993.
- SJÖLANDER, A. *et al.* Vaccination with recombinant Parasite Surface Antigen 2 from *Leishmania major* induces a Th1 type of immune response but does not protect against infection. *Vaccine*, v.16, p.2077 – 2084, 1998.
- SOLOWAY, P. *et al.* Regulation of the immune responses to peptide antigens: differential induction of immediate-type hypersensitivity and T cell proliferation due to changes in either peptide structure or major histocompatibility complex haplotype. *J. Exp. Med.*, v.174, p.847-858, 1991.
- UYEMURA, K. *et al.* CD4<sup>+</sup> type 1 and CD8<sup>+</sup> type 2 T cell subsets in human leishmaniasis have distinct T cell receptor repertoires. *J. Immunol.* v.151, p.7095-7104, 1993.
- WHO/TDR Tropical Disease Research – Leishmaniasis, 2003.