

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA
SAÚDE**

Estudo de marcadores inflamatórios de fase
aguda nos estados reacionais da hanseníase

Yvelise Terezinha Morato da Conceição

Cuiabá - MT
2016

Estudo de marcadores inflamatórios de fase aguda nos estados reacionais da hanseníase

Yvelise Terezinha Morato da Conceição

Orientador: Prof. Dr. Cor Jesus Fernandes Fontes

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, para obtenção do título de doutora em Ciências da Saúde. Área de Concentração de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Cuiabá - MT
2016

FICHA CATALOGRÁFICA

C744e Conceição, Yvelise Terezinha Morato da.

Estudo de marcadores inflamatórios de fase aguda nos estados reacionais da hanseníase / Yvelise Terezinha Morato da Conceição – 2016.

125f. : il.; 30cm.

Orientador: Prof. Dr. Cor Jesus Fernandes Fontes.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Cuiabá, 2016.

Inclui bibliografia.

1. Hanseníase. 2. Reações hansênicas. 3. Marcadores inflamatórios. 4. Resposta de fase aguda. Título: Estudo de marcadores inflamatórios de fase aguda nos estados reacionais da hanseníase. II. Universidade Federal de Mato Grosso.

CDU – 616-002.73(043.2)

Ao meu marido, João Henrique, companheiro querido de tantos anos.

Aos meus filhos, Camila e Paulo Henrique, pelo amor que nos mantém unidos.

Aos meus pais pelos esforços, nunca medidos, para que eu pudesse me realizar profissionalmente.

Agradecimentos

Ao paciente, sem o qual este trabalho não teria sido possível e não faria sentido.

Ao Prof. Dr. Cor Jesus Fernandes Fontes, meu orientador e companheiro de trabalho de muitos anos, pelo exemplo de profissional médico, docente e pesquisador. Obrigada pela paciência, pela dedicação e amizade.

Ao Dr. José Cabral por dividir comigo parte do seu conhecimento sobre a hanseníase, pelo grande auxílio na triagem e avaliação dos pacientes e pelo exemplo de dedicação e amor à profissão e ao paciente.

A todos que me auxiliaram na coleta das amostras biológicas e na realização dos exames laboratoriais: Clebson, Eduardo, Luciano, Márcia Cattini, Thamires e Terezinha.

Aos residentes de Infectologia, especialmente Talita, Erlon, Ana Maria, Ana Flávia e Gisele, pela ajuda na triagem e acompanhamento dos pacientes.

Ao pessoal do NVE, em especial Gisele Mura e Wagner, pela ajuda na triagem dos pacientes.

Aos colegas e amigos da disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias por dividirem comigo o amor e a dedicação à medicina e à docência. Obrigada pelo apoio.

Aos colegas da GEP, Shirley e Cor Jesus, pela compreensão e liberação de algumas atividades.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	
1.1. Hanseníase: Aspectos microbiológicos, epidemiológicos e patogênicos	16
1.1.1. Definição, etiologia e formas de transmissão.....	16
1.1.2. Epidemiologia.....	18
1.1.3. Imunopatogênese.....	21
1.1.4. Patogenia do dano nervoso.....	26
1.2. Hanseníase: Classificação e aspectos clínico-patológicos	28
1.2.1. Classificação da hanseníase.....	29
1.2.2. Manifestações dermatoneurológicas.....	30
1.3. Hanseníase: Aspectos diagnósticos	34
1.3.1. Diagnóstico clínico.....	34
1.3.2. Diagnóstico laboratorial.....	35
1.4. Hanseníase: Aspectos terapêuticos.....	38
1.5. Reações Hansênicas.....	40
1.5.1. Reação tipo 1 (Reação Reversa).....	42
1.5.2. Reação tipo 2 (Eritema Nodoso Hansênico).....	46
1.6. Marcadores de Inflamação inespecífica nas reações hansênicas.....	49
2. OBJETIVOS	
2.1. Objetivo principal.....	55
2.2. Objetivos secundários.....	55
3. MÉTODOS	
3.1. Pacientes do estudo.....	56
3.2. Protocolo de seguimento clínico.....	56
3.3. Protocolo de seguimento laboratorial.....	58
3.4. Análise estatística.....	59
3.5. Aspectos éticos.....	59
3.6. Recursos financeiros.....	60
4. RESULTADOS	
4.1. Caracterização clínico-demográfica dos pacientes.....	61
4.2. Resultados dos marcadores hematológicos, bioquímicos e de inflamação inespecífica no grupo com reação tipo 1.....	68
4.3. Resultados dos marcadores hematológicos, bioquímicos e de inflamação inespecífica no grupo com reação tipo 2.....	73
5. DISCUSSÃO	
5.1. Perfil clínico-demográfico dos pacientes.....	79
5.2. Marcadores de inflamação inespecífica na reação tipo 1.....	82
5.3. Marcadores de inflamação inespecífica na reação tipo 2.....	84
5.3.1. Considerações finais.....	86
6. CONCLUSÃO.....	87
7. REFERÊNCIAS.....	88

8. ANEXO 1	Parecer do comitê de ética em pesquisa.....	98
9. APÊNDICES		
9.1	Questionário.....	100
9.2	TCLE.....	102
9.3	ARTIGO “Níveis séricos de ácido úrico durante os episódios reacionais da hanseníase”	103

LISTA DE ABREVIATURAS

AGP	Alfa-1 glicoproteína ácida
ALT	Alanina aminotransferase
APC	Célula apresentadora de antígeno
AST	Aspartato aminotransferase
AU	Ácido úrico
CD	Grupo de diferenciação (<i>cluster of differentiation</i>)
CPK	Creatinofosfoquinase
Cys 34	Resíduo cisteína 34
DHL	Desidrogenase láctica
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
ENH	Eritema nodoso hansênico
Hb	Hemoglobina
HDL	Lipoproteína de alta densidade (<i>high density lipoprotein</i>)
HDD	Hanseníase dimorfa-dimorfa
HDT	Hanseníase dimorfa-tuberculóide
HDV	Hanseníase dimorfa-virchowiana
HT	Hanseníase tuberculóide
HV	Hanseníase virchowiana
HUJM	Hospital Universitário Júlio Müller
IB	Índice bacilar ou baciloscópico
IFN- γ	Interferon-Gama
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
INFIR	<i>ILEP nerve function impairment and reaction</i>
iNOS	óxido nítrico sintetase induzível
LAM	Lipoaminomanana
LDL	Lipoproteína de baixa densidade (<i>low density lipoprotein</i>)
mce	<i>mycobacterial cell entry</i>
MB	Multibacilar
Met	Metionina
MH	Mal de Hansen (hanseníase)
MHC	Complexo maior de histocompatibilidade
MS	Ministério da Saúde
OMS / WHO	Organização Mundial da Saúde / <i>World Health Organization</i>
PB	Paucibacilar
PCR	Proteína C reativa
PGL-1	Glicopeptídeo-fenólico-1
PNCH	Programa Nacional de Controle da Hanseníase
PQT	Poliquimioterapia
RC	Receptor de complemento

ROM	Rifampicina, ofloxacina e minociclina
RPC	Reação da polimerase em cadeia
RT1	Reação tipo 1
RT2	Reação tipo 2
TGF- β	Fator de crescimento e transformação-beta
Th	Células T auxiliaadoras (<i>helper</i>)
TLR	Receptores semelhantes à "Toll" (<i>Toll like receptors</i>)
TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa
Treg	Células T reguladoras
VHS	Velocidade de hemossedimentação
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa (<i>very low density lipoprotein</i>)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição de casos novos de hanseníase relatados em 103 países, por região da OMS, 2013.....	18
Figura 2	Coeficiente de prevalência de hanseníase por 10 mil habitantes nas Unidades da Federação (A) e municípios (B). Brasil – 2012.....	20
Figura 3	Coeficiente geral de detecção de hanseníase por 100 mil habitantes nas Unidades da Federação (A) e municípios (B). Brasil – 2012.....	20
Figura 4	Padrões característicos de alterações na concentração plasmática de algumas proteínas de fase aguda após estímulo inflamatório moderado...	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Dados demográficos dos 124 pacientes com hanseníase acompanhados no HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.....	62
Tabela 2:	Características clínicas dos 124 pacientes com hanseníase acompanhados no HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.....	64
Tabela 3:	Características do comprometimento neural nos 124 pacientes com hanseníase acompanhados no HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.....	65
Tabela 4:	Variação do tempo de tratamento poliquimioterápico (PQT) em relação à entrada no estudo, em 124 pacientes com hanseníase acompanhados no HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.....	66
Tabela 5:	Marcadores hematológicos em pacientes com reação tipo 1 (n=56) e controles (n=26) na avaliação inicial, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.....	68
Tabela 6:	Marcadores bioquímicos e de inflamação inespecífica em pacientes com reação tipo 1 (n=56) e controles (n=26) na avaliação inicial, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.....	69
Tabela 7:	Marcadores hematológicos em pacientes com reação tipo 1 (n=49) e controles (n=21) na segunda avaliação, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.....	70
Tabela 8:	Avaliação dos marcadores bioquímicos e de inflamação inespecífica em pacientes com reação tipo 1 (n=49) e controles (n=21) na segunda avaliação, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.....	70
Tabela 9:	Avaliação de seguimento dos marcadores hematológicos nos grupos de pacientes com reação tipo 1 e controles, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.....	71
Tabela 10:	Avaliação de seguimento dos marcadores bioquímicos e de inflamação inespecífica nos grupos de pacientes com reação tipo 1 e controles, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015	72
Tabela 11:	Marcadores hematológicos em pacientes com reação tipo 2 (n=42) e controles (n=26) na avaliação inicial, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.....	73
Tabela 12:	Marcadores bioquímicos e de inflamação inespecífica em pacientes com reação tipo 2 (n=42) e controles (n=26) na avaliação inicial, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.....	74
Tabela 13:	Marcadores hematológicos em pacientes com reação tipo 2 (n=39) e controles (n=21) na segunda avaliação, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.....	75

Tabela 14:	Marcadores bioquímicos e de inflamação inespecífica em pacientes com reação tipo 2 (n=39) e controles (n=21) na segunda avaliação, HUJM, Mato Grosso, 2012 – 2015.....	75
Tabela 15:	Avaliação de seguimento dos marcadores hematológicos nos grupos de pacientes com reação tipo 2 e controles, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.....	76
Tabela 16	Avaliação de seguimento dos marcadores bioquímicos e de inflamação inespecífica nos grupos de pacientes com reação tipo 2 e controles, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.....	77

RESUMO

Introdução: As reações são episódios inflamatórios agudos que ocorrem predominantemente nas formas multibacilares da hanseníase. São classificadas em reação tipo 1 e reação tipo 2. As reações tipo 2 são episódios sistêmicos, enquanto as do tipo 1 tendem a ser localizadas nas lesões de pele e dos nervos periféricos. Poucos estudos avaliaram o comportamento evolutivo dos marcadores inflamatórios nos episódios reacionais da hanseníase. O objetivo deste estudo foi descrever o perfil e a cinética de alguns marcadores hematológicos e bioquímicos de resposta inflamatória sistêmica em pacientes com episódios reacionais da hanseníase antes e após o tratamento do episódio reacional. **Método:** Foram incluídos no estudo pacientes entre 18 e 69 anos, atendidos no ambulatório de Infectologia do Hospital Universitário Júlio Müller – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. Foram excluídos pacientes grávidas, portadores de doenças autoimunes, doenças neoplásicas, infecção pelo HIV/AIDS, tuberculose e aqueles em uso de drogas antineoplásicas ou imunobiológicos. Os pacientes foram alocados três grupos: com reação tipo 1, com reação tipo 2 e com hanseníase estável. Todos os indivíduos foram avaliados clinicamente no recrutamento, quanto à presença de lesões de pele e de comprometimento neural e/ou sistêmico. Alguns pacientes já haviam concluído o tratamento específico, outros ainda se encontravam em tratamento ou tiveram o tratamento iniciado após admissão. O tratamento do episódio reacional foi iniciado somente após a avaliação inicial. Avaliações clínicas e laboratoriais foram feitas na admissão e, posteriormente, em intervalos de aproximadamente 30 e 60 dias. O resultado dos exames laboratoriais de fase aguda foi comparado entre os grupos com reação e sem reação. **Resultados:** Durante o período de junho de 2012 a agosto de 2015 foram incluídos 124 pacientes com hanseníase, sendo 56 com reação tipo 1, 42 com reação tipo 2 e 26 sem reação. As alterações encontradas nos pacientes com reação tipo 1 foram neutrofilia e monocitose. Após a introdução da terapêutica apenas a monocitose manteve-se. Os pacientes com reação tipo 2 apresentaram alterações em diversos marcadores de reação inflamatória de fase aguda, tais como: leucocitose, neutrofilia, aumento na velocidade de hemossedimentação, elevação dos níveis séricos de proteína C reativa e α -1

glicoproteína ácida, redução dos níveis séricos de albumina e lipoproteínas. **Conclusão:** Anemia, leucocitose, neutrofilia e monocitose estão presentes ao diagnóstico da reação tipo 2 da hanseníase e normalizam-se com o tratamento do episódio reacional, com exceção da monocitose. Os níveis séricos de α -1 glicoproteína ácida e proteína C reativa, assim como a velocidade de hemossedimentação, estão elevados e reduzem-se com o tratamento. Ácido úrico, albumina, colesterol total e frações HDL e LDL estão reduzidos e elevam-se com o tratamento. As alterações dos marcadores inflamatórios de fase aguda observadas no estudo podem auxiliar no diagnóstico das reações tipo 2 e também na diferenciação entre os episódios reacionais tipo 1 e tipo 2 da hanseníase. Análise sistemática dessas alterações poderá ser útil para o monitoramento terapêutico de pacientes com episódio reacional tipo 2 da hanseníase.

Palavras chave: hanseníase, reações hansênicas, marcadores inflamatórios, resposta de fase aguda.

ABSTRACT

Background: Leprosy reactions are acute inflammatory episodes that occur mainly in the multibacillary forms of the disease. The reactions are classified as type 1 (reverse reaction) or type 2 (erythema nodosum leprosum). The type 2 reactions are systemic episodes, while in type 1 reaction the inflammation is located in the skin lesions and peripheral nerve. Few studies have assessed the nonspecific inflammatory markers in the follow up of the reactional episodes of leprosy. The aim of this study was to describe the profile and the kinetics of some hematological and biochemical markers of systemic inflammatory response in patients with leprosy reactions before and after treatment of the reactional episode. **Methods:** The study included patients aged 18 to 69 years assisted at a leprosy treatment reference center in the Hospital Universitário Júlio Muller – University Federal of Mato Grosso, Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. Patients who were pregnant; were using immunosuppressant drugs or immunobiologicals; or had an autoimmune disease, human immunodeficiency virus infection, acquired immune deficiency syndrome, or tuberculosis were excluded. Patients were divided to three groups: with type 1 reaction, with type 2 reaction and without leprosy reaction (control). Upon recruitment, all individuals were clinically assessed for skin lesions and neural or systemic impairment. Some patients had already completed treatment for leprosy, while others were still undergoing treatment or had initiated treatment after being admitted. The treatment of the reactional episode was started only after the initial evaluation. Laboratory assessments were performed upon admission (baseline) and at approximately 30 and 60 days (time points 1 and 2, respectively). The results of the acute phase laboratory tests were compared between the three groups. **Results:** A total of 124 leprosy patients were recruited between June 2012 and August 2015; among them, 56, 42, and 26 presented with type 1, type 2, and no reactions, respectively. The changes found in patients with type 1 reaction were monocytosis and neutrophilia. After the introduction of therapeutic, only monocytosis remained. Patients with type 2 reaction showed changes in several inflammation markers of acute phase, such as: leukocytosis, neutrophilia, increased erythrocyte sedimentation rate, elevated serum levels of C-reactive protein and α -1 acid glycoprotein, reduction

of serum levels of albumin and lipoproteins. **Conclusion:** Anemia, leukocytosis, neutrophilia and monocytosis are present at the diagnosis of type 2 leprosy reaction and return to normal values normalize after the treatment of the reaction episode, except for monocytosis. The serum levels of α -1 acid glycoprotein and C-reactive protein, as well as the erythrocyte sedimentation rate are increased and reduced with the treatment. Serum levels of uric acid, albumin, cholesterol, HDL and LDL cholesterol are reduced and increase after treatment. The changes in acute phase inflammatory markers observed in this study may help in the diagnosis of type 2 reactions and also to differentiate between type 1 and type 2 leprosy reactions. The systematic analysis of these changes may be useful for therapeutic monitoring of patients with type 2 leprosy reaction.

Keywords: leprosy, leprosy reactions, inflammatory markers, acute phase response.

1. INTRODUÇÃO

1.1. HANSENÍASE: ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E PATOGÊNICOS

1.1.1. DEFINIÇÃO, ETIOLOGIA E FORMAS DE TRANSMISSÃO

A hanseníase é uma doença crônica granulomatosa que cursa, principalmente, com comprometimento dermatológico e neurológico periférico.

Seu agente etiológico, o *Mycobacterium leprae* (bacilo de Hansen), foi descoberto em 1873 por Armauer Hansen e é um bastonete reto ou levemente encurvado, que se cora em vermelho, pela fucsina e que não se descora pelo álcool ou ácidos. Quando numerosos, os bacilos têm a tendência a se dispor em feixes paralelos ou grandes aglomerados denominados globias. O *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) infecta principalmente macrófagos e células de Schwann. Apresenta multiplicação lenta (ciclo de multiplicação de 12 a 14 dias), baixa virulência e alta infectividade. A temperatura ideal para sua sobrevivência e proliferação é de 27 a 30°C. É um microorganismo altamente adaptado ao ser humano, do qual depende para sobrevivência e manutenção na natureza (LASTÓRIA; ABREU, 2014).

A doença não parece ser exclusiva do ser humano, tendo sido encontrados alguns primatas (chimpanzés e macacos marrons) na África e tatus (*Dasypus novemcinctus*) em algumas áreas dos Estados Unidos da América, naturalmente infectados com o *M. leprae* (PEDRINI et al., 2010)

O estudo experimental da doença restringe-se aos modelos animais: tatus e camundongos. A bactéria também é capaz de se multiplicar na almofada das patas de ratos e, embora não seja possível cultivá-la, é possível mantê-la em meios específicos à temperatura de 33°C (SCOLLARD et al., 2006).

Muito se avançou no estudo da hanseníase com o sequenciamento genético do *M. leprae*, a partir de 1993. Diferente do *Mycobacterium tuberculosis*, apresenta vários pseudogenes (27% do genoma) e regiões não codificadoras, e apenas 49,5% de seus genes são codificadores de proteínas,

deixando-o dependente de nichos ecológicos altamente especializados para sua sobrevivência, Com base nos operons intactos, o *M. leprae* consegue manter a síntese de aminoácidos, purinas, pirimidinas, nucleosídeos, nucleotídeos, várias vitaminas e cofatores; no entanto, tem capacidade restrita de síntese e de modificação lipídica, por isto, depende de lipídios derivados do hospedeiro para seu crescimento e virulência. Também não apresenta habilidade na captação de ferro, dependendo de outros mecanismos para sua captação e retenção (RENAULT; ERNST, 2010).

O *M. leprae* apresenta ultraestrutura comum às micobactérias, entretanto, em 1981 foi identificado em sua parede celular o glicopeptídeo-fenólico-1 (PGL-1), antigenicamente específico e importante na patogênese da doença (SCOLLARD et al.,2006).

A transmissão da hanseníase ocorre pelo convívio com indivíduos portadores da forma multibacilar ainda não tratados, principalmente através de gotículas de secreções respiratórias e de secreção nasal. A quantidade de bacilos obtidos de secreções nasais de pacientes virchowianos varia de 10 mil a 10 milhões (BHAT; PRAKASH, 2012). Também é possível que ocorra pelo contato com os hansenomas ulcerados, pelo contato com a pele não integra (já que o bacilo é encontrado na pele e nas glândulas sebáceas e sudoríparas), por via transplacentária e pelo leite materno. É bastante discutível o papel dos vetores (insetos) e da exposição aos animais infectados na transmissão da infecção (TALHARI; NEVES, 1997a; LASTÓRIA; ABREU, 2014).

Até 2008 acreditava-se que o *M. leprae* fosse o único agente etiológico da hanseníase. Nesse ano, foi identificada por análise genômica, uma nova micobactéria, o *Mycobacterium lepromatosis*, que causaria a forma disseminada da hanseníase e cuja importância ainda era desconhecida (PINHEIRO et al., 2011). Polycarpou et al. (2013) questionaram se seria uma variante do *M. leprae* ou se foi isolado o DNA de uma bactéria intimamente relacionada ao *M. leprae*, associada à infecção, mas que não causaria a doença em si. Em artigo recente, Han et al. (2014) advogam que as análises filogenéticas dessas micobactérias sugerem que teriam um ancestral comum e que seguiram dois caminhos evolutivos diferentes, dando origem às duas

bactérias. Até o momento essa nova espécie ainda não foi incluída na taxonomia das micobactérias.

1.1.2. EPIDEMIOLOGIA

A partir de 1982, quando a Organização Mundial da Saúde (OMS) sugeriu a adoção da poliquimioterapia (PQT) como tratamento padronizado e a alta do paciente por cura, os índices globais de prevalência da hanseníase vêm diminuindo progressivamente na medida em que os programas, visando o seu diagnóstico precoce e o efetivo tratamento, foram sendo mundialmente implementados. Desde 1991 a OMS procura atingir a meta de eliminar a hanseníase como problema de saúde pública, o que implica em prevalência máxima de um doente para cada 10 000 habitantes (MS, 2013). No Brasil, a PQT foi oficialmente implementada, nacionalmente, a partir de 1993 (ANDRADE, 2006).

Com base em dados consolidados até o primeiro trimestre de 2014, a OMS relatou uma prevalência global de 180.618 casos (0,32/10 mil habitantes) e 215.656 casos novos detectados em 2013 (3,81/100 mil habitantes), a maciça maioria em países do sudeste asiático, da África e das Américas. Os países com maior número de casos novos foram: Índia (126.913), Brasil (31.044) e Indonésia (16.856) (Figura 1).

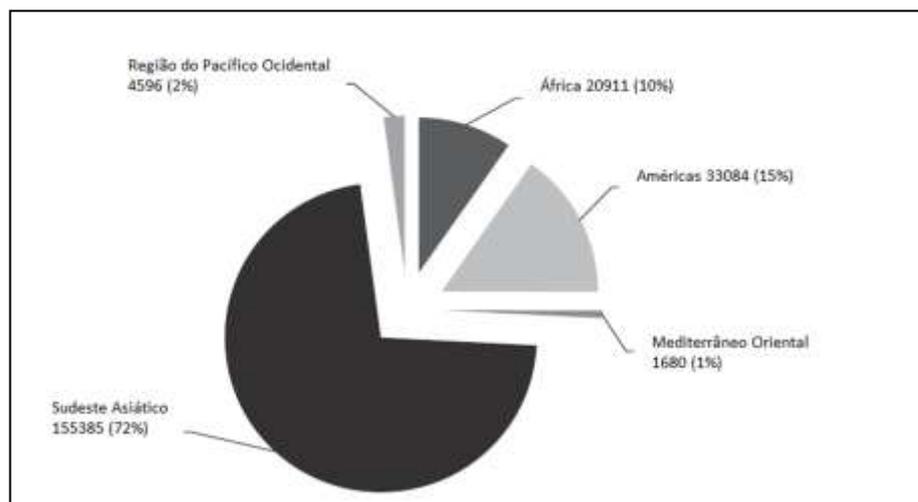


Figura 1. Distribuição de casos novos de hanseníase relatados em 103 países, por região da OMS, 2013.

Fonte: Wkly Epidemiol Rec nº36, 5 september 2014

O percentual de crianças entre os casos novos detectados foi maior na Micronésia (39,5%), em Comoros - África (29%), no Yemen (12,3%), na Indonésia (11,9%) e na República Dominicana (9,4%) (WHO, 2014).

No Brasil a hanseníase apresenta tendência de estabilização dos coeficientes de detecção, mas ainda em patamares muito altos nas regiões norte, centro-oeste e nordeste. Essas regiões concentram 53,5% dos casos detectados em apenas 17,5% da população brasileira (MS, 2013).

Segundo dados do Sistema de Informações de Agravos de Notificação da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SINAN/SVS-MS) em 2012 o coeficiente de prevalência da hanseníase no Brasil foi de 1,51 casos por 10 mil habitantes, ainda acima da meta da OMS. Esse coeficiente foi alto (5 a 9,99) nos estados do Mato Grosso (MT), Maranhão (MA) e Tocantins (TO) (Figura 2). A detecção geral de casos novos de hanseníase também foi alta, com coeficiente de 17,2 casos/100 mil habitantes. Os estados do MT, TO, Pará, MA e Rondônia apresentaram coeficientes acima de 40 casos/100 mil habitantes, o que caracteriza situação de hiperendemicidade (Figura 3). Apenas o Rio Grande do Sul apresentou endemicidade baixa (MS, 2013).

A transmissão em menores de 15 anos indica exposição precoce em focos domiciliares e implica em alta endemicidade da doença na região. Em nosso país o coeficiente geral foi de 4,8 casos novos por 100 mil hab., 18 estados apresentaram coeficientes superiores a esse e oito foram considerados hiperendêmicos, com coeficientes entre 10 e 22 casos novos por 100 mil habitantes (MS, 2013).

Embora os dados de prevalência estejam muito aquém do ideal na maioria das regiões, deve-se observar que houve queda significativa no Brasil como um todo a partir de 1990, quando apresentava um coeficiente de 19,54 (com 281.605 pacientes em tratamento) para 1997, quando o coeficiente foi de 5,55 (com 88.625 pacientes em tratamento). Desse ano em diante a tendência de queda foi mantida, mas de forma mais gradual (MS, 2013).

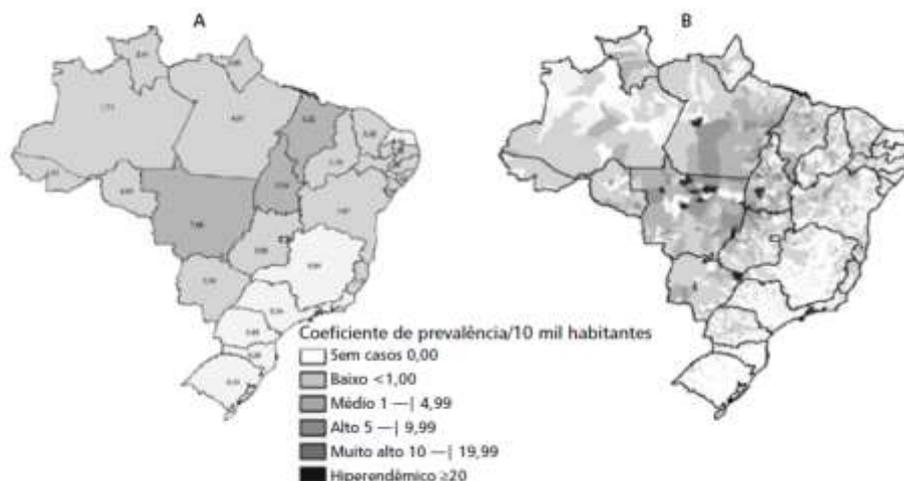


Figura 2. Coeficiente de prevalência de hanseníase por 10 mil habitantes nas Unidades da Federação (A) e municípios (B). Brasil – 2012.

Fonte: MS, Boletim epidemiológico 2013; 44(11):1-12.

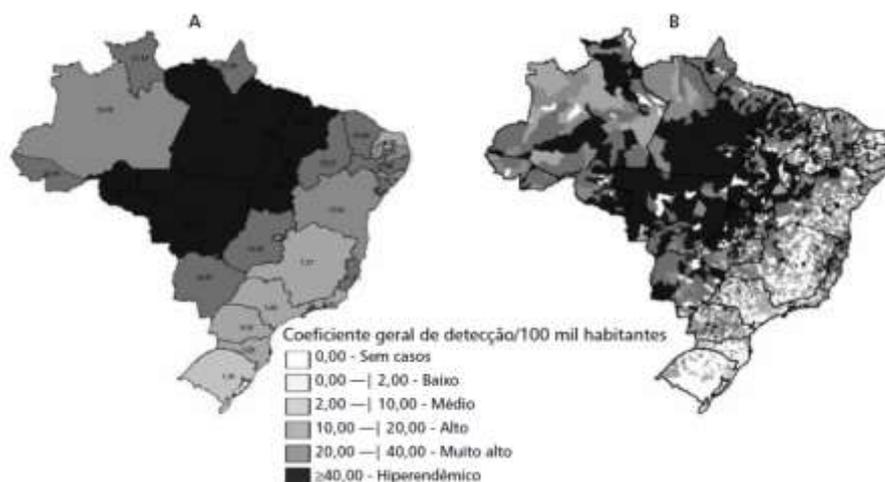


Figura 3. Coeficiente geral de detecção de hanseníase por 100 mil habitantes nas Unidades da Federação (A) e municípios (B). Brasil – 2012.

Fonte: MS, Boletim epidemiológico 2013; 44(11):1-12.

O controle da hanseníase exige uma abordagem ampla que envolve diferentes áreas do conhecimento e da sociedade, que devem atuar de modo integrado e harmônico. Implica na disponibilidade de equipes de saúde multidisciplinares aptas ao desenvolvimento de ações precoces visando o seu diagnóstico, tratamento e prevenção, na melhoria das condições de vida da população e na oferta de educação básica (MS, 2013).

1.1.3. IMUNOPATOGÊNESE

Na grande maioria dos casos a imunidade inata do hospedeiro ao *M. leprae* impede o desenvolvimento da doença (TALHARI; NEVES, 1997a).

Os linfócitos T CD4⁺ respondem aos estímulos antigênicos mediante a apresentação do antígeno processado pelas células apresentadoras de antígenos (APC) e o seu reconhecimento por receptores específicos. Os antígenos podem ser peptídeos, ligados ao complexo maior de histocompatibilidade (MHC) da classe II, ou glicolipídios, ligados a CD1. São capazes de atuar como APC as células dendríticas, os macrófagos, os monócitos e as células B. As células dendríticas ativam as células T (CD4⁺ e CD8⁺) *naives* levando à sua expansão clonal e diferenciação para células efetoras (ABBAS et al., 2008, p.113-136).

O *M. leprae* invade e pode manter-se nos macrófagos, nas células dendríticas e nas células de Schwann. As células dendríticas são as primeiras a entrar em contato com o *M. leprae* e são boas apresentadoras de seus antígenos. No entanto, o bacilo parece ser capaz de suprimir a interação das células dendríticas com as células T, regulando negativamente a expressão de MHC da classe I e II. As lesões da hanseníase tuberculóide (HT) apresentam maiores níveis de células dendríticas derivadas de macrófago (CD1⁺) do que as lesões da hanseníase virchowiana (HV). As células dendríticas também são encontradas em menor quantidade tanto na pele sadia quanto nas lesões de pacientes com HV em comparação com os HT e com indivíduos não infectados (SCOLLARD et al.,2006)

Durante o processo de fagocitose os macrófagos ativados procuram destruir as bactérias através da ação de moléculas microbicidas no interior dos fagolisossomos. Entre elas estão as enzimas proteolíticas (elastase e catepsina G, por exemplo), os derivados reativos do oxigênio e os intermediários reativos do nitrogênio (ABBAS et al., 2008, p.19-46). O *M. leprae* parece ser um fraco indutor da explosão respiratória, provavelmente pela regulação negativa da geração de superóxido induzida pelo PGL-1. Embora possa ocorrer nas formas tuberculóides e dimorfas, a produção de intermediários reativos de

nitrogênio é documentada principalmente em pacientes com reação hansênica do tipo 1 (SCOLLARD et al., 2006).

Em humanos, a indução de peptídeos antimicrobianos dependente de vitamina D, em especial a catelicidina, contribui para eliminação dos patógenos. As análises dos perfis de expressão gênica nas lesões hansênicas indicam que existe uma expressão diferenciada nos genes que codificam os componentes da via antimicrobiana dependente de vitamina D, com maior expressão nas formas HT em comparação com as HV (PINHEIRO et al., 2011).

Os receptores de complemento (RC) estão presentes na superfície de monócitos e macrófagos. O RC1, RC3 e RC4 estão envolvidos na fagocitose do *M. leprae*. A internalização via RC não gera explosão respiratória e esse é um dos mecanismos pelo qual a micobactéria escaparia da ação dos radicais livres de oxigênio gerados durante a fagocitose (SCOLLARD et al., 2006; NATH et al., 2015).

Após a fagocitose pelos macrófagos, alguns bacilos conseguem impedir a fusão fagossoma-lisossoma, permanecendo dentro dos fagossomas, onde induzem a biogênese de gotículas de lipídios, criando um nicho favorável à sua sobrevivência. Nessa situação utilizam os lipídios e os ácidos graxos como fonte de carbono. Esse acúmulo de gordura também é observado nas células de Schwann (SUZUKI et al., 2012).

Os corpúsculos de gordura são descritos em grande número de micobactérias. A célula de Virchow, descrita em 1863 e característica da HV, é um macrófago contendo numerosos bacilos e de aspecto espumoso (multivacuolar) pela grande quantidade de lipídios. Análises histoquímicas dos lipídios das lesões da hanseníase mostram acúmulo de fosfolípidos e ácidos graxos nas formas virchowianas, que se acreditava fossem de origem bacteriana (MODLIN, 2010). Cruz et al. (2008) investigaram a natureza desses lipídios bem como a relação entre o metabolismo lipídico do hospedeiro e a imunidade inata, já que ela tem papel fundamental na patogenia da doença. Eles demonstraram que as lesões virchowianas, em comparação com as tuberculóides, caracterizam-se por apresentar maior regulação positiva de genes do metabolismo lipídico do hospedeiro e por acúmulo, nos macrófagos,

de fosfolípidos oxidativos derivados do hospedeiro. Os lipídeos oxidados podem inibir a resposta imune inata. Os autores também demonstraram que a habilidade da infecção em inibir respostas imunes inatas era revertida pela fração HDL do colesterol de indivíduos saudáveis, mas não pelo HDL de pacientes com hanseníase virchowiana. Uma das funções do HDL é eliminar fosfolípidos oxidados.

A habilidade da micobactéria para promover a formação das gotículas lipídicas é dependente da sinalização dos receptores semelhantes à “Toll” (TLR). Para as células de Schwann seria via TLR6 e induzida apenas por bactérias vivas. No caso dos macrófagos, ocorreria via TLR2 ou TLR2/TLR6 e poderia ser promovida também por micobactérias mortas ou moléculas purificadas delas derivadas (ELAMIN et al., 2012; MATTOS et al., 2012).

O estresse oxidativo, resultante da atividade macrófaga contra as bactérias e que leva ao dano celular, pode também causar a oxidação de ácidos graxos no granuloma, contribuindo para a formação do macrófago espumoso. Alguns estudos documentaram aumento da expressão dos genes *mce* (*mycobacterial cell entry*), que codificam transportadores lipídicos, durante o crescimento intracelular dos bacilos da hanseníase em camundongos e em biópsias humanas, o que sugere que induziriam a captação de colesterol pelas células infectadas (macrófagos e células de Schwann) e posteriormente utilizariam o colesterol estocado como fonte de carbono e energia (ELAMIN et al., 2012).

A interação das células de defesa natural com os microorganismos, de modo geral, se dá através do reconhecimento dos receptores de reconhecimento de padrões, como é o caso dos TLR para os macrófagos e as células dendríticas. Entre os dez já identificados, os TLR2-TLR1 (heterodímero), TLR2 e TLR4 parecem ser de maior importância para o reconhecimento das micobactérias (SCOLLARD et al., 2006; MENDONÇA et al., 2008).

A contribuição da resposta adaptativa no controle da infecção começou a ser estudada a partir da observação de que os pacientes com hanseníase tuberculóide apresentavam muitos linfócitos e poucos bacilos em suas lesões.

Em 1991, demonstrou-se que o padrão de citocinas produzidas pelos linfócitos nas lesões diferia nas formas polares da hanseníase, havendo na HT uma maior expressão de citocinas do tipo Th1, enquanto na HV ocorria maior expressão de Th2, sem a presença de IFN- γ (MENDONÇA et al., 2008).

A resposta protetora se associa à produção de interleucina-12. Quando isto ocorre, as células apresentadoras de antígenos ativam as células T, podendo ocorrer a expansão e diferenciação de células Th1, com a produção de Interleucina-2 (IL-2), interferon-gama (IFN γ) e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), que controlam a replicação do bacilo e a evolução da doença. Se o perfil de citocinas for outro, de resposta Th2 (IL-4, IL-5 e IL-10), há predomínio da imunidade humoral e o bacilo não é controlado (SCOLLARD et al., 2006; MENDONÇA et al., 2008). O TNF- α , embora importante para ativação celular e formação do granuloma também está envolvido na destruição tecidual associada às reações hansênicas (SCOLLARD et al., 2006).

Estudos relatam uma menor expressão de TLR1 e TLR2 em monócitos e células dendríticas nas lesões virchowianas, em comparação com as tuberculóides. Na HV também é relatada mutação do TLR2, com consequente falha na ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF-kB), levando à redução na produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-2, IL-12, IFN- γ e TNF- α) e ao aumento da produção de IL-10 (SCOLLARD et al., 2006; MENDONÇA et al., 2008).

A ausência de resposta Th1 dos virchowianos não é detectada quando seus linfócitos CD4 são expostos a antígenos do *M.tuberculosis*, o que indica que a deficiência de resposta celular não é global e sim específica aos antígenos do *M. leprae* (NATH et al., 2015).

A resposta imune celular evidente na HT limita a doença a poucas e bem definidas lesões de pele e de troncos nervosos. As citocinas produzidas intensificam a fagocitose e auxiliam na formação do granuloma, no qual os linfócitos CD4⁺ são encontrados na região central e os linfócitos CD8⁺ periféricamente. Já os indivíduos com a forma virchowiana não desenvolvem resposta imune celular específica, havendo proliferação bacteriana e extensas lesões cutâneas e neurais; as células CD8 se distribuem por todo o infiltrado

inflamatório e há ativação policlonal de células B, com abundante produção de anticorpos (NATH et al, 2015).

As formas dimorfas são imunologicamente dinâmicas, podendo oscilar entre as duas formas polares. A maior resposta humoral, observada nas formas dimorfas virchowianas e na HV, permite a detecção de altos títulos de anticorpos contra o antígeno PGL-1 (CONTIN et al., 2011).

Muito se avançou no conhecimento das diferenças de resposta imune entre as formas polares da hanseníase, no entanto, ainda se desconhece o determinante inicial dessa polaridade. Existe também a necessidade de se aprofundar as investigações dos determinantes da diferenciação das células T bem como as contribuições de outros subconjuntos de células T, como por exemplo, as células Th17 e as células T reguladoras (Treg), para a melhor compreensão da imunopatogenia da hanseníase. Sabe-se que as células Treg tem papel na imunotolerância, evitando as doenças autoimunes, e no controle da resposta inflamatória imune induzida pelos patógenos. No entanto, a atividade regulatória descontrolada pode ser deletéria (ABBAS et al., 2008, p.243-263)

Em alguns estudos foi encontrada uma maior frequência de células Treg ($CD4^+ CD25^+ FoxP3^+$) em células mononucleares do sangue periférico, bem como uma maior expressão dessas células nas lesões de pele de pacientes com HV, em comparação com pacientes com HT e contatos domiciliares de casos da doença, o que sugere que a células Treg possam ter papel na ausência de resposta imune celular do tipo Th1 observada nos pacientes virchowianos (PALERMO et al., 2012; SAINI et al.,2014).

Palermo et al. (2012) também encontraram nos pacientes com HV associação com maior produção de IL-10, menor produção de IFN- γ e menor resposta proliferativa dos linfócitos no sangue periférico; nas lesões (por imunohistoquímica) observaram maior expressão de IL-10, mas não de fator de crescimento e transformação-beta (TGF- β). Saini et al. (2014) relataram nos HV aumento do TGF- β ao lado da menor produção de IFN- γ e IL-17. Bobosha et al. (2014) encontraram maior frequência de células $CD4^+ CD25^+ FoxP3^+$ na

HV em comparação com HT/HDT, sem significância estatística, mas um aumento significativo de células CD8⁺ CD25⁺ FoxP3⁺.

Diferentemente, Attia et al. (2010) mostraram que as células Treg estão elevadas nos pacientes com a forma tuberculóide em comparação com os controles saudáveis e com as outras formas de hanseníase, sugerindo um efeito benéfico dessas células na população estudada.

As células Th17 constituem um subconjunto de células T auxiliaadoras que foram identificadas em 2005 e que apresentam um perfil de citocinas (IL-17, IL-22, IL-20) e funções efetoras distintas. O fenótipo Th17 nas células CD4⁺ é induzido pela IL-6, IL-1 β e TGF- β . Elas podem promover respostas pró-inflamatórias ou protetoras (Treg) dependendo das citocinas presentes no ambiente. Foram inicialmente associadas à indução de inflamação e dano tissular nas doenças autoimunes. Posteriormente, seu papel passou a ser avaliado na defesa contra as infecções, tais como a leishmaniose e a tuberculose (ABBAS et al., 2008, p.303-320; NATH et al. 2015). Na hanseníase, as células Th17 foram detectadas inicialmente nos episódios reacionais tipo 2 (MARTINIUK et al., 2012). Posteriormente, Saini et al. (2013) encontraram as células Th17 associadas com a HT, tanto em lesões de pele quanto em cultura de células mononucleares, induzidas por antígenos do *M. leprae*. Os autores avaliaram 19 pacientes com HT e 18 pacientes com HV. O estudo do perfil de citocinas mostrou polarização para Th1 em 3 de 7 pacientes HT e para Th2 em 5 de 10 pacientes HV, os outros apresentaram um perfil não discriminatório, com produção de IL-4 e IFN γ , por isso denominados de Th0. Nesses pacientes foi encontrada maior associação com Th17, sendo sugerido que esta represente uma via de resgate quando os pacientes não conseguem montar resposta Th ou quando não há polarização.

1.1.4. PATOGENIA DO DANO NERVOSO

Embora o número de estudos dirigidos ao assunto seja reduzido, tudo indica que o dano nervoso periférico possa ser causado tanto por ação direta do bacilo, quanto pela resposta inflamatória e imunológica gerada para

controlar a infecção, da mesma forma que ocorre na pele (SCOLLARD et al., 2006).

Os bacilos atingiriam os vasos linfáticos epineurais, em seguida, os vasos sanguíneos epineurais e, por via endotelial, dentro dos macrófagos, atingiriam o compartimento endoneural. Uma vez dentro do fascículo nervoso, o *M. leprae* seria engolfado pelas células de Schwann, que são as células da glia do sistema nervoso periférico (SCOLLARD et al., 2015). Um dos efeitos citopáticos diretos do bacilo é o acúmulo de gotículas de lipídeos derivados do hospedeiro, induzindo a supressão dos mecanismos inflamatórios, que favorecem sua sobrevivência, permanência e proliferação (MATTOS et al., 2012)

Como as células de Schwann formam, com os axônios dos nervos periféricos, uma unidade funcional envolta pela lâmina basal, a maioria dos estudos tem sido dirigida para a interação da micobactéria com proteínas da lâmina basal. Alguns desses estudos revelaram que o *M. leprae* interage especificamente com o domínio G da subunidade $\alpha 2$ da laminina-2, proteína da matriz extracelular neuro-específica. Este domínio G pode se ligar simultaneamente ao *M. leprae* e ao receptor de laminina (α -destroglicana) da célula de Schwann. A laminina-2 interage com duas moléculas distintas na superfície da micobactéria, uma proteína de 21-kD (proteína ligadora de laminina do *M. leprae*) e o PGL-1, mediando a invasão das células neurais (RENAULT; ERNST, 2010).

Após a invasão das células, o *M. leprae* pode causar lenta desmielinização segmentar dos nervos periféricos. Não se sabe se o dano nervoso deve-se mais à infecção das células de Schwann ou ao ambiente altamente inflamatório e tóxico dentro e ao redor dos nervos (SCOLLARD et al., 2015).

A desmielinização facilitaria a entrada de mais micobactérias, já que o *M. leprae* invade, preferencialmente, as células de Schwann sem mielina. As células de Schwann são altamente susceptíveis à morte pelas células T citotóxicas, o que contribui para o dano neural (MENDONÇA et al., 2008).

Os nervos cutâneos seriam lesados pelo processo inflamatório crônico que acomete a pele e seus anexos: glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas e folículos pilosos. No caso da HT seria decorrente da resposta granulomatosa bem organizada, que acabaria agredindo as estruturas adjacentes, e nos pacientes com HV a destruição seria associada ao processo de inflamação crônica que, ao longo do tempo, destruiria os tecidos adjacentes (MENICUCCI et al., 2005; SCOLLARD et al., 2015).

Existem poucos dados na literatura sobre os mediadores imunológicos do dano neural na hanseníase. São relatados níveis elevados de TNF- α nos nervos, similares aos observados na pele, aumento dos níveis de TGF- β e iNOS nas fibras nervosas, além de altos níveis de algumas metalo-proteases, que poderiam também ter papel na desmielinização. As biópsias de nervos humanos são de difícil realização e o seu estudo é complexo. Estudos mais recentes têm utilizado o tatu (*Dasypus novemcinctus*) como modelo animal da neuropatia da hanseníase (SCOLLARD et al., 2015).

Nas reações a lesão nervosa imunologicamente mediada seria a principal responsável pelo dano nervoso (NERY et al., 2013; SCOLLARD et al., 2015).

1.2. HANSENÍASE: CLASSIFICAÇÃO E ASPECTOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS

A maioria da população é naturalmente imune à infecção. Cerca de 5 a 10% dos expostos, por contato próximo e prolongado, desenvolvem a doença (TALHARI; NEVES, 1997a).

A hanseníase tem período de incubação prolongado, em média de 2 a 4 anos, podendo chegar a 20 anos, e tende a ocorrer em grupamentos familiares e geográficos. A lenta proliferação, a baixa antigenicidade e a capacidade metabólica bastante reduzida do *M. leprae* poderiam explicar esse longo período de incubação (LASTÓRIA; ABREU, 2014). A ocorrência familiar é, em parte, explicada pela exposição e ambientes compartilhados, no entanto, existem fortes evidências de fatores genéticos na susceptibilidade à

hanseníase. Mais do que isto, as variações genéticas parecem influenciar também o desenvolvimento das formas clínicas da doença. Existem alelos de genes do sistema antígeno leucocitário humano (HLA) da classe II, tipicamente associados à forma tuberculóide, como o HLA DR2 e DR3, e à forma virchowiana da hanseníase, como o alelo HLA DQ1 (MARCOS, 2000).

1.2.1. CLASSIFICAÇÃO DA HANSENÍASE

Em 1938, a hanseníase foi classificada por Rabello em formas polares: a partir da hanseníase indeterminada, os indivíduos não tratados poderiam evoluir para a forma tuberculóide (HT), se tivessem boa resistência ao bacilo, ou para a forma virchowiana (HV), caso não tivessem boa resistência. Em Madri (1953), no Congresso Internacional de Leprologia, os critérios propostos por Rabello foram mantidos e foi acrescentada a forma dimorfa ou interpolar, que também evoluiria a partir da forma indeterminada; nesta estariam os casos clínicos que não eram característicos das formas polares (HT ou HV). Na década de 1960, Ridley e Jopling introduziram o conceito de classificação espectral, subdividindo os dimorfos em dimorfos-tuberculóides (HDT), dimorfos-dimorfos (HDD) e dimorfos-virchowianos (HDV). Esta classificação é baseada em uma combinação de achados clínicos (número e aspecto das lesões, espessamento ou comprometimento nervoso e comprometimento mucoso ou sistêmico), achados histopatológicos, carga bacilar e grau de resposta imune mediada por células contra o *M. leprae*, avaliado pelo teste intradérmico de Mitsuda. Os indivíduos com as formas polares HT e HV teriam uma resposta imune celular estável, já os dimorfos teriam resposta instável, podendo, durante o curso clínico da doença, migrar para um polo ou outro (HT ou HV). A forma indeterminada não está incluída na classificação de Ridley e Jopling (RIDLEY; JOPLING, 1966; TALHARI; NEVES, 1997b; TALHARI et al., 2015).

Do ponto de vista histológico, as lesões de pele dos pacientes tuberculóides caracterizam-se por infiltrado inflamatório com granulomas bem formados, contendo macrófagos, células epitelióides e células gigantes, com predomínio de células CD4⁺ e bactérias ausentes ou em mínima quantidade. Os virchowianos, por outro lado, apresentam granulomas ausentes ou mal

formados, com predomínio de células CD8, grande quantidade de bacilos e achatamento da epiderme (PINHEIRO et al., 2011). São encontrados macrófagos com inúmeros bacilos na derme, nos filetes nervosos, no endotélio e parede dos vasos, bainhas e músculos eretores dos pelos (TALHARI et al., 1997).

A classificação de Ridley e Jopling tem sido bastante utilizada, sobretudo por sua correlação entre os achados histopatológicos, que refletem a resposta imune local, tais como, a quantidade de linfócitos e tipo de granuloma formado e o número de bactérias. Apesar de bastante adequada, a sua aplicação implica na existência de recursos humanos e materiais para a execução dos exames, nem sempre disponíveis nas áreas mais afetadas pela infecção.

Visando facilitar o diagnóstico e o tratamento nos países endêmicos a OMS, em 1988, classificou a hanseníase em dois tipos: paucibacilar (PB) – com até cinco lesões cutâneas e apenas um tronco nervoso comprometido e multibacilar (MB) – com mais do que cinco lesões cutâneas e mais de um tronco nervoso comprometido. A baciloscopia positiva, quando disponível, classificava o caso como multibacilar, independentemente do número de lesões. Esta classificação permite o diagnóstico baseado apenas no número de lesões cutâneas nos locais com poucos recursos, em que a baciloscopia não é exequível. Por outro lado, pode levar ao subtratamento de formas incorretamente classificadas ou à superestimação dos multibacilares e ao tratamento excessivo (CONTIN et al. 2011). No Brasil esta classificação foi adotada a partir de 2001 (MS, 2001).

A classificação operacional da OMS associada à sorologia, através da detecção de anticorpos IgM anti PGL-1, significaria um avanço na qualidade do diagnóstico (CONTIN et al, 2011; OLIVEIRA et al., 2008).

1.2.2. MANIFESTAÇÕES DERMATONEUROLÓGICAS

Hanseníase indeterminada (HI): é a fase inicial da hanseníase. As lesões podem ocorrer em qualquer região do corpo e caracterizam-se por uma ou mais máculas hipocrômicas, às vezes com bordas eritematosas. Também pode se apresentar como uma área com sensibilidade alterada, sem alterações

visíveis na pele. A sensibilidade comprometida é a térmica, mas às vezes observa-se discreta redução da sensibilidade dolorosa. A tátil está preservada. Não há comprometimento nervoso. A sudorese e a pilificação local estão preservadas. Esta fase geralmente dura de um a cinco anos e pode evoluir para cura espontânea ou para as outras formas da doença (TALHARI; NEVES, 1997b; OPROMOLLA, 2000; BRASIL, 2014).

Hanseníase tuberculóide (HT): as lesões da fase inicial permanecem e sobre elas aparecem pápulas, que vão aumentando de número, dando origem a uma placa, que pode ter aspecto liquenóide. Com a evolução é comum que haja a involução do centro da placa e a lesão se assemelha a uma dermatofitose, sendo denominada lesão tórpida ou tricofitóide. O limite das lesões tuberculóides com a pele normal é nítido. As alterações de sensibilidade são evidentes, com diminuição da sensibilidade térmica, dolorosa e, nos casos mais antigos, da tátil. As lesões na face podem ter sensibilidade normal. Nas áreas comprometidas pode haver alopecia e anidrose. Geralmente o número de lesões é pequeno e de distribuição assimétrica. Não há consenso sobre o grau de acometimento dos troncos nervosos na HT. Alguns autores admitem que possa ser precoce e intenso, contudo os nervos seriam acometidos em pequeno número e de modo assimétrico. Desse modo, seria possível a evolução para incapacidades. Outros restringem o comprometimento a mínimo ou ausente. A baciloscopia dérmica é negativa (OPROMOLLA, 2000; BRASIL, 2014; TALHARI et al., 2015).

Hanseníase virchowiana (HV): normalmente representa a evolução da hanseníase indeterminada não tratada nos indivíduos sem resistência ao bacilo. Paulatinamente as manchas hipocrômicas, numerosas e simétricas, tornam-se eritematosas e infiltradas, as bordas ficam imprecisas, surgem pápulas, nódulos e infiltrações em placa. Quando circunscritas, estas lesões são denominadas de hansenomas. Na variedade histoide, os nódulos têm aspecto queloidiano. Devido à infiltração em áreas pilosas há queda total ou parcial dos pelos. Ocorre queda dos cílios e das sobrancelhas, que se inicia pelas regiões externas, denominada madarose. A infiltração da pele pode ocorrer em áreas diversas: nas orelhas, onde posteriormente aparecem

também os hansenomas; na face cursa com acentuação dos sulcos naturais, que associada à madarose e manutenção dos cabelos da origem a chamada “facies leonina”; nas mãos que parecem edemaciadas e com maior brilho e nas regiões palmares e plantares que adquirem coloração arroxeadas. A apresentação clínica é variável individualmente, podendo predominar a infiltração, os hansenomas ou ambos serem igualmente representados. O acometimento neural é extenso, simétrico e inicialmente pouco intenso, mas pode se acentuar com a evolução da doença. Surgem as incapacidades. A perda de sensibilidade nas áreas inervadas predispõe à ocorrência de lesões traumáticas. O comprometimento da mucosa e do septo nasal é frequente, podendo ocorrer perfuração do septo e desabamento do nariz. Clinicamente há coriza, voz anasalada e, às vezes, epistaxe. Também podem ser encontradas lesões em mucosas oral, da faringe e da laringe. São atingidos os ossos, as articulações e órgãos internos, como o fígado, o baço, as suprarrenais e os testículos. O comprometimento ocular se dá na córnea, na íris e no corpo ciliar, podendo levar à diminuição da acuidade visual e até à cegueira. Muitas destas manifestações são decorrentes do diagnóstico tardio, das medidas preventivas e tratamento inadequados desses pacientes. Os esfregaços dérmicos são altamente positivos e com globias (OPROMOLLA, 2000; BRASIL, 2014; TALHARI et al., 2015).

Hanseníase dimorfa: terminologia adotada no português para o termo inglês “borderline”, que implica em quadros clínicos que estão entre as duas formas polares (HT e HV). Não é adequada porque dá a ideia de concomitância de duas formas e não de instabilidade, que é o que ocorre de fato. Muitas vezes são casos de difícil classificação, com lesões que não se enquadram nas descrições clássicas e nos quais a histopatologia nem sempre é compatível com a clínica. Sem tratamento podem evoluir para a HV. Normalmente há comprometimento neural importante, que se agrava na vigência dos quadros reacionais (OPROMOLLA, 2000; BRASIL, 2014; TALHARI et al., 2015).

As principais características dos três subgrupos da forma dimorfa são:

- a) Hanseníase dimorfa-tuberculóide (HDT): caracterizada por lesões numerosas, semelhantes às da HT, mas maiores e tendendo à simetria.

Também podem surgir lesões em placa com bordas irregulares. Há acometimento de vários troncos nervosos. Nesta forma os quadros reacionais do tipo 1 são mais frequentes do que na HT e se acompanham de grave comprometimento neural. Os esfregaços dérmicos podem ser negativos ou apresentar índice baciloscópico (IB) baixo, até 2+.

- b) Hanseníase dimorfa-dimorfa (HDD): clinicamente caracteriza-se por lesões numerosas, de aspecto variado, hipocrômicas com bordas mal definidas e região central aparentemente poupada (faveolares), placas e lesões papulo-nodulares com infiltrações semelhantes às observadas na MHV. É a forma mais instável, podendo migrar para a HDT ou HDV, momento em que a ocorrência de reações e/ou neurite é comum. O comprometimento neural varia e é mais grave quando evolui para HDT ou HDV. Apresentam baciloscopia positiva, com IB entre 2+ e 4+.
- c) Hanseníase dimorfa-virchowiana (HDV): também caracterizada por lesões numerosas, com tendência à simetria e de aspecto variado: lesões eritematosas infiltradas e com borda irregular, placas de bordas mal definidas e com a região central aparentemente poupada, pápulas e nódulos similares aos da HV. Há infiltração progressiva da pele. Vários são os troncos nervosos espessados, mas a dor (neurite) é variável. A baciloscopia é fortemente positiva (OPROMOLLA, 2000; BRASIL, 2014; TALHARI et al., 2015).

As manifestações neurais podem ocorrer isoladamente, constituindo as **Formas Neuríticas Puras**. São formas pouco comuns e de difícil diagnóstico. A baciloscopia dérmica, na maioria, é negativa (IB=0). Em geral é aceito que o comprometimento de um ou dois nervos classifica o paciente como PB, enquanto o comprometimento de mais de dois nervos o classifica como MB. O indivíduo pode apresentar espessamento neural com ou sem dor, diminuição da sensibilidade ou da força muscular na região afetada (TALHARI et al., 2015). Para o diagnóstico podem ser realizadas biópsias de pele nas áreas com alteração de sensibilidade ou próximas ao nervo afetado ou biópsia do nervo, cuja sensibilidade é maior. O teste de Mitsuda, que não é mais utilizado como método diagnóstico de rotina, é recomendado para auxiliar na

classificação das formas neuríticas. Também são úteis os exames que avaliam a condução nervosa. A sorologia anti PGL1 pode ser empregada. O valor diagnóstico da reação da polimerase em cadeia ainda não está estabelecido (GARBINO et al., 2013).

O dano nervoso na hanseníase ocorre a nível cutâneo, subcutâneo e/ou em troncos periféricos. Estão alteradas as funções motoras e autonômicas. Estas últimas são responsáveis pela cianose, ressecamento e alteração da sudorese da área lesada. Os troncos nervosos periféricos mais afetados na hanseníase são o ulnar, mediano, radial, tibial posterior, fibular comum, auricular e o facial (ramo zigomático e temporal). O dano neural acompanha-se de redução ou perda da sensibilidade e alterações motoras como paresias, paralisias e atrofia nas áreas inervadas. O tratamento adequado pode reduzir ou evitar essas complicações (TALHARI et al., 2015).

1.3. HANSENÍASE: ASPECTOS DIAGNÓSTICOS

1.3.1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO

O diagnóstico da hanseníase é basicamente clínico. A anamnese e o exame clínico cuidadoso possibilitam o diagnóstico na maioria dos casos. As lesões de pele ocorrem com maior frequência em face, orelhas, região glútea, braços, pernas e dorso. Deve-se pesquisar a sensibilidade térmica, seguida da dolorosa e depois da tátil sempre comparando a área suspeita com outra de pele normal (MS, 2002). Conforme relatório do fórum técnico da Associação Internacional de Hanseníase (2002), cerca de 70% dos pacientes apresentam lesões de pele com diminuição de sensibilidade (OLIVEIRA et al., 2008).

A avaliação neurológica deverá ser realizada pelo menos no momento do diagnóstico e na alta do paciente. Recomenda-se que seja repetida semestralmente, sempre que houver queixa, na suspeita de neurite e nas reações. O exame consta de inspeção dos olhos, nariz, mãos e pés, palpação dos troncos nervosos periféricos, avaliação da força muscular e da sensibilidade nos olhos, nos membros superiores e inferiores (MS, 2002).

A utilização dos monofilamentos de Semmes-Weinstein fornece uma medida acurada e reprodutível da função sensorial, detectando o comprometimento funcional precocemente. Identifica a perda da sensação protetora antes do aparecimento das lesões traumáticas (SCOLLARD et al., 2006; WALKER et al., 2008)

Nos membros deve-se observar se existem parestesias, calosidades, fissuras, ferimentos, cicatrizes, atrofia muscular e reabsorções ósseas. A marcha do paciente pode se alterar pelo comprometimento neural. Deve ser avaliada a força muscular dos membros superiores e inferiores, incluindo as mãos e os pés, para verificar se há comprometimento funcional subsequente ao dano neural que nas fases avançadas se expressa pelas garras e anquilose articular (MS, 2002).

1.3.2. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Os métodos diagnósticos laboratoriais são importantes auxiliares no diagnóstico da doença, no entanto, ainda inexistem métodos suficientemente sensíveis disponíveis na prática médica para o diagnóstico da infecção assintomática ou inaparente.

A pesquisa de bacilos com finalidade diagnóstica (baciloscopia) é feita através da coleta de material do lóbulo das orelhas, dos cotovelos e de duas lesões ou áreas infiltradas de qualquer parte do corpo. Na ausência de lesões cutâneas colher material dos joelhos. O muco nasal pode ser outra opção, embora não seja preconizada por todos os estudiosos. As lâminas com o espécime (esfregaço intradérmico) fixado são coradas pela técnica de Ziehl-Neelsen. Este exame tem especificidade de 100% e sensibilidade de 50%. Na HI, HT e HDT a baciloscopia costuma ser negativa, enquanto na HDD, HDV e HV é positiva, nas duas últimas com grande quantidade de micobactérias, muitas vezes agrupadas em globias. O índice bacteriológico, de acordo com a escala logarítmica de Ridley, pode ser utilizado e os resultados possíveis são: negativo (0): nenhum bacilo em 100 campos; positivo (1+): 10 bacilos em 100 campos; positivo (2+): 1 a 10 bacilos em 10 campos; positivo (3+): 1 a 10 bacilos por campo; positivo (4+): 10 a 100 bacilos por campo; positivo (5+): 100

a 1000 bacilos por campo e positivo (6+): mais de 1000 bacilos por campo. Este índice será fornecido para o esfregaço de cada local pesquisado, mínimo de quatro sítios diferentes, e o resultado será a somatória dividida pelo número de esfregaços. A baciloscopia negativa não exclui a hipótese clínica de hanseníase (TALHARI et al., 1997; MS, 2010). É importante lembrar que a baciloscopia é positiva somente após ter sido atingida a carga de 10^4 bacilos/grama (GARBINO et al., 2013).

A histopatologia continua sendo o exame complementar que mais se aproxima do padrão ouro para o diagnóstico da hanseníase. O espécime biopsiado e fixado deve ser corado pela técnica de Fite-Faraco. Somente o achado dos bacilos permite o diagnóstico de certeza, na ausência destes os achados histopatológicos podem ser apenas de compatibilidade. Na ausência de bacilos a localização do infiltrado inflamatório perineural e ao redor dos anexos cutâneos deve ser valorizada. As técnicas de imunohistoquímica (proteína S-100) podem ser úteis no diagnóstico diferencial com as outras doenças granulomatosas (TALHARI et al., 1997).

A sorologia anti-PGL-1, disponível em centros de pesquisa desde a década de 1990, pode ser de grande utilidade diagnóstica, sobretudo nos casos em que as lesões de pele não apresentam alterações sensitivas e quando a baciloscopia não é exequível, uma vez que existe forte correlação entre o IB e os níveis de anticorpos IgM anti-PGL-1. Os pacientes com HV apresentam alta soropositividade (80-100%), enquanto nos HT ela é baixa (15-40%) (OLIVEIRA et al., 2008).

Em 2003, Buhner-Sékula *et al.* descreveram um teste rápido (cromatográfico) para a detecção de anticorpos IgM anti-PGL-1, denominado ML-Flow. Estudos posteriores não detectaram diferenças significativas entre os resultados obtidos por ELISA e os métodos rápidos (MOURA et al., 2008). A sua utilidade para classificar os indivíduos em PB ou MB e para auxiliar na decisão terapêutica foi confirmada em estudo realizado por Contin et al. (2011). A facilidade de realização do teste rápido é um aspecto amplamente favorável à sua utilização na atenção básica, sobretudo nos casos de hanseníase multibacilar de diagnóstico clínico mais difícil (OLIVEIRA et al., 2008).

Moura et al. (2008), em artigo de revisão sistemática, relataram estudos em que não foram observadas diferenças no comportamento da sorologia nos episódios reacionais (tipo 1 ou 2) em comparação com os pacientes sem reações ou com a população geral. No entanto, os pacientes com altos níveis de anticorpos IgM anti-PGL1 no início do tratamento apresentaram maior risco de desenvolver RT1, assim como, a positividade sorológica ao término do tratamento implicou em chance dez vezes maior de reação em comparação com os pacientes que apresentavam sorologia negativa. Além disso, alguns estudos sugeriram que a soropositividade seria um indicador de recidiva da hanseníase.

A influência do ML-Flow na classificação dos pacientes foi avaliada por Grossi et al. (2008). Na comparação do resultado do teste rápido com a classificação baseada no número de lesões, cerca de 30% dos indivíduos classificados como PB apresentaram sorologia positiva, enquanto 17% dos MB apresentaram sorologia negativa. Quando comparados à classificação final (somatória das avaliações das lesões de pele, dos nervos e da baciloscopia) 17% dos pacientes tratados como MB apresentaram teste rápido negativo e apenas 2,6% dos tratados como PB apresentavam teste positivo. No período estudado foi observada uma redução de 20% nos casos diagnosticados como MB nos municípios participantes do estudo. Os autores destacam a baixa positividade da baciloscopia no grupo avaliado (em média de 27%), já referida em outros estudos. Este conjunto de dados aponta para um provável benefício da inclusão do ML-Flow como auxiliar na classificação dos casos de hanseníase, sobretudo para as equipes com menor experiência com a doença.

Os métodos de detecção molecular do *M. leprae* por reação da polimerase em cadeia (RPC) tiveram início na década de 90, tendo sido aplicados desde então em diferentes tipos de espécimes biológicos: biópsias de pele, raspados intradérmicos, raspados nasais, biópsia de nervos e sangue. Esses exames apresentam alta especificidade e sensibilidade variável, maior nas formas multibacilares (90%) e menor nas paucibacilares (34-80%), mas ainda não são comercialmente disponíveis (SCOLLARD et al., 2006). Mais recentemente, as técnicas de RPC têm se mostrado úteis no diagnóstico das

formas neurais puras, nas formas PB, nas formas de apresentação clínica atípica, mas com histopatologia compatível com hanseníase. Outras aplicações seriam o monitoramento da resposta à terapêutica (viabilidade do *M. leprae*) e a detecção de resistência às drogas utilizadas na PQT. Perspectivas de uso em futuro próximo incluem a avaliação das formas de transmissão da hanseníase e a vigilância dos contatos domiciliares (MARTINEZ et al., 2014).

Outro recente método diagnóstico, rápido e simples, está sendo avaliado por Lima et al. (2015), a técnica de “Imprinting” de pele em placas de sílica utiliza espectrometria de massa de alta resolução e busca identificar possíveis marcadores lipídicos em pacientes com hanseníase.

O teste de Mitsuda (reação da lepromina) é, nos dias atuais, reservado para casos excepcionais, de difícil diagnóstico. É realizado com a inoculação intradérmica de 0,1 ml de uma solução de *M. leprae* inativado pelo calor (lepromina), na face anterior do antebraço. A leitura é realizada em quatro semanas, sendo considerada positiva quando surge uma pápula (infiltração) igual ou maior do que 5 mm ou há ulceração (BEIGUELMAN, 1999). O teste avalia a habilidade dos indivíduos em desenvolver uma resposta granulomatosa a antígenos da micobactéria. Testes positivos são esperados nas formas tuberculóides e negativos nas virchowianas. Os dimorfos apresentam resultados variáveis: negativos, duvidosos ou positivos (TALHARI et al., 1997)

1.4. HANSENÍASE: ASPECTOS TERAPÊUTICOS

O tratamento poliquimioterápico mata o bacilo, impede a progressão da doença, reduzindo as incapacidades e deformidades, além de interromper a cadeia de transmissão do *M. leprae*. Os medicamentos são fornecidos pela OMS/MS e distribuídos para as unidades públicas de saúde definidas pelos municípios. Elas são as responsáveis pelo acompanhamento do paciente, monitoramento dos eventuais efeitos adversos e das complicações e pela alta ao término do tratamento, que é padronizado. O esquema e a duração do tratamento são definidos pela classificação operacional do indivíduo, em

paucibacilar ou multibacilar. A dosagem é ajustada por faixa etária e peso do paciente. Os medicamentos vêm acondicionados em cartelas para o tratamento mensal (BRASIL, 2014).

O esquema para tratamento da forma PB é composto por rifampicina administrada em dose mensal de 600 mg supervisionada, dapsona em dose mensal de 100 mg supervisionada e dose diária de 100 mg autoadministrada. A duração do tratamento é de seis doses mensais supervisionadas de rifampicina e o critério de alta de seis doses supervisionadas de rifampicina em até nove meses (BRASIL, 2014).

O esquema para tratamento das formas MB é constituído por rifampicina em dose mensal de 600 mg supervisionada, dapsona em dose mensal de 100 mg supervisionada e dose diária de 100 mg auto-administrada, clofazimina em dose mensal de 300 mg supervisionada e dose diária de 50 mg auto-administrada. A duração do tratamento é de 12 doses mensais supervisionadas de rifampicina e o critério de alta é de 12 doses supervisionadas de rifampicina em até 18 meses. O tempo de tratamento poderá ser prolongado caso o paciente MB apresente quadro avançado e demore a exibir melhora clínica (BRASIL, 2014).

Considerando-se que o risco de recidiva é maior (20-30%) nos pacientes com baciloscopia alta no início do tratamento, alguns autores sugerem a prorrogação do tratamento para 24 doses, sobretudo quando o IB \geq 4 (AVELLEIRA et al., 2003; LASTÓRIA et al., 2006).

A gravidez e o aleitamento não contraindicam o tratamento PQT padrão. A PQT nunca deve ser suspensa durante o tratamento dos quadros reacionais, caso o paciente ainda esteja em tratamento da hanseníase (MS, 2010).

No caso de efeito adverso a algum dos medicamentos, esquemas substitutivos são indicados. Na impossibilidade de uso da Dapsona deve ser prescrita a Ofloxacina ou a Minociclina para os MB e a Clofazimina para os PB, o número de doses não se altera. Quando a clofazimina necessita ser substituída deve ser utilizada a Ofloxacina ou a minociclina, sem alteração do número de doses. Se for necessário suspender o uso da Rifampicina (dose supervisionada) a orientação para as formas PB é de autoadministração diária

de Ofloxacina ou Minociclina e uma dose mensal supervisionada, em um total de seis doses; já para as formas MB é feita a substituição por Ofloxacino ou Minociclina autoadministrada diariamente e dose mensal supervisionada, em 24 doses (MS, 2010).

Para pacientes com lesão única a OMS recomendou em 1998 a combinação de rifampicina (600 mg), ofloxacina (400 mg) e minociclina (100 mg) em dose única, esquema que ainda é muito controverso (SCOLLARD et al., 2006) e que não foi adotado pelo MS/Brasil. Mais recentemente, a mesma combinação (ROM) administrada em dose mensal supervisionada, durante 6 meses para os PB e durante 12 meses para os MB, para foi proposta por alguns estudiosos (KAR; GUPTA, 2015). Em um estudo em que esse esquema foi avaliado, os pacientes com HDV ou HV foram divididos em dois grupos, um tratado com PQT-MB (24 doses) e outro com ROM (24 doses), tendo sido observada eficácia similar, avaliada pela redução do IB ao término do tratamento (VILLAHERMOSA et al., 2004).

Com a prescrição e utilização adequadas da PQT a chance de falha terapêutica em decorrência do desenvolvimento de resistência é desprezível, embora exista uma população minoritária (1 em 6 - 7 logs) de micobactérias naturalmente resistentes a cada uma das drogas que compõem a PQT-MB (KAR; GUPTA, 2015).

O tratamento dos episódios reacionais também segue as orientações da Coordenação Geral de Hanseníase e Doenças em Eliminação (BRASIL, 2014).

1.5. REAÇÕES HANSÊNICAS

As reações hansênicas ou episódios reacionais são fenômenos inflamatórios agudos, localizados ou sistêmicos, que podem ocorrer em qualquer forma clínica da hanseníase, exceto a indeterminada, e em qualquer fase da doença: antes, durante ou após o término do seu tratamento (NOGUEIRA et al., 2000). Trinta a 50% dos pacientes com hanseníase podem apresentar quadros reacionais (SCOLLARD et al., 2006). As reações guardam relação com a carga bacilar e são classificadas em reação do tipo 1 ou reação

reversa e reação do tipo 2 ou eritema nodoso hansênico (ENH). A frequência da reação tipo 1 (RT1) varia entre 8,9 e 35,7% (WALKER; LOCKWOOD, 2008) e a da reação tipo 2 (RT2) varia de 5% na África a 25-49% no sudeste da Ásia e no Brasil (KAHAWITA; LOCKWOOD, 2008), mas a metodologia dos estudos avaliados é muito variada, dificultando sua análise comparativa. Voorend e Post (2013), em artigo de revisão sistemática sobre dados epidemiológicos do ENH, verificaram a inexistência de dados acurados sobre a sua incidência e gravidade em nível global, regional ou nacional.

As reações podem ser desencadeadas por fatores como stress, coinfeções, imunizações, gravidez, puerpério, puberdade e menopausa, no entanto, poucos estudos abordam esse assunto (VOOREND; POST, 2013). Estudos no Brasil atribuem às infecções odontogênicas, sobretudo à doença periodontal, papel no desencadeamento, manutenção e exacerbação dos episódios reacionais (MOTTA et al., 2011, CORTELA et al., 2015).

O mecanismo pelo qual as reações são desencadeadas e sua fisiopatologia ainda não estão bem estabelecidos. Os dois tipos de reação podem resultar em perda permanente da função nervosa e sequelas (SCOLLARD et al., 2006).

Estudos mais recentes têm procurado identificar fatores genéticos do hospedeiro que possam ter impacto no controle da susceptibilidade às reações, uma vez que a variação genética entre cepas do *M. leprae* é pequena (HAN; SILVA, 2014) e a distribuição das reações parece variar bastante entre as diversas populações afetadas pela doença. Fava et al. (2012) em artigo de revisão, identificaram estudos sobre polimorfismos em sete genes que estariam associados com um ou mais desfechos reacionais, entre eles os TLR1, TLR2, IL-6, as proteínas com “domínio de ligação a nucleotídeos e oligomerização” 2 (NOD-2), a proteína 1 macrófaga associada à resistência natural, o C4B e o receptor de vitamina D. Os autores ressaltam problemas nos estudos avaliados, entre eles a inadequação de alguns grupos utilizados como casos e controles, a presença de cofatores de risco para reações e, principalmente, a falta de replicação dos estudos em que houve associação genética com as reações.

1.5.1. REAÇÃO TIPO 1

A RT1 manifesta-se nas formas tuberculóide e dimorfa da hanseníase, sendo mais comum nesta última e após início da terapêutica. Clinicamente é identificada pelo aumento da inflamação nas lesões de pele pré-existentes, que se tornam eritematosas, edematosas e infiltradas, pelo aparecimento de novas lesões e/ou pela neurite intensa, que pode levar à disfunção neural, tanto sensitiva quanto motora. Edema de face, mãos e pés podem acompanhar o quadro. Nas formas graves, as lesões de pele podem ulcerar. Raramente ocorrem sintomas sistêmicos, não havendo comprometimento visceral (OPROMOLLA, 2000; KAHAWITA et al, 2008).

O episódio reacional pode ser a primeira manifestação clínica da hanseníase. Alguns indivíduos não apresentam lesões de pele e a neurite é a única manifestação da RT1. Os sintomas mais comuns da neurite são dor espontânea, parestesia, hiperestesia ou o aparecimento de nova alteração sensitiva ou motora. O comprometimento da função neural na ausência de sintomas, denominada como neurite silenciosa por Van Brakel e Khawas, depende de exame médico cuidadoso dos nervos periféricos para sua detecção e tratamento precoce. Mesmo com tratamento adequado até 40% dos indivíduos com neurite não apresentam melhora da função neural (KAHAWITA et al., 2008).

A duração dos episódios varia e depende da forma clínica da hanseníase, tendendo a ser mais breve nos tuberculóides e dimorfos no polo tuberculóide e mais prolongada no polo virchowiano, podendo recorrer em até 33% dos pacientes após PQT (OPROMOLLA, 2000; NERY et al., 2013). Uma escala para medir a gravidade da RT1, desenvolvida e validada por Walker et al. (2008), baseia-se na avaliação de três características: as lesões de pele, a função sensitiva e a função motora dos nervos, e objetiva uniformizar as descrições e permitir a comparabilidade entre os estudos.

Histologicamente observam-se granulomas epitelióides frouxos pelo edema intra e extracelular e pela congestão vascular. Nos tuberculóides o infiltrado geralmente atinge a epiderme, enquanto nos dimorfos está separado da epiderme por faixa de tecido conectivo. Nos dimorfos a baciloscopia no

infiltrado epitelióide é sempre positiva. Há evidências de uma resposta de hipersensibilidade tardia com dano agudo aos nervos da derme (OPROMOLLA, 2000; LOCKWOOD et al., 2012). Na RT1 pode ocorrer necrose caseosa nos nervos mais calibrosos (TALHARI et al. 1997)

O diagnóstico clínico das reações nem sempre é fácil e o exame histopatológico, embora possa ajudar, nem sempre é disponível. Lockwood et al. (2012) compararam os dois métodos diagnósticos e constataram que a detecção clínica da RT1 foi menor do que a histopatológica, embora tenham observado variações na apresentação histológica da reação em si e na sua interpretação por diferentes patologistas.

Nas RT1 a imunidade celular exacerbada e a hipersensibilidade tardia a antígenos do *M. leprae* induziriam a produção de citocinas Th1 e pró-inflamatórias, tendo o TNF- α papel particular no desencadeamento das lesões neurais pelo dano às células de Schwann produtoras de mielina (KHANOLKAR-YOUNG et al., 1995).

Estudos de imunohistoquímica revelam influxo de células CD4⁺, níveis elevados de óxido nítrico sintetase induzível (iNOS), aumento na expressão genética e nos níveis de IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-12 e TNF- α detectados nas lesões de pele de pacientes com RT1 (LITTLE et al., 2001). Em artigo de revisão, Scollard et al. (2006) relataram o achado desse mesmo perfil de citocinas em outros estudos, tanto em lesões de pele quanto no soro e em leucócitos circulantes; as outras citocinas avaliadas e que apresentavam níveis aumentados foram a IL-8 e a IL-6; já a IL4 não estava aumentada em nenhum dos dois sítios.

Estudos mais recentes identificaram como possíveis marcadores da RT1 a quimiocina CXCL-10 (também chamada de IP-10: proteína 10 induzida pelo IFN- γ), a quimiocina CXCL-9 (ou MIG: monocina induzida pelo IFN- γ), IL-17A, IL-17F, IL-6, IFN- γ e o fator de crescimento do endotélio vascular (STEFANI et al., 2009; CHAITANYA et al., 2013; GELUK et al., 2014).

Lockwood et al. (2011) encontraram níveis significativamente aumentados de TNF- α , TGF- β e iNOS, detectados por imunohistoquímica, em

lesões de pele de pacientes com RT1, quando comparados a pacientes sem reação.

Chaitanya et al. (2013) avaliaram o comportamento do cortisol durante os episódios reacionais, observando redução significativa de seus níveis nas lesões de pele e na urina de indivíduos com reação, em comparação com aqueles sem reação, o que implicaria em menor controle dos fenômenos inflamatórios reacionais. Os autores também encontraram uma correlação negativa entre os níveis séricos do cortisol e IP-10 e entre cortisol e TNF- α .

Parente et al. (2015) avaliaram a imunorregulação pelas células T reguladoras (CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺) e encontraram uma expressão significativamente maior de FoxP3 em células de lesões de pele de pacientes com RT1 em comparação com os pacientes com diagnóstico recente de hanseníase sem reação. No estudo foram incluídos apenas dois pacientes com RT2, não incluídos nas análises estatísticas, o que não permitiu a comparação entre os dois tipos de reação.

Dupnik et al. (2015) analisaram as mudanças na transcrição de genes durante as reações hansênicas. Os autores identificaram CXCL10 como transcrito singularmente aumentado na RT1 e o IFN- γ como um significativo regulador a montante das mudanças de expressão tanto para a RT1 quanto para a RT2. Observaram, por imunohistoquímica, a presença de C1q nas lesões de pele tanto de RT2 quanto de RT1, sugerindo papel do complemento na patogenia das duas reações. Os autores fazem um paralelo interessante entre o aparecimento das reações hansênicas após o início da PQT e a síndrome inflamatória de recuperação imune da tuberculose em pacientes com HIV/AIDS após início do tratamento antirretroviral, quando também há maior expressão de C1q.

Os estudos citados sugerem que, embora algumas alterações sejam observadas com maior regularidade e frequência, ainda há muito a ser definido na imunopatogenia dos episódios reacionais.

O tratamento da RT1 deve ser o mais precoce possível, visando controlar a inflamação aguda, aliviar a dor e reduzir o dano neural. Os corticosteroides ainda são as drogas mais eficientes (WALKER; LOCKWOOD,

2008). Recomenda-se o uso de prednisona na dose de 1mg/Kg/dia, excepcionalmente até 2mg/Kg/dia, com redução lenta da dosagem à medida que ocorre a melhora clínica. Eventualmente podem ser utilizados analgésicos e anti-inflamatórios não hormonais. É fundamental o repouso neural (OPROMOLLA, 2000; NERY et al., 2013; BRASIL, 2014). Enquanto as lesões de pele respondem rapidamente à corticoterapia, o controle das lesões neurais exige tratamento mais prolongado, idealmente de 12 a 24 semanas. Estudos sugerem que não há vantagem na manutenção do corticosteroide se o paciente não apresentar melhora no comprometimento neural após seis meses de tratamento (WALKER; LOCKWOOD, 2008).

Muito poucos estudos avaliaram a resposta de marcadores sorológicos ao tratamento com esteroides. Little et al. (2001) analisaram por imunohistoquímica a expressão de citocinas (IL-12 e IFN- γ) antes e após o tratamento corticosteroide e documentaram redução significativa desses marcadores apenas a partir do vigésimo oitavo dia de tratamento; na maioria dos pacientes a resposta foi lenta e alguns mantiveram atividade detectável até os 180 dias. Faber et al. (2004) observaram redução significativa dos níveis de neopterin ao término do tratamento em comparação com os níveis detectados no diagnóstico da reação, mas nenhum outro marcador avaliado (IL-4, IL-5, IFN- γ e TNF- α) se alterou. Recentemente, Raju et al. (2014) avaliaram sete marcadores: TNF α , anticorpos anti PGL-1 (IgM e IgG), anticorpos contra lipoaraminomanana (LAM - IgG1 e IgG3), anticorpos contra C2-ceramida e S100-B antes, durante e após a reação. Os pacientes estudados fazem parte da coorte INFIR (*ILEP nerve function impairment and reaction*). O nível dos marcadores apresentou comportamento variável: tanto antes da reação, com aumento entre 26 e 53%, quanto após a corticoterapia, quando se reduziu entre 47 e 67%. Houve grande variação individual, apenas um paciente apresentou níveis aumentados dos sete marcadores pré-tratamento e apenas dois apresentaram decréscimo de todos os marcadores após o tratamento. Os autores relataram boa sensibilidade (70%) para detecção da reação quando dois a quatro marcadores foram testados em conjunto (ceramida, TNF α , S100 e anti-PGL-1) e sensibilidade de 65,4% quando quatro marcadores foram

utilizados na avaliação da resposta após tratamento (S100, TNF α , ceramida e LAM). Em outro estudo, em que foi avaliada a totalidade dos indivíduos pertencentes à mesma coorte, Jadhav et al. (2011) não encontraram diferenças significativas nos níveis séricos de cada um desses mesmos anticorpos entre os pacientes com RT1 e os pacientes com MHMB sem reação.

Deduz-se desses estudos e da observação clínica que a resposta ao corticosteroide nas RT1 não é uniforme, estável ou prolongada e que outras opções terapêuticas deveriam ser buscadas.

1.5.2. REAÇÃO TIPO 2

A RT2 é mais frequente nas formas multibacilares, sobretudo nos indivíduos com HDV e HV, e durante a PQT. Neste tipo de episódio reacional ocorre uma inflamação aguda em todos os órgãos e tecidos invadidos pelo bacilo (OPROMOLLA, 2000).

Clinicamente caracteriza-se pelo aparecimento súbito de nódulos eritematosos, dolorosos, em geral numerosos e distribuídos por todo o corpo. Nas formas mais graves, podem evoluir para vesículas, bolhas ou fenômenos necróticos (eritema nodoso necrotizante). Em um surto completo, os pacientes apresentam sintomas sistêmicos, que incluem febre, mal-estar, hiporexia, prostração, edema em face, mãos e pés, adenomegalias, hepatoesplenomegalia, artralgia ou artrite, orquite, osteíte, comprometimento ocular (irites ou iridociclites) e renal (glomerulonefrite). A neurite, geralmente, é de menor intensidade do que nas RT1. Os surtos reacionais podem ser incompletos, ocorrendo apenas as neurites ou as artrites. As RT2 podem persistir por anos de forma recorrente e apresentar caráter subentrante (OPROMOLA, 2000; KAHAWITA; LOCKWOOD, 2008). Episódios múltiplos são descritos em 39 a 77% dos pacientes com RT2 e, embora sua incidência seja maior durante a PQT, podem ocorrer até 7 a 8 anos após o seu término (VOOREND; POST, 2013).

A patogênese do ENH é complexa. Inicialmente acreditava-se que decorresse apenas da deposição de complexos imunes e da ativação do complemento, causando vasculite e/ou paniculite. Posteriormente verificou-se

que, temporariamente, há uma tendência a recuperação da resposta imune celular dos virchowianos, com a ativação de células T antígeno-específicas (FOSS, 1997; NATH et al., 2015). Embora não se saiba o que induz essa resposta celular, é provável que antígenos do *M. leprae*, antes ocultos, passem a ser expostos e reconhecidos (NATH et al., 2015). Enquanto houver antígenos, as reações podem ocorrer, estejam os bacilos vivos ou mortos (OPROMOLLA, 2000)

Histopatologicamente observa-se, tanto no derma quanto no tecido celular subcutâneo, focos de infiltrado neutrofílico ao longo dos granulomas virchowianos, acompanhado de edema, podendo haver comprometimento inflamatório intenso de vasos (NOGUEIRA et al., 2000; LOCKWOOD et al., 2012).

Da mesma forma que na RT1, existem diferenças entre o diagnóstico da reação tipo 2 por clínicos e patologistas. Lockwood et al. (2012) encontraram número expressivo de pacientes com achados histológicos de ENH e que não apresentavam sintomatologia. Embora necessitem confirmação, esses achados sugerem a possibilidade de formas subclínicas da RT2 e indicam a necessidade de avaliação criteriosa dos pacientes hansenianos no polo virchowiano.

Durante a RT2 ocorre uma mudança na relação $CD4^+/CD8^+$ em favor das células $CD4^+$, há aumento nos níveis de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-1 β , IL-12) tanto no soro quanto na pele. Também estão aumentadas a IL8 e a IL-10, enquanto a IL-4 está ausente nos dois sítios. Parece não haver aumento de linfócitos B nas lesões do ENH (SCOLLARD et al, 2006; KAHAWITA; LOCKWOOD, 2008). Níveis elevados de IL-6 e TNF- α têm sido frequentemente relatados no soro, em sobrenadantes de células mononucleares e em lesões reacionais (KAHAWITA; LOCKWOOD, 2008).

Outros marcadores potenciais seriam o fator de crescimento derivado de plaquetas-BB e a IL-7, que se encontram elevados durante as RT2 (STEFANI et al, 2009).

Estudos recentes (MARTINIUK et al., 2012) revelam que a IL-17 (ou IL-17A), caracteristicamente produzida pelas células Th17, encontra-se regulada

positivamente durante as RT2, sugerindo papel dessas células na sua imunopatogenia. Um estudo mostrou aumento da produção do TGF- β por monócitos do sangue periférico em pacientes com RT2, em comparação com RT1 e pacientes sem reação (GOULART et al., 2000).

Vários estudos relataram aumento dos níveis séricos de anticorpos anti-PGL1 nas formas multibacilares, havendo uma correlação positiva linear com o índice baciloscópico (IB). Os pacientes com RT2 têm níveis significativamente mais baixos de IgM anti-PGL1 quando comparados aos virchowianos sem quadro reacional com o mesmo IB e com os pacientes após resolução do quadro reacional. Uma explicação para os níveis baixos das imunoglobulinas seria a sua utilização nos imunocomplexos do ENH (KAHAWITA; LOCKWOOD, 2008).

Estudos indicam que a resposta do hospedeiro à micobactéria pode se acompanhar de alterações no metabolismo lipídico, sobretudo nos pacientes do polo virchowiano. Na RT2 são relatados níveis significativamente baixos de colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de alta densidade (HDL), em comparação com os pacientes com HV e HDV estáveis (MEMON et al., 1996), existindo correlação negativa entre os níveis de TNF- α e os de HDL durante e após a reação, o que sugere que estas alterações lipídicas façam parte da resposta de fase aguda (MEMON et al., 1997).

O **fenômeno de Lúcio** é um tipo de reação do tipo 2 descrito em pacientes com a forma difusa da hanseníase virchowiana (HVD), denominada hanseníase de Lúcio e Alvarado ou hanseníase bonita, pela ausência dos nódulos que acompanham a infiltração difusa dos indivíduos com HV. Embora descrita inicialmente no México, a HVD foi relatada em outros países, tais como Brasil, Costa Rica, Argentina e Índia. Até 2008 acreditava-se que o único agente etiológico da HVD fosse o *M. leprae*, quando um novo agente foi descoberto, o *Mycobacterium lepromatosis*. A reação geralmente tem início nos pés e se difunde de forma ascendente. As primeiras lesões são máculas eritematosas dolorosas, que podem ter forma ameboide, posteriormente se tornam levemente infiltradas, depois adquirem aspecto purpúrico e finalmente evoluem com necrose central e ulceração. Sintomas constitucionais podem

estar presentes. A sua melhor opção terapêutica, até o momento, parece ser a talidomida (OPROMOLLA, 2000; JURADO et al., 2015).

O tratamento da RT2 no Brasil é realizado preferencialmente com talidomida na dosagem de 100 a 400 mg/dia, dependendo da gravidade do quadro. Para mulheres em idade fértil, deve-se observar a Lei nº10651 de 16 de abril de 2003 que dispõe sobre o uso da talidomida, em decorrência de sua teratogenicidade, e a Resolução da ANVISA RDC nº 11, de 22 de março de 2011, que dispõe sobre o controle dessa substância. Na impossibilidade de seu uso pode ser prescrita a prednisona, na mesma dosagem preconizada para as RT1. Além da gestação, são indicações para corticosteroides, a irite ou iridociclite, a orquiepididimite, a artrite, a glomerulonefrite, o eritema nodoso necrotizante, além das mãos e pés reacionais. Nos casos de RT2 crônica ou recorrente pode-se associar clofazimina a qualquer uma das drogas acima. A pentoxifilina é uma opção de tratamento alternativo (BRASIL, 2014), mas de menor eficácia (PINHEIRO et al., 2011).

Estudos avaliando a resposta ao tratamento da reação tipo 2 são raros. Iyer *et al.* (2007) acompanharam 44 pacientes com RT2 e nos 17 em que foram realizadas dosagens séricas pré e pós tratamento (12 semanas) com prednisolona houve redução significativa dos níveis do receptor solúvel de IL-6, IFN- γ e TNF- α ao término do tratamento.

1.6. MARCADORES DE INFLAMAÇÃO INESPECÍFICOS NAS REAÇÕES HANSÊNICAS

Marcadores de inflamação inespecíficos (bioquímicos e hematológicos) são descritos tanto em indivíduos com hanseníase no polo virchowiano quanto em pacientes com quadros reacionais (VAISHNAVI et al., 1991). Nas RT2 os fenômenos inflamatórios tendem a ser sistêmicos e, com frequência acompanham-se de alterações nos níveis séricos de diversos marcadores inflamatórios (KAHAWITA; LOCKWOOD, 2008). Por outro lado, nas reações tipo 1, em que os fenômenos inflamatórios tendem a se localizar na pele e nos

nervos, as alterações nesses marcadores são discretas ou não ocorrem (NERY et al., 2013).

Kahawita e Lockwood (2008), em artigo de revisão sobre a RT2, relataram estudos em que há elevação significativa da proteína C reativa (PCR) em até 90% dos pacientes, podendo ser considerada um indicador de gravidade da recorrência. Em estudo não incluído nessa revisão, Silva et al. (2007) relataram elevação significativa dos níveis de PCR na RT2 em comparação com pacientes não reacionais ou com RT1. Foss et al. (1993) mostraram uma correlação positiva entre os níveis de TNF α e os níveis de PCR. Também são relatados níveis elevados de proteína amiloide A, α -1 antitripsina, gamaglobulinas (FOSS, 2003; KAHAWITA; LOCKWOOD, 2008) e de α -1 glicoproteína ácida (GUPTA et al., 2010). Outras alterações laboratoriais observadas foram a leucocitose com neutrofilia, o aumento do número de plaquetas (FOSS, 2003), a anemia e a hipoalbuminemia (REA, 2001; KURADE et al., 2001).

Gupta et al. (2010) documentaram a elevação dos níveis séricos da α -1 glicoproteína ácida (AGP) durante a RT2, em comparação a pacientes com hanseníase e controles saudáveis, observando a redução dos mesmos após instituição da terapêutica com PQT e talidomida. No mesmo estudo, os autores realizaram análises de glicosilação mostrando expressão diferenciada de glicofomas de AGP em pacientes com ENH, em comparação aos controles. Sabe-se que diferentes subtipos de AGP apresentam diferentes funções imunomoduladoras.

As alterações de fase aguda são constituídas por um conjunto de alterações de natureza fisiológica, bioquímica, nutricional e comportamental, além de mudanças nas concentrações de várias proteínas plasmáticas, denominadas proteínas de fase aguda (GABAY; KUSHNER, 1999).

Entre as alterações associadas ao processo de fase aguda estão: a febre; anorexia; sonolência; letargia; os efeitos neuro-endócrinos, como o aumento na produção de hormônio liberador de corticotrofina; alterações hematopoiéticas, como anemia, leucocitose e plaquetose; alterações metabólicas como perda de massa muscular e balanço negativo de nitrogênio,

osteoporose, redução da neoglicogênese, aumento da lipogênese hepática, maior lipólise no tecido adiposo e caquexia; além de redução na concentração sérica de ferro e zinco (GABAY; KUSHNER, 1999).

Os marcadores inflamatórios ou biomarcadores são mediadores inespecíficos imunomoduladores da cascata inflamatória. Seus componentes incluem as quimiocinas, as citocinas e as proteínas ou reagentes de fase aguda por elas induzidas, e que apresentam sua concentração elevada na presença de inflamação e/ou dano tecidual. As citocinas de maior relevância na resposta de fase aguda são a IL-6, IL-1 β , IFN- γ e o TNF- α . As proteínas de fase aguda acompanham os processos inflamatórios agudos ou crônicos de uma grande variedade de doenças, entre elas as infecções, traumas, cirurgias, queimaduras, neoplasias, doenças cardiovasculares e doenças inflamatórias imunologicamente mediadas (AGUIAR et al., 2013).

Por definição, as proteínas de fase aguda são aquelas cuja concentração sérica aumenta ou diminui em pelo menos 25% durante os estados inflamatórios. As proteínas que têm sua concentração elevada são chamadas de positivas e incluem: PCR, proteína amiloide A, ceruloplasmina, fibrinogênio, α -1 antitripsina, haptoglobina, hemopexina, hepcidina, ferritina, o antagonista do receptor da IL-1, AGP, fibronectina e procalcitonina, entre outros. As negativas, cuja concentração se reduz, são: albumina, transferrina e transtiretina e antitrombina, entre outras. Todas são produzidas pelos hepatócitos, com exceção da procalcitonina. Outros sítios de produção são os macrófagos, fibroblastos, adipócitos e células endoteliais (GABAY; KUSHNER, 1999; AHMED et al., 2012).

As concentrações dos diversos componentes da resposta de fase aguda sofrem variação de acordo com o tipo de patologia apresentada e não são individualmente uniformes, o que refletiria as diferenças na produção de citocinas (GABAY; KUSHNER, 1999).

A velocidade de hemossedimentação (VHS) é um reagente de fase aguda não proteico, dependente da concentração do fibrinogênio, sendo uma medida indireta deste. No entanto, sofre influência de outros fatores tais como forma, tamanho e número das hemácias, além de outros componentes do

plasma, como albumina e globulinas, o que diminui sua precisão (AGUIAR et al., 2013). Também pode ser influenciado por alguns medicamentos como anticoncepcionais e anticoagulantes, condições fisiológicas (sexo, idade e gestação) e patologias não inflamatórias (ROSA NETO; CARVALHO, 2009).

A PCR é um membro da família das pentraxinas. Sua secreção tem início 4-6 horas após o estímulo, atingindo seu pico com 36-50 horas. Esta rápida resposta sugere que seja um componente da resposta imune inata. Seus níveis séricos variam conforme a doença de base, sendo maiores (40-200mg/L) nas infecções bacterianas e nas inflamações graves. Tem meia vida de aproximadamente 19 horas (AHMED et al., 2012; AGUIAR et al., 2013).

A PCR atua ligando-se à fosfatidilcolina, o que permite o reconhecimento de patógenos que expressem essa molécula e de componentes fosfolipídicos das células lesadas. Pode ativar o sistema complemento pela via clássica e se ligar às células fagocíticas através do receptor Fc das imunoglobulinas, características estas de uma opsonina. A ativação do complemento não converte C5 e não há formação do complexo de ataque à membrana, ou seja, não há amplificação dos efeitos inflamatórios pela PCR. Embora possa ter ação pró-inflamatória, ao induzir fagocitose e secreção de citocinas pró-inflamatórias, seu efeito primário parece ser anti-inflamatório. Atua também na eliminação de células necróticas e apoptóticas (ROSA NETO; CARVALHO, 2009).

A AGP, ou orosomucóide, é uma proteína altamente glicosilada (45%) que representa cerca de 1% das proteínas plasmáticas. Sua concentração se eleva a partir de 24 a 48h após o estímulo e tem meia vida de aproximadamente 5 dias. Uma interessante característica dessa proteína é que a sua glicosilação sofre modificações durante as doenças e é da composição de carboidratos que dependem suas propriedades de ligação e de imunomodulação. Sua função biológica não é totalmente conhecida, tendo atividade tanto pró quanto anti-inflamatória, sendo que esta última parece predominar. Atua inibindo a quimiotaxia, a produção de radicais superóxido pelos neutrófilos e a agregação plaquetária. Induz monócitos e macrófagos a sintetizar citocinas e regula positivamente alguns receptores, tais como: IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α , IL-1Ra e sTNFR. Seu efeito depende da fase da doença e

do perfil dessa expressão. Também age como competidor inespecífico por superfícies celulares e, assim, pode proteger contra infecções (ROSA NETO; CARVALHO, 2009; GUPTA et al., 2010).

A favor de seu papel anti-inflamatório, Barroso-Sousa *et al.* (2013) mostraram associação entre baixos níveis de AGP e maior letalidade por sepse grave.

A albumina sérica é uma proteína de fase aguda presente em altas concentrações no plasma; é sintetizada pelos hepatócitos e secretada para a corrente sanguínea sem que seja estocada. Suas funções são amplas: manutenção da pressão coloidosmótica do plasma; transporte de cálcio, magnésio, ácidos graxos, bilirrubina, hormônios e medicamentos; tamponamento do pH sanguíneo e efeitos antioxidantes. A albumina em níveis baixos se constitui em marcador confiável de desnutrição, inflamação, doenças hepáticas e renais (SITAR et al., 2013).

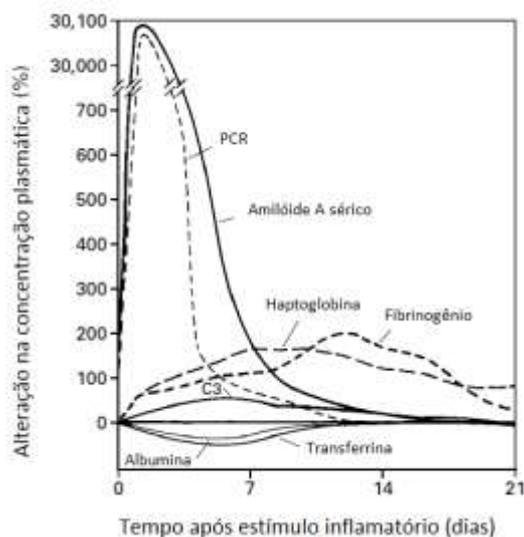


Figura 4. Padrões característicos de alterações na concentração plasmática de algumas proteínas de fase aguda após estímulo inflamatório moderado .

Fonte: N Engl J Med. 1999;340(6):448-454

A taxa de síntese de albumina é controlada pela concentração de mRNA disponível para ação nos ribossomos. Nas reações de fase aguda ocorre um

decréscimo na transcrição genética mediada por citocinas, principalmente IL-6, IL-1 e TNF- α (Nicholson et al., 2000).

A albumina é encontrada em duas formas na corrente sanguínea, a oxidada e a reduzida. Em sítios de inflamação, a albumina, principalmente na forma oxidada, é encontrada em concentrações mais altas. São relatadas elevações da forma oxidada em diversas condições patológicas, tais como: doenças hepáticas, doença arterial coronariana, diabetes melito, cirurgias invasivas e exercício físico intenso. Sua atividade antioxidante decorre da propriedade “redox” do resíduo cisteína 34 (Cys34), que constitui cerca de 80% do tiol livre no sangue e que é a única cisteína em estado livre na albumina sérica, e dos resíduos metionina (Met). Os estudos existentes sugerem que a Cys34 funciona predominantemente como captadora de radicais livres de oxigênio e óxido nítrico, enquanto a Met atua principalmente como queladora de metais, principalmente cobre e, provavelmente, ferro (ANRAKU *et al.*, 2013).

Assim sendo, existiriam dois mecanismos pelos quais ocorreria redução dos níveis séricos de albumina, como parte da resposta de fase aguda e por sua atividade antioxidante plasmática.

Existem poucos estudos que avaliem sistematicamente os marcadores dos fenômenos inflamatórios que ocorrem tanto durante a evolução natural da hanseníase quanto nos seus quadros reacionais. A avaliação dos marcadores de inflamação, incluindo a utilização de metodologias simples que possam ser aplicadas na prática clínica e que ajudem a prever o tipo de evolução de cada paciente, representaria um avanço no estudo desta doença principalmente em áreas com recursos limitados.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO PRIMÁRIO

Descrever o perfil e a cinética da resposta inflamatória sistêmica de pacientes com episódios reacionais da hanseníase, com vistas a estabelecer o papel de potenciais marcadores hematológicos e bioquímicos na sua predição diagnóstica e evolutiva.

2.2. OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

Caracterizar clinicamente os pacientes quanto à forma da hanseníase e o tipo de episódio reacional;

Descrever as características demográficas, clínicas e a carga bacilar do *M. leprae*;

Descrever e analisar as alterações hematológicas e bioquímicas, de fase aguda, associadas aos episódios reacionais da hanseníase;

Analisar o comportamento evolutivo das alterações hematológicas e bioquímicas de fase aguda após tratamento do episódio reacional da hanseníase.

3. MÉTODOS

3.1. PACIENTES DO ESTUDO

Foram selecionados para o estudo 124 pacientes com diagnóstico de hanseníase e/ou reação hansênica, atendidos no ambulatório de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Universitário Júlio Müller (HUJM) no período de junho de 2012 a agosto de 2015, por demanda espontânea, encaminhamento ou através de convocação para exame de contato domiciliar de caso da doença.

Foram considerados como critérios de inclusão:

- a) Ter diagnóstico confirmado de hanseníase por critério dermatoneurológico.
- b) Idade entre 18 e 70 anos.
- c) Não estar gestante.
- d) Ausência de doenças autoimunes, neoplasias, HIV/AIDS.
- e) Não estar em uso de drogas antineoplásicas ou imunomoduladoras.
- f) Não ter diagnóstico atual de tuberculose ou outra micobacteriose.

Os participantes do estudo foram alocados em três grupos:

Grupo RT1: Com hanseníase confirmada e apresentando quadro reacional, predominantemente do tipo I.

Grupo RT2: Com hanseníase confirmada e apresentando quadro reacional, predominantemente do tipo II.

Grupo Controle: Com hanseníase confirmada e não apresentando quadro reacional.

3.2. PROTOCOLO DE SEGUIMENTO CLÍNICO

Todos os pacientes foram submetidos a três avaliações nos dias 0, entre 30 e 60 dias e entre 60 e 90 dias após a inclusão no estudo.

Os dados clínicos e demográficos de todos os pacientes foram obtidos através da aplicação de questionário elaborado especificamente para este fim e previamente testado em pacientes dos ambulatórios do HUJM (Apêndice 1).

Em cada consulta de reavaliação, foram pesquisadas alterações clínicas sugestivas de episódios reacionais, efeitos colaterais do tratamento e/ou possíveis complicações.

Os pacientes foram classificados de acordo com a classificação operacional da OMS (1982), adotada pelo MS/Brasil em 2001, que considera como paucibacilares aqueles casos com até cinco lesões de pele e/ou apenas um tronco nervoso comprometido e como multibacilares os casos com mais de cinco lesões de pele e/ou mais de um tronco nervoso comprometido. O diagnóstico clínico foi complementado pela baciloscopia e pelo cálculo do índice baciloscópico (4 a 5 sítios de coleta). Os pacientes com até cinco lesões de pele, mas com baciloscopia positiva, foram classificados com MB (MS, 2001).

O diagnóstico dos quadros reacionais, bem como das neurites, foi baseado em exame clínico e realizado por médico com experiência no seu diagnóstico e tratamento. Nos casos duvidosos, o diagnóstico foi confirmado por um segundo especialista.

O tratamento da hanseníase foi realizado no HUJM ou nas unidades de saúde próximas à residência do paciente e obedeceu às normas do Programa Nacional de Controle da Hanseníase do MS - PNCH (MS, 2010). Nos casos em que o IB inicial era $\geq 3,5$ o tratamento PQT-MB foi aumentado para 24 doses. O acompanhamento dos episódios reacionais foi realizado exclusivamente no HUJM e o seu tratamento realizado de acordo com as orientações do PNCH.

O exame de avaliação de incapacidades foi realizado por fisioterapeuta ou enfermeiro capacitado, nas unidades de saúde onde o paciente realizava o tratamento (PQT) ou no HUJM, em pelo menos em dois momentos: no início e no término do tratamento, de acordo as orientações estabelecidas pelo PNCH (MS, 2010).

As atividades profissionais foram agrupadas em: a) trabalhador braçal, que incluiu: trabalhador da construção civil, serralheiro, carpinteiro, marceneiro,

soldador, pescador, vaqueiro, mecânico, operador de máquinas, lavrador, minerador, dedetizador, pintor e prestador de serviços gerais; b) atividade doméstica: dona de casa, babá, cozinheira, passadeira, faxineira e diarista; c) atividade em área comercial: comerciante, comerciário, feirante, garçom e trabalho em eventos; d) atividade em área administrativa: microempresário, gerente financeiro, secretaria, recepcionista, auxiliar administrativo e auxiliar de logística; e) atividade em área de ensino: pedagogo, professor, auxiliar de desenvolvimento infantil e estudante; f) outras atividades, nas quais foram incluídos os desempregados e aposentados.

3.3. PROTOCOLO DE SEGUIMENTO LABORATORIAL

Amostras de sangue (10 mL) foram colhidas, por punção venosa periférica, no momento do diagnóstico de hanseníase ou do quadro reacional (dia 0) e, posteriormente, com 30-60 e 60-90 dias para a realização dos exames laboratoriais. Caso o paciente mantivesse sinais clínicos de reação em qualquer uma das avaliações de seguimento, a coleta da amostra de sangue era postergada por aproximadamente 30 dias.

Foram utilizados dois tipos de tubos para coleta, um contendo anticoagulante (EDTA) e outro sem anticoagulante. As amostras foram centrifugadas para a separação do plasma e do soro, respectivamente, sendo então armazenadas a -80°C para realização das análises posteriores de outros marcadores de inflamação.

Os exames realizados para monitoramento clínico de rotina e do perfil inflamatório dos pacientes foram: hemograma (marcadores hematológicos), dosagens séricas de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), uréia, creatinina, glicemia, ácido úrico, desidrogenase láctica (DHL), creatino-fosfoquinase total (CPK), triglicerídeos, colesterol e suas frações (HDL e LDL), denominados marcadores bioquímicos, além de marcadores de inflamação inespecíficos, como a albumina, globulina, AGP, PCR e VHS. Todos os exames foram realizados no laboratório de análises clínicas do HUJM. O exame hematológico foi realizado por analisador

automático Pentra (Horiba ABX®, Montpellier, France). A determinação da VHS foi realizada pela técnica Microtest X no analisador automático Alifax® (Padova, Itália). Para as análises bioquímicas foi utilizado o analisador automático CT 600i (Wiener Laboratories, Rosário, Argentina).

3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados demográficos, clínicos e laboratoriais coletados no estudo foram armazenados em banco de dados pelos programas MS Excel versão 2010 do Windows e Epidata Entry versão 3.1. Os níveis e a cinética de todos os exames laboratoriais estudados foram tabulados e comparados entre os três grupos acima definidos. Para tanto, foram empregados os programas Epidata Analysis (versão 2.2.2) e Stata® (versão 12). As variáveis contínuas foram comparadas pelas suas médias, usando o teste t de *Student*. Quando as variâncias dos dados não foram homogêneas entre os grupos, foi utilizado método não paramétrico de Mann-Whitney para o cálculo do valor de p. O teste não paramétrico de Wilcoxon foi utilizado para a análise comparativa pareada entre os resultados (valores médios) dos exames laboratoriais no mesmo grupo. Para todos os testes foi considerado o nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

3.5. ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Müller em 09/05/2012, pelo parecer nº 19502 (Anexo 1). Os participantes foram esclarecidos acerca das etapas e dos procedimentos da pesquisa, aceitando-os explicitamente por meio da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 2), antes da inclusão no estudo. Toda a assistência prestada aos pacientes durante a realização da pesquisa clínica deu-se de forma gratuita. Todas as intercorrências clínicas no período do estudo foram atendidas pela pesquisadora e, nos poucos casos em que foi necessária a hospitalização, esta foi feita no HUJM.

3.6. RECURSOS FINANCEIROS

O estudo foi custeado pelos recursos do PRONEX-FAPEMAT (Edital nº 009/2009 - Processo nº 841967/2009) intitulado *Avaliação de marcadores moleculares relacionados ao diagnóstico, susceptibilidade e imunidade em indivíduos clinicamente acometidos por hanseníase e seus contatos* sob coordenação do Prof. Dr. Francisco José Dutra Souto e tendo como corresponsável o Prof. Dr. Cor Jesus Fernandes Fontes.

4. RESULTADOS

4.1. CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-DEMOGRÁFICA DOS PACIENTES

Foram incluídos no estudo 124 pacientes com hanseníase, os quais procuraram o centro de referência por demanda espontânea (25%), por encaminhamento para tratamento de quadro reacional (68,4%) ou foram convocados para exame de rastreio (5,6%), por serem contatos domiciliares de pacientes com hanseníase.

A maioria dos indivíduos era do sexo masculino (73,4%) com idade entre 18 e 69 anos (média de 41,3 anos). Em relação à distribuição racial, os pardos e os brancos predominaram (108 pacientes) e apresentaram percentuais semelhantes, de 44,4% e 42,7%, respectivamente. A grande maioria (80,7%) residia em Cuiabá e Várzea Grande. O restante estava distribuído em 24 municípios, com variação de um a três casos por município. Entre as atividades profissionais as braçais predominaram (40,3%), seguidas pelas atividades domésticas e em área comercial. Sessenta e dois pacientes (50%) estudaram até o ensino fundamental, apenas sete (5,6%) eram analfabetos e nove (7,3%) tinham curso superior (Tabela 1).

Nove pacientes foram classificados como PB e 115 como MB. O exame baciloscópico foi realizado em 105 (84,7%) pacientes, sendo positivo em 87 (82,9%) (Tabela 2).

Na avaliação inicial, 26 pacientes não apresentavam reação hansênica, 10 (8%) apresentavam apenas neurite, 46 (37,1%) apresentavam RT1 e 42 apresentavam RT2. Nesses dois últimos grupos, a neurite acompanhava o quadro reacional em 17 pacientes com RT2 e em 25 pacientes com RT1. Nas análises que se seguem os pacientes com neurite isolada foram incluídos no grupo de RT1 (Tabela 2).

Tabela 1: Dados demográficos dos 124 pacientes com hanseníase acompanhados no HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Característica		n	%
Sexo	Masculino	91	73,4
	Feminino	33	26,6
Raça/cor	branca	53	42,7
	parda	55	44,4
	preta	16	12,9
Idade (anos)	18 – 30	30	24,2
	30 – 40	32	25,8
	40 – 50	27	21,8
	>50	35	28,2
	Média (DP): 41,3 (12,6)		
Escolaridade	Analfabeto	7	5,6
	≤ 8 anos	62	50,0
	8 – 12 anos	46	37,1
	> 12 anos	9	7,3
Município de residência	Cuiabá	88	71,0
	Várzea Grande	12	9,7
	Outros	24	19,3
Atividade profissional	Trabalhador braçal	50	40,3
	Atividade doméstica	19	15,3
	Atividade comercial	12	9,7
	Atividade administrativa	8	6,5
	Atividade de ensino	7	5,6
	Motorista	8	6,5
	Vigia	4	3,2
	Outras	15	12,1

Apresentavam o seu primeiro episódio reacional seis pacientes com RT2 (14,3%) e 29 pacientes com RT1 (51,8%). A neurite, definida como dor com ou sem alteração de sensibilidade, foi referida por sete pacientes (12,5%) com RT1 antes do diagnóstico da hanseníase.

Na admissão apenas dois pacientes com RT1 apresentavam febre e mal-estar, sem outros sintomas constitucionais. Nos episódios prévios a febre também não foi um sintoma referido. No grupo com RT2 os sintomas sistêmicos estiveram majoritariamente presentes (88,1%), sendo constituídos principalmente por febre, mal-estar, prostração, hiporexia/anorexia e mialgias. Outras manifestações sistêmicas foram: orquite (1 paciente), artralgia/artrite (3 pacientes) e uveíte (1 paciente). Onze pacientes apresentaram eritema nodoso necrotizante. Em episódios prévios a totalidade dos pacientes referiu ter apresentado sintomas sistêmicos.

O espessamento neural foi encontrado em 55 pacientes com RT1 (98,2%), 40 pacientes com RT2 (95,2%) e 16 controles (61,5%). O número de nervos comprometidos variou de 1 a 12 no grupo RT1, de 1 a 10 no grupo RT2 e de 2 a 6 nos controles. A neurite, por sua vez, foi diagnosticada em 62,5% dos pacientes com RT1 e em 40,5% daqueles com RT2. O número de nervos com sinais/sintomas de neurite foi, em média, um pouco maior no grupo RT2 (3,9) do que no RT1 (3,0) (Tabela 3).

As orientações do PNCH/MS em relação ao tratamento foram seguidas para a maioria dos indivíduos. Foram exceção três pacientes do grupo controle, sete com RT1 e 31 com RT2, que receberam 24 doses de PQTMB.

Tabela 2: Características clínicas dos 124 pacientes com hanseníase acompanhados no HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Característica		n	%
Classificação operacional	Paucibacilar	9	7,3
	Multibacilar	115	92,7
Baciloscopia	Positiva	87	70,2
	Negativa	18	14,5
	Não realizada	19	15,3
Índice baciloscópico*	0 – 2	37	40,6
	2,25 – 3	14	15,4
	3,25 – 4	17	18,7
	4,25 – 6	23	25,3
	Média (DP): 2,6 (3,45)		
Reação hansênica	Tipo 1	56	45,1
	Tipo 2	42	33,9
	Ausente	26	21,0
Grau de Incapacidade (pré-tratamento)	Grau zero	61	53,5
	Grau I	39	34,2
	Grau II	14	12,3
Poliquimioterapia	Instituída na entrada	37	29,8
	Em curso	46	37,1
	Concluída	41	33,1
Comorbidades**	Diabete melito tipo 2	2	1,6
	Hipertensão arterial	11	8,9
	Hiperlipidemia	7	5,6
	Tabagismo	24	19,4
	Etilismo	8	6,5
	Outras	7	5,6
	Ausentes	77	62,1

* Não disponível em 14 pacientes com baciloscopia positiva.

**alguns pacientes apresentavam mais de uma comorbidade.

Tabela 3: Características do comprometimento neural nos 124 pacientes com hanseníase acompanhados no HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Característica	Grupo	nº	nº	%	Média
		nervos	pacientes		
Espessamento neural	Reação tipo 1	0 – 2	11	19,6	4,58
		3 – 6	37	66,1	
		7 – 12	08	14,3	
	Reação tipo 2	0 – 2	10	23,8	4,78
		3 – 6	24	57,1	
		7 – 10	08	19,1	
	Sem reação	0 – 2	16	61,5	1,96
		3 – 6	10	38,5	
	Neurite	Reação tipo 1 (62,5%)	1 – 3	22	39,3
4 – 6			13	23,2	
Reação tipo 2 (40,5%)		1 – 3	6	14,3	3,94
		4 – 6	11	26,2	

A PQT foi iniciada na admissão ao estudo em 37 pacientes: 13 sem reação, 20 com RT1 e quatro com RT2. Entre estes, quatro pacientes já haviam sido tratados previamente, dois no grupo RT2 e dois no grupo com RT1. O reinício do tratamento foi indicado por recidiva em dois pacientes (IB=2,5) e por abandono nos outros dois (Tabela 4). Assim sendo, o diagnóstico da reação e da doença foi concomitante em 20 pacientes (20,4%).

Quarenta e seis pacientes encontravam-se em PQT ao entrarem no estudo: 13 pacientes sem reação, 23 com reação tipo 1 e 10 com reação tipo 2. Entre os pacientes com RT1, a entrada no estudo ocorreu entre o primeiro e o 18º mês de PQT, sendo que a grande maioria (91,3%) estava nos primeiros 10 meses de tratamento. Nos pacientes com RT2 o tempo variou de 2 a 18 meses, cinco pacientes estavam nos primeiros nove meses e cinco entre 14 e 18 meses de tratamento. No grupo sem reação, sete entraram no estudo no primeiro mês de PQT, três no segundo e três entre o oitavo e o 12º mês (Tabela 4).

Já haviam concluído o tratamento quarenta e um pacientes (33,1%): 28 com RT2 e 13 com RT1. O tempo decorrido entre o término do tratamento e a entrada no estudo variou de um a 60 meses (média de 20,1) no grupo RT1, sendo que sete haviam terminado a PQT em até 12 meses e seis entre 22 e 60 meses. No grupo RT2 variou de dois a 40 meses (média de 16), sendo que 11 pacientes haviam concluído há menos de 12 meses, 14 entre 13 e 24 meses e apenas três entre 36 e 40 meses (Tabela 4).

Tabela 4: Variação do tempo de tratamento poliquimioterápico (PQT) em relação à entrada no estudo, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

PQT	Grupo	nº pacientes	Tempo de tratamento	
			Variação (meses)	Mediana (meses)
Iniciada na entrada	Reação tipo 1	20	-	-
	Reação tipo 2	04	-	-
	Sem reação	13	-	-
Em curso	Reação tipo 1	23	1 – 18	6,0
	Reação tipo 2	10	2 – 18	11,5
	Sem reação	13	1 – 12	1,0
Concluída	Reação tipo 1	13	1 – 60	12,0
	Reação tipo 2	28	2 – 40	16,0

O exame de avaliação do grau de incapacidades (EAI) foi efetuado no início do tratamento em 114 pacientes. No grupo RT1 (n=50) o grau de incapacidade foi de I em 18 pacientes e de II em oito pacientes, entre estes um apresentava garra ulnar, um pé caído e um reabsorção óssea. No grupo RT2 (n=41) o grau foi I em 16 pacientes e II em 4 pacientes, entre estes últimos três apresentavam garra ulnar e um alteração de marcha. Entre os controles (n=23), cinco apresentaram grau I e dois grau II (Tabela 2). Não foram examinados três pacientes que haviam iniciado o tratamento recentemente. Não se obteve informações sobre o resultado do exame de sete pacientes que já haviam completado a PQT.

O EAI ao término do tratamento foi realizado em 71 pacientes (57,3%). No grupo controle, no qual a maioria ainda não havia concluído a PQT, sete foram avaliados: três com grau I e um com grau II. No grupo com RT1, 35 foram avaliados: 16 com grau I e oito com grau II. No grupo com RT2, 29 foram avaliados: 15 com grau I e quatro com grau II (dados não mostrados).

Quando as duas avaliações estavam disponíveis para o mesmo indivíduo, observou-se agravamento do nível de incapacidade em nove pacientes com RT1, oito com RT2 e um controle. Houve melhora em três pacientes com RT1 e três com RT2.

O tratamento dos episódios reacionais foi realizado com prednisona em 58 pacientes (56 com RT1 e 2 com RT2), com talidomida em 23 pacientes com RT2. Foi indicada a associação de talidomida com prednisona em 17 pacientes com RT2 que apresentavam neurite, eritema nodoso necrotizante e/ou manifestações sistêmicas, tais como artrite, uveíte e orquite. Quatro pacientes com neurite de menor intensidade, no grupo RT2, não receberam prednisona. Quatro pacientes foram admitidos ao estudo em uso de prednisona, três no grupo RT2 e um no grupo RT1. Nenhum deles apresentava controle do episódio reacional e a talidomida foi associada ao tratamento nos casos de RT2. Todos os outros pacientes com episódios reacionais não utilizavam medicamentos para seu controle há, no mínimo, 15 dias.

As comorbidades mais frequentes foram a hipertensão arterial sistêmica (8,9%) e o tabagismo (19,4%). Setenta e sete pacientes (62,1%) não apresentavam comorbidades (Tabela 2).

Durante o seguimento ocorreram perdas nos três grupos avaliados e o abandono do estudo foi o principal motivo. As perdas foram assim distribuídas: entre a 1ª e 2ª avaliações: 5 casos no grupo controle, 7 no grupo RT1 e 5 no grupo RT2; entre a 2ª e a 3ª avaliações: 9 casos no grupo controle, 7 no grupo RT1 e 5 no grupo RT2. Além disso, houve uma pequena variação no número de pacientes avaliados entre cada um dos exames realizados nos grupos, em decorrência de problemas técnicos na coleta e cadastramento dos exames laboratoriais.

4.2. RESULTADOS DOS MARCADORES HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E DE INFLAMAÇÃO INESPECÍFICA NO GRUPO DE PACIENTES COM REAÇÃO TIPO 1

Na análise dos exames laboratoriais no grupo de pacientes com reação tipo 1 em comparação aos controles pôde-se observar, na avaliação inicial, que, hematologicamente, houve uma variação muito ampla na contagem total de leucócitos nos indivíduos com RT1, no entanto, sem diferença significativa entre os grupos. As contagens médias de neutrófilos e monócitos foram maiores no grupo RT1 ($p=0,02$ e $p=0,0006$, respectivamente), também com grande dispersão dos valores que variaram de 1760 a 21590/mm³ para neutrófilos e de 140 e 1778/mm³ para monócitos (Tabela 5).

Tabela 5: Marcadores hematológicos em pacientes com reação tipo 1 (n=56) e controles (n=26) na avaliação inicial, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Parâmetro	Reação tipo 1		Controle		p
	Média (DP)		Média (DP)		
Hemoglobina (g/dl)	13,9	(1,92)	13,6	(1,47)	0,477*
Leucócitos	8152,3	(4002,6)	6328,8	(1584,9)	0,052 [¶]
Neutrófilos	5490,1	(3628)	3774,7	(1288,8)	0,0197[¶]
Eosinófilos	212,9	(280,7)	207,1	(143,3)	0,132 [¶]
Linfócitos	1778,2	(677,1)	1961,4	(533,7)	0,228*
Monócitos	606,2	(326,8)	374,8	(176,1)	0,0006[¶]
Plaquetas	243392,9	(60071)	238115,4	(56764)	0,708*

* teste t de *Student*; [¶] teste de Mann Whitney

Não houve diferença nos valores médios de nenhum dos marcadores de inflamação inespecíficos (VHS, PCR, AGP e albumina) entre os grupos. A dispersão de valores foi grande nos dois últimos. Os marcadores bioquímicos também não se alteraram, com exceção dos níveis séricos médios de ureia que apresentaram aumento em relação ao grupo controle. Apesar de, na média, estarem aumentados, os valores de ureia mantiveram-se dentro da variação normal para o método (10 – 50 mg/dL) em todos os pacientes com RT1 (Tabela 6).

Tabela 6: Marcadores bioquímicos e de inflamação inespecífica em pacientes com reação tipo 1 (n=56) e controles (n=26) na avaliação inicial, HJUM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Parâmetro	Reação tipo 1 Média (DP)	Controle Média (DP)	p
VHS (mm)	17,1 (20,4)	20,0 (19,1)	0,563*
AGP (mg/dL)	106,3 (54,1)	97,3 (23,7)	0,89 [¶]
PCR (mg/dl)	14,6 (29,2)	4,8 (3,9)	0,549 [¶]
Albumina (g/dl)	4,1 (0,42)	4,3 (0,35)	0,106*
Globulina (g/dl)	3,0 (0,83)	3,2 (0,69)	0,510*
CPK (U/L)	147,8 (152,7)	152,0 (82,2)	0,193 [¶]
Uréia (mg/dl)	30,0 (8,5)	24,4 (6,3)	0,004*
Creatinina (mg/dl)	0,9 (0,24)	0,9 (0,18)	0,276*
AST (U/L)	24,4 (10,3)	23,8 (8,8)	0,805*
ALT (U/L)	35,3 (24,8)	25,4 (9,0)	0,082 [¶]
Ácido Úrico (mg/dl)	4,8 (1,7)	4,7 (1,4)	0,976*
DHL (U/L)	422,8 (149,0)	389,6 (111,5)	0,324*
Glicemia (mg/dl)	92,0 (32,8)	83,5 (10,3)	0,170 [¶]
Colesterol total (mg/dl)	179,7 (49,3)	182,4 (38,5)	0,807*
Colesterol HDL (mg/dl)	37,0 (12,1)	39,6 (11,6)	0,354*
Colesterol LDL (mg/dl)	107,1 (34,9)	116,9 (31,2)	0,231*
Colesterol VLDL (mg/dl)	37,6 (50,2)	25,4 (14,3)	0,307 [¶]
Triglicerídeos (mg/dl)	237,7 (421,5)	126,9 (71,4)	0,218 [¶]

*teste t de *Student*; [¶] teste de Mann Whitney

Na avaliação subsequente os valores médios de monócitos mantiveram-se aumentados ($p=0,025$) e com menor dispersão. Os leucócitos e os neutrófilos apresentaram elevação média significativa (Tabela 7).

Entre os marcadores bioquímicos e de inflamação inespecífica houve redução na média dos níveis séricos da globulina ($p=0,038$) e do valor médio de VHS ($p=0,028$). A creatinina se mostrou levemente aumentada em relação aos controles ($p=0,0478$), mas com valores dentro da faixa de normalidade para o método em todos os pacientes avaliados. O maior nível sérico apresentado foi de 1,2 mg/dL (Tabela 8).

Tabela 7: Marcadores hematológicos em pacientes com reação tipo 1 (n=49) e controles (n=21) na segunda avaliação, HJUM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Parâmetro	Reação tipo 1		Controle		p
	Média (DP)		Média (DP)		
Hemoglobina (g/dl)	13,6	(1,6)	13,1	(1,4)	0,193*
Leucócitos	9454,1	(8591,3)	5769,5	(1943,6)	<0,0001[¶]
Neutrófilos	6521,3	(2631,2)	3337,2	(1499,8)	<0,0001[¶]
Eosinófilos	124,9	(112,0)	207,7	(249,7)	0,143 [¶]
Linfócitos	2323,5	(1154)	1781,8	(499,1)	0,087 [¶]
Monócitos	554,5	(276,2)	401,4	(200,7)	0,025*
Plaquetas	221285,7	(58606)	232571,4	(56588)	0,458*

* teste t de *Student*; [¶] teste de Mann Whitney

Tabela 8: Avaliação dos marcadores bioquímicos e de inflamação inespecífica em pacientes com reação tipo 1 (n=49) e controles (n=21) na segunda avaliação, HJUM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Parâmetro	Reação tipo 1		Controle		p
	Média (DP)		Média (DP)		
VHS (mm)	9,2	(11,8)	20,3	(25,5)	0,028[¶]
AGP (mg/dl)	99,0	(32,8)	96,0	(23,2)	0,702*
PCR (mg/dl)	4,9	(8,1)	4,3	(3,0)	0,062 [¶]
Albumina (g/dl)	4,14	(0,27)	4,2	(0,27)	0,426*
Globulina (g/dl)	2,63	(0,61)	3,1	(0,57)	0,038*
CPK (U/L)	112,9	(136,1)	134,0	(88,3)	0,057 [¶]
Ureia (mg/dl)	32,6	(9,9)	28,7	(7,5)	0,106*
Creatinina (mg/dl)	0,9	(0,15)	0,8	(0,18)	0,048*
AST (U/L)	18,8	(6,7)	25,0	(9,8)	0,918 [¶]
ALT (U/L)	30,9	(16,9)	32,7	(16,1)	0,678*
Ácido Úrico (mg/dl)	4,3	(1,1)	4,5	(1,4)	0,630*
DHL (U/L)	426,9	(120,7)	400,7	(120,5)	0,426*
Glicemia (mg/dl)	90,3	(29,1)	80,6	(7,7)	0,350 [¶]
Colesterol total (mg/dl)	192,7	(42,7)	173,9	(28,5)	0,077*
Colesterol HDL (mg/dl)	44,2	(11,9)	38,3	(10,5)	0,058*
Colesterol LDL (mg/dl)	114,0	(30,4)	109,1	(29,5)	0,558*
Colesterol VLDL (mg/dl)	29,2	(18,8)	25,6	(16,0)	0,462*
Triglicerídeos (mg/dl)	174,7	(147,6)	127,7	(80,2)	0,068 [¶]

* teste t de *Student*; [¶] teste de Mann Whitney.

Para avaliar o comportamento evolutivo dos marcadores hematológicos, bioquímicos e de inflamação inespecífica durante o acompanhamento dos pacientes, foi realizada análise comparativa pareada entre a amostra colhida na entrada (primeira) e as amostras dos dois momentos subsequentes. Foram mostrados apenas os resultados dos exames que sofreram alteração estatisticamente significativa em alguma das análises estatísticas do estudo.

Alterações significativas foram observadas nos valores médios de hemoglobina nos dois grupos (com e sem reação), com queda progressiva e mais evidente nos controles. Nos pacientes com quadro reacional, os leucócitos e os neutrófilos apresentaram elevação progressiva de suas médias. Os monócitos mantiveram-se elevados e estáveis. As plaquetas, que não apresentavam elevação significativa da sua média inicial em relação aos controles, reduziram-se significativamente durante o seguimento (Tabela 9).

Tabela 9: Avaliação de seguimento dos marcadores hematológicos nos grupos de pacientes com reação tipo 1 e controles, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Marcador	Grupo	1ª Avaliação Média (DP)	2ª Avaliação Média (DP)	p*	3ª Avaliação Média (DP)	p*
Hb [¶] (g/dL)	Controle	13,6 (1,5)	13,1 (1,4)	0,045	12,6 (2,0)	0,019
	RT1	13,9 (1,9)	13,6 (1,6)	0,289	13,3 (1,8)	0,020
Leucócitos	Controle	6369 (1585)	5770 (1944)	0,03	6418 (2023)	0,433
	RT1	8152 (4003)	9454 (8591)	0,0003	9742 (3132)	0,0003
Neutrófilos	Controle	3775 (1289)	3337 (1500)	0,042	3934 (1502)	0,530
	RT1	5490 (3628)	6521 (2631)	0,001	6715 (2758)	0,0013
Linfócitos	Controle	1961 (534)	1782 (499)	0,058	1876 (606)	0,695
	RT1	1778 (677)	2324 (1154)	0,002	2237 (1049)	0,013
Monócitos	Controle	375 (176)	401 (201)	0,543	395 (175)	0,480
	RT1	606 (327)	555 (276)	0,713	597 (293)	0,533
Plaquetas	Controle	238115 (56764)	232571 (56588)	0,931	233167 (93449)	0,814
	RT1	243393 (60071)	221286 (58606)	0,0003	224452 (55787)	0,005

* teste de Wilcoxon: comparação pareada entre valores da segunda vs primeira e terceira vs primeira avaliações; [¶] hemoglobina

Na análise dos marcadores de inflamação, os pacientes com RT1 apresentaram evolutivamente redução significativa dos níveis séricos médios de PCR e dos valores médios da VHS. As globulinas, a CPK, a AST e a fração HDL do colesterol, que apresentaram níveis séricos médios dentro da normalidade, também evoluíram com redução progressiva e significativa. Os níveis séricos médios de DHL apresentaram elevação ao longo do acompanhamento dos pacientes com RT1, com diferença significativa entre a primeira e terceira avaliações (Tabela 10).

Tabela 10: Avaliação de seguimento dos marcadores bioquímicos e de inflamação inespecífica nos grupos de pacientes com reação tipo 1 e controles, HUIJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Marcador	Grupo	1ª Avaliação Média (DP)	2ª Avaliação Média (DP)	p*	3ª Avaliação Média (DP)	p*
VHS (mm)	Controle	20 (19,1)	20,3 (25,5)	0,5064	16,3 (14,1)	0,1005
	RT1	17,1 (20,4)	9,2 (11,8)	0,0033	8,8 (11,3)	0,0005
AGP (mg/dl)	Controle	97,3 (23,7)	96,0 (23,2)	0,4204	91,6 (26,5)	0,7894
	RT1	106,3 (54,1)	99,0 (32,8)	0,983	97,1 (31,6)	0,385
PCR (mg/dL)	Controle	4,8 (3,9)	4,3 (3,0)	0,2145	9,2 (13,1)	0,3882
	RT1	14,6 (29,2)	4,9 (8,1)	0,0162	4,8 (8,1)	0,0044
Globulina (g/dL)	Controle	3,16 (0,69)	3,10 (0,57)	0,2314	2,91 (0,33)	0,3276
	RT1	3,03 (0,69)	2,63 (0,61)	0,0001	2,55 (0,58)	0,0002
CPK (U/L)	Controle	152,0 (82,2)	134,0 (88,3)	0,4220	103,8 (42,0)	0,0123
	RT1	147,8 (152,7)	112,9 (136,1)	0,0017	103,5 (94,6)	0,0095
AST (U/L)	Controle	23,8 (8,8)	25,0 (9,8)	0,638	21,8 (6,2)	0,190
	RT1	24,4 (10,3)	18,8 (6,7)	0,00063	18,1 (5,8)	0,0009
DHL (U/L)	Controle	389,6 (111,5)	400,7 (120,5)	0,9826	409,9 (90,2)	0,5147
	RT1	422,8 (149,0)	426,9 (120,7)	0,2150	475,4 (134,5)	0,0296
HDL colesterol (mg/dL)	Controle	39,6 (11,6)	38,3 (10,5)	0,1395	37,7 (7,6)	0,7526
	RT1	37,0 (12,1)	44,2 (11,9)	0,0002	42,5 (10,6)	0,0003

* teste de Wilcoxon: comparação pareada entre valores da segunda vs primeira e terceira vs primeira avaliações

4.3. RESULTADOS DOS MARCADORES HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E DE INFLAMAÇÃO INESPECÍFICA NO GRUPO DE PACIENTES COM REAÇÃO TIPO 2

Na avaliação inicial, a análise dos exames laboratoriais no grupo de pacientes com RT2 em comparação aos controles mostrou que, hematologicamente, houve aumento do número médio de leucócitos, neutrófilos e monócitos ($p < 0,001$) e redução dos níveis médios de hemoglobina ($p = 0,009$). Foi observada grande dispersão dos valores em todos os parâmetros analisados (Tabela 11).

Tabela 11: Marcadores hematológicos em pacientes com reação tipo 2 (n=42) e controles (n=26) na avaliação inicial, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Parâmetro	Reação tipo 2 Média (DP)		Controle Média (DP)		p*
Hemoglobina (g/dl)	12,2	(2,2)	13,6	(1,5)	0,0091
Leucócitos	14687,1	(6736,4)	6368,8	(1584,9)	<0,0001
Neutrófilos	11597,9	(6592)	3774,7	(1288,8)	<0,0001
Eosinófilos	220,0	(306,9)	207,1	(143,3)	0,2547
Linfócitos	2104,6	(1203,9)	1961,4	(533,7)	0,9698
Monócitos	683,0	(391,8)	374,8	(176,1)	0,0003
Plaquetas	335404,8	(196857)	238115,4	(56764)	0,0711

* Teste de Mann Whitney

Entre os marcadores inespecíficos de inflamação, PCR, AGP e VHS apresentaram aumento em seus valores médios ($p < 0,0001$). Por outro lado, a albumina apresentou redução em seus níveis séricos médios ($p < 0,0001$). Os marcadores bioquímicos como, o ácido úrico, colesterol total e as frações HDL e LDL, AST e CPK apresentaram níveis séricos médios significativamente reduzidos. A maioria deles com níveis médios dentro da faixa de normalidade (Tabela 12).

Tabela 12: Marcadores bioquímicos e de inflamação inespecífica em pacientes com reação tipo 2 (n=42) e controles (n=26) na avaliação inicial, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Parâmetro	Reação tipo 2 Média (DP)	Controle Média (DP)	p
VHS (mm)	57,7 (38,4)	20,0 (19,1)	<0,001 [¶]
AGP (mg/dl)	246,5 (100,2)	97,3 (23,7)	<0,001 [¶]
PCR (mg/dl)	81,4 (49,0)	4,8 (3,9)	<0,001 [¶]
Albumina (g/dl)	3,8 (0,38)	4,3 (0,35)	<0,001 *
Globulina (g/dl)	3,1 (0,85)	3,2 (0,69)	0,871*
CPK (U/L)	147,5 (572,4)	152,0 (82,2)	<0,001 [¶]
Uréia (mg/dl)	30,6 (13,7)	24,4 (6,3)	0,148 [¶]
Creatinina (mg/dl)	0,98 (0,28)	0,86 (0,18)	0,109 [¶]
AST (U/L)	23,6 (21,8)	23,8 (8,8)	0,014 [¶]
ALT (U/L)	38,0 (45,2)	25,4 (9,0)	0,441 [¶]
Ácido Úrico (mg/dl)	4,08 (1,14)	4,74 (1,43)	0,043 *
Desidrogenase láctica (U/L)	389,6 (173,2)	389,6 (111,5)	0,469 [¶]
Glicemia (mg/dl)	95,5 (35,9)	83,5 (10,3)	0,351 [¶]
Colesterol total (mg/dl)	155,1 (38,8)	182,4 (38,5)	0,006 *
Colesterol HDL (mg/dl)	29,5 (11,4)	39,6 (11,6)	0,009 *
Colesterol LDL (mg/dl)	98,9 (30,7)	116,9 (31,2)	0,023 *
Colesterol VLDL (mg/dl)	26,7 (13,4)	25,4 (14,3)	0,701*
Triglicerídeos (mg/dl)	135,0 (70,0)	126,9 (71,4)	0,650*

*teste t de *Student*, [¶] teste de Mann Whitney

Na avaliação subsequente, os leucócitos, neutrófilos e monócitos mantiveram elevação significativa na média de sua contagem nos pacientes com RT2. Observou-se elevação dos valores médios dos linfócitos ($p=0,016$) e normalização dos níveis de hemoglobina (Tabela 13).

Entre os marcadores de inflamação, tanto a AGP quanto a PCR mantiveram níveis séricos médios significativamente elevados, enquanto a albumina manteve-se mais baixa ($p=0,007$). Entre os marcadores bioquímicos, a CPK e a AST mantiveram-se em níveis séricos médios significativamente mais baixos. O nível sérico médio de globulina apresentou redução em relação aos controles, estando em ambos dentro da faixa de normalidade para o método (Tabela 14).

Tabela 13: Marcadores hematológicos em pacientes com reação tipo 2 (n=39) e controles (n=21) na segunda avaliação, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Parâmetro	Reação tipo 2		Controle		p
	Média (DP)		Média (DP)		
Hemoglobina (g/dl)	13,3	(1,8)	13,1	(1,4)	0,668*
Leucócitos	10387,7	(4767)	5769,5	(1943,6)	0,0001 [¶]
Neutrófilos	6910,9	(4187)	3337,2	(1499,8)	0,0002 [¶]
Eosinófilos	317,8	(288,8)	207,7	(249,7)	0,146*
Linfócitos	2391,0	(998,6)	1781,8	(499,1)	0,016 [¶]
Monócitos	658,1	(415,3)	401,4	(200,7)	0,004 [¶]
Plaquetas	287205,1	(128646)	232571,4	(56588)	0,152 [¶]

* teste t de *Student*; [¶] teste de Mann Whitney

Tabela 14: Marcadores bioquímicos e de inflamação inespecífica em pacientes com reação tipo 2 (n=39) e controles (n=21) na segunda avaliação, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Parâmetro	Reação tipo 2		Controle		p
	Média (DP)		Média (DP)		
VHS (mm)	27,1	(18,4)	20,3	(8,7)	0,343*
AGP (mg/dl)	129,8	(44,8)	96,0	(23,2)	<0,001 [¶]
PCR (mg/dl)	18,1	(25,8)	4,3	(3,0)	0,004 [¶]
Albumina (g/dl)	4,0	(0,27)	4,2	(0,27)	0,007 *
Globulina (g/dl)	2,76	(0,62)	3,1	(0,57)	0,042 *
CPK (U/L)	62,5	(36,9)	134,0	(88,3)	<0,001 [¶]
Uréia (mg/dl)	28,7	(7,2)	28,7	(7,5)	0,968*
Creatinina (mg/dl)	0,9	(0,13)	0,8	(0,18)	0,119*
AST (U/L)	18,7	(19,8)	25,0	(9,8)	<0,001 [¶]
ALT (U/L)	34,1	(42,3)	32,7	(16,1)	0,046 [¶]
Ácido Úrico (mg/dl)	4,27	(1,36)	4,5	(1,4)	0,576*
Desidrogenase láctica (U/L)	394,0	(214,8)	400,7	(120,5)	0,236 [¶]
Glicemia (mg/dl)	86,1	(22,8)	80,6	(7,7)	0,675 [¶]
Colesterol total (mg/dl)	182	(44,6)	173,9	(28,5)	0,844 [¶]
Colesterol HDL (mg/dl)	38,2	(10,2)	38,3	(10,5)	0,998*
Colesterol LDL (mg/dl)	109,8	(29,8)	109,1	(29,5)	0,934*
Colesterol VLDL (mg/dl)	28,4	(15,1)	25,5	(16,0)	0,523*
Triglicerídeos (mg/dl)	160,7	(110,8)	127,7	(80,2)	0,254*

* teste t de *Student*; [¶] teste de Mann Whitney

Da mesma forma que anteriormente, avaliou-se o comportamento evolutivo dos exames laboratoriais, durante o período de acompanhamento dos pacientes com RT2, por análise comparativa pareada entre as amostras. Igualmente, só foram exibidos os resultados dos exames que sofreram alteração estatisticamente significativa em algum dos momentos analisados.

Nota-se, na avaliação dos marcadores hematológicos, que houve elevação progressiva nos valores médios de hemoglobina nos pacientes com RT2 ($p=0,0002$), diferentemente dos controles que apresentaram queda progressiva significativa na média dos valores. Observou-se redução progressiva significativa nas contagens médias de leucócitos, neutrófilos e plaquetas no grupo RT2. À semelhança do que ocorreu na RT1, os monócitos se mantiveram, em média, estáveis durante o seguimento e em níveis superiores aos dos controles. Durante o seguimento os eosinófilos apresentaram elevação progressiva na média de sua contagem ($p<0,05$) (Tabela 15).

Tabela 15: Avaliação de seguimento dos marcadores hematológicos nos grupos de pacientes com reação tipo 2 e controles, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Marcador	Grupo	1ª Avaliação Média (DP)	2ª Avaliação Média (DP)	p*	3ª Avaliação Média (DP)	p*
Hb [¶] (g/dL)	Controle	13,6 (1,5)	13,1 (1,4)	0,045	12,6 (2,0)	0,0186
	RT2	12,2 (2,2)	13,3 (1,8)	0,0004	13,6 (1,8)	0,0002
Leucócitos	Controle	6369 (1585)	5770 (1944)	0,03	6418 (2023)	0,4326
	RT2	14687 (6736)	10388 (4767)	0,0001	9622 (3862)	0,0001
Neutrófilos	Controle	3775 (1289)	3337 (1500)	0,042	3934 (1502)	0,530
	RT2	11598 (6592)	6911 (4187)	0,0001	6530 (3386)	0,0001
Eosinófilos	Controle	207 (143,3)	208 (250)	0,131	159 (97)	0,347
	RT2	220 (307)	318 (289)	0,0006	317 (376)	0,005
Monócitos	Controle	375 (176)	401 (201)	0,543	395 (175)	0,480
	RT2	683 (392)	658,1 (415)	0,5346	593,0 (327)	0,118
Plaquetas	Controle	238115 (56764)	232571 (56588)	0,9307	233167 (93449)	0,814
	RT2	335405 (196857)	287205 (128646)	0,2889	252088 (95232)	0,003

* teste de Wilcoxon: comparação pareada entre valores da segunda vs primeira e terceira vs primeira avaliações

¶ hemoglobina

Na comparação dos marcadores de inflamação inespecífica, os indivíduos no grupo RT2 apresentaram redução significativa nos valores médios de PCR, AGP e VHS durante o acompanhamento, enquanto o nível sérico médio de albumina se elevou ($p=0,008$). A globulina, que na dosagem inicial não apresentava aumento significativo em relação aos controles, apresentou redução gradual significativa em seus níveis séricos médios, durante o seguimento. O oposto ocorreu com o colesterol total e suas frações, LDL e principalmente HDL, cujos níveis séricos médios apresentaram elevação significativa em relação à dosagem inicial (Tabela 16).

Tabela 16 - Avaliação de seguimento dos marcadores bioquímicos e de inflamação inespecífica nos grupos de pacientes com reação tipo 2 e controles, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Marcador	Grupo	1ª Avaliação Média (DP)	2ª Avaliação Média (DP)	p^*	3ª Avaliação Média (DP)	p^*
VHS (mm)	Controle	20 (19,1)	20,3 (25,5)	0,5064	16,3 (14,1)	0,1005
	RT2	57,7 (38,4)	27,1 (25,6)	0,0001	18,3 (18,4)	0,0005
AGP (mg/dL)	Controle	97,3 (23,7)	96,0 (23,2)	0,4204	91,6 (26,5)	0,7894
	RT2	246,5 (100,2)	129,8 (44,8)	0,0001	105,3 (31,2)	0,0001
PCR (mg/dL)	Controle	4,8 (3,9)	4,3 (3,0)	0,2145	9,2 (13,1)	0,3882
	RT2	81,4 (49,0)	18,1 (25,8)	0,0001	9,9 (14,1)	0,0001
Albumina (g/dL)	Controle	4,3 (0,35)	4,20 (0,265)	0,5001	4,13 (0,084)	0,3479
	RT2	3,8 (0,38)	3,99 (0,27)	0,169	4,07 (0,276)	0,008
Globulina (g/dL)	Controle	3,16 (0,69)	3,10 (0,57)	0,2314	2,91 (0,33)	0,3276
	RT2	3,12 (0,85)	2,76 (0,62)	0,0013	2,74 (0,6)	0,0154
CPK (U/L)	Controle	152,0 (82,2)	134,0 (88,3)	0,4220	103,8 (42,0)	0,0123
	RT2	147,5 (572,4)	62,5 (36,9)	0,0439	72,6 (72,4)	0,0180
ALT (U/L)	Controle	25,4 (9,0)	32,7 (16,1)	0,062	26,4 (15,9)	0,8751
	RT2	38,0 (45,2)	34,1 (42,3)	0,1224	24,1 (19,1)	0,0384
Colesterol (mg/dL)	Controle	182,4 (38,5)	173,9 (28,5)	0,1912	158,8 (33,8)	0,0229
	RT2	155,1 (38,8)	182,0 (44,6)	0,0002	175,0 (41,8)	0,0093
HDL colesterol (mg/dL)	Controle	39,6 (11,6)	38,3 (10,5)	0,1395	37,7 (7,6)	0,7526
	RT2	29,5 (11,4)	38,2 (10,2)	0,0003	37,8 (9,4)	0,0008
LDL colesterol (mg/dL)	Controle	116,9 (31,2)	109,1 (29,5)	0,3981	101,2 (24,5)	0,1823
	RT2	98,9 (30,7)	109,8 (29,8)	0,0227	109,5 (32,0)	0,1192

* teste de Wilcoxon: comparação pareada entre valores da segunda vs primeira e terceira vs primeira avaliações

O ácido úrico também apresentou redução dos seus níveis séricos no grupo RT2 em relação ao grupo controle, além disso, seus níveis séricos mantiveram-se mais baixos nas duas avaliações subsequentes. A análise desse achado foi feita em separado, na forma de artigo (Apêndice 3), aceito para publicação em 22/02/2016, no periódico *PeerJ*.

5. DISCUSSÃO

O fato de as reações hansênicas terem impacto negativo na qualidade de vida dos pacientes, agravando as incapacidades decorrentes do dano neural e gerando morbidade, tem estimulado os estudiosos a identificar possíveis fatores de risco para o seu desenvolvimento, ainda hoje não completamente estabelecidos. Estudos visando a identificação de biomarcadores inflamatórios que possam auxiliar na predição e no diagnóstico das reações hansênicas tem se intensificado nas últimas décadas, impulsionados pelos avanços tecnológicos, que simplificaram a detecção dos níveis e/ou a expressão de citocinas e quimiocinas em diferentes espécimes biológicos. No entanto, na maioria dos serviços que assistem a esses pacientes, os recursos diagnósticos são escassos e o diagnóstico, com frequência, depende da habilidade do examinador.

No presente estudo destacaram-se os achados de alterações em um conjunto de marcadores de inflamação, hematológicos e bioquímicos, de aplicação comum na prática médica, nos pacientes com RT2 no momento do diagnóstico do episódio reacional e durante a sua evolução, após a intervenção terapêutica. Embora praticamente todos os marcadores avaliados já tenham sido estudados e suas alterações descritas na literatura, poucos foram os estudos em que eles foram avaliados de forma conjunta e em abordagem longitudinal.

5.1. PERFIL CLÍNICO-DEMOGRÁFICO DOS PACIENTES

Entre os pacientes do estudo houve predomínio do sexo masculino, sobretudo no grupo com reações (78,6%). Essas proporções foram superiores às relatadas em outros estudos realizados no Brasil, estando mais próximas, embora ainda superiores, às observadas em países asiáticos (SCOLLARD et al., 2014). Nos pacientes do grupo controle a distribuição de mulheres (46,2%) e homens (53,8%) foi semelhante à referida por Miranzi et al. (2010). A maior frequência de formas MB, provavelmente decorrente da demora no diagnóstico

da hanseníase, explicaria a maior incidência das reações em homens (SILVA; GRIEP, 2007; ANTUNES et al., 2013).

A distribuição proporcional dos casos foi semelhante entre os extratos etários, com 50% dos indivíduos na faixa de 18 a 40 anos. A média de idade (41,3 anos) foi similar à relatada em outros estudos com pacientes reacionais, grupo que predominou neste estudo, no entanto, a menor frequência de indivíduos com mais de 60 anos (6,5%) diferiu da maioria (SILVA; GRIEP, 2007; ANTUNES et al., 2013; SCOLLARD et al., 2014). Os pacientes com RT2 apresentaram média de idade menor (39 anos), o que é compatível com a situação de hiperendemicidade no estado de Mato Grosso (MS, 2013).

À semelhança do que foi observado em outros estudos (LEITE et al., 2009; MIRANZI et al., 2010) houve predomínio de indivíduos pardos e negros (57,3%). Poucos estudos incluem a variável cor/raça nas análises, provavelmente pelo seu caráter subjetivo, sobretudo em regiões que apresentam grande miscigenação. Um aspecto a ser destacado no presente estudo é o fato de que 37,1% dos pacientes estavam em tratamento (PQT) na admissão, o que pode ter dificultado a diferenciação de cor, em razão da hiperpigmentação da pele ocasionada pela clofazimina (BRASIL, 2014).

A ocorrência de hanseníase é associada a condições socioeconômicas menos favoráveis, o que propicia a sua transmissão e dificulta a compreensão da doença e suas complicações. Como observado em outros estudos (SILVA; GRIEP, 2007; MIRANZI et al., 2010), a maioria dos indivíduos deste estudo tinha escolaridade até 8 anos (55,6%), o que refletiu na proporção elevada de indivíduos engajados em atividades profissionais braçais e domésticas (55,6%).

Em regiões hiperendêmicas, em que o diagnóstico da doença é tardio, as formas multibacilares representam a maioria dos casos (LIMA et al., 2010) e é esse grupo de indivíduos que mais apresenta episódios reacionais (SCOLLARD et al., 2006). Neste estudo a desproporção entre casos PB e MB pode ter sido maior em razão das características do serviço de saúde onde foi desenvolvido, isto é, trata-se de hospital de ensino, referência para doenças tropicais, voltado para o atendimento de casos de maior complexidade ou de diagnóstico mais difícil. No entanto, outros estudos que avaliaram indivíduos

com reações hansênicas também relataram proporções semelhantes da forma MB (75,8% a 80,5%) em sua casuística (ANTUNES et al., 2013; SCOLLARD et al., 2014).

Coerentemente com o predomínio de formas MB, a baciloscopia foi positiva na grande maioria dos casos (70,3%) e o IB foi superior a 2 em 59% deles. A existência de número expressivo de pacientes com IB alto explicaria a alta proporção (34%) pacientes com RT2 neste estudo, similarmente ao observado por Antunes et al. (2013) e diferentemente de outros estudos com pacientes no Brasil (SILVA; GRIEP, 2007; SCOLLARD et al., 2014), nos quais as RT1 foram muito mais frequentes. Outra hipótese é o fato do estudo ter sido realizado em serviço de referência, onde há uma demanda maior de reações mais graves. De fato, Voorend e Post (2013) citam uma maior proporção de RT2 em estudo realizados em hospitais, com variação de 24 a 51%.

Merece destaque o achado de demora no diagnóstico da hanseníase entre alguns pacientes do estudo, uma vez que, em 20 pacientes, 18 com RT1 e dois com RT2, o diagnóstico da hanseníase foi concomitante ao do episódio reacional. Esta é a realidade do diagnóstico da doença no estado de Mato Grosso, segundo dados disponíveis até 2013 (MS, 2013). Em estudo realizado por Scollard et al. (2014), verifica-se que a frequência de RT1 e RT2 no diagnóstico, observada neste estudo, está mais próxima da encontrada no Nepal. Assim como o Brasil, o Nepal está entre os países que notificaram mais de 1000 casos novos de hanseníase ao ano nos últimos cinco anos (WHO, 2014).

Outra variável que sugere morosidade no diagnóstico e tratamento da doença e/ou de seus quadros reacionais nos pacientes deste estudo foi a detecção de grau II de incapacidade em cifras superiores às referidas na literatura (VAN BRAKEL et al., 2005; SILVA; GRIEP, 2007; LIMA et al., 2010) e está de acordo com a situação de Mato Grosso no cenário nacional (MS, 2013). Este achado também poderia ser explicado pelo perfil dos pacientes do estudo, já que a maioria apresentava e/ou havia apresentado quadro reacional.

Neste estudo, a frequência de neurite como manifestação reacional isolada foi baixa, similar à observada por Scollard et al. (2014), mas acima da

referida por Van Brakel et al. (2005). O espessamento neural estava presente em 89% dos pacientes, o que era esperado em razão do elevado número de indivíduos com a forma MB, coincidindo com os achados da coorte INFIR (VAN BRAKEL et al., 2005). Por outro lado a neurite foi mais frequente (53%) do que documentaram outros estudos (VAN BRAKEL et al., 2005; SILVA; GRIEP, 2007; SCOLLARD et al. 2014). A dificuldade para diferenciar neurite de neuralgia, sobretudo nos pacientes com comprometimento neural de duração mais prolongada, é um aspecto que merece ser mencionado e que pode ter contribuído para esse maior percentual. Seria fundamental a disponibilidade de métodos complementares auxiliares, de preferência não invasivos, para o diagnóstico diferencial e a abordagem terapêutica adequada, o que não ocorre na prática no serviço público.

Quando se analisa a relação entre o tempo de tratamento e o diagnóstico do episódio reacional, os dados encontrados neste estudo em comparação com os relatados por Nery et al (1998) e Silva e Griep (2007) apresentaram poucas diferenças, entre elas o número um pouco maior de reações diagnosticadas na admissão, concomitantemente ao diagnóstico da hanseníase, e o número bem maior de reações após o término da PQT no presente estudo. É oportuno lembrar a tendência à recorrência e cronificação da RT2 (KAHAWITA et al., 2008). A grande maioria (85,7%) dos pacientes no grupo RT2 referiu episódios reacionais prévios à admissão no estudo. No grupo RT1 essa proporção foi menor.

5.2. MARCADORES DE INFLAMAÇÃO INESPECÍFICA NA REAÇÃO TIPO 1

As RT1 são reações de hipersensibilidade tardia localizadas em pele e nervos, com poucas e raras manifestações sistêmicas. Os níveis de citocinas e quimiocinas circulantes não refletem o que ocorre localmente, onde sua expressão e níveis são superiores (WALKER; LOCKWOOD, 2008). Essas características fazem com que o diagnóstico das RT1 continue sendo basicamente clínico, podendo ser auxiliado pelo exame histopatológico das lesões de pele. Até o momento inexistem biomarcadores sistêmicos capazes de identificar ou prever as RT1 de modo uniforme.

Na análise do resultado dos exames laboratoriais realizados no presente estudo, as únicas alterações (hematológicas e bioquímicas) encontradas na avaliação inicial do grupo RT1 foram a monocitose e a neutrofilia. Ambas representariam uma manifestação da resposta inflamatória de fase aguda. As inflamações agudas e crônicas podem cursar com monocitose, o que possibilita a eliminação dos patógenos e de restos celulares após lesão ou isquemia. No entanto, quando exagerada, a monocitose pode agravar o dano tecidual ao propagar a ativação imune (DUTTA; NAHRENDORF, 2014).

A leucocitose e neutrofilia são marcadores classicamente descritos nas inflamações (GABAY; KUSHNER, 1999), já o aumento do número de monócitos tem sido associado a alguns processos inflamatórios apenas recentemente, com destaque para as doenças cardiovasculares (AFIUNENETO et al., 2006; RUPARELIA et al., 2015). Recentemente, Ruparelia et al. (2015) demonstraram que os monócitos respondiam com aumento numérico no sangue periférico após o IAM, exibindo fenótipo inflamatório; que a intensidade da resposta estava correlacionada à extensão do dano; e que eles também contribuíram para o reparo do miocárdio, exibindo um fenótipo diferente nessa fase. Não existem relatos prévios, na literatura pesquisada, sobre a ocorrência de monocitose durante os episódios reacionais da hanseníase.

Após a introdução do corticosteroide no grupo RT1, observou-se aumento da leucocitose e da neutrofilia, o que pode ser atribuído a efeito colateral desse medicamento. O glicocorticoide induz leucocitose neutrofílica por acelerar a liberação de neutrófilos maduros pela medula óssea e reduzir a migração de neutrófilos da circulação para os sítios de inflamação (BUTTGEREIT et al., 2008).

Houve também redução dos valores médios de VHS, PCR, globulina e na contagem média de plaquetas, o que poderia ser explicado pelo efeito terapêutico da prednisona, controlando os fenômenos inflamatórios associados ao quadro reacional, ainda que sistemicamente não sejam expressivos.

A redução progressiva nos níveis de hemoglobina observada a partir da segunda avaliação dos grupos RT1 e controle pode estar associada ao uso da PQT e decorrente de efeito adverso da dapsona, que induz anemia

hemolítica/hemólise (BRASIL, 2014). Esse efeito colateral também poderia explicar a elevação tardia da DHL (3ª avaliação) no grupo RT1.

Sabe-se que o processo inflamatório neural pode se estender às estruturas adjacentes, assim como a inflamação da derme/epiderme pode atingir os filamentos nervosos (SCOLLARD et al., 2015) e, potencialmente, ocasionar lesão ao tecido muscular. Assim, é possível supor que a redução nos níveis séricos médios de CPK e AST (enzimas musculares) seja decorrente do controle do processo inflamatório pelo tratamento com corticosteroide nas RT1 e pela PQT nos pacientes com hanseníase estável.

5.3. MARCADORES DE INFLAMAÇÃO INESPECÍFICA NA REAÇÃO TIPO 2

As RT2, diversamente das RT1, são processos inflamatórios sistêmicos associados à alta carga e ampla disseminação do bacilo. Nesses pacientes os níveis séricos de citocinas e de marcadores de inflamação estão elevados em comparação aos indivíduos sem reação (KAHAWITA; LOCKWOOD, 2008).

Na avaliação pré-tratamento dos pacientes do grupo RT2 foram detectadas alterações em vários marcadores de inflamação inespecíficos tanto hematológicos quanto bioquímicos. Houve aumento do número de leucócitos, neutrófilos e monócitos, assim como de PCR, AGP e da VHS. Reduziram-se os níveis de albumina e colesterol, principalmente da fração HDL.

O aumento do número de monócitos foi significativo no grupo de pacientes com RT2 e não houve redução do seu número durante todo o seguimento. À exceção da monocitose, todas as outras alterações hematológicas já foram descritas em estudos prévios de RT2: leucocitose por Foss (2003) e Antunes et al. (2013) e neutrofilia por Foss (2003). Se considerarmos que os monócitos apresentam funções diferenciais durante os processos infecciosos e inflamatórios, bem como durante as suas fases evolutivas, de acordo com os seus subtipos (DUTTA; NAHRENDORF, 2014), a investigação do perfil desses subtipos durante os episódios reacionais da hanseníase poderia contribuir para ao entendimento fisiopatológico da monocitose observada.

Gupta et al. (2010) avaliaram o comportamento evolutivo da AGP após o tratamento de pacientes com RT2, observando redução significativa dos níveis séricos médios com 5 e 21 dias de uso da talidomida. Neste estudo tanto a AGP quanto a PCR mantiveram-se em níveis sérico médios maiores que os controles ($p < 0,005$) por período mais prolongado, pelo menos até a segunda avaliação (30 dias). Níveis séricos elevados de PCR também foram relatados por Foss et al. (1993), Silva et al. (2007) e Kahawita; Lockwood (2008) e de AGP por Gupta et al. (2010).

Os primeiros estudos sobre a albumina e globulinas na hanseníase datam da década de 1960, os achados relatados com maior frequência foram hipoalbuminemia e aumento de globulinas séricas nos pacientes no polo virchowiano (HDV e HV) e nos pacientes com RT2, com retorno a níveis normais após o tratamento específico (KURADE et al., 2001). Rea (2001) relatou queda nos níveis médios de hemoglobina que foi acompanhada por redução nos níveis séricos médios de albumina nos pacientes com RT2, sendo que os dois parâmetros voltaram a níveis normais em 13 semanas após início do tratamento com talidomida. Os achados deste estudo confirmam os acima referidos, apresentando apenas diferenças temporais. A hemoglobina voltou a níveis médios equivalentes aos do grupo controle, mais rapidamente, em cerca de 4 semanas. Os níveis séricos médios de albumina mantiveram-se reduzidos ($p = 0,006$) pelo menos até a 2ª avaliação.

Embora a queda nos níveis séricos médios de albumina possa ser explicada pela resposta de fase aguda mediada, principalmente, pela ação da IL-6 sobre os hepatócitos, não é possível excluir a possibilidade de consumo dessa proteína em razão de sua atividade antioxidante plasmática (ANRAKU et al., 2013).

A redução nos níveis séricos médios de colesterol e, sobretudo da sua fração HDL, na fase aguda da RT2, seguida da sua normalização após a introdução da terapêutica corroboram os achados de Memon et al. (1996) e Memon et al. (1997). Os autores observaram correlação inversa do HDL com os níveis de TNF α . Alterações nos níveis séricos de lipídios e lipoproteínas nas infecções agudas são descritas desde a década de 1980 (Memon et al., 1996).

À semelhança do que foi relatado nesses dois estudos, não se detectou alteração nos níveis séricos médios dos triglicérides durante a RT2 dos pacientes deste estudo.

Achado curioso deste estudo foi a redução dos níveis séricos de CPK e AST entre os pacientes com RT2, desde o diagnóstico do episódio reacional, para o qual não encontramos nenhuma explicação plausível.

5.3.1. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todas as alterações supracitadas fazem parte da resposta inflamatória de fase aguda. As citocinas pró-inflamatórias, principalmente IL-6, IL-1 e TNF- α , estimulam a produção das proteínas de fase aguda. O padrão de produção de citocinas e a resposta de fase aguda variam frente às diferentes condições inflamatórias (GABAY; KUSHNER, 1999). Essa resposta também depende da presença concomitante de outras citocinas que podem regular negativamente a produção das proteínas de fase aguda, como é o caso da IL-4, TGF- β e, possivelmente, IL-10 (O'SHEA et al., 2008).

Embora existam variações individuais no tipo e quantidade de proteínas de fase aguda produzidas em resposta ao estímulo, a sua mensuração pode ser muito útil para a detecção e monitoramento do processo inflamatório. Nos episódios reacionais da hanseníase, a investigação dessas proteínas pode ser método auxiliar no diagnóstico diferencial entre os dois tipos reacionais ou, menos comumente, em suspeita de sua concomitância clínica.

Este estudo apresenta algumas limitações tais como o baixo número de pacientes incluídos, sobretudo no grupo controle. O fato dos pacientes terem sido selecionados de um serviço de referência, onde é mais frequente a demanda de casos reacionais pode constituir um viés de seleção.

6. CONCLUSÃO

Neutrofilia e monocitose estão presentes no diagnóstico da reação tipo 1 e persistem durante o tratamento da reação. Nenhum marcador bioquímico de inflamação apresenta alteração consistente entre pacientes com reação tipo 1 da hanseníase.

Anemia, leucocitose, neutrofilia e monocitose são alterações hematológicas presentes ao diagnóstico da reação tipo 2 da hanseníase. A anemia, leucocitose e neutrofilia normalizam-se com o tratamento, mas a monocitose mantém-se.

Os níveis séricos de AGP e PCR, assim como a VHS estão elevados em pacientes com RT2 e reduzem-se após o tratamento.

Os níveis séricos de ácido úrico, albumina, colesterol, HDL e LDL estão reduzidos em pacientes com RT2 e elevam-se após o tratamento.

As alterações dos marcadores inflamatórios de fase aguda observadas no estudo podem auxiliar no diagnóstico das reações tipo 2 e também na diferenciação entre os episódios reacionais tipo 1 e tipo 2 da hanseníase.

A análise sistemática das alterações constatadas poderá ser útil para o monitoramento terapêutico de pacientes com episódio reacional tipo 2 da hanseníase.

7. REFERÊNCIAS

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia Celular e Molecular*. 6ª. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.

Afiune Neto A, Mansur AP, Avakian SD, Gomes EPSG, Ramires JAF. Monocitose é um marcador de risco independente para a doença arterial coronariana. *Arq Bras Cardiol*. 2006;86(3):240-244.

Aguiar FJB, Ferreira-Júnior M, Sales MM, Cruz-Neto LM, Fonseca LAM, Sumita NM *et al*. Proteína C reativa: aplicações clínicas e propostas para utilização racional. *Rev Assoc Med Bras*. 2013;59(1):85-92.

Ahmed MS, Jadhav AB, Hassan A, Meng QH. Acute phase reactants as novel predictors of cardiovascular disease. *ISRN Inflamm*. 2012;ID953461,18 pages.

Andrade V. Implementação da PQT/OMS no Brasil. *Hansen Int*. 2006;31(1):23-31.

Anraku M, Chuang VT, Maruyama T, Otagiri M. Redox properties of serum albumin. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1830(12):5465-5472.

Antunes DL, Araujo S, Ferreira GP, Cunha ACSR, Costa AV, Gonçalves MA *et al*. Identification of clinical, epidemiological and laboratory risk factors for leprosy reactions during and after multidrug therapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2013;108(7):901-908.

Attia EA, Abdallah M, Saad AA, Afifi A, El-Tabbakh A, El-Shennawy *et al*. Circulating CD4+ CD25 high FoxP3+ T cells vary in different clinical forms of leprosy. *Int J Dermatol*. 2010;49(10):1152-1158.

Avelleira JCR, Vianna FR, Boechat AM, Alves LM, Madeira S. Persistência de bacilos viáveis em pacientes de hanseníase multibacilar altamente bacilíferos após doze doses do esquema poliquimioterápico (PQT/OMS). *Hansen Int*. 2003;28(1):44-48.

Barroso-Sousa R, Lobo RR, Mendonça PR, Memória RR, Spiller F, Cunha FQ *et al*. Decreased levels of alpha-1-acid glycoprotein are related to the mortality of septic patients in the emergency department. *Clinics* 2013;68(8):1134-1139.

Bath R, Prakakash C. Leprosy: an overview of pathophysiology. *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2012; ID181089,6 pages.

Beiguelman B. A reação de Mitsuda depois de oitenta anos. *Hansen Int.* 1999;24(2):144-161.

Bobosha K, Wilson L, Meijgaarden KE, Bekele Y, Zewdie M, Schip JJP *et al.* Tcell regulation in lepromatous leprosy. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8(4):e2773.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em Saúde. Tratamento das reações hansênicas. In: *Guia de Vigilância em Saúde*, 2014. p. 359-362.

Buttgereit F, Seibel MJH, Bijlsma JWJ. Glucocorticoids. In: Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Schroeder Jr HW, Frew AJ, Weyand CM (ed). *Clinical immunology: principles and practice*. 3th ed. Philadelphia: Elsevier; 2008. p.1293-1305.

Chaitanya VS, Lavania M, Nigam A, Turankar RP, Singh I, Horo I *et al.* Cortisol and proinflammatory cytokine profiles in type 1 (reversal) reactions of leprosy. *Immunology letters* 2013;156:159-167.

Contin LA, Fagagnolo L, Barreto JA, Nogueira ME, Alves CJM, Nassif PW *et al.* Uso do teste ML-Flow como auxiliar na classificação e tratamento da hanseníase. *An Bras Dermatol.* 2011;86(1):91-95.

Cortela DC, Souza Junior AL, Virmond MC, Ignotti E. Inflammatory mediators of leprosy reactional episodes and dental infections: a systematic review. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:548540.

Cruz D, Watson AD, Miller CS, Montoya D, Ochoa MT, Sieling PA, *et al.* Host-derived oxidized phospholipids and HDL regulate innate immunity in human leprosy. *J Clin Invest.* 2008;118(8): 2917-2928.

Dupnik KM, Bair TB, Maia AO, Amorim FM, Costa MR, Keesen TSL *et al.* Transcriptional changes that characterize the immune reactions of leprosy. *J Infect Dis.* 2015;211:1658-1676.

Dutta P, Nahrendorf M. Regulation and consequences of monocytois. *Immunol Rev.* 2014;262(1):167-178.

Elamin AA, Stehr M, Singh M. Lipid droplets and *Mycobacterium leprae* infection. *J Pathog.* 2012;ID:361374,10 pages.

Faber WR, Iyer AM, Fajardo TT, Dekker T, Villahermosa LG, Abalos RM *et al.* Serial measurement of serum cytokines, cytokine receptors and neopterin in leprosy patients with reversal reactions. *Lepr Rev.* 2004;75:274-281.

Fava V, Orlova M, Cobat A, Alcaïs A, Mira M, Schurr E. Genetics of leprosy: na overview. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012;107(suppl.I):132-142.

Foss, NT. Reactional Episodes in Leprosy. *Medicina, Ribeirão Preto.* 2003;36:453-459.

Foss NT. Imunologia (parte II). In: Talhari S, Neves RG (editores). *Lepra.* Manaus. Gráfica Tropical. 1997. p. 97-102.

Foss NT, Oliveira EB, Silva CL. Correlaton between TNF production, increase of plasma C-reactive protein level and suppression of T lymphocyte response to concanavalin A during erythema nodosum leprosum. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1993;61(2):218-226.

Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med.* 1999;340(6):448-454.

Garbino JA, Marques Jr W, Barreto JA, Heise CO, Rodrigues MMJ, Antunes SL, *et al.* Primary neural leprosy: systematic review. *Arq Neuropsiquiatr.* 2013;71(6):397-404.

Geluk A, Meijgaarden KE, Wilson L, Bobosha K, Schip JJP, Eeden SJF *et al.* Longitudinal immune response and gene expression profiles in type 1 leprosy reactions. *J Clin Immunol.* 2014;34:245-255.

Goulart IMB, Mineo JR, Foss NT. Production of transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) by blood monocytes from patients with different clinical forms of leprosy. *Clin Exp Immunol.* 2000;122:330-334.

Grossi MAF, Leboeuf MAA, Andrade ARC, Lyon S, Antunes CMF, Buhner-Sékula S. A influência do teste sorológico ML Flow na classificação da hanseníase. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008, 41(supl2): 34-38.

Gupta N, Shankernarayan NP, Dharmalingam K. α 1-Acid glycoprotein as a putative biomarker for monitoring the development of the type II reactional stage of leprosy. *J Med Microbiology* 2010;59:400-407.

Han XY, Silva FJ. On the age of leprosy. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(2):e2544.

Iyer A, Hatta M, Usman R, Luiten S, Oskam L, Faber W *et al*. Serum levels of interferon- γ , tumour necrosis factor- α , soluble interleukin-6R and soluble cell activation markers for monitoring response to treatment of leprosy reactions. *Clin Exp Immunol*. 2007;150:210-216.

Jadhav R, Suneetha L, Kamble R, Shinde V, Devi K, Chaduvula MV *et al*. Analysis of antibody and cytokine markers for leprosy nerve damage and reactions in the INFIR cohort in India. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5(3):e977.

Jurado F, Rodriguez O, Novales J, Navarrete G, Rodriguez M. Lucio's leprosy: a clinical and therapeutic challenge. *Clin Dermatol*. 2015;33:66-78.

Kahawita IP ; Lockwood DNJ. Towards understanding the pathology of erythema nodosum leprosy. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2008;102:329-337.

Kahawita IP, Walker SL, Lockwood DNJ. Leprosy type 1 reactions and erythema nodosum leprosum. *An Bras Dermatol*. 2008;83(1):75-82.

Kar HK, Gupta R. Treatment of leprosy. *Clin Dermatol*. 2015;33:55-65.

Khanolkar-Young S, Rayment N, Brickell PM, Katz DR, Vinayakumar S, Colston MJ *et al*. Tumour necrosis factor-alpha (TNF- α) synthesis is associated with the skin and peripheral nerve pathology of leprosy reversal reactions. *Clin Exp Immunol*. 1995; 99:196-202.

Kurade N, Dhamanaskar PK, Jadhav VH, Jadhav MV. Protein profile in leprosy. *Indian J Med Sci*. 2011;55:319-352.

Lastória JC, Putinatti MSMA, Diório SM, Trino LM, Padovani CR. Índices baciloscópicos e morfológico na hanseníase após doze doses do esquema poliquimioterápico (PQT/OMS). *Hansen Int*. 2006;31(1):15-21.

Lastória JC, Morgado de Abreu MAM. Leprosy: review of the epidemiological, clinical and etiopathogenic aspects – part 1. *An Bras Dermatol*. 2014;89(2):205-218.

Leite KKC, Costa JML, Barral A, Caldas AJM, Corrêa RGCF, Aquino DMC. Perfil epidemiológico dos contatos de casos de hanseníase em área hiperendêmica na Amazônia do Maranhão. *Cad Saúde Colet.*, Rio de Janeiro. 2009;17(1):235-249.

- Little D, Khanolkar-Young S, Coulthart A, Suneetha S, Lockwood DNJ. Immunohistochemical analysis of cellular infiltrate and gamma interferon, interleukin-12, inducible nitric oxide synthase expression in leprosy type 1 (reversal) reactions before and during prednisolone treatment. *Infect Immun.* 2001;69(5):3413-3417.
- Lima EO, Macedo CS, Esteves CZ, Oliveira DN, Pessolani MCV, Nery JAC *et al.* Skin imprinting in silica plates: a potential diagnostic methodology for leprosy using high-resolution mass spectrometry. *Anal Chem.* 2015;87(7):3585-3592.
- Lima HMN, Sauaia N, Costa VRL, Coelho Neto GT, Figueiredo PMS. Perfil epidemiológico de pacientes com hanseníase atendidos em centro de saúde em São Luís, MA. *Rev Bras Clin Med.* 2010;8(4):323-327.
- Lockwood DNJ, Nicholls P, Smith WCS, Das L, Barkataki P, Brakel W *et al.* Comparing the clinical and histological diagnosis of leprosy and leprosy reactions in the INFIR cohort of Indian patients with multibacillary leprosy. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(6):e1702.
- Lockwood DNJ, Suneetha L, Sagili KD, Chaduvula MV, Mohammed I, Brakel W *et al.* Cytokine and protein markers of leprosy reactions in skin and nerves: baseline results for the north Indian INFIR cohort. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011;5(12):e1327.
- Marcos EVC. Imunogenética. In: Opromolla DVA (editor). *Noções de Hansenologia*. Bauru: Centro de estudos "Dr. Reynaldo Quagliato". 2000. p.43-46.
- Martinez AN, Talhari C, Moraes MO, Talhari S. PCR-based techniques for leprosy diagnosis: from the laboratory to the clinic. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8(4):e2655.
- Martinuik F, Giovinazzo J, Tan AU, Shahidullah R, Haslett P, Kaplan G *et al.* Lessons of leprosy: the emergency of TH17 cytokines during type II reactions (ENL) is teaching us about T-cell plasticity. *J Drugs Dermatol.* 2012;11(5):623-630.
- Mattos KA, Sarno EN, Pessolani MCV, Bozza PT. Deciphering the contribution of lipid droplets in leprosy: multifunctional organelles with roles in *Mycobacterium leprae* pathogenesis. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012;107(suppl 1):156-166.

Memon RA, Hussain R, Raynes JG, Lateff A, Chiang TJ. Alterations in serum lipids in lepromatous leprosy patients with and without ENL reactions and their relationship to acute phase proteins. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1996;64(2):115-122.

Memon RA, Kifayet A, Shahid F, Lateef A, Chiang J, Hussain R. Low serum HDL-cholesterol is associated with raised tumor necrosis factor-alpha during ENL reactions. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1997;65(1):1-11.

Mendonça VA, Melo GEBA, Teixeira AL, Costa RD, Antunes, CM. Imunologia da Hanseníase. *An Bras Dermatol.* 2008;83(4):343-50.

Menicucci LA, Miranda A, Antunes SLG, Jardim MR, Nery JAC *et al.* Microscopic leprosy skin lesions in primary neuritic leprosy. *J Am. Acad. Dermatol.* 2005;52(4):948-652.

Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Moreira MB, Costa MM. Controle da lepra na atenção básica: guia prático para profissionais da equipe de saúde da família. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia para o Controle da hanseníase. Brasília - Brasil: Ministério da Saúde, 2002.

Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 3.125, de 7 de outubro de 2010. Aprova as Diretrizes para Vigilância, Atenção e Controle da hanseníase. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 7 out. 2010. Seção 1, página 55-60. Disponível em: (http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2010/prt3125_07_10_2010.html)

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Situação epidemiológica da hanseníase no Brasil – análise de indicadores selecionados na última década e desafios para eliminação. *Boletim epidemiológico* 2013; 44(11):1-12.

Miranzi SSC, Pereira LHM, Nunes AA. Perfil epidemiológico da hanseníase em um município brasileiro, no período de 2000 a 2006. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43(1):62-67.

Modlin RL. The innate immune response in leprosy. *Curr Opin Immunol.* 2010;22:48-54.

Motta ACF, Furini RB, Simão JCL, Vieira MB, Ferreira MAN, Komesu MC *et al.* Could leprosy reaction episodes be exacerbated by oral infections? *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011;44(5):633-635.

Moura RS, Calado KR, Oliveira MLW, Buhner-Sékula S. Sorologia da hanseníase utilizando PGL-1: revisão sistemática. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008, 41 (supl II): 11-18.

Nath I, Path FRC, Saini C, Valluri VL. Immunology of leprosy and diagnostic challenges. *Clin Dermatol.* 2015;33:90-98.

Nery JAC, Vieira LMM, Matos HJ, Galo MEN, Sarno EM. Reactional states in multibacillary Hansen disease patients during multidrug therapy. *Rev Inst Med Trop S Paulo;* 1998;40(6).DOI:10.1590/S0036-46651998000600005.

Nery JAC, Bernardes Filho F, Quintanilha J, Machado AM, Oliveira SSC, Sales AM. Understanding the type 1 reactional state for early diagnosis and treatment: a way to avoid disability in leprosy. *An Bras Dermatol.* 2013;88(5):787-792.

Nicholson JP, Wolmarans MR, Park GR. The role of albumin in critical illness. *Br J Anaesth.* 2000;85:599-610.

Nogueira MES, Moreno FRV, Silva EA, Arruda MSP. Imunologia, In: Opromolla DVA (editor). *Noções de Hansenologia.* Bauru: Centro de estudos "Dr. Reynaldo Quagliato". 2000. p. 27-42

Oliveira MLW, Cavalière, FAM, Macieira JMP, Buhner-Sékula S. O uso da sorologia como ferramenta adicional no apoio ao diagnóstico de casos difíceis de hanseníase multibacilar: lições de uma unidade de referência. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008, 41(supl 2): 27-33.

Opromolla DVA. Manifestações clínicas e reações, In: Opromolla DVA (editor). *Noções de Hansenologia.* Bauru: centro de estudos Dr Reynaldo Quagliato, 2000. p.51-58.

Palermo ML, Pagliari C, Trindade MAB, Yamashitafuji TM, Duarte AJS, Cacere CR *Et al.* Increased expression of regulatory T cells and down-regulatory molecules in lepromatous leprosy. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;86(5):878-883.

O'Shea J, Tato CM, Richard S. Cytokines and cytokines receptors. In: Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Schroeder Jr HW, Frew AJ, Weyand CM (ed). *Clinical*

immunology: principles and practice. 3th ed. Philadelphia: Elsevier; 2008. p.139-171.

Parente JNP, Schettini APM, Talhari C, Massone C. T regulatory cells (TREG) (TCD4+CD25+FoxP3+) distribution in the different clinical forms of leprosy and reactional states. *An Bras Dermatol*. 2015;90(1):41-47.

Pedrini SCB, Rosa PS, Medri IM, Mourão G, Bagagli E, Lopes CAM. Search for *Mycobacterium leprae* in wild mammals. *Brasilian Journal of Infectious Diseases* 2010, 14(1): 47-53.

Pinheiro RO, Salles JS, Sarno EN, Sampaio EP. *Mycobacterium leprae*-host-cell interactions and genetic determinants in leprosy: an overview. *Future Microbiol*. 2011;6(2):217-230.

Polycarpou A, Walker SL, Lockwood DNJ. New findings in the pathogenesis of leprosy and implications for the management of leprosy. *Curr Opin Infect Dis*. 2013;26(5):413-419.

Raju *et al.*: Serological responses to prednisolone treatment in leprosy reactions: study of TNF- α , antibodies to phenolic glycolipid-1, lipoarabinomannan, ceramide and S100-B. *Lipids in Health and Disease* 2014 13:119.

Rea TH. Decreases in mean hemoglobin and serum albumin in erythema nodosum leprosum and lepromatous leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 2001;69(4):318-327.

Renault CA, Ernst JD. *Mycobacterium leprae* in: Mandell GL, Dolin R, Bennett JE (org). *Principles and Practice of infectious diseases*. Philadelphia:Elsevier. 2010. p: 3165-3176.

Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *Int J Lepr*. 1966;34(3):255-273.

Rosa Neto NS, Carvalho JF. O uso de provas de atividade inflamatória em reumatologia. *Rev Bras Reumatol*. 2009;49(4):413-30.

Ruparelia N, Godec J, Lee R, Chai JT, Armellina E, McAndrew D *et al.* Acute myocardial infarction activates distinct inflammation and proliferation pathways in circulating monocytes, prior to recruitment, and identified through conserved

transcriptional responses in mice and humans. *Eur Heart J*. 2015;36:1923-1934.

Saini C, Ramesh V, Nath I. CD4⁺ Th17 cells discriminate clinical types and constitute a third subset of non Th1, non Th2 cells in human leprosy. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(7):e2338.

Saini C, Ramesh V, Nath I. Increased in TGF- β secreting CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ T regulatory cells in anergic lepromatous leprosy. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(1):e2639.

Scollard DM, Adams LB, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Truman RW, Williams DL. The continuing challenges of leprosy. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19(2):338-381.

Scollard DM, Martelli CMT, Stefani MMA, Maroja MF, Villahermosa L *et al*. Risk factors for leprosy reactions in three endemic countries. *Am J Trop Med Hyg*. 2014;92(1):108-114.

Scollard DM, Truman RW, Ebenezer GJ. Mechanisms of nerve injury in leprosy. *Clin Dermatol*. 2015;33:46-54.

Silva EA, Iyer A, Ura S, Lauris JR, Naafs B, Das PK *et al*. Utility of measuring serum levels of anti-PGL-1 antibody, neopterin and C-reactive protein in monitoring leprosy patients during multi-drug treatment and reactions. *Trop Med Int Health*. 2007;12(12):1450-1458.

Silva SF, Griep RH. Reação hansênica em pacientes portadores de hanseníase em centros de saúde da área de planejamento 3.2. do município do Rio de Janeiro. *Hansen Int*. 2007;32(2):155-162.

Sitar ME, Aydin S, Çakatay U. Human serum albumin and its relation with oxidative stress. *Clin Lab*. 2013;59:945-952.

Stefani MM, Guerra JG, Sousa ALM, Costa MB, Oliveira MLW, Martelli CT *et al*. Potential plasma markers of type 1 and type 2 leprosy reactions: a preliminary report. *BMC Infectious Diseases* 2009;9:75.

Susuki K, Akama T, Kawashima A, Yoshihara, Yotsu RR, Ishii N. Current status of leprosy: epidemiology, basic science and clinical perspectives. *J Dermatol*. 2012;39(2):121-129.

Talhari S, Neves RG. Agente etiológico, transmissão, cultura, inoculação, aspectos laboratoriais, patogenia e classificação. In: Talhari S, Neves RG (editores). Hanseníase. Manaus. Gráfica Tropical. 1997a. p. 1-3.

Talhari S, Neves RG. Manifestações cutâneas e diagnóstico diferencial in: Talhari S, Neves RG (editores). Hanseníase. Manaus. Gráfica Tropical. 1997b. p: 5-40.

Talhari S, Neves RG., Orsi AT. Diagnóstico da Hanseníase in: Talhari S, Neves RG (editores). Hanseníase. Manaus. Gráfica Tropical. 1997. p: 103-112.

Talhari C, Talhari S, Penna GO. Clinical aspects of leprosy. Clin Dermatol. 2015;33:26-37.

Vaishnavi C, Agnihotry N, Ganguly NK, Kaur S, Kumar B. Acute phase reactants in leprosy. Microbiol Immunol. 1991;35(11):975-980.

Van Brakel WH, Nicholls PG, Das L, Barkataki P, Suneetha SK, Jadhav RS *et al.* The INFIR cohort study: investigating prediction, detection and pathogenesis of neuropathy and reactions in leprosy. Methods and baseline results of a cohort of multibacillary patients in North India. Lepr Rev. 2005;76:14-34.

Villahermosa LG, Fajardo Jr.TT, Abalos RM, Cellona RV, Balagon MV *et al.* Parallel assessment of 24 monthly doses of rifampin, ofloxacin, and minocycline versus two years of world health organization multi-drug therapy for multibacillary leprosy. Am J Trop Med Hyg. 2004;70(2):197-200.

Voorend CGN, Post EB. A systematic review on the epidemiological data of erythema nodosum leprosum, a type 2 leprosy reaction. PLoS Negl Trop Dis. 2013;7(10):e2440.

Walker SL, Lockwood DNJ. Leprosy type 1 (reversal) reactions and their management. Lepr Rev. 2008;79:372-386.

Walker SL, Nicolls PG, Butlin CR, Nery JAC, Roy HK, Rangel E *et al.* Development and validation of a severity scale for leprosy type 1 reactions. PLoS Negl Trop Dis. 2008;2(12):e351.

World Health Organization. Global Leprosy update, 2013; reducing disease burden. Wkly Epidemiol Rec. 2014;36(89):389-400.

Anexo 1

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Hospital Universitário Júlio Muller- Universidade Federal de Mato Grosso/ UFMT

PROJETO DE PESQUISA

Título: Estudo dos marcadores inflamatórios nos estados reacionais da Hanseníase

Pesquisador: Yvelise Terezinha Morato da Conceição

Versão: 1

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso/ UFMT

CAAE: 01335312.1.0000.5541

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 19502

Data da Relatoria: 11/04/2012

Apresentação do Projeto:

Embora já existam avanços significativos na compreensão da imunopatogenia da hanseníase, ainda não se sabe o mecanismo exato de sua transmissão, os fatores que estariam envolvidos no desenvolvimento da doença e nem quais são os mecanismos que definem a evolução para uma determinada forma clínica. Também não foram elucidados os mecanismos que desencadeiam os quadros reacionais e ainda não se consegue explicar porque alguns indivíduos nunca apresentam reações, enquanto em outros elas se manifestam e com frequência recidivam, muitas vezes sem motivo aparente. Existem poucos estudos que avaliem sistematicamente os marcadores dos fenômenos inflamatórios que ocorrem tanto durante a evolução natural da hanseníase quanto nos seus quadros reacionais. A avaliação dos marcadores de inflamação, incluindo a utilização de metodologias simples que possam ser aplicadas na prática clínica e que ajudem a prever o tipo de evolução de cada paciente, representaria um avanço no estudo desta doença principalmente em áreas com recursos limitados. O conhecimento dos níveis e da cinética desses marcadores de inflamação em pacientes portadores das diferentes formas de hanseníase, em momentos precedentes, concomitantes e posteriores aos estados reacionais, certamente fornecerão pistas clínicas relevantes para o diagnóstico e condução terapêutica desses pacientes.

A pesquisa investigará pessoas com diagnóstico de hanseníase, nos ambulatórios de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HUJM de março/ 2012 a fevereiro/2014. Para efeito de comparação, serão também avaliados indivíduos não portadores de hanseníase, selecionados dos diversos ambulatórios do HUJM. É previsto avaliações clínica de todos os participantes nos dias 0, 30, 60 e 90 após inclusão no estudo. Os dados clínicos e demográficos serão colhidos por questionário, previamente testado. Em cada consulta de reavaliação, serão pesquisadas alterações clínicas sugestivas de reações hanseníicas, efeitos colaterais do tratamento e/ou complicações diversas. Também serão tabulados os resultados dos exames realizados para monitoramento clínico de rotina dos participantes, incluindo alguns marcadores de inflamação inespecíficos, tais como: hemograma, velocidade de hemossedimentação, etc. Todos esses exames serão realizados no laboratório de análises clínicas do HUJM, por técnica automatizada padrão. Os outros exames incluídos nesta pesquisa e que fazem parte da rotina de atendimento aos pacientes do HUJM, serão realizados em laboratório terceirizado, já previstos no hospital. Amostras de sangue para a realização dos exames específicos da pesquisa serão coletadas no momento do diagnóstico, com 30, 60 e 90 dias após início do tratamento da hanseníase ou do diagnóstico dos quadros reacionais. Os exames consistirão na dosagem de diversos marcadores de inflamação. Para a detecção das micropartículas (MPs) as amostras de sangue (0,5ml), colhidas em tubo com citrato serão realizados pelo Centro de Pesquisas René Rachou (FIOCRUZ-MG). Já a purificação e quantificação de ácidos nucleicos circulantes (CNAS) do plasma serão realizados pelo Laboratório de Histologia da FMUFMT.

Critério de Inclusão:

- Ter diagnóstico confirmado de hanseníase por critério dermatoneurológico.
- Idade entre 18 e 70 anos.
- Não estar gestante, no caso do sexo feminino.
- Ausência de doenças autoimunes, neoplasias, HIV/AIDS.
- Não estar em uso de drogas imunossupressoras.
- Não ter diagnóstico atual de tuberculose ou outra micobacteriose.

Critério de Exclusão: não definidos

Objetivo da Pesquisa:

Descrever o perfil e a cinética da reação inflamatória sistêmica de pacientes com diferentes formas clínicas de hanseníase, com vistas a estabelecer o papel de potenciais marcadores biológicos e bioquímicos na predição diagnóstica e evolutiva dos estados reacionais da doença.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não existem riscos associados exclusivamente à pesquisa. Podem ocorrer intercorrências clínicas inerentes ao acompanhamento e tratamento dos pacientes com hanseníase, sobretudo em suas formas reacionais. Benefícios: a detecção precoce da doença (hanseníase) e a prevenção de suas complicações para os participantes e os benefícios do estudo está no fato de que poderá indicar padrões laboratoriais que, associados ao contexto clínico do paciente, sejam preditores dos quadros reacionais da hanseníase ou, então, de sua remissão.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os pesquisadores justificam a relevância da pesquisa por buscar ampliar o conhecimento científico sobre os marcadores de inflamação na hanseníase, ainda escassos nos estudos prospectivos realizados. Para análise dos dados serão considerados quatro grupos: Grupo I: Com hanseníase confirmada e apresentando quadro reacional predominantemente do tipo I (reação reversa); Grupo II: Com hanseníase confirmada e apresentando quadro reacional predominantemente do tipo II (ENH); Grupo III: Com hanseníase confirmada e não apresentando quadro reacional. Grupo IV: Indivíduos sem diagnóstico de hanseníase. Os níveis e a cinética de todos os marcadores estudados serão tabulados e comparados entre os quatro grupos acima definidos. A incidência dos quadros reacionais, dos efeitos colaterais e das complicações, será determinada e comparada nos grupos de pacientes com hanseníase.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A autora do projeto apresentou:

- a Folha de rosto do hospital onde os dados da pesquisa serão colhidos e os exames clínicos e laboratoriais serão realizados, devidamente assinada pela pesquisadora e responsável institucional
- o projeto com informações suficientes à sua análise
- comprovante do apoio financeiro da FAEMAT ao projeto de pesquisa
- o TCLE adequadamente redigido e contendo as informações necessárias ao esclarecimento aos participantes da pesquisa

Recomendações:

Recomenda-se a realização da pesquisa proposta

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto contém as informações necessárias ao seu desenvolvimento. Não encontrei inadequações

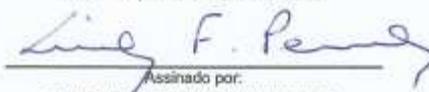
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CUIABA, 09 de Maio de 2012

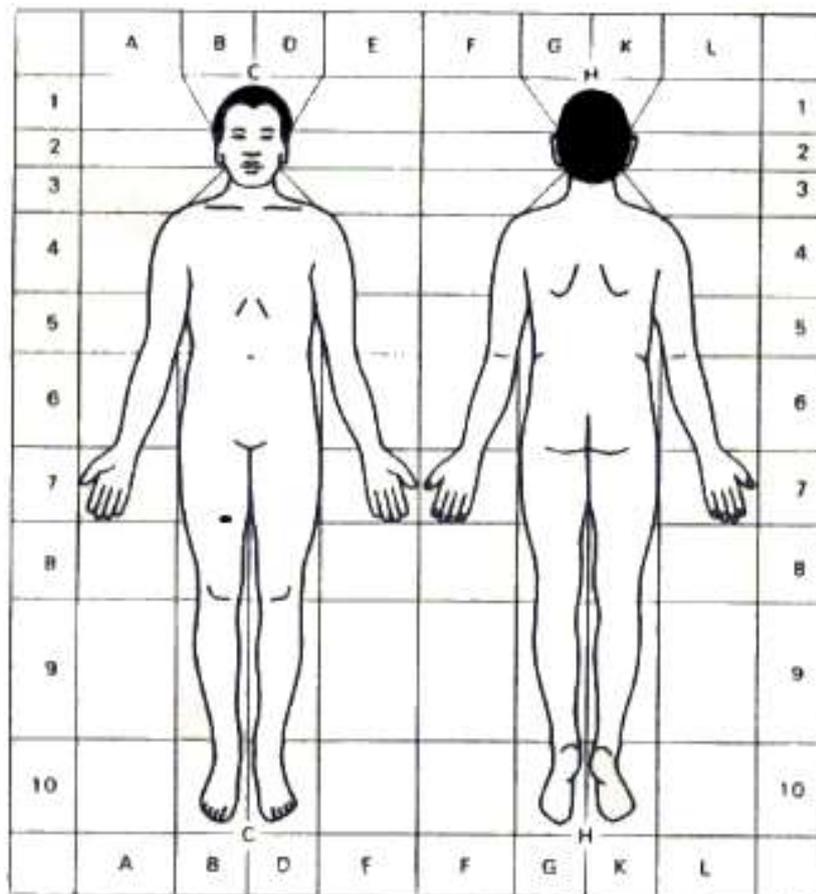

Assinado por:
SHIRLEY FERREIRA PEREIRA

APÊNDICE 1

QUESTIONARIO HANSENÍASE – HUJM

Número de cadastro no projeto:		Número de prontuário (HUJM):	
Nome:			
Idade:	Data Nasc:	Sexo: F () M ()	
Cor: (definida pelo pesquisador)	Escolaridade:	Ocupação:	
Endereço para contato:			
Bairro:	Município:	CEP:	
Fone:	Celular:	e-mail:	
Telefone de contatos:			
Fuma?: não () sim (), há quanto tempo?		nº de cigarros/dia:	
É etilista?: não () sim (), há quanto tempo?:		quanto bebe por dia?:	
Faz uso de medicamentos: não () sim () quais?:			
Faz ou já fez uso de drogas ilícitas: não () sim (), por quanto tempo?			
Tem ou teve outras doenças crônicas? não () sim (), quais?:			
Teve tuberculose? não () sim () Quando?/.....		Tratou por quanto tempo?	
Tem diagnóstico anterior de hanseníase? não () sim () Quando?			
Tratou por quanto tempo? 6 meses () 12 meses () Terminou em:/.....			
Já teve reação? não () sim () Quando?		Durante o quadro reacional apresentou:	
a) Dor nos nervos? não () sim () Quais?			
b) Manchas vermelhas? não () sim () Onde?			
c) “Caroços dolorosos”? não () sim () Poucos () Muitos ()		d) Lesões na face: não () sim ()	
e) Febre? não () sim ()		f) Testículos dolorosos? não () sim ()	
Sabe que remédio tomou? não () sim () Qual?		Por quanto tempo?	
Foi internado em Hospital? não () sim () Qual?			
Caso de detecção recente :		Data do diagnóstico:	
Modo de detecção: () encaminhamento () demanda espontânea () exame de contatos () busca ativa			
Forma clínica: () indeterminada () tuberculóide () dimorfa-tuberculóide () dimorfa () dimorfa-virchowiana () virchowiana () neural () não-classificada			
Classificação operacional: () paucibacilar () multibacilar			
Número de lesões:lesão (s) () + 10 lesões			
Tipo da lesão: () Mancha () Placa () Infiltrado () Nódulo			
Borda: () Bem definida () Mal definida () Misto			
Cor: () Hipocrômica () Eritematosa () Hiperocrômica			
Limite: () Regular () Irregular			
Sensibilidade térmica: () normal () ausente () diminuída () duvidosa			
Sensibilidade dolorosa: () normal () ausente () diminuída () duvidosa			
Sensibilidade tátil: () normal () ausente () diminuída () duvidosa			
Nº de nervos afetados: Radial cutâneo: D () E (), Ulnar: D () E (), Mediano D () E (), Auricular D () E (), Tibial posterior: D () E (), Fibular: D () E (), Dorsal do pé: D () E ()			

Outros [descrever]:
Reação hansênica presente: não () sim () Tipo 1 () Tipo 2 ()
Tratamento/tempo:
Duração do quadro reacional:



Avaliação do grau de incapacidade: () 0 () I () II () não-avaliado
Presença de cicatriz de vacina BCG: não () sim ()
Baciloscopia: () positiva () negativa () não realizada IB:
Anti-PGL 1: () positivo () negativo () não realizado
Feita biópsia de lesão de pele: sim () não ()
Classificação histopatológica: () TT () BT () BB () BL () LL
Classificação Ridley Jopling (clínica+histopatologia+baciloscopia): TT (), BT (), BB (), BL (), LL ()
Fotografado: sim () não ()
Data de início de tratamento:/...../.....
Esquema inicial: () PQT/PB 6 doses () PQT/MB/12 doses () alternativo/motivo:
Data avaliação inicial:/...../.....
Retorno: 30 dias (), 60 dias (), 90 dias ()

Outras informações relevantes:

APÊNDICE 2

Universidade Federal de Mato Grosso - Hospital Universitário Julio Muller
Av. Fernando Corrêa da Costa, nº 2367 - Bairro Boa Esperança. Cuiabá - MT

Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário, da pesquisa: *Estudo dos marcadores inflamatórios nos estados reacionais da hanseníase.*

O objetivo desta pesquisa é identificar e avaliar os exames de sangue que poderão indicar se você está com reação da hanseníase. Sua participação nesta pesquisa consistirá em: 1) Ser examinado pelo médico de forma cuidadosa para avaliação de seu estado de saúde; 2) Ser submetido à coleta de amostras de sangue para realização de exames laboratoriais. Além disso, você será convidado a retornar ao Ambulatório de Infectologia 30 e 60 dias após a data de início de seu acompanhamento para novas avaliações clínicas e laboratoriais. Solicitamos sua autorização para que fotografemos as suas lesões de pele, com a garantia de que não haverá exposição de sua face. Caso não possa retornar na data agendada e ainda assim aceite participar, gostaríamos de seu consentimento para convocá-lo por telefone residencial ou móvel para que retorne em data apropriada e próxima.

Você não é obrigado a participar. Em caso de recusa você não terá nenhum prejuízo em sua assistência médica e ao tratamento neste hospital.

Os riscos relacionados com sua participação na pesquisa são o desconforto de entrevista médica mais detalhada, da coleta de sangue e da necessidade de reavaliações nos dias 30, 60 e 90 após o início do acompanhamento.

Os benefícios para você, enquanto participante da pesquisa, serão a detecção precoce da sua doença e a prevenção de complicações.

Todos os dados referentes à sua pessoa serão confidenciais e sigilosos durante toda pesquisa. A divulgação da pesquisa será feita de forma agrupada, de forma a impossibilitar sua identificação.

Você receberá uma cópia desse termo em que consta o nome, telefone e endereço do pesquisador responsável, para que você possa localizá-lo a qualquer momento. Em caso de dúvida a respeito do estudo, você pode entrar em contato com: Dr. Cor Jesus Fernandes Fontes ou Dra. Yvelise Terezinha Morato da Conceição – no Hospital Universitário Júlio Muller, Tel: (65) 3615-7253 ou 3615 7281. E- mail: corfontes@gmail.com ou yvelisemorato@gmail.com.

Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Müller pelo telefone (65) 3615- 8254, com a Profª. Shirley F. Pereira.

Considerando os dados acima, **CONFIRMO** estar esclarecido dos objetivos e procedimentos desta pesquisa e concordo, voluntariamente, em participar da mesma.

Eu (nome do participante ou responsável)

Idade:..... sexo:..... Naturalidade..... RG N°:.....

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador

.....

.....

APÊNDICE 3

NÍVEIS SÉRICOS DE ÁCIDO ÚRICO DURANTE EPISÓDIOS REACIONAIS DA HANSENÍASE

Yvelise Terezinha Morato da Conceição, Eduardo Rodrigues Alves-Junior,
Talita Amorim de Arruda, José Cabral Lopes, Cor Jesus Fernandes Fontes.

Hospital Universitário Júlio Müller, Universidade Federal de Mato Grosso,
Cuiabá (MT), Brasil. Rua Dr. Luiz Philippe Pereira Leite s/n, B.Alvorada, Cuiabá
(MT), CEP 78048-902.

Correspondência: Yvelise T. M. da Conceição, Av. Haiti, 193 Apto 1604, Jardim
das Américas, Cuiabá (MT), CEP 78060-618. Telefone #: 55 65 3615-7202.

e-mail: yvelisemorato@gmail.com

Resumo

Introdução: As reações são episódios inflamatórios agudos que ocorrem predominantemente nas formas multibacilares da hanseníase. São classificadas em reação tipo 1 e reação tipo 2 ou eritema nodoso hansênico. O estresse oxidativo já foi bastante demonstrado na hanseníase. Nos últimos anos, alguns estudos têm mostrado efeito antioxidante natural do ácido úrico (AU) em condições patológicas. O objetivo deste estudo foi avaliar os níveis séricos de AU nos pacientes com quadros reacionais da hanseníase, visando observar o seu comportamento antes e após o tratamento, em comparação com pacientes sem reação.

Método: Foram incluídos no estudo pacientes entre 18 e 69 anos, atendidos em um centro de referência para tratamento de hanseníase na Região Central do Brasil. Foram excluídos pacientes grávidas, portadores de doenças autoimunes, doenças neoplásicas, infecção pelo HIV/AIDS, tuberculose e aqueles em uso de drogas imunossupressoras ou imunobiológicos. Todos os indivíduos foram avaliados clinicamente no recrutamento, quanto à presença de lesões de pele e de comprometimento neural e/ou sistêmico. Alguns pacientes já haviam concluído o tratamento da hanseníase, outros ainda se encontravam em tratamento ou tiveram o tratamento iniciado após admissão. O tratamento do episódio reacional foi iniciado somente após a avaliação inicial. Avaliações laboratoriais foram feitas na admissão (*1ª avaliação*) e, posteriormente, em intervalos de aproximadamente 30 (*2ª avaliação*) e 60 (*3ª avaliação*) dias.

Resultados: Durante o período de junho de 2012 a junho de 2015 foram incluídos 123 pacientes com hanseníase, sendo 56 com reação tipo 1, 42 com reação tipo 2 e 25 sem reação. Os níveis séricos de AU mostraram-se significativamente reduzidos em pacientes com reação tipo 2, quando comparados aos do grupo controle e àqueles com reação tipo 1. Esses níveis mais baixos de AU se mantiveram nas duas avaliações subsequentes, após instituição do tratamento do quadro reacional, em valores semelhantes aos níveis pré-tratamento.

Discussão: A redução dos níveis séricos de AU em pacientes com reação tipo 2 da hanseníase poderia ser devida ao consumo do AU visando neutralizar a maior produção de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio que ocorria durante a reação tipo 2. A manutenção dos seus níveis nas avaliações de seguimento poderia indicar a persistência do estresse oxidativo nas fases iniciais pós-tratamento, a despeito da melhora clínica do paciente. Os resultados deste estudo sugerem que o AU sérico teria papel antioxidante na reação tipo 2 da hanseníase.

ABSTRACT

Background. Leprosy reactions are acute inflammatory episodes that occur mainly in the multibacillary forms of the disease. The reactions are classified as type 1 (reverse reaction) or type 2 (erythema nodosum leprosum). Leprosy-associated oxidative stress has been widely demonstrated. Several recent studies have shown uric acid (UA) to have antioxidative effects under pathologic conditions. The objective of this study was to assess serum levels of UA in patients with leprosy reactions, with the aim of monitoring their levels before and after treatment, compared with levels in leprosy patients without reactions.

Methods. The study included patients aged 18 to 69 years assisted at a leprosy treatment reference center in the Central Region of Brazil. Patients who were pregnant; were using immunosuppressant drugs or immunobiologicals; or had an autoimmune disease, human immunodeficiency virus infection, acquired immune deficiency syndrome, or tuberculosis were excluded. Upon recruitment, all individuals were clinically assessed for skin lesions and neural or systemic impairment. Some patients had already completed treatment for leprosy, while others were still undergoing treatment or had initiated treatment after being admitted. The treatment of the reactional episode was started only after the initial evaluation. Laboratory assessments were performed upon admission (baseline) and at approximately 30 and 60 days (time points 1 and 2, respectively).

Results. A total of 123 leprosy patients were recruited between June 2012 and June 2015; among them, 56, 42, and 25 presented with type 1, type 2, and no reactions, respectively. Serum UA levels were significantly reduced in patients with type 2 leprosy reactions compared with patients in the control group and remained lower in the two subsequent assessments, after initiation of anti-reaction treatments, with similar values to those recorded before the treatment.

Discussion. The decreased serum UA levels in patients with type 2 leprosy reactions might be due to the consumption of UA to neutralize the enhanced production of oxygen- and nitrogen-reactive species that occurs during type 2 reactions. The maintenance of the reduced levels in the follow-up assessments may indicate persistence of oxidative stress in the initial post-treatment stages, despite improved clinical conditions. The results of this study suggest that serum UA may play an antioxidative role during type 2 leprosy reactions.

INTRODUÇÃO

Apesar dos esforços mundiais para seu controle, por meio da detecção precoce e do tratamento poliquimioterápico (PQT) adequado, continua sendo um grande problema de saúde pública em países como a Índia, Brasil e Indonésia, os quais apresentaram a maior carga de doença do mundo em 2013 (WHO, 2014). Na perspectiva de eliminação da hanseníase, a Organização Mundial da Saúde (OMS) propõe ações de redução de incapacidades ou sequelas, cujos alvos principais são as reações hansênicas (WHO, 2014). As reações hansênicas são episódios inflamatórios agudos, decorrentes da resposta imunológica exacerbada do hospedeiro, que podem ocorrer ao longo do curso natural da doença, durante e após o seu tratamento. As reações guardam relação com a carga bacilar, sendo classificadas em reação tipo 1 ou reação reversa e reação tipo 2 ou eritema nodoso hansênico (SCOLLARD *et al.*, 2006). Trinta a 50% dos pacientes com hanseníase podem apresentar quadros reacionais (SCOLLARD *et al.*, 2015).

No eritema nodoso hansênico (reação tipo 2) ocorre uma inflamação aguda nos órgãos e tecidos invadidos pelo bacilo e há comprometimento intenso dos vasos da derme e tecido celular subcutâneo (NOGUEIRA *et al.*, 2000). Clinicamente caracteriza-se pelo aparecimento súbito de nódulos eritematosos, dolorosos, em geral numerosos e distribuídos por todo o corpo. Nas formas mais graves, podem evoluir para vesículas, bolhas ou fenômenos necróticos e os pacientes apresentam sintomas sistêmicos (KAHAWITA & LOCKWOOD, 2008). Recorrências das reações tipo 2 são comuns e podem persistir por anos (SCOLLARD *et al.*, 2006). Laboratorialmente, observa-se aumento de proteínas de fase aguda, tais como proteína C reativa, alfa 1 antitripsina (FOSS, 2003; KAHAWITA & LOCKWOOD, 2008), alfa 1 glicoproteína ácida (GUPTA *et al.*, 2010) e gamaglobulinas (FOSS, 2003). O tratamento da reação tipo 2 é feito com prednisona ou talidomida. A talidomida é a droga de escolha no Brasil (BRASIL, 2014)..

As reações tipo 1 são causadas pela ativação da resposta imune Th1 contra antígenos do *M. leprae*. Clinicamente há aumento da inflamação nas lesões de pele pré-existentes e, diferente da reação tipo 2, há neurite intensa

que pode levar à disfunção neural, tanto sensitiva quanto motora; raramente se acompanha de sintomas sistêmicos e não há comprometimento visceral. No Brasil o seu tratamento é feito com glicocorticoides (NERY et al., 2013).

O *M. leprae* é uma bactéria intracelular obrigatória, que apresenta uma replicação bastante lenta (12 - 14 dias) dentro dos macrófagos e das células de Schwann (SUZUKI et al., 2012). Os macrófagos ativados procuram destruir as bactérias fagocitadas através da ação de moléculas microbidas nos fagolisossomos. Entre elas estão as enzimas proteolíticas (elastase e catepsina G, por exemplo), os derivados reativos do oxigênio (ROS) e os intermediários reativos do nitrogênio (ABBAS et al., 2008). Essas moléculas atuam de forma cooperativa, amplificando sua ação individual e, no ambiente extracelular, podem causar lesão tecidual, através da alteração de estrutura e/ou função de proteínas, lipídios de membrana e ácidos nucleicos (KOHEN & NYSKA, 2002). Para controlar os níveis dos derivados reativos do oxigênio (radical hidroxila, ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, entre outros) e dos derivados reativos do nitrogênio (óxido nítrico, principalmente) são produzidas as substâncias antioxidantes. Essas podem ser de natureza enzimática, como a glutathione peroxidase, a catalase e superóxido dismutase (SOD), ou de natureza não enzimática, como a vitamina E (tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico), glutathione reduzida, ácido úrico, beta caroteno, transferrina e ceruloplasmina (DRÖGE, 2002; KOHEN & NYSKA, 2002).

A ausência de equilíbrio entre a geração de espécies reativas e a sua neutralização é denominada estresse oxidativo. Este evento pode ocorrer em condições clínicas que cursam com inflamação crônica, tais como hipertensão arterial sistêmica, diabetes melito tipo 2 e insuficiência cardíaca (KOHEN & NYSKA, 2002), no câncer (GAMAN et al., 2014), nas doenças neurológicas degenerativas (DRÖGE, 2002), nas doenças autoimunes (DRÖGE, 2002; PÉREZ et al., 2012), ou nas doenças infecciosas, tais como malária (CLARK & HUNT, 1983; BECKER et al., 2004), infecção pelo HIV (AUKRUST et al., 2003), dengue (OLAGNIER et al., 2014) e doença de Chagas (ZACKS, 2005).

O estresse oxidativo tem sido descrito nas reações tipo 1 (Chhabra et al., 2015) e nas formas multibacilares da hanseníase (BHADWAT & BORADE,

2000; REDDY et al., 2003; PRASAD et al., 2007; JYOTHI et al., 2008; ABDEL-HAFEZ et al., 2010; SCHALCHER et al., 2013; SWATHI & TAGORE, 2015) e pode ser agravado pelas condições nutricionais do paciente e pela própria PQT (SCHALCHER et al., 2014).

O ácido úrico (AU) é o produto final do metabolismo das purinas e é produzido pela oxidação da hipoxantina e xantina pela xantina oxidase (AMES *et al.*, 1981). O AU pertence ao grupo moléculas que fazem parte do “padrão molecular associado ao dano” e é reconhecido como um sinal de perigo para o sistema imune (GHAEMI-OSKOUIE & SHI, 2011; CRANE & MONGIARDO, 2014). Os níveis do AU sérico considerados como normais, na maioria dos países, variam de 2,6 a 6,0 mg/dL em mulheres pré-menopausa e de 3,5 a 7,2 mg/dL em homens e mulheres pós menopausa (DESIDERI et al., 2014).

Paralelamente à atividade inflamatória, o AU tem, por si, potente propriedade antioxidante, reagindo com o radical peroxila, com o dióxido de nitrogênio e quelando metais de transição; é responsável por até 60% da capacidade antioxidativa do sangue humano e sua concentração plasmática é maior do que de outros antioxidantes, tais como as vitaminas C e E (AMES et al., 1981). Níveis tanto altos quanto baixos de AU sérico estão associados à maior mortalidade cardiovascular e à perda de função renal (BERGAMINI et al., 2009; MEOTTI et al., 2011; KANDA et al., 2015). Fang et al. (2013), em artigo de revisão, relatam estudos em que baixos níveis de AU sérico foram observados em pacientes com doenças neurodegenerativas, sugerindo que o AU poderia ter um papel na prevenção da neurodegeneração, através de sua ação antioxidante.

O objetivo deste estudo foi avaliar os níveis séricos de AU em pacientes com ou sem episódios reacionais da hanseníase e observar seu comportamento antes e após o tratamento dessas reações.

MÉTODOS

Foram incluídos no estudo 123 pacientes atendidos no Hospital Universitário Júlio Muller/Universidade Federal de Mato Grosso (Cuiabá - Mato Grosso – Brasil) no período de junho de 2012 a junho de 2015, por demanda

espontânea ou por encaminhamento. Foram excluídos indivíduos com menos de 18 e mais de 69 anos, gestantes, portadores de doenças autoimunes, doenças neoplásicas, infecção pelo HIV/AIDS, tuberculose ou outra micobacteriose e aqueles em uso de drogas imunossupressoras ou imunobiológicos. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana do HUJM/UFMT com o nº 19502. Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Todos os pacientes foram submetidos a exame clínico e dermatoneurológico, além de coleta de sangue por punção venosa periférica, em três ocasiões: na admissão (*1ª avaliação*) e, posteriormente, em intervalos de aproximadamente 30 (*2ª avaliação*) e 60 (*3ª avaliação*) dias. Os pacientes foram classificados de acordo com a classificação operacional da OMS, adotada pelo Ministério da Saúde brasileiro em 2001 (Brasil, 2001), que considera como PB aqueles casos com até cinco lesões de pele e/ou apenas um tronco nervoso comprometido e como MB os casos com mais de cinco lesões de pele e/ou mais de um tronco nervoso comprometido. O diagnóstico clínico foi complementado pela baciloscopia e pelo cálculo do índice baciloscópico (4 a 5 sítios de coleta). Os pacientes com até cinco lesões de pele, mas com baciloscopia positiva foram classificados com MB. Todos os pacientes foram tratados com PQT, de acordo com as orientações da OMS (WHO, 2014). Na admissão alguns pacientes já haviam completado a PQT, outros ainda estavam em tratamento ou ainda não o haviam iniciado. O diagnóstico dos quadros reacionais, bem como das neurites, foi realizado por médico com experiência no seu diagnóstico e tratamento e, nos casos duvidosos, confirmada por um segundo especialista. O tratamento do episódio reacional foi iniciado após a admissão no estudo. Realizaram-se exames laboratoriais de rotina, incluindo hemograma, enzimas hepáticas, glicemia, ácido úrico, lipidograma, velocidade de hemossedimentação, desidrogenase láctica, ureia e creatinina. A proteína C reativa (PCR) e a alfa-1 glicoproteína ácida (AGP), que são marcadores clássicos de fase aguda, foram dosadas e serviram como medida indireta de inferência do estresse oxidativo. A dosagem do AU sérico foi realizada pelo método enzimático automatizado no equipamento CT600i

(Thermo Fisher Scientific[®], Rosario, Argentina), conforme orientações do fabricante. A taxa de filtração glomerular (TFGe) foi estimada pelo método CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation*) (Matsushita et al. 2012).

Os indivíduos foram divididos em três grupos: sem reação (controles), com reação tipo 1 e com reação tipo 2. Para fins de análise dos resultados os pacientes com reação tipo 1 e com neurite isolada foram agrupados. Para a análise estatística foi utilizado o pacote estatístico Stata[®] (versão 12) e o programa de acesso livre Epidata[®] Analysis (versão 2.1.1). As médias das dosagens séricas do AU nos grupos com e sem reação foram comparadas pelo teste t de Student, com a correção de Bonferroni para comparações múltiplas, quando indicado. No entanto, quando as variâncias dos níveis de AU não foram homogêneas entre os grupos, foram utilizados os testes não paramétricos de Mann-Whitney e de Kruskal-Wallis para sua comparação. Após essa análise, as variáveis que apresentaram associação estatisticamente significativa, foram incluídas em um modelo de análise estratificada, que controlou pelos seguintes fatores de risco para estresse oxidativo: idade, tabagismo, alcoolismo, hipertensão arterial, hiperlipidemia e diabetes. Para avaliar diferenças nos níveis séricos de AU, PCR e AGP nas avaliações de seguimento pós-tratamento utilizou-se o teste pareado não paramétrico de Wilcoxon. Para todas as análises, considerou-se o erro alfa de 0,05.

RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 123 pacientes com hanseníase, os quais procuraram o centro de referência por demanda espontânea (25,2%), por encaminhamento para tratamento de quadro reacional (69,1%) ou foram convocados para exame de rastreio (5,7%), por serem contatos domiciliares de pacientes com hanseníase. Nove pacientes foram classificados como PB e 114 como MB. O exame baciloscópico foi realizado em 84,6% deles, sendo positivo em 83,6%. A maioria era do sexo masculino (74,0%), com idade entre 18 e 69 anos (média de 41,4 anos). As comorbidades mais frequentes foram a hipertensão arterial sistêmica (8,9%) e o tabagismo (19,5%). Sete pacientes

apresentaram hiperlipidemia: seis no grupo com reação tipo 1 e um no grupo com reação tipo 2. Setenta e seis pacientes (62%) não apresentavam comorbidades (Tabela 1).

Tabela 1 - Dados demográficos e clínicos dos 123 pacientes com hanseníase incluídos no estudo, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Característica		n	%
Sexo	Masculino	91	74,0
	Feminino	32	26,0
Raça/cor	Branca	52	42,3
	Parda	55	44,7
	Preta	16	13,0
Idade (anos)	18 - 30	29	23,6
	30 - 40	32	26,0
	40 - 50	27	22,0
	>50	35	28,4
	Média (DP): 41,4 (12,6)		
Classificação operacional	Paucibacilar	9	7,3
	Multibacilar	114	92,7
Baciloscopia	Positiva	87	70,7
	Negativa	17	13,8
	Não realizada	19	15,5
Índice baciloscópico*	0 - 3	46	51,7
	3 - 6	43	48,3
	Média (DP): 2,63 (1,85)		
Reação hansênica	Tipo 1	56	46,3
	Tipo 2	42	34,7
	Sem reação	25	19,0
Comorbidades**	Diabete melito tipo 2	2	1,6
	Hipertensão arterial	11	8,9
	Hiperlipidemia	7	5,7
	Tabagismo	24	19,5
	Etilismo	7	5,7
	Outras	7	5,7
Tratamento da reação	Talidomida	23	23,5
	Prednisona	58	59,2
	Talidomida + prednisona	17	17,3

* Não disponível em 15 pacientes com baciloscopia positiva

**Alguns pacientes apresentavam mais de uma comorbidade

Três pacientes apresentaram TFG_e reduzida (<60 mL/min/1,73m²) na primeira avaliação, dois deles apresentavam reação tipo 2 e evoluíram com normalização da TFG_e nas avaliações subsequentes, o outro paciente apresentava reação tipo 1 e não compareceu às visitas de seguimento.

Na avaliação inicial, 25 (20,3%) pacientes não apresentavam reação hansênica, 10 (8,1%) apresentavam apenas neurite, 46 (37,4%) apresentavam reação tipo 1 e 42 (34,2%) apresentavam reação tipo 2. Nesses dois últimos grupos, a neurite acompanhava ou não o quadro reacional (Tabela 1). A PQT foi iniciada na admissão ao estudo para 37 pacientes: 13 sem reação, 20 com reação tipo 1 e 4 com reação tipo 2. Quarenta e um pacientes (33,3%) já haviam concluído o tratamento (28 com reação tipo 2 e 13 com reação tipo 1) e 45 ainda se encontravam em PQT: 12 pacientes sem reação, 23 com reação tipo 1 e 10 com reação tipo 2.

O exame de avaliação de incapacidades efetuado no início do tratamento evidenciou algum grau de comprometimento funcional em 53 indivíduos (43,1%).

Para tratamento do episódio reacional foi utilizada prednisona em todos os casos de reação tipo 1 e em duas pacientes jovens com reação tipo 2. A talidomida foi a droga de escolha na maioria das reações tipo 2; foi associada prednisona nos casos de neurite concomitante e/ou eritema nodoso necrotizante (Tabela 1).

Os valores médios (DP) dos níveis séricos de AU foram comparados entre os pacientes com e sem fatores de risco conhecidos para estresse oxidativo. Níveis séricos significativamente mais altos ($p=0,006$) de AU foram observados nos pacientes com hiperlipidemia. Para os demais fatores de risco, não se observou associação estatisticamente significativa (Tabela 2).

No presente estudo os níveis séricos de AU mostraram-se significativamente reduzidos em pacientes com reação tipo 2 da hanseníase, quando comparados aos do grupo controle ($p=0,023$). Essa diferença manteve-se significativa após correção de Bonferroni para comparações múltiplas ($p = 0,046$) (Tabela 3).

Tabela 2 - Análise univariada dos níveis séricos de ácido úrico pré-tratamento de 114 pacientes com hanseníase, segundo fatores de risco para estresse oxidativo.

Fatores de risco		Ácido Úrico (mg/dL)		p*
		Média	DP	
Idade	18 - 30	4,04	0,94	0,149**
	30 - 40	4,63	1,16	
	40 - 50	4,95	1,64	
	>50	4,54	1,89	
Tabagismo	Sim	4,69	1,26	0,311
	Não	4,50	1,53	
Alcoolismo	Sim	4,66	1,54	0,415
	Não	4,53	1,48	
Hiperlipidemia	Sim	6,88	2,48	0,006
	Não	4,43	1,33	
Hipertensão arterial	Sim	4,80	1,86	0,825
	Não	4,51	1,45	
Diabete melito	Sim	4,15	1,20	0,658
	Não	4,54	1,48	

* Teste de Mann-Whitney

** Teste de Kruskal-Wallis

Table 3 – Níveis séricos de ácido úrico na avaliação inicial (antes do tratamento) de pacientes com e sem quadros reacionais da hanseníase, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

Grupo de pacientes	n	Ácido Úrico (mg/dL)		p*
		Média	DP	
Reação tipo 1	75	4.75	1.66	0.857
Controle		4.82	1.43	
Reação tipo 2	64	4.08	1.14	0.023 [¶]
Controle		4.82	1.43	
Reação tipo 2	89	4.08	1.14	0.033 [§]
Reação tipo 1		4.75	1.66	

*Student's t-test.

[¶] p = 0.046 após correção de Bonferroni.

[§] p = 0.112 após exclusão dos pacientes hiperlipidêmicos (n = 84; o ácido úrico de um paciente não foi avaliado).

Os níveis séricos de AU também foram diferentes entre os pacientes com reação tipo 2 e com reação tipo 1 ($p=0,033$). No entanto, essa diferença não se manteve após a exclusão dos pacientes com hiperlipidemia, que predominaram no grupo com reação tipo 1 (Tabela 3).

O AU, a PCR e a AGP foram medidos, respectivamente, em 114, 117 e 115 pacientes na 1ª avaliação; 103, 104 e 106 pacientes na 2ª avaliação e em 85, 83 e 87 pacientes na 3ª avaliação. As perdas ocorreram, principalmente, por abandono do estudo e, em menor número, por problemas técnicos na realização dos exames. A análise comparativa dos níveis séricos de AU, PCR e AGP nas avaliações de seguimento mostrou que em pacientes sem reação (controle) os níveis séricos dessas moléculas estiveram dentro da faixa de normalidade e mantiveram-se estáveis em todas as avaliações. Na 1ª avaliação, os pacientes com reação tipo 1 tinham níveis séricos de AU e de AGP normais, enquanto a PCR apresentava níveis levemente aumentados. Nas avaliações pós-tratamento, os níveis séricos de AU ($p=0,003$ e $p=0,002$) e de PCR ($p=0,016$ e $p=0,004$) foram significativamente menores respectivamente, após 30-60 dias (2ª avaliação) e 60-90 dias (3ª avaliação) de tratamento com prednisona, em relação aos níveis pré-tratamento. Os níveis séricos de AGP mantiveram-se na faixa de normalidade e não apresentaram mudança significativa durante o seguimento pós-tratamento (Tabela 4, Figura 1).

Por outro lado, para os pacientes com reação tipo 2, os níveis séricos de PCR ($p<0,0001$) e AGP ($p<0,0001$) estiveram elevados na 1ª e 2ª avaliações e retornaram à faixa de normalidade na 3ª avaliação. Em relação ao AU, esse comportamento não foi observado; na verdade, os níveis séricos de AU mantiveram-se baixos nas duas avaliações pós-tratamento da reação tipo 2 e com valores similares ($p=0,694$ para a 2ª avaliação e $p=0,649$ para a 3ª avaliação) aos níveis séricos da 1ª avaliação (Tabela 4, Figura 1).

Tabela 4 - Avaliação de seguimento dos níveis séricos de AU, proteína C reativa (PCR) e alfa-1 glicoproteína ácida (AGP) em pacientes com ou sem reação hansênica, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.

	Grupo de pacientes	1ª Avaliação Média (DP)	2ª Avaliação Média (DP)	p*	3ª Avaliação Média (DP)	p*
AU sérico (mg/dL)	<i>Controle</i>	4,8 (1,4)	4,5 (1,5)	0,125	4,7 (1,0)	0,091
	<i>Reação 1</i>	4,8 (1,6)	4,3 (1,1)	0,003	4,3 (1,0)	0,002
	<i>Reação 2</i>	4,1 (1,1)	4,1 (1,2)	0,694	4,1 (1,1)	0,649
PCR (mg/dL)	<i>Controle</i>	4,6 (3,8)	4,1 (3,0)	0,234	7,9 (12,9)	0,657
	<i>Reação 1</i>	14,6 (29,2)	4,9 (8,1)	0,016	4,8 (8,1)	0,004
	<i>Reação 2</i>	81,4 (49,0)	18,1 (25,8)	<0,0001	9,9 (14,1)	<0,0001
AGP (mg/dL)	<i>Controle</i>	96,8 (24,2)	95,2 (23,8)	0,636	91,0 (27,8)	0,878
	<i>Reação 1</i>	106,3 (54,1)	99,0 (32,8)	0,983	97,1 (31,6)	0,385
	<i>Reação 2</i>	246,5 (100,2)	129,8 (44,8)	<0,0001	105,3 (31,2)	<0,0001

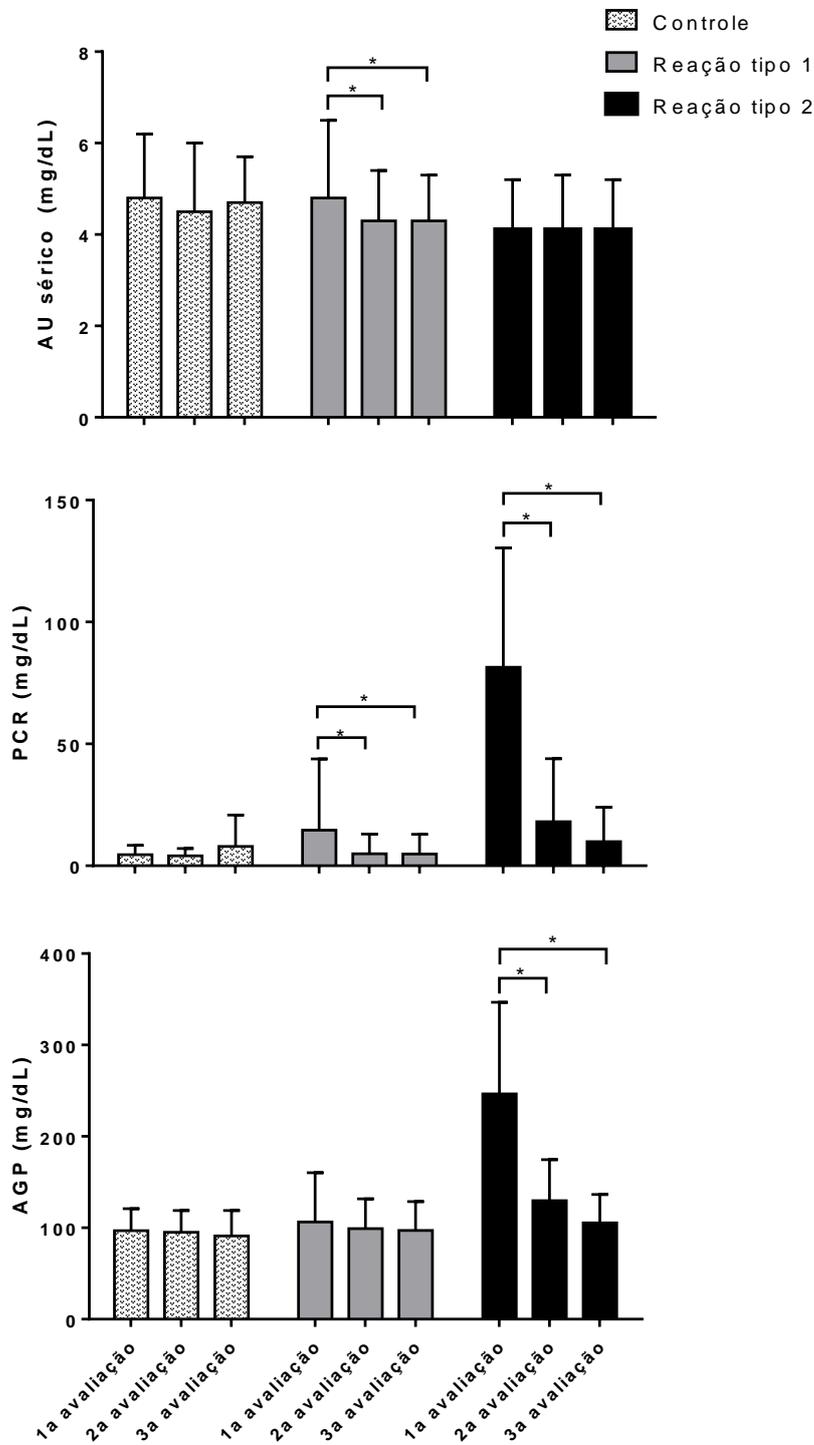
AU: ácido úrico

PCR: proteína C reativa

AGP: α 1glicoproteína ácida

* teste de Wilcoxon: comparação pareada entre valores da segunda vs primeira e terceira vs primeira avaliações

Figura 1. Avaliação de seguimento dos níveis séricos de AU, proteína C reativa (PCR) e alfa-1 glicoproteína ácida (AGP) em pacientes com ou sem reação hansênica, HUJM, Mato Grosso, 2012 - 2015.



AU: ácido úrico; PCR: proteína C reativa; AGP: α 1glicoproteína ácida
 * $p < 0.05$ (teste de Wilcoxon)

DISCUSSÃO

No presente estudo observou-se que o nível sérico médio de AU é menor em pacientes com reação tipo 2 da hanseníase, quando comparado a pacientes com reação tipo 1 ou sem reação. Porém, não se observou diferença estatisticamente significativa nos níveis de AU entre os pacientes com reação tipo 1 e aqueles sem reação. Até onde é do nosso conhecimento, este é o primeiro relato de alteração do AU relacionada às reações hansênicas na literatura médica. O achado de valores significativamente mais baixos de AU nos pacientes com reação do tipo 2 é sugestivo de consumo aumentado desse composto, para neutralizar a maior produção de espécies reativas que ocorre durante essa reação (FOSS, 1997). Por outro lado, a não associação de AU sérico com reação tipo 1 poderia ser explicada por uma menor geração de espécies reativas, insuficiente para diferenciar os pacientes com reação tipo 1 daqueles sem reação. Outra hipótese seria a presença, em pacientes do grupo com reação tipo 1, de hiperlipidemia, a qual pode se associar à hiperuricemia (Desideri et al, 2014; Wei et al, 2015) e que poderia minimizar a associação entre ácido úrico e reação tipo 1.

A observação de que os níveis séricos médios de AU nos pacientes com reação tipo 2 permanecem praticamente inalterados, antes e após o tratamento, pode sugerir a persistência do estresse oxidativo, a despeito da melhora clínica e da redução dos valores dos níveis séricos das proteínas de fase aguda: proteína C reativa (PCR) e α 1-glicoproteína ácida (AGP). Da mesma forma, a manutenção de marcadores de estresse oxidativo após a resolução clínica foi descrita por Chhabra et al. (2015) em pacientes tratados para reação tipo 1 e por Prabhakar et al. (2013) após o término da PQT em pacientes com hanseníase.

Redução significativa dos níveis séricos de AU, atribuída à sua possível ação antioxidante, foi descrita em pacientes com pênfigo vulgar, sobretudo naqueles com comprometimento mucoso (YOUSEFI et al., 2011), no líquen plano (CHAKRABORTI et al., 2014) e nas doenças neurodegenerativas (KEIZMAN et al., 2009; FANG et al., 2013). No entanto, nenhuma informação

sobre alterações do AU sérico nos quadros reacionais da hanseníase é disponível na literatura. A hipótese de consumo de AU sérico nos quadros reacionais tipo 2 é consistente com os achados prévios sobre o perfil de antioxidantes enzimáticos em pacientes com as formas polares da hanseníase, isto é, o “status” antioxidante se reduz gradualmente do polo tuberculoide em direção ao polo virchowiano da doença (JYOTHI et al., 2008). Os autores aventaram que a alta carga bacilar promoveria uma maior produção de radicais livres e que estes levariam ao consumo de moléculas antioxidantes (JYOTHI et al., 2008).

Em geral, os níveis séricos baixos de AU podem ser resultado de redução na sua síntese, aumento do consumo ou de sua excreção. A hipouricemia primária pode ser decorrente de deficiência de xantina oxidase ou ocorrer por defeito no transporte tubular renal de AU com redução da sua reabsorção, levando a níveis séricos muito baixos de AU ($\leq 2,0$ mg/dL) (MARTÍN & GARCIA-NIETO, 2011; ISO & KURABAYASHI, 2015). Pode ser secundária a doenças que cursam com disfunção tubular proximal e uricosúria, como a síndrome de Fanconi, a doença de Wilson, a síndrome de secreção inadequada de hormônio antidiurético e mieloma (MARTIN & GARCIA-NIETO, 2011). Nenhum dos nossos pacientes apresentava sintomas ou sinais compatíveis com as doenças acima citadas. Alguns medicamentos também podem levar à redução dos níveis séricos do AU por mecanismos diversos: reduzindo a sua produção (alopurinol), inibindo a sua reabsorção tubular (probenecida, ácido ascórbico, losartana, sulfiperazona e benzbromarona) ou aumentando sua excreção (polietilenoglicol-uricase) (MCDONAGH et al., 2014). Entre os medicamentos com atividade sobre os níveis séricos do AU destaca-se a losartana, que foi a única droga utilizada por três pacientes deste estudo, sendo um no grupo controle e dois no grupo com reação tipo 1.

A redução dos níveis séricos do AU após o tratamento dos pacientes com reação tipo 1 coincidiu, na grande maioria dos casos, com o tempo de uso de dose máxima de prednisona (40 a 80 mg/dia), momento em que apresentavam melhora clínica e aparente controle do quadro inflamatório

reacional, evidenciado pela redução dos níveis séricos da PCR. Considerando esses aspectos, seria esperado que o AU se elevasse ou se mantivesse estável. Uma possível explicação para esse achado seria o aumento da excreção renal do AU por ação do glicocorticoide. Redução significativa dos níveis séricos do AU foi observada em pacientes com insuficiência cardíaca e hiperuricemia que receberam prednisona na dosagem de 30-60 mg/d durante 5 a 28 dias (Liu et al. 2013; MENG et al., 2015). Essa redução foi explicada pelo aumento da resposta renal aos peptídeos natriuréticos (NP) endógenos através da regulação positiva da expressão do receptor A do NP no ducto coletor intramedular renal, com consequente indução de potente diurese, em ratos com insuficiência cardíaca crônica descompensada (LIU et al., 2011). Os NP são uma família de hormônios produzidos normalmente na vasculatura, no miocárdio, nos rins, nas glândulas adrenais, no cérebro e nos pulmões e tem importante papel na manutenção da homeostase cardiovascular (SIMÕES E SILVA et al., 2003) São conhecidos três NP geneticamente distintos mas estruturalmente relacionados: o atrial natriuretic peptide (ANP), o NP tipo B e o NP tipo C. O ANP parece ser o responsável pelo controle das atividades cardiorrenais normais, enquanto os outros dois hormônios teriam sua secreção aumentada somente em condições patológicas (VOLPE, 2014).

Algumas limitações do estudo devem ser destacadas, tais como o baixo número de pacientes incluídos e o pequeno tempo de seguimento dos pacientes, necessário para se entender a real dinâmica dos níveis séricos de AU pós-tratamento. Também é possível que tenha havido viés de seleção, uma vez que os pacientes foram selecionados de serviço de referência, onde é mais frequente a demanda de casos reacionais e, em contrapartida, menor número de controles, sem reação. A não aferição da concentração urinária do ácido úrico dos pacientes, com o objetivo de excluir aqueles hipersecretores, também representa outra limitação deste estudo. Informações sobre a ingestão de água, conteúdo de purina na dieta e nível de exercícios, que não foram obtidas dos pacientes, também podem representar uma limitação. Entretanto, nós acreditamos que esses fatores não tenham influenciado o resultado deste estudo, uma vez que os pacientes eram homogêneos em termos de nível

cultural e socioeconômico. Além disto, durante os episódios reacionais, a atividade física tende a ser bastante restrita, devido à dor neural e aos sintomas constitucionais.

Os resultados deste estudo sugerem que durante a reação tipo 2 de pacientes com hanseníase estaria ocorrendo consumo do AU para neutralizar a maior produção de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio. Além disso, a persistência dos níveis do AU sérico em valores semelhantes aos níveis pré-tratamento poderiam indicar a manutenção do estresse oxidativo nas fases iniciais pós-tratamento, a despeito da melhora clínica e da redução dos níveis séricos dos marcadores de fase aguda (PCR e AGP). Estes achados sugerem que o AU sérico teria papel antioxidante na reação tipo 2 da hanseníase. Estudos adicionais com maior número de pacientes serão necessários para confirmar essa hipótese.

REFERÊNCIAS

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia Celular e Molecular*. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008. p.19-46.
- Abdel-Hafez HZ, Mohamed E-EM, Abd-Elghany AA. Tissue and blood superoxide dismutase activity and malondialdehyde level in leprosy. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2010;24:704-708.
- Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Rochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical- caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981;78(11):6858-6862.
- Aukrust P, Müller F, Svardal AM, Ueland T, Berge RK et al. Disturbed glutathione metabolism and decreased antioxidant levels in human immunodeficiency virus-infected patients during highly active antiretroviral therapy – Potential immunomodulatory effects of antioxidants. *J Infect Dis*. 2003;188:232-8.
- Becker K, Tilley L, Vennerstrom JL, Roberts D, Rogerson S et al. Oxidative stress in malaria parasite-infected erythrocytes: host-parasite interaction. *Int J Parasitol*. 2004;34:163-189.
- Bergamini C, Cicoira M, Rossi, A, Vassanelli C. Oxidative stress and hiperuricemia: pathophysiology, clinical relevance, and therapeutic implications in chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2009;11:444-452.
- Bhadwat VR, Borade VB. Increased lipid peroxidation in lepromatous leprosy. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2000;66:121-5.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Moreira MB, Costa MM. *Controle da hanseníase na atenção básica: guia prático para profissionais da equipe de saúde da família*. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Boletim epidemiológico* 2013; 44(11):1-12.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em Saúde. *Tratamento das reações Hansênicas*. In: *Guia de Vigilância em Saúde*, 2014. p. 359-362.
- Chakraborti G, Biswas R, Chakraborti S, Sen PK. Altered Serum Uric Acid Level in Lichen Planus Patients. *Indian J Dermatol*. 2014;59(6):558–561.
- Chhabra N, Bhattacharya SN, Singal A, Ahmed RS, Verma P. Profile of oxidative stress in response to treatment for type 1 leprosy reaction. *Lepr Rev*. 2015;86:80-88.

- Clark IA & Hunt NH. Evidence for reactive oxygen intermediates causing Hemolysis and parasite death in malaria. *Infect Immun.* 1983;39(1):1-6.
- Crane JK, Mongiardo KM. Pro-inflammatory effects of uric acid in the gastrointestinal tract. *Immunol Invest* 2014;43(3):255-266
- Desideri G, Castaldo G, Lombardi A, Mussap M, Testa A, et al. Is it time to revise the normal range of serum uric acid levels? *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2014;18:1295-1306.
- Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002;82:47-95.
- Fang P, Li X, Luo JJ, Wang H, Yang X. A double-edged sword: uric acid and neurological disorders. *Brain Disord Ther.* 2013;2(2):109-114.
- Foss NT. *Imunologia (parte II)*. In: Talhari S, Neves RG (editores). *Hanseníase*. Manaus. Gráfica Tropical. 1997. p. 97-102.
- Foss, NT *Reactional Episodes in Leprosy* Medicina, Ribeirão Preto. 2003;36:453-459.
- Gaman AM, Buga AM, Gaman MA, Popa-Wagner A. The role of oxidative stress and the effects of antioxidants on the incidence of infectious complications chronic lymphocytic leukemia. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;ID 158135, 6 pages.
- Ghaemi-Oskouie F, Shi Y. The role of uric acid as an endogenous danger signal in immunity and inflammation. *Curr Rheumatol Rep.* 2011;13:160-166.
- Gupta N, Shankernarayan NP, Dharmalingam K. α 1-Acid glycoprotein as a putative biomarker for monitoring the development of the type II reactional stage of leprosy. *J Med Microbiol.* 2010;59:400-407.
- Iso T, Kurabayashi M. Extremely low levels of serum uric acid are associated with endothelial dysfunction in humans. *Circ J.* 2015;79:978-980.
- Jyothi P, Riyaz N, Nandakumar G, Binitha MP. A study of oxidative stress in paucibacillary and multibacillary leprosy. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2008;74:80.
- Kahawita IP & Lockwood DNJ. Towards understanding the pathology of erythema nodosum leprosy. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008;102:329-337.
- Kanda E, Muneyuki T, Kanno Y, Suwa K, Nakajima K. Uric acid level has a U-Shaped association with loss of kidney function in health people: a prospective cohort study. *PLoS ONE.* 2015;10(2):e0118031.

Keizman D, Ish-Shalom M, Berliner S, Maimom N, Vered Y et al. Low uric acid levels in serum of patients with ALS: further evidence for oxidative stress? *J Neurol Sci.* 2009;285(1-2):95-99.

Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol.* 2002;30(6):620-650.

Liu C, Chen Y, Kang Y, Ni Z, Xiu H et al. Glucocorticoids improve renal responsiveness to atrial natriuretic peptide by upregulating natriuretic peptide receptor-A expression in the renal inner medullary collecting duct in decompensated heart failure. *J Pharmacol Exp Ther.* 2011;339(1):203-209.

Liu C, Zhao Q, Zhen Y, Gao Y, Tian L et al. Prednisone in uric acid lowering in symptomatic heart failure patients with hyperuricemia (PUSH-PATH) study. *Can J Cardiol.* 2013;29:1048-1054.

Martín NE, García-Nieto V. Hipouricemia y manejo renal del AU. *Nefrología* 2011;31(1):44-50.

Matsushita K, Mahmoodi BK, Woodward M, Emberson JR, Jafar TH et al. Comparison of risk prediction using CKD-EPI equation and the MDRD study equation for estimated glomerular filtration rate. *JAMA.* 2012;307(18):1941-1951.

McDonagh EM, Thorn CF, Callaghan JT, Altman RB, Klein TE. PharmGKB summary: uric acid-lowering drugs pathway, pharmacodynamics. *Pharmacogenet genomics.* 2014;24(9):464-476.

Meng H, Liu G, Zhai J, Zhen Y, Zhao Q et al. Prednisone in uric acid lowering in symptomatic heart failure patients with hyperuricemia - The PUSH-PATH3 study. *J Rheumatol.* 2015;42:866-869.

Meotti FC, Jameson GNL, Turner R, Harwood DT, Stockwell S et al. Urate as a physiological substrate for myeloperoxidase: implications for hyperuricemia and inflammation. *J Biol Chem.* 2011;286:12901-12911.

Nery JAC, Machado AM, Bernardes-Filho F, Oliveira SSC, Quintanilha J et al. Understanding type 1 reaction state for early diagnosis and treatment: a way to avoid disability in leprosy. *An Bras Dermatol.* 2013; 88:787-792.

Nogueira MES, Moreno FRV, Silva EA, Arruda MSP. *Imunologia*, In: Opromolla DVA (editor). *Noções de Hansenologia*. Bauru: Centro de estudos "Dr. Reynaldo Quagliato". 2000. p. 27-42.

Olagnier D, Peri S, Steel C, Montfoort NV, Chiang C et al. Cellular oxidative stress response controls the antiviral and apoptotic programs in dengue virus-infected dendritic cells. *PLoS pathog.* 2014;10(12):e1004566.

Pérez YG, Pérez LCG, Netto RCM, Lima DSN, Lima ES. Malondialdeído e grupo sulfidríla como biomarcadores do estresse oxidativo em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. *Rev Bras Reumatol.* 2012;52(4):656-660.

Prabhakar MC, Santhikrupa D, Manasa N, Rao OU. Status of free radicals and antioxidants in leprosy patients. *Indian J lepr.* 2013;85:5-9.

Prasad CVB, Admath MVK, Admath GBK. Erythrocyte superoxide dismutase, catalase activities and hydrogen peroxide induced lipid peroxidation in leprosy. *Lepr Rev.* 2007;78:391-397.

Reddy YN, Murthy SV, Krishna DR, Prabhakar MC. Oxidative stress and anti-oxidant status in leprosy patients. *Indian J Lepr.* 2003;75(4):307-316.

Schalcher TR, Vieira JLF, Salgado CG, Borges RS, Monteiro MC. Antioxidant factors, nitric oxide levels, and cellular damage in leprosy patients *Rev Soc Bras Med Trop.* 2013;46(5):645-9.

Schalcher TR, Borges RS, Coleman MD, Junior JB, Salgado CG et al. Clinical oxidative stress during leprosy multidrug therapy: impact of dapsone oxidation *PLoS ONE.* 2014;9(1):e85712.

Scollard DM, Adams LB, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Truman RW, Williams DL. The continuing challenges of leprosy. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19(2):338-381.

Scolard DM, Martelli CMT, Stefani MMA, Maroja MF, Villahermosa L et al. Risk factors for leprosy reactions in three endemic countries. *Am J Trop Med Hyg.* 2015;92(1):108-114.

Simões e Silva AC, Pinheiro SVB, Santos RAS. Peptide and interaction heart-kidney. *Rev Bras Hipertens.* 2008;13(3):134-143.

Suzuki K, Akama T, Kawashima A, Yoshihara A, Yotsu RR, Ishii N. Current status of leprosy: epidemiology, basic science and clinical perspectives. *J Dermatol.* 2012;39(2):121-9.

Swathi M, Tagore R. Study of oxidative stress in different forms of leprosy. *Indian J Dermatol.* 2015;60:321-325.

Volpe M. Natriuretic Peptides and cardio-renal disease. *Int J Cardiol.* 2014;176:630-639.

Yousefi M, Rahimi H, Barikbin B, Toossi P, Lofti S et al. Uric acid: a new antioxidant in patients with pemphigus vulgaris *Indian J Dermatol.* 2011;56(3):278-281.

Wei CY, Sun CC, Wei JC, Tai HC, Sun CA et al. Association between hyperuricemia and metabolic syndrome: an epidemiological study of a labor force population in Taiwan. *BioMed Res Int.* 2015;2015:369179.

World Health Organization. Global Leprosy update 2013; reducing disease burden. *Wkly Epidemiol Rec.* 2014;36(89):389-400.

Zacks, MA. An overview of chagasic cardiomyopathy: pathogenic importance of oxidative stress. *An. Acad. Bras.Ciênc.* 2005;77(4):695-715.