

ERITEMA NODOSO HANSÊNICO: ANÁLISE COMPARATIVA DO QUADRO HISTOPATO-
LÓGICO PELAS TÉCNICAS DE ROTINA E IMUNOFLUORESCENCIA

MARIA ESTHER SALLES NOGUEIRA

Dissertação apresentada a
Faculdade de Odontologia de
Bauru da Universidade de São
Paulo; como parte dos
requisitos para a obtenção
do grau de Mestre em
Patologia Bucal.

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA BUCAL

COORDENADOR

Prof. Dr. Sergio A. Catanzaro Guimarães

ORIENTADOR

Prof. Dr. Raul Negro Fleury

Para

José e Ângela
meus pais

Francisco, Ângela, José e Renata
meus irmãos

Manoel, Edneia, e Perola
meus cunhados

e sobrinhos

pelo amor que sempre nos uniu.

AGRADECIMENTOS

Prof. Dr. Alberto Consolaro

Prof. Dr. Antonio Carlos M. Stipp

Prof. Dr. Dagoberto Sottovia

Prof. Dr. Diltor V. A. Opromolla

Prof. Dr. Dirceu Dalpino

Profa. Dr g Maria Fidela Lima Navarro

Dr. Oswaldo Cruz

Prof. Dr. Raul Negrão Fleury

Prof. Dr. Sergio A. Catanzaro Guimaraes

Aos funcionários

Biblioteca e Documentação Científica do Instituto Lauro de Sotiza Lima.

Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica do Instituto Lauro de Souza Lima.

Setor de Sorodiagnóstico do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP.

Faculdade de Odontologia de Bauru, USP.

Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia de Bauru, USP.

Aos amigos

Maria Sueli Parreira de Arruda, Marlene de Oliveira, Fátima Regina Vilani, Gerson de Assis, Luís Gastão Chamma.

Ao corpo médico

pela abnegada dedicação e carinho com que conduziram a seleção dos pacientes.

Aos pacientes

que possibilitaram a elaboração deste trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISTA DA LITERATURA	05
2.1. Histórico	05
2.2. Aspectos Clínicos	07
2.3. Aspectos Histopatológicos	11
2.4. Aspectos Imunopatológicos	18
3. PROPOSIÇÃO	33
4. MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1. Pacientes	34
4.2. Estudo Histopatológico e Imunohistoquímico	15
4.2.1. Coleta do Material	35
4.2.2. Análise Histopatológica	35
4.2.3. Análise Imunohistoquímica	36
5. RESULTADOS	40
5.1. Histopatológico	40
5.2. Imunohistoquímico	44
6. DISCUSSÃO	61
7. CONCLUSÕES	92
8. RESUMO	94
9. SUMMARY	97
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
11. APÊNDICE	109

1. INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença inflamatória crônica cujo agente etiológico é o *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), parasita intracelular obrigatório⁶¹. Disto deriva que a reatividade orgânica ao parasita depende fundamentalmente da imunidade mediada por células (IMC)⁵⁷. Quando a imunidade é eficiente, o indivíduo não desenvolve a doença, ou desenvolve sob o tipo de hanseníase tuberculóide. Esta mostra poucas lesões bem delimitadas, que tendem a cura espontânea. Há, no entanto, uma porcentagem de indivíduos que apresenta defesa imune celular deficiente contra o *M. leprae* e, quando infectados, desenvolvem múltiplas, ricas em bacilos, não se curam espontaneamente, tendendo a piora progressiva. O grau máximo de falta de resistência constitui a hanseníase virchoviana, cujos pacientes apresentam lesões cutâneas, neurais e viscerais com grande número de bacilos, não se curam espontaneamente e respondem precariamente ao tratamento específico, levando muitos anos para se tornarem mativos. Entre o pólo de máxima resistência (tuberculóide) e o de mínima resistência (virchoviano) existe um grupo de manifestações de resistência intermediária, o grupo dimorfo⁶³. Estes pacientes apresentam lesões, com características instáveis, entre os dois pólos e, quando não tratados, tendem a piorar progressivamente, mostrando transformação gradual das lesões clínicas em direção ao pólo de menor resistência⁴³.

Os pacientes virchovianos caracterizam-se clíni-

camente por apresentarem comprometimento cutâneo generalizado com lesões em pápulas, tubérculos, nódulos e infiltrações difusas que praticamente, não deixam área de pele indene. Há qual mente, comprometimento generalizado dos nervos, nos segmentos tualmente atingidos na hanseníase, ou seja, ao longo dos segmentos distais e mais superficiais dos troncos nervosos periféricos, bem como nas terminações nervosas cutâneas distais e mais. Do ponto de vista histopatológico aparecem granulomas extensos em pele e nervos, constituídos por macrófagos volumosos com múltiplos bacilos. Estes granulomas no mostram o arranjo próprio dos granulomas tuberculóides e, os linfócitos são escassos ou ausentes^{43,47}

A tendência, na hanseníase virchoviana no tra tada, e a proliferação e disseminação bacilar através da via- linfática ou sangüínea. Ao mesmo tempo, existe fragmentação e morte natural de parte do contingente bacilar, induzindo nos histiocitos, a formação de vacúolos fagossômicos repletos de gordura. O histiócito assim modificado representa a classifica célula de Virchow que, no seu conjunto, define o granuloma, macrofágico regressivo. A proliferação e disseminação bacilar referida acima, propicia o comprometimento de múltiplas localizações viscerais e conseqüentemente, reação inflamatória⁴³.

Com o tratamento específico, a fragmentação ba- cilar, no interior dos macrófagos, se acentua. Seguramente esta é

uma forma de liberação de antígenos (Ag) bacilares que estimulam excessivamente o sistema imune humoral.⁴⁶ Cria-se, pois, um estado de hipersensibilidade, que estado de hipersensibilidade, que pode ter sido desencadeado por distúrbios nas subpopulações de linfócitos Timo-dependentes(linfócitos T)^{43, 77}

Na evolução de pacientes virchovianos e de alguns dimorfos próximos ao polo virchoviano, pode ocorrer episódios reacionais agudos denominados eritema nodoso hansênico (ENH). Caracterizam-se pelo aparecimento de nódulos eritematosos, duros e dolorosos, de tamanho variável que, nos casos mais graves, podem sofrer supurações, necrose e ulcerações⁴³. Estes nódulos, ao contrario do eritema nodoso no hansênico, são generalizados por todo o tegumento cutâneo. Estes episódios podem ser acompanhados por febre, dores articulares, adenomegalia, hepatoesplenomegalia, espessamento doloroso dos nervos, orquites, iridociclites e, mais raramente, por alterações renais (hematuria, proteinuria). As alterações laboratoriais mais freqüente mente observadas são leucocitose e neutrofilia^{48, 46, 49}

Histopatologicamente a reação de ENH caracteriza-se por focos de inflamação aguda instalados ao longo de granulomas virchovianos regressivos. Não se observam Vasculites leucocito clásticas, mas há comprometimento inflamatório intenso de vasos do aerma profundo e tecido celular subcutaneo^{5,79}. Para muitos autores ^{28,60,83} a reação de ENH se assemelharia à reação de

Arthus³ e, portanto, envolveria a deposição de imunocomplexos (IC) ao nível da parede de vasos cutâneos como fator desencadeante do processo inflamatório²⁸. De fato, alguns trabalhos conseguiram demonstrar depósitos de imunoglobulina (Ig) e complemento nas lesões de ENH^{82,83}. Por outro lado, como no existem verdadeiras vasculites leucocitoclásticas no quadro histológico do ENH e, por ter sido demonstrado a formação extravascular de IC, há dúvidas sobre a hipótese inicialmente exposta⁶⁶.

Na realidade e ainda pertinente, dentro do estudo do ENH, uma reavaliação que permita correlacionar dados histopatológicos com os observados pela técnica de imunofluorescência, principalmente no sentido de conseguir dados mais esclarecedores sobre a patogênese deste epifenômeno presente na evolução da hanseníase.

2. REVISTA DA LITERATURA

2.1. Histórico

A observação do ENH data de muitos anos^{6,13,24,26}

Contudo, os diversos pesquisadores que o descreveram, empregaram diferentes terminologias, tais como: pseudo exacerbação, "epileprose", hipodermite nodular leprosa recidivante, "acute lepra reaction", "nodosas acutae leprae"^{2,11,34,52,54}

Em 1929, LARA & RODRIGUES²⁹ adotaram o termo "reação leprotica" quando da descrição desta condição, o que foi aceito na Conferência sobre hanseníase em Manila, 1931³⁰ Embora a terminologia ainda permanecesse confusa durante alguns anos, o caráter agudo desta reação foi confirmado pela imensa maioria dos hansenologistas^{4,10,44,50,54,64,71,72}

O estudo clínico e histopatológico realizado por WADE (1934)⁷⁸ iniciou nova fase no conhecimento das reações verificadas nas diversas variedades clinicas da hanseníase. Neste estudo estabeleceu dois tipos de reações dependentes da reatividade do organismo frente ao M.leprae. Sugeriu a terminologia "reação leprótica tuberculóide" para designar processos agudos que ocorrem na hanseníase tuberculóide e "reação Leprotica comum ou lepromatosa" àquelas observadas na hanseníase virchoviana. Isto posto, os fenômenos agudos que ocorrem nesta varie-

dade clinica passaram a ser investigados em separado e, sob esta denominação, foram incluídos os fenômenos anteriormente descritos como: lepromatização aguda, eritema polimorfo e o então eritema .rodo;;o leproso, aqui designado eritema nodoso hansênico.

2.2. Aspectos Clínicos

MURATA (1912)⁴⁰ descreveu uma condição vista em um terço a um quarto dos casos virchovianos. Os aspectos clínicos incluíam sintomas já conhecidos nas doenças eruptivas comuns e eram acompanhados por febre e calafrios. As lesões mostravam-se hipersensíveis e elevadas, de coloração vermelhões carlate, consistência sólida e elástica, apresentando-se solitárias ou confluentes. Estas originavam-se na face e, em seguida, atingiam locais onde existiam hansenomas e a superfície flexora dos membros. De acordo com o autor, este fenômeno geralmente apresentava curso agudo podendo, ocasionalmente, tornar-se subagudo ou crônico. Tendo em vista que tal reação assemelhava-se às condições clínicas vistas no eritema nodoso, designou-o de "eritema nodoso leproso".

Após esta descrição inicial, muitos autores estudaram os vários aspectos clínicos do ENH, tais como, características clínicas, localização das lesões e comprometimento visceral^{5,17,74}

JOB et al.(1964)²⁸ estudando 36 pacientes virchovianos com ENH propuseram três padrões evolutivos da reação:

a) padrão agudo: lesões cutâneas e todas as outras manifestações de caráter sistêmico, com resolução em duas a três semanas;

b) padrão sub agudo : surtos de erupção nódular a intervalos aproximados, que se resolviam após dois a três meses de evolução;

c) padrão crônico: surtos sucessivos, às, vezes por vários anos.

HARTER (1965)²⁵ apresentou um dos trabalhos mais completos sobre ENH, descrevendo predromos, manifestações cutâneas, quadro sistêmico e manifestações extracutâneas. Referiu presença de nódulos de ENH em mucosa bucal e faríngea. Descreveu que a incidência maior do surto se faz no primeiro ano de tratamento, mas que 13,5% dos pacientes, apresentavam surtos reacionais na fase de pre-tratamento.

RIDLEY (1969)⁶⁴ chamou atenção para o fato do aparecimento de pequenos nódulos dolorosos vermelhos não ser a única manifestação desta condição. Segundo o autor, o ENH severo poderia originar grandes placas que necrosavam e ulceravam e, a pele não seria o único órgão afetado. Os linfonodos, fígado, baço estariam freqüentemente aumentados e habitualmente o correriam iridociclites, orquite e espessamento doloroso de nervos. Embora menos comumente, poder-se-ia observar inchaço de articulações e nefrites. A maioria destas inflamações foram vistas em locais onde bacilos era freqüentemente achados, e, o centro da reação, coincidia com o foco bacilar. Por não ser es

te o caso das articulações, rim e, possivelmente, o trato uveal, o autor sugeriu ser este fenômeno uma condição alérgica.

BASTAZINI (1973)⁵ realizando um estudo bem detalhado em 27 pacientes em surtos de ENH avaliou, entre outros, os aspectos clínicos da reação. Da comparação de seus resultados com dados existentes na literatura, concluiu que o ENH pode ser definido basicamente, do ponto de vista clínico, por apresentar lesões superficiais ou profundas, com ou sem supuração e por manifestações extracutâneas que podem aparecer isoladamente.

Como as características clínicas do ENH foram bem definidas nos trabalhos realizados até a década de 70, poucos estudos posteriores trazem novas contribuições a este aspecto.

PFALTZGRAFF & BRYCESON (1985)⁴⁷ descreveram que, de maneira geral, a reação de ENH ocorreria em pacientes multi-bacilares caracterizando-se por inflamação aguda em qualquer órgão ou tecido onde o *M. leprae* estivesse presente. Na pele, a reação apresentaria-se como pápula (2 a 5mm) ou como nódulos grandes, dolorosos e moles, As estruturas poderiam ser superficiais ou profundas, arredondadas, com margens pouco definidas e coloração acastanhada. As pápulas poderiam tornar-se pústulas ou, simplesmente, ulcerar. As lesões são mais comuns na face e superfície extensora dos membros, embora o tronco também

fosse atingido. As lesões tenderiam a ocorrer no mesmo local e se não fossem reabsorvidas completamente, poderiam desenvolver paniculite dolorosa crônica que persistiria por meses ou anos. Tanto a pele como o tecido subcutâneo inflamado envolveriam a face subjacente, músculos e ossos e, deste modo, poderiam imobilizar mãos, pés e mesmo a face. Como a vascularização é pobre, um simples trauma poderia levar a ulceração. A reação de ENH freqüentemente causaria neurite que, quando severa, poderia tornar-se dolorosa, com perda de função. Seriam também comum no ENH frites, episclerites e orquites. Alterações delinfonodos poderiam acompanhar e, ocasionalmente, dominar a reação. Deste modo, o ENH produziria uma doença generalizada, com temperatura em torno de 40°C, geralmente ao final da tarde. O paciente tornar-se-ia exausto e prostrado pela dor, febre, anorexia, insônia e depressão. A face, mãos e pés tornar-se-iam edemaciados e o baço palpável. A função renal poderia estar temporariamente danificada.

2.3. Aspectos histopatológicos

As observações histopatológicas do ENH tiveram início em 1892, quando PHILIPPSON , observando quatro casos de hanseníase "com pápulas rosadas e depois azuladas",verificou que eram constituídas por trombose de veia do plexo intradérmico,com degeneração fibrinóide e,infiltradas por polimorfonucleares (PMN) no centro do infiltrado de células de Virchow, sem afetar a artéria correspondente.Este quadro também foi descrito por MURATA⁴⁰.

As descrições histopatológicas que se seguiram 4,13,24,45,52 nem sempre estiveram restritas ao ENH, uma vez que as características deste fenômeno não se encontravam bem estabelecidas. Deste modo, não podem ser comparadas à luz dos atuais conceitos desta reação.

WADE (1953)⁹ observando o quadro histopatologica do ENH descreveu que a reação não era necessariamente um processo inflamatório agudo, apresentando, com frequência, infiltrado inflamatório mononuclear, associado a dilatação vascular e edema intersticial. Assumiu que o processo se manifestava em áreas de infiltrado específico, previamente regressivo, citado a pequena quantidade de bacilos encontrada. Relatou que o processo, na grande maioria dos casos, era visto no tecido celular subcutâneo e, em outras ocasiões, nas porções altas do derma. As rea

ções vasculares comuns ocorreriam a nível de venulas e capilares sem definirem vasculites. Sustentou que as vasculites não constituíam manifestação inicial do processo e que, quando estas estavam presentes, seriam secundárias ao processo inflamatório dos tecidos circunvizinhos.

RATH DE SOUZA (1956)⁵⁴ descreveu o quadro histopatológico da reação hansênica como sendo, basicamente, um processo inflamatório exsudativo, apresentando dilatação vascular, tumefação endotelial, edema intersticial e exsudação neutrofílica que incidiam sobre infiltrados virchovianos com características regressivas. Ressaltou que a exsudação de neutrófilos poderia ser fugaz, de modo que estes elementos, não seriam observados no ENH biopsiado mais tardiamente. Com relação ao comprometimento vascular, comentou que as alterações dos pequenos vasos faziam parte da própria reação inflamatória aguda ou sub-aguda e que, o envolvimento da parede dos vasos maiores estaria na dependência da infiltração previa dos mesmos pelo infiltrado virchoviano. O número de bacilos era variável, desde abundantes até raríssimos, podendo mesmo ser negativo. Predominavam, nestes achados, bacilos granulosos coincidindo com o aspecto regressivo da lesão.

RIDLEY (1960)⁶² avaliando baciloscópicos nas lesões de ENH e em áreas de infiltração específica antes e durante a reação, verificou que nas lesões cutâneas, os

bacilos eram relativamente granulosos antes do surto e que, a queda numérica dos mesmos, estava correlacionada com o desenvolvimento do ENH. Segundo o autor, o número e a granulosidade dos bacilos nas lesões de ENH eram semelhantes aos observados nas áreas de infiltração específica, a exceção dos locais da reação, onde o número de bacilos era menor.

JOB et al (1964)²⁸ estudando 36 casos de pacientes virchovianos com ENH observaram que, histopatologicamente preponderavam quadros exsudativos agudos sendo freqüente o encontro de vasculites, necrose e formação de abscessos.

HARTER (1965)²⁵, em estudo semelhante, observou serem as alterações vasculares as lesões mais constantes na reação hansênica. Em 80% dos casos foram observados vasculites do plexo dermohipodermico, sendo que, nas formas graves, as vasculites incluíam arterites. Os pequenos vasos apresentavam, inicialmente, edema de parede e eram contornados por infiltrado mononuclear de característica mais estilóide do que linfóide. Após necrose fibrinoide da parede vascular, seguia-se exsudação neutrofílica e, freqüentemente, trombose que precedia a necrose to tal do infiltrado.

MALABAY et al (1965)³³ investigaram o ENH sob os aspectos histopatológico e histoquímico. Fizeram parte deste estudo 27 pacientes virchovianos em reação. As biópsias foram

obtidas no início do surto e quando este se encontrava em regressão. Pelos resultados obtidos os autores concluíram que:

1) As lesões agudas apresentavam um infiltrado inflamatório rico em granulócitos que tendiam a desaparecer por volta do quarto dia e estavam ausentes nas lesões em regressão. A diminuição numérica de neutrófilos e eosinófilos nas lesões precoces e tardias era acompanhada pelo aumento correspondente de linfócitos e plasmócitos. Os mastócitos diminuíam em número e os histiócitos aumentavam ligeiramente.

2) As alterações vasculares, observadas nas lesões precoces eram caracterizadas por edema na parede vascular e tumefação endotelial. Foi observada angíte em 55,5% dos casos. Nas lesões antigas, os vasos geralmente apresentavam edema mínimo e/ou tumefação endotelial. Em cinco das lesões regressivas foi observado angíte proliferativa ou endarterite ou endo flebite associada com paniculite crônica histiocítica.

3) Na maioria das lesões precoces, os bacilos eram granulosos e fragmentados e, os histiócitos apresentavam perda dos limites celulares, ocorrendo fusão celular. Estas alterações foram vistas, particularmente, na metade inferior do derma e no tecido subcutâneo onde o processo inflamatório agudo estava ocorrendo. A metade superior do derma não estava envolvida no processo inflamatório. O córion superior e epiderme eram atingidos quando a reação, presente nos tecidos profundos, era intensa.

4) As lesões de ENH, submetidas ao estudo histoquímico, demonstraram presença de mucopolissacarídeos ácidos abundantes nos locais de fibroplasia, especialmente nas lesões precoces. Nos processos cicatriciais, a quantidade destes mucopolissacarídeos estava diminuída.

5) A proliferação de células reticulares representavam característica marcante nas lesões precoces de ENH. Esta proliferação estava associada a grande concentração de mucopolissacarídeos ácidos na substância fundamental adjacente às áreas de inflamação aguda. Este quadro desaparecia nas lesões regressivas.

6) A fragmentação do tecido elástico era proeminente nas lesões precoces enquanto que, nas antigas, predominavam fibras elásticas de aparência normal.

No final da década de 60, WEMAMBU⁸³ introduziu a imunofluorescência entre as técnicas de estudo do ENH, o que, de certa forma, desestimulou a pesquisa da reação pelos métodos rotineiros. Na literatura revista, somente em 1985 surgiu um novo relato sobre a reação de ENH utilizando o H.E.

GONGALEZ et al.(1985)²² discorrendo sobre o ENH, concluíram que, histopatologicamente, poderiam ser observados 3 quadros diferentes:

1) O ENH clássico, caracterizado essencialmente

te por inflamação aguda, infiltrado de neutrófilos e linfócitos, sobrepostos ao granuloma virchoviano. O aparecimento de vasculite necrotizante aguda era variável.

2) Uma forma necrotizante ou escariótica, observada em sul-vietnamitas e malasianos, na qual havia distribuição mais superficial do infiltrado no derma e necrose de epiderme

3) A variedade que envolvia primariamente o tecido conjuntivo do derma, onde, na fase aguda, observava-se edema extracelular severo associado a alterações de fibras elásticas e degeneração de feixes de colágeno, que podiam sofrer degeneração fibrinoide. As alterações eram mais proeminentes nas porções centrais e profundas do derma sendo substituídas, na fase crônica, por proliferação de fibroblastos, capilares e acentuada fibrose.

MURPHY et al. (198r)⁴¹ analisando biópsias de pele de 4 pacientes com ENII observaram vasculites necrotizantes que envolviam capilares, vênulas, veias e artérias de pequeno e médio calibre.

As vênulas e capilares do derma superficial, demonstraram células endoteliais tumefeitas e necrose focal associada a infiltrado perivascular de linfócitos. No derma profundo e tecido celular subcutâneo, as vênulas, artérias e arterio

las exibiam necrose de células endoteliais e fibrina na parede dos vasos, associada a infiltrado perivascular de neutrófilos. Por todo o derma observaram células mononucleares vacuoladas contendo grandes quantidades de organismos fragmentados. A microscopia eletrônica revelou, na parede dos vasos, material eletrodenso semelhante a IC. Segundo os autores, estas observações dão apoio ao conceito de que o NNH seria uma vasculite necrotizante mediada por IC, envolvendo capilares, artérias, arteriolas, venulas e veias.

2.4. Aspectos Imunopatológicos

Os estudos iniciais sobre o ENH, sugeriram aos investigadores que os mecanismos envolvidos na sua patogênese seriam semelhantes aos da reação de ARTHUS³ e doença do soro^{1, 18, 36, 68, 77}. Neste tipo de hipersensibilidade (GELL & COOMBS)¹⁹ Ig formam complexos com Ag que se depositam em determinados locais do organismo e geram uma série de eventos que resultam na lesão tecidual. Contudo, a ausência de uniformidade nos resultados obtidos pelos que investigam esta área, deixam em aberto o campo para novas pesquisas.

WALDORF et al.(1966)⁸¹ realizando sensibilização de contato ao DNCB (2,4 dinitroclorobenzeno) em 24 virchovianos, dos quais 7 apresentavam ENH, verificaram que apenas pacientes livres de ENH apresentavam resposta diminuída a esta prova, sugerindo a utilização do DNCB como parâmetro imunológico para estudo desta forma clínica. Para os autores, a capacidade de resposta ao DNCB exibida durante os episódios reacionais apoiava a hipótese do ENH representar alguma "forma de hipersensibilidade" Em casos relativamente assintomáticos da reação hansênica a positividade ao teste indicaria ENH subclínico.

WENANBU et al. (1969)⁸³ estudaram a presença do Ig, complemento e Ag bacterianos em lesões de ENH. Neste

estudo incluíram 23 pacientes virchovianos, dos quais 17 apresentavam-se com reação. Os resultados obtidos em 10 destes últimos demonstraram depósitos fluorescentes de IgG e complemento localizados perivascularmente em áreas infiltradas por PMN. Os depósitos não corresponderam a áreas de infiltrado bacilar. Nas lesões sem ENH não foram evidenciadas reações fluorescentes. Em complementação a este estudo, verificaram Ig das classes M, G e fração 3 do complemento (C3), no soro dos pacientes. De modo geral, observaram níveis aumentados de Ig em todos os casos estudados, incluindo pacientes livres de ENH. De acordo com os autores, estes resultados eram compatíveis com a hipótese do ENH estar vinculado a mecanismos semelhantes àqueles verificados experimentalmente por Arthus³.

WATERS et al. (1971)⁸² pesquisaram a presença de Ig e complemento em 38 pacientes virchovianos com ENH e em 13 livres de reação. Os resultados demonstraram depósitos fluorescentes de IgG e C3 em áreas perivascularmente infiltradas por grande número de PMN, em 20 das 38 biópsias estudadas. Os depósitos fluorescentes não correspondiam a áreas de infiltrado banal. Quando as áreas apresentavam poucos PMN ou estes estavam desintegrados, os resultados eram negativos. Não foram observados depósitos fluorescentes nos 13 pacientes sem reação. Segundo estes pesquisadores, não existem dúvidas sobre a participação dos IC na reação de ENH. Contudo, não conseguiram precisar, se os IC eram formados localmente, como visto no fenômeno

de Arthus³, ou estavam presentes na circulação.

REA et al. (1972)⁵⁵ sugeriram a possibilidade da imunidade mediada por células (IMC) estar envolvida na patogênese do ENH. De acordo com os autores, o aparecimento deste fenômeno reacional em pacientes virgens de tratamento seria devido a ação da IMC sobre histiócitos, com conseqüente liberação de Ag solúveis. Os Ag assim liberados reagiriam com Ig formando IC, resultando no aparecimento do ENH.

BULLOCK et al. (1974) observaram depósitos fluorescentes na junção derme-epiderme em 3 de 7 pacientes virchovianos. Embora tenham utilizado antisoros anti IgC, IgA, IgE, fibrinôgenio, albumina e C3, somente obtiveram resultados positivos frente a IgM. Empregando imunofluorescência indireta aplicaram o soro dos pacientes em substrato de pele humanas a dia e de macaco, sem contudo, obterem resultados positivos. Os autores sugeriram, então, que os depósitos de IgM encontrados na junção derme-epiderme da pele dos pacientes virchovianos não seriam resultantes de auto-anticorpos, mas, possivelmente, devidos ao nível elevado desta Ig o que, facilitaria depósito inespecífico. Outra hipótese aventada é que pacientes virchovianos secretariam IgM dirigidas contra Ag do M. leprae e, estes, apresentariam reações cruzadas com componentes da membrana basal na junção derme-epiderme. Por fim, os autores sugeriram que a mem-

brana basal poderia funcionar como armadilha para IC contendo IgM. Os complexos poderiam difundir-se até a zona de membrana basal (ZMB) por afinidade com a mesma ou dificuldade da difusão através dela.

QUISMORIO et al. (1975) selecionam 13 pacientes virchovianos, dos quais 2 com ENH. Pesquisaram depósitos fluorescentes de IgM, IgG, IgA, IgE, IgD e frações do complemento (C₃ e C_{1q}) em pele aparentemente não comprometida. Os autores observaram positividade a IgM em 10 casos. Os depósitos estavam localizados na ZIB da junção derme-epiderme e em fibras reticulares e colágenas. Devido à localização e a aparência granular destes depósitos, postularam serem estes, IC ligados ao tecido, onde a Ig representaria auto-anticorpos contra Ag cutâneos.

REA et al (1975)⁵⁵ prosseguindo a investigação sobre a patogênese do ENH estudaram o fenômeno em 32 pacientes virchovianos, dos quais 22 haviam desenvolvido reação antes do início da quimioterapia. Empregaram coloração de hematoxilina-eosina (HE) e Fite-Faraco. Embora não tenham realizado avaliação imunohistoquímica, os autores comentaram a implicação imunológica na patogênese deste fenômeno, fazendo uma revisão sobre o assunto. De acordo com os autores, embora possíveis, não existiam evidências diretas sobre o papel da IMC na patogênese do ENH e, que, os achados de WEPIAMBU⁸³ e WATERS⁸⁷ não haviam si-

do reproduzidos por outros pesquisadores, de modo que, as hipóteses eram apenas especulativas.

BJORVATN et al. (1976)⁷ investigaram a presença de IC e C3d, um produto da ativação do sistema complemento, no soro de 13 pacientes com ENH e 7 não reacionais. Os dados obtidos neste estudo revelaram a presença de IC nos dois grupos e, níveis elevados de C3d em 70% dos pacientes com ENH, e 18% daqueles não reacionais. Diferente de outras patologias, tais como, o lupus eritematoso sistêmico e artrite reumatoide, onde os níveis elevados de IC estão associados a altos níveis de C3d, no ENH, não houve correlação entre as duas provas. Embora o nível de C3d fosse semelhante ao observado nos casos de lupus eritematoso sistêmico, a quantificação de IC foi bem menor do que a observada no lupus. A comparação entre estes dados sugeriu aos autores que, o nível elevado de C3d circulante em ENII não poderia ser devido somente à ativação do sistema complemento por IC presentes na circulação. Deste modo sugeriram a participação de IC extravasculares, que ocorria durante os surtos reacionais, de modo que os fragmentos de C3d detectados no soro destes pacientes, ter-se-iam difundido a partir dos espaços extravasculares.

LONDONO et al. (1977)³² repetindo o experimento de WENAIIBU⁸³ estudaram biópsias de ENH de 19 pacientes hansenianos. Embora observassem depósitos de C3 na parede de vasos

em 14 dos 19 pacientes, não verificaram depósitos fluorescentes de IgG em nenhum dos casos. Para os pesquisadores, os resultados reforçavam a idéia sobre a importância do complemento na patogênese do ENH, mas descartavam a participação das Ig neste fenômeno. Concluíram ainda que, provavelmente, o complemento seria ativado pela via alternativa, através de endotoxinas bacterianas, polissacarídeos ou proteína C reativa, as quais podiam ativar C3, sem a participação de Ig.

REA et al. (1977) ⁵⁸ rebateram os argumentos acima uma vez que, para eles, a falha na demonstração de Ig, poderia estar relacionada ao método utilizado por LONDONO. Sugeriram que, nas lesões de ENII, onde se verificaram apenas depósitos fluorescentes de complemento, poderia estar ocorrendo situação semelhante àquela vista no herpes gestacional, onde o complemento é mais facilmente demonstrado, mas que, sabidamente, são as Ig que iniciam este processo.

BJUNE (1980)⁸ fazendo uma revisão sobre o significado das reações imunes na hanseníase comentou que a localização das lesões de ENH não é compatível com aquela descrita para IC na clássica doença do soro. Os níveis elevados de produtos da quebra de C3 no soro, durante o surto, seriam sugestivos da formação extravascular dos IC.

GOIHMAN-YAHR (1980)²⁰ sugeriu que a teoria por

IC não explicaria certos fatos pertinentes ao fenômeno, tais como :

1) A talidomida é extremamente eficaz contra a manifestação reacional, porém não demonstra atividade contra as lesões teciduais das reações de hipersensibilidade do tipo III.

2) As características clínicas das lesões de ENH não são idênticas às observadas em doenças devido a IC circulantes.

3) Os IC circulantes, embora estejam presentes em pacientes com ENH, parecem ter pouca relação com as características clínicas e, somente uma minoria são formados por Ag bacterianos e Ig correspondentes.

4) Os auto-anticorpos aparecem em pacientes virchovianos, reacionais ou não, sem apresentarem prejuízos e danos para os órgãos alvos.

5) Injeções intradérmicas com suspensões de M.leprae não provocam reação de Arthus³.

6) Outras patologias que apresentam semelhanças com a hanseníase virchoviana, tais como leishmaniose anérgica difusa, não apresentam reações semelhantes ao ENH. Contudo, outras doenças produzidas por micobactérias, como por exemplo, tuberculose, apresentam lesões semelhantes.

7) A quimiotaxia para leucócitos, lesões vasculares e alterações da permeabilidade capilar não são fenômenos exclusivos da reação de hipersensibilidade do tipo III.

Em vista destas argumentações, o autor sugeriu que o ENH seria uma entidade tipo doença por adjuvante (ADJ). Esta patologia é uma entidade induzida em ratos, quando da injeção de micobactérias mortas emulsionadas em óleo.

Este procedimento provoca inicialmente inflamação local que, após um certo período, se generaliza atingindo olhos, pele e juntas. Para o autor, a reação tipo ENH seria um epifenômeno específico, mediado por linfocinas, como ocorre na ADJ. Sugeriu, ainda, que a ADJ fosse empregada como modelo experimental para este estado reacional.

MSHANA et al. (1982)³⁷ utilizando anticorpos monoclonais, investigaram a relação entre linfócitos T com fenótipo auxiliar/indutor (CD4+) e aqueles com fenótipo citotóxico/supressor (CD8+) no sangue de pacientes virchovianos com e sem ENH. Neste estudo, pacientes virchovianos sem ENH apresentaram um aumento de linfócitos CD8+ e ligeira diminuição da porcentagem de linfócitos CD4+. Por outro lado, alguns pacientes com ENH demonstraram diminuição significativa de linfócitos CD8+ aumento de CD4+. Segundo os autores, embora estes dados não excluíssem a participação de IC na patogênese do ENH, "falavam a favor" do envolvimento da IMC no fenômeno.

MSHANA et al. (1982)³⁸, em outro estudo, de monstraram, através de técnicas de imunoperoxidase, Ag do M. leprae nas lesões de ENH, em situação extracelular, ao redor de vasos. Para os autores, os Ag estariam relacionados ao ENH. Como Ag podem ser também detectados em pacientes livres de reação, sugeriram que o início do ENH poderia estar na dependência de outros fatores que não IC, tal como, a alteração da relação CD4+/CD8+ durante estes episódios.

MSHANA (1982) insistindo neste tópico enfocou que os fatores conhecidos por precipitar o ENH são muitos e variáveis e, a maioria deles, poderia causar distúrbios nesta relação. Citou, particularmente, a quimioterapia, sugerindo que o aumento da incidência da reação em pacientes tratados não seria devido somente à liberação do Ag, mas poderia estar relacionada a distúrbios nas subpopulações de linfócitos T e a capacidade individual do paciente em manifestar estas alterações. Propôs que, a fase de iniciação do ENH seria devida a este desequilíbrio, caracterizando-se pela diminuição de linfócitos CD8+.

WALLACH et al. (1982)⁸⁰ estudaram as subpopulações de linfócitos T no sangue periférico de pacientes virchovianos e dimorfo-virchovianos separando-os em três grupos:

- a) grupo I: pacientes sem ENI-1 e baciloscopia positiva;
- b) grupo II: pacientes sem ENH e baciloscopia negativa;
- c) grupo III: pacientes com ENII.

Os resultados demonstraram que a proporção CD4+/CD8+ era normal nos pacientes do grupo II. Nos pacientes do grupo I, esta proporção estava diminuída, existindo aumento de linfócitos CD8+. Em pacientes com ENH a proporção CD4+/CD8+ estava elevada devido à diminuição de linfócitos CD8+. Segundo os autores, esta diminuição era transitória e não influenciada pela quimioterapia. Concluíram que o ENH poderia ser considerado como um fenômeno decorrente da insuficiência de supressão sobre as células produtoras de Ig.

RIDLEY & RIDLEY (1983)⁶⁶ baseados nesta hipótese, reavaliaram alguns aspectos do ENH. Estudaram histopatologicamente, através da técnica de imunoperoxidase, a presença de Ag bacterianos e vários fatores imunológicos em 20 pacientes com ENH. Serviram como controle, biópsias de 10 pacientes não reacionais. Verificaram que, no centro da lesão de ENH, existia sempre desintegração de macrófagos e lançamento de Ag bacterianos. Estes produtos combinavam-se, primeiramente, com a IgM e, posteriormente, com a IgG e estavam associados com componentes do complemento (C3c, C4, C1q, C3d). Os complexos foram observados tan-

to extra conto intracelularmente em neutrófilos e macrófagos formando um quadro constante das lesões em estagio agudo.

Para os autores, os resultados apoiavam a idéia do ENH ser um fenômeno ocasionado por IC, que ocorreriam no local da quebra de pequenos granulomas virchovianos. Sugeriram ainda, que os complexos seriam extravasculares, de modo que a patogênese do ENH deferiria da clássica doença do soro, ou do fenômeno descrito por ARTHUR³.

FLAGEUL et al. (1984)¹⁶ avaliando a população celular em lesões de pacientes virchovianos verificaram que, o número de linfócitos presentes nas lesões de ENH era maior do que o observado nas lesões específicas. Quando da análise das subpopulações verificaram, contudo, que nas lesões reacionais, linfócitos CD8+ eram raros e, conseqüentemente, a relação CD4+/C138+, mais elevada.

Para o autor, estes resultados reforçavam a idéia de que durante os episódios de ENH existiria uma diminuição de linfócitos CD8+.

MODLIN et al. (1985)³⁵ em estudo semelhante, investigaram estes parâmetros em 22 pacientes com hanseníase; e virchoviana, sendo 12 com ENH e 10 não reacionais. Histopatologicamente verificaram que, tanto os pacientes com ENH como aqueles li-

vres de reação, apresentavam linfócitos CD4+ e CD8+ misturados a histiocitos vacuolados. Contudo, a proporção CD4+/CD8+ no ENH estava aumentada, devido ao aumento dos linfócitos CD4+, enquanto nas lesões sem ENH havia uma diminuição desta proporção, ocasionado pelo aumento de linfócitos CD8+. Para os autores estes padrões de distribuição celular representavam estados imunes diferentes, sugerindo a participação da IMC na patogênese do ENH.

ROJAS-ESPINOSA et al. (1985)⁶⁷ trabalhando com 6 pacientes com ENH e 4 com fenômeno de Lucio utilizando antisoros anti IgM, IgG, IgA, C3, Clq e anti *M. leprae* conjugados a fluorescena, visualizaram depósito granular de IgM, TgG, Clq, e C3 na parede e periferia de vasos sangüíneos com vasculites. Ag do *M. leprae* fora, encontrados em macrófagos Presentes no granuloma virchoviano. Segundo os autores, estes achados independeram da morfologia bacilar, sugerindo que outros fatores, que não IC, poderiam participar na gênese desta reação. Postularam que as vasculites poderiam ter a participação dos mediadores da inflamação, os quais seriam liberados pelo rompimento de PMN e macrófagos carregados de bacilos ou pela presença de glicolipídeos e componentes pepti_deoglicanos da parede bacilar.

REA et al. (1986)⁵⁹ utilizando anticorpos monoclonais investigaram a epiderme de áreas comprometidas pelo ENH. Observaram queratinócitos carregara antígenos Ta de clas-

se II (HLA-Dr), hiperplasia de células de Langerhans e pouca infiltração linfocítica. De acordo com os autores, a expressão de Ag de classe II em queratinócitos induzidos por gama-interferon, um produto secretado por linfócitos T ativados, seria consistente com a hipótese do envolvimento da imunidade celular no desencadeamento do ENH.

SHEN et al. (1987)⁷⁰ utilizando um marcador para linfócitos T sensibilizados (Tal), possivelmente presentes em células de memória, verificaram que a porcentagem de células Tal positivas (Tal+) nas lesões de ENH era semelhante àquela observada em lesões virchovianas sem ENII (7%) e eram restritas a linfócitos em repouso. Em lesões Tuberculóide, reação de hitsuda positiva e, reação reversa, os linfócitos Tal+ estavam presentes em maior número (19%) e eram expressos na superfície de linfócitos em repouso e linfoblastos. A caracterização dos linfócitos (Tal+) através de Ig anti CD4 e anti CD8 revelou que 90% destas células eram CD4+. Estes resultados sugeriram aos autores a possibilidade da depressão imunológica verificada em pacientes virchovianos estar relacionada a uma falha na ativação e/ou proliferação de células auxiliares reativas ao M. leprae.

THANGARAJ et al. (1988)⁷³ reavaliando os achados de REÁS sobre a expressão de antígenos de classe II em queratinócitos em lesões de ENII, incluíram em seu estudo pos

síveis alterações em células de Langerhans. Segundo os autores, a observação da presença de queratinócitos expressando antígenos de classe II, o aumento do número de células de Langerhans e a presença de células T na camada celular da epiderme confirmava a hipótese de que a resposta mediada por células desempenharia um papel importante nos estados reacionais da hanseníase. Chamaram a atenção para o fato de terem observado que muitos pacientes anérgicos ao M.leprae e com ENH exibiam antígenos de classe II sobre queratinócitos. Para explicar estes dados contraditórios, os autores sugeriram a possibilidade das células de Langerhans, observadas em número elevado, promoveram a apresentação de Ag para as células recém-chegadas ao local da reação. Este fenômeno poderia levar a ativação de linfócitos T e, conseqüentemente, a liberação de linfocinas, em particular, o gama-interferon, o qual poderia ser responsável pela ativação do macrófago e indução de Ag de classe II em queratinócitos. O exame histopatológico de lesões precoces de ENH sugeriram que a presença de fragmentos bacilares em macrófagos poderia ser o resultado do aumento da atividade microbicida mediada por linfocinas. Os Ag bacilares assim expostos se associariam com as Ig pré-existentes, levando à formação de IC, frequentemente observados no ENH. Deste modo, a deposição local de IC e subsequente circulação, poderiam ser os responsáveis pela sintomatologia generalizada e o envolvimento de múltiplos órgãos vistos neste tipo de reação.

NAAFS et al. (1990)² pesquisaram em pele humana sadia, 17 tipos de anticorpos monoclonais específicos ao M. leprae: Os autores observaram positividade para 8 dos anticorpos testados. Estes reagiram com determinantes antigênicos presentes em células basais, queratinócitos, substância intercelular, extrato córneo, parede arteriolar e axônios de nervos periféricos. Não foi observada reatividade inespecífica. Os resultados deste estudo demonstraram que os anticorpos monoclonais dirigidos contra o M.leprae reconheciam determinantes antigênicos presentes na derme e epiderme normal.

3. PROPOSIÇÃO

O presente estudo tem por objetivo investigar a reação de ENH, através de técnicas histopatológicas de rotina em associação com a técnica de imunofluorescência direta para avaliar a participação dos IC neste quadro reacional correlacionando-os com os achados histopatológicos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Pacientes

A seleção da amostragem esteve na dependência do desencadeamento dos surtos reacionais em pacientes internados no Instituto Lauro de Souza Lima - Bauru, SP.

Os pacientes selecionados foram avaliados clínica, imunológica, histológica e baciloscopicamente, de acordo com os critérios propostos no Congresso de Madrid¹². Dos 22 pacientes que integraram esta experimentação, 20 eram portadores de hanseníase virchoviana e 2 pertenciam ao grupo dimorfo.

Ao serem incorporados ao estudo, os pacientes foram esclarecidos sobre os propósitos dos procedimentos adotados, os quais são realizados com plena concordância dos mesmos.

Na época da experimentação, todos os pacientes se encontravam sob tratamento quimioterápico convencional para a hanseníase. Os dados relativos a algumas características do grupo e a medicação utilizada na vigência do surto estão expressos na Tabela 1.9

4.2. Estudo Histopatológico e Imunohistoquímico

As primeiras manifestações inflamatórias cutâneas, identificadas como próprias do ENH5 foram realizadas biopsias da região de lesão reacional. Em 12 casos precedeu-se também coleta de tecido em área livre de reação.

4.2.1. Coleta do Material

Os locais selecionados para o estudo foram biopsiados com "punch" cilíndrico de 05mm de diâmetro, apresentando 01 cm de profundidade. O material coletado da área com ENH foi identificado como segmento a e aquele obtido da área livre de reação como segmento a. Em um dos casos, foi enviado para exame histopatológico uma terceira biópsia, segmento c, com suspeita de fenômeno de Lúcio. Estas biopsias foram divididas em 2 fragmentos, para serem avaliados histopatológica e imunohistoquimicamente.

4.2.2. Análise Histopatológica

Um dos fragmentos teciduais foi fixado em forma uma por duas horas, transferido para álcool 70 e, em seguida, processado como usual para inclusão em parafina e microtomia. As secções obtidas foram coradas pela hematoxilina-eosina (H.E.)³¹ e pelo Fite-Faraco¹⁴

A avaliação baciloscopia empregou o índice descrito por RIDLEY (1977)⁶⁵ adaptado para este tipo de leitura.⁷⁵

A leitura histológica foi realizada de acordo com os critérios descritos a seguir:

Os achados microscópios foram anotados com auxílio de tabela onde nas ordenadas foram colocadas as alterações histopatológicas passíveis de serem observadas na hanseníase virchoviana durante os episódios de ENH, acrescidos da bacilos copia que incluem dados quantitativos, qualitativos e distribuição dos bacilos em algumas estruturas cutâneas. Nas abscissas foram colocados os números de ordem referentes as biópsias. Nos retângulos, produzidos pela interseção das linhas limitantes destes dados, foram anotados a presença (+) ou ausência (-) das alterações histopatológicas para a referida biópsia. Para algumas alterações histopatológicas passíveis de melhor quantificação subjetiva, a positividade foi desdobrada em discreta (+), moderada (++) e intensa (+++) tabela 3.

4.2.3. Análise Imunohistoquímica

O fragmento destinado a imunofluorescência foi lavado em solução fisiológica e embebido em O.C.T. (Optimal Cutting Temperature Medium, Tissue Tek-Miles Scientific), congelado em nitrogênio líquido até data da realização dos testes.

A pesquisa de IC foi realizada utilizando-se a técnica descrita por GOLDMAM (1968)²¹ com pequenas modificações.

Brevemente:

- cortes com cerca de 05 micra de espessura obtidos de blocos congelados com fragmentos das lesões foram colocados sobre lâmina histológica previamente tratadas com solução de agar a 0,1% para evitar descolamento durante o processamento e postas para secar à temperatura ambiente.
- As seções foram delimitadas com esmalte e, a seguir, incubadas por 30 minutos a 37. C com antisoros humanos, conjugados com isotiocianato de fluoresceína, conforme Tabela 2,
- Incubação das laminae com salina tamponada Ph 7,2 por 10 minutos.
- Secagem ao ar frio e montagem das laminae em glicerina tamponada 0-1=9,5.

A identificação dos depósitos fluorescentes foi realizada em microscópio de fluorescência-ZEISS, modelo Standart, com epi-condensador de fluorescência IV F.L. objetiva 40X.

Tabela 1 - Dados referentes aos pacientes que participaram deste estudo e, medicação na vigência do surto.

Nº do Caso	Idade	Sexo	T.D.M. (meses)	Medicação do Surto
01	54	M	12	Th
02	42	F	240	Th
03	16	M	96	Th
04	39	M	180	Pr;Th
05	34	F	96	pe;Th
06	28	M	10	Pr
07	53	M	72	Pe
08	23	M	24	Pr;Th
09	14	M	60	Th
10	37	M	120	Th
11	79	M	60	Pr
12	53	M	96	Th
13	41	M'	72	Th
14	49	M	10	Th
15	73	M	216	Th
16	61	M	12	Th
17	21	F	60	Pe;Th
18	23	F	24	Pr
19	62	NI	04	Pe
20	43	F	72	Th
21	14	F	96	Th
22	45	M	72	Th

Abreviaturas utilizadas: M . masculino

f

F . feminino

Th = talidomida

Pr . prednisona

Pc = prednisona

TDM . tempo de duração da moléstia.

Tabela 2 - Antisoros marcados com fluoresceína empregados na técnica de imunofluorescência direta.

Antisoro Especifico	Diluição	Fonte
anti IgT	1:60	Behring
anti IgG	1:60	Behring
anti IgM	1:10	Behring
anti CK	1:10	Behring
anti CA	1:10	Behring
anti C ₃ C	1:10	Hyland
anti Cici	1:10	Behring
anti Fi	1:10	Behring

Abreviaturas utilizadas: Ig = imunoglobulina-

IgT = imunoglobulina total

IgG = imunoglobulina G

IgM = imunoglobulina M

C₃ = fração 3 do sistema complement()

C₁ = fração 1 do sistema complemento

CK = cadeia kappa

C_λ = cadeia lambda

Fi = fibrinogenio

5. RESULTADOS

5.1. Histopatológico

Estes resultados estão expostos na Tabela 3. Para melhor compreensão e visão global dos achados procederemos a descrição corrente das características mais gerais do quadro histopatológico.

As alterações epidérmicas foram raras, chamando atenção a hiperplasia epitelial discreta em 8 casos; no caso 14 houve concomitantemente fenômeno de Lucía e, a lesão representativa deste fenômeno, mostrava necrose total da epiderme.

Do ponto de vista da lesão específica o infiltrado virchoviano era focal, distribuído em todos os níveis do derma e tecido celular subcutâneo (fig. 1). A avaliação baciloscópica juntamente com a avaliação morfológica do infiltrado mostrava, em geral, infiltrado ativo e em regressão. Em um caso havia infiltrado ativo em progresso e, em dois outros, infiltrado residual, isto é, com baciloscopia negativa. Analisando as alterações inflamatórias agudas, observamos predominância de dilatação e congestão vascular, tumefação endotelial e exsudação neutrofilica. Em menor frequência apareciam edema intersticial e deposição de fibrina (figs. 2,3,5,6).

A associação de alterações inflamatórias sub-

agudas e crônicas foi evidenciada pela presença, em 100% dos casos, de infiltração linfocitária seguida de proliferação fibroplástica intersticial (fig.4). A tumefação e proliferação endotelial, principalmente em relação aos pequenos vasos envolvidos na reação inflamatória, eram proeminentes. As células endoteliais estavam aumentadas de volume, assumindo forma poligonal e apresentavam-se perfeitamente justapostas; o citoplasma era claro. Em alguns vasos estas células dispunham-se em duas ou mais camadas com tendência concêntrica, observando-se algumas células em mitose (figs.5,6). Estas alterações endoteliais também faziam parte das vasculites alterativas observadas nos vasos de maior calibre do derma profundo e tecido celular subcutâneo. Quanto ao comprometimento destes vasos observamos predomínio de fenômenos alternativos com edema intersticial, tumefação endotelial, dissociação da capa média (fig.7). Com menor frequência observou-se reações exsudativas e, mais raramente, necrotizantes, nestes vasos. As vasculites crônicas proliferativas foram observadas em pequeno número de casos. Em apenas dois deles a baciloscopia foi negativa e, nos casos positivos, esteve em torno de 3+ (raramente atingindo 6+).

Nos casos em que foram realizadas duas biópsias, uma da área de eritema nodoso e outra da lesão específica sem características reacionais, em geral houve concordância das características clínicas com os achados histopatológico. Porém, como poderia ser esperado, algumas lesões clinicamente não rea-

cionais mostraram alterações exsudativas compatíveis com o ENH.

Um caso com achado profundamente interessante foi o 14. Duas biopsias colhidas ao nível de lesões reacionais tipo ENH, mostraram, ao lado de alterações inflamatória próprias desta condigo, vasos do derma profundo e tecido celular subcutâneo com vasculites alternativas e proliferativas, onde a proliferação endotelial era proeminente, irregular e com bloqueio parcial e total das luzes (figs. 9,10,11), Os cortes corados pelo Fite-Faraco¹⁴ evidenciaram grande numero de bacilos, principalmente no endotélio de pequenos vasos(1 fl.13) e na parede e endotélio de vasos maiores de localiza profunda(D.12) Nas áreas de exsudação neutrofilica, ao longo dos infiltrados virchovianos, haviam escassos bacilos (figs. '14,15). Em uma ler ceira biopsia, colhida em leso tipo eritema necrosante, onde a epiderme era totalmente necrótica e destacada, observamos, no derma, focos de necrose ao longo dos infiltrados virchovianos comprometendo, também, glândulas sudoríparas e folículos pilosebaceos. Nas áreas de necrose do infiltrado havia intensa fragmentação nuclear e os vasos apresentavam deposição de fibrina na luz e nas paredes. No derma profundo e tecido celular subcutâneo, observou-se deposição de fibrina, proliferação fibroblastica e vasculites, com intensa proliferação endotelial e quase obliteração da luz vascular. Os bacilos estavam presentes no in filtrado, ramos nervosos e no endotélio de vasos superficiais e profundos (figs. 16,17,18,19,20).

Achamos de valor, no presente trabalho, avaliar a intensidade do ENH, segundo critérios histopatológicos. Neste sentido, acreditamos que o parâmetro fundamental para esta classificação a exsudação neutrofilica. Como uma biópsia pode apanhar uma fase evolutiva mais tardia do ENH, nesta situação devemos, também, valorizar alterações como necrose, ulceração e proliferação fibro-capilar. Assim os casos foram classificados, segundo a intensidade da reação inflamatória em:

Caso 1 : reação moderada.	Caso 12 : reação moderada
Caso 2 : reação discreta.	Caso 13 : reação moderada
Caso 3 : reação intensa.	Caso 14 : reação intensa.
Caso 4 : reação discreta.	Caso 15 : reação moderada
Caso 5 : reação intensa.	Caso 16 : reação intensa.
Caso 6 : reação discreta.	Caso 17 : reação intensa.
Caso 7 : reação moderada.	Caso 18 : reação moderada
Caso 8 : reação moderada.	Caso 19 : reação discreta
Caso 9 : reação moderada.	Caso 20 : reação moderada
Caso 10 : reação moderada.	Caso 21 : reação moderada
Caso 11 : reação moderada.	Caso 22 : reação intensa.

5.2. Imunohistoquímica

Dos doze casos em que foram obtidas biópsias, uma do local da reação e outra de área no reacional, foi possível realizar a avaliação dos componentes imunológicos em apenas onze, pois um dos fragmentos (16b) o material colhi do no chegou acondicionado de forma adequada para os estudos imunohistoquímicos.

Dos fragmentos obtidos em áreas livres de reação o resultado histopatológico demonstrou quadro compatível com ENH nas biópsias 1b, 7b, 14b , de sorte que os resultados obtidos nestes fragmentos foram incluídos juntamente com os resultados dos fragmentos colhidos de lesões de ENH.

Depósitos fluorescentes foram observados em 52% das Biópsias com quadro reacional. Em apenas dois deles foram detectados quando da utilização de antisoro anti-IgH(14a e 16a) e nos restantes, foram identificados através de anticorpos dirigidos contra frações do complemento (Tabela 4).

Os depósitos de complemento estavam localizados na ZMB em 12 dos 25 fragmentos estudados. Depósitos de complemento na parede vascular foram observados em 10 fragmentos, dos quais 09 apresentavam, concomitantemente, depósitos na ZMB (tabela 5).

Nos fragmentos livres de reação observamos depósitos fluorescentes quando da utilização de antisoro anti-frações do complemento em apenas dois casos (3h e 18b). Estes depósitos eram restritos a ZMB.

O quadro 1 mostra descrição mais detalhada da localização dos depósitos fluorescentes observados.

Quadro 1 - Localização dos depósitos fluorescentes.

Caso	Descrição
3a	depósitos de C3 e C1q na ZMB
3b	depósitos de C3 e C1q na ZMB
4a	depósitos de C3 e C1q na ZMB e em vasos de pequeno calibre próximos a ZMB
7a	depósitos de C3 e C1q na ZMB. Depósito de C1q em vasos de pequeno calibre próximos a ZMB.
7b	depósitos de C3 e C1q na ZMB
11	depósito de C3 na ZMB
13	depósito de C3 na ZMB e em vasos mais calibrosos localizados no derma profundo
14a	depósitos IgM e C1q na ZMB. Depósito de C1q em vasos de pequeno calibre próximos a ZMB e em vasos de médio calibre em toda extensão do derma.
14b	depósito de C1q na ZMB e em vasos de pequeno calibre próximos a ZMB
16a	depósitos C3, C1q e IgM na ZMB. Depósitos de C3 em vasos de pequeno calibre próximos a ZMB e C1q em vasos de pequeno e médio calibres, localizados em toda a extensão do derma.
17	depósito de C1q em vasos de pequeno calibre próximos a ZMB e de C3 e C1q em vasos mais calibrosos localizados no derma profundo.
18a	depósito de C1q na ZMB e de C3 e C1q em vasos mais calibrosos localizados no derma médio e profundo
18b	depósito de C3 e C1q na ZMB.
20a	depósitos de C1q na ZMB; e em vasos de vários calibres localizados em toda a extensão do derma.
22	depósito de C1q na ZMB; e em vasos de médio e pequenos calibres localizados em toda a extensão do derma. Depósito de C3 em vasos calibrosos localizados no derma médio e profundo.

Abreviatura utilizada: ZMB= zona de membrana basal

Tabela 3. Avaliação da biópsias obtidas de áreas reacionais e no reacionais de pacientes com eritema nodoso hansênico

IDENTIFICAÇÃO				1a	1b	2a	
LEITURA HISTOLÓGICA							
ALTERAÇÕES EPIDÉRMICAS	Exocitose			-	-	-	
	Espongiose			+	-	-	
	Degeneração vacuolar da basal			-	-	-	
	Espessamento da membrana basal			-	-	-	
	Figuras de contração de queratinócitos			-	-	-	
	Necrose	Focal		-	-	-	
		Segmentar		-	-	-	
		Total		-	-	-	
	Hiperplasia			+	+	-	
	Hiperqueratose			-	-	-	
Paraqueratose			+	-	-		
INFILTRADO ESPECÍFICO	Extensão	Focal		+	+	+	
		Confluente		-	-	-	
	Localiza ção	Superficial		+	+	+	
		Médio		+	+	+	
		Profundo		+	+	+	
		Subcutâneo		+	+	+	
	Estádio Evoluti vo	Ativo em progressão		-	-	-	
		Ativo em regressão		+	+	+	
		Residual		-	-	+	
	EPIFENÔMENOS	Agudos	Dilatação e congestão vascular		++	+	+
Tumefação endotelial			+++	+	+		
Trombose			+	-	-		
Edema intersticial			+	+	-		
Exsudação Neutrofi lica			Infiltrado		++	+	-
			Interstício		+	+	-
Deposição de Fibrina			Infiltrado		++	-	-
			Interstício		-	-	-
Envolvimento de ramos nervosos			-	-	-		
Sub-agudos Crônicos		Células linfocitóides		+	+	++	
		Eosinófilos		+	+	-	
		Plasmócitos		+	+	-	
		Proliferação fibroblástica intersticial		+	+	-	
		Neoformação capilar		-	-	-	
Alteração Vascular		Vasculites Agudas	Alterativas		-	-	-
			Exsudativas		-	-	-
			Necrotizantes		-	-	-
		Vasculites crônicas proliferativas		-	-	-	
		Necrose, Microabscessos		+	-	-	
		Extravasamento de hemácias		-	-	-	
Bacilos copia	Quantitativa		+++	++	-		
	Localização	Infiltrado		+	+	-	
		Ramos nervosos		+	+	-	
		Endotélio vascular		+	-	-	

Tabela 3. Avaliação da biópsias obtidas de áreas reacionais e no reacionais de pacientes com eritema nodoso hansênico

IDENTIFICAÇÃO				2b	3a	3b		
LEITURA HISTOLÓGICA								
ALTERAÇÕES EPIDÉRMICAS	Exocitose			-	-	-		
	Espongiose			-	-	-		
	Degeneração vacuolar da basal			-	-	-		
	Espessamento da membrana basal			-	-	-		
	Figuras de contração de queratinócitos			-	-	-		
	Necrose	Focal		-	-	-		
		Segmentar		-	-	-		
		Total		-	-	-		
	Hiperplasia			-	-	-		
	Hiperqueratose			-	-	-		
Paraqueratose			-	-	-			
INFILTRADO ESPECÍFICO	Extensão	Focal		+	+	+		
		Confluente		+	+	-		
	Localiza- ção	Superficial		+	+	+		
		Médio		+	+	+		
		Profundo		+	+	+		
		Subcutâneo		+	+++	+		
	Estádio Evoluti- vo	Ativo em progressão		-	-	-		
		Ativo em regressão		-	+	+		
		Residual		+	-	-		
EPIFENÔMENOS	Agudos	Dilatação e congestão vascular		-	+++	-		
		Tumefação endotelial		-	+++	-		
		Trombose		-	-	-		
		Edema intersticial		-	++	-		
		Exsudação Neutrófi- lica	Infiltrado		+	+++	-	
			Interstício		-	++	-	
		Deposição de Fibrina	Infiltrado		-	++	-	
			Interstício		-	++	-	
		Envolvimento de ramos nervosos		-	-	-		
	Sub-agudos Crônicos	Células linfocitóides		-	+	-		
		Eosinófilos		-	+	-		
		Plasmócitos		-	-	-		
		Proliferação fibroblástica intersticial		+	+	-		
		Neoformação capilar		+	-	-		
	Alteração Vascular	Vasculites Agudas	Alterativas		-	+	-	
			Exsudativas		-	+	-	
			Necrotizantes		-	-	-	
		Vasculites crônicas proliferativas		-	-	-		
		Necrose		Microabscessos		-	-	-
		Extravasamento de hemácias		-	-	-		
Bacilos copia	Quantitativa		-	++	++			
	Localização	Infiltrado		-	+	-		
		Ramos nervosos		-	-	-		
		Endotélio vascular		-	-	-		

Tabela 3. Avaliação da biópsias obtidas de áreas reacionais e não reacionais de pacientes com eritema nodoso hansênico

IDENTIFICAÇÃO LEITURA HISTOLÓGICA				4a	4b	5	
ALTERAÇÕES EPIDÉRMICAS	Exocitose			-	-	-	
	Espongiose			-	-	-	
	Degeneração vacuolar da basal			-	-	-	
	Espessamento da membrana basal			-	-	-	
	Figuras de contração de queratinócitos			-	-	-	
	Necrose	Focal		-	-	-	
		Segmentar		-	-	-	
		Total		-	-	-	
	Hiperplasia			-	-	+	
	Hiperqueratose			-	-	-	
Paraqueratose			-	-	-		
INFILTRADO ESPECÍFICO	Extensão	Focal		+	+	+	
		Confluente		+	-	++	
	Localização	Superficial		+	+	++	
		Médio		+	+	++	
		Profundo		+	+	+++	
		Subcutâneo		+	-	+	
	Estádio Evolutivo	Ativo em progressão		-	-	-	
		Ativo em regressão		+	+	+	
		Residual		-	-	-	
	EPIFENÔMENOS	Agudos	Dilatação e congestão vascular		+	-	+
Tumefação endotelial			+	-	++		
Trombose			-	-	-		
Edema intersticial			-	-	+		
Exsudação Neutrófila			Infiltrado		-	-	+++
			Interstício		-	-	+
Deposição de Fibrina			Infiltrado		-	-	+
			Interstício		-	-	-
Envolvimento de ramos nervosos			-	-	-		
Sub-agudos Crônicos		Células linfocitóides		+	+	++	
		Eosinófilos		-	-	+	
		Plasmócitos		-	-	+	
		Proliferação fibroblástica intersticial		+	-	+	
		Neoformação capilar		-	-	-	
Alteração Vascular		Vasculites Agudas	Alterativas		-	-	+
			Exsudativas		-	-	+
			Necrotizantes		-	-	-
		Vasculites crônicas proliferativas		+	-	-	
		Necrose	Microabscessos		-	-	++
		Extravasamento de hemácias		-	-	+	
Bacilos - copia	Quantitativa		++	+++	+		
	Localização	Infiltrado		+	+++	+	
		Ramos nervosos		-	+	-	
		Endotélio vascular		+	+	-	

Tabela 3. Avaliação da biópsias obtidas de áreas reacionais e não reacionais de pacientes com eritema nodoso hansênico

IDENTIFICAÇÃO				6	7a	7b	
LEITURA HISTOLÓGICA							
ALTERAÇÕES EPIDÉRMICAS	Exocitose			-	+	-	
	Espongiose			-	+	-	
	Degeneração vacuolar da basal			-	-	-	
	Espessamento da membrana basal			-	-	-	
	Figuras de contração de queratinócitos			-	-	-	
	Necrose	Focal		-	-	-	
		Segmentar		-	-	-	
		Total		-	-	-	
	Hiperplasia			-	-	-	
	Hiperqueratose			-	-	-	
Paraqueratose			-	-	-		
INFILTRADO ESPECÍFICO	Extensão	Focal		+	+	+	
		Confluente		-	-	-	
	Localização	Superficial		++	++	+	
		Médio		++	++	++	
		Profundo		++	++	+	
		Subcutâneo		-	+	-	
	Estádio Evoluti- vo	Ativo em progressão		-	-	-	
		Ativo em regressão		+	+	+	
		Residual		-	-	-	
EPIFENÔMENOS	Agudos	Dilatação e congestão vascular		-	+	-	
		Tumefação endotelial		+	++	++	
		Trombose		-	-	-	
		Edema intersticial		-	+	-	
		Exsudação Neutrofi- lica	Infiltrado		+	++	++
			Interstício		-	+	-
		Deposição de Fibrina	Infiltrado		+	+	-
			Interstício		-	-	-
		Envolvimento de ramos nervosos		-	-	+	
	Sub-agudos e Crônicos	Células linfocitoides		++	++	++	
		Eosinófilos		-	-	-	
		Plasmócitos		+	+	-	
		Proliferação fibroblástica intersticial		-	+	-	
		Neoformação capilar		-	-	-	
	Alteração Vascular	Vasculites Agudas	Alterativas		-	-	-
			Exsudativas		-	-	-
			Necrotizantes		-	-	-
		Vasculites crônicas proliferativas		-	+	-	
		Necrose	Microabscessos		-	-	-
		Extravasamento de hemácias		-	+	-	
Bacilos copia	Quantitativa		++	+	+		
	Localização	Infiltrado		++	-	-	
		Ramos nervosos		++	+	+	
		Endotélio vascular		-	-	-	

Tabela 3. Avaliação das biópsias obtidas de áreas reacionais e não reacionais de pacientes com eritema nodoso hansênico.

IDENTIFICAÇÃO								
LEITURA HISTOLÓGICA				8	9a	9b		
ALTERAÇÕES EPIDÉRMICAS	Exocitose			-	-	-		
	Espongiose			+	+	-		
	Degeneração vacuolar da basal			-	-	-		
	Espessamento da membrana basal			-	-	-		
	Figuras de contração de queratinócitos			-	-	-		
	Necrose	Focal		-	-	-		
		Segmentar		-	-	-		
		Total		-	-	-		
	Hiperplasia			-	-	+		
	Hiperqueratose			-	-	+		
Paraqueratose			-	+	+			
INFILTRADO ESPECÍFICO	Extensão	Focal		+	+	+		
		Confluente		+	+	-		
	Localização	Superficial		+	+	+		
		Médio		+	++	+		
		Profundo		+	++	+		
		Subcutâneo		+	+	+		
	Estádio Evoluti- vo	Ativo em progressão		-	-	-		
		Ativo em regressão		+	+	+		
Residual		-	-	-				
EPIFENÔMENOS	Agudos	Dilatação e congestão vascular		+	+	-		
		Tumefação endotelial		+++	+	-		
		Trombose		-	-	-		
		Edema intersticial		+	-	-		
		Exsudação Neutrofi- lica	Infiltrado		++	++	-	
			Interstício		+	-	-	
		Deposição de Fibrina	Infiltrado		-	-	-	
			Interstício		-	-	-	
	Envolvimento de ramos nervosos		+	-	-			
	Sub-agudos Crônicos	Células linfocitóides		++	+	+		
		Eosinófilos		-	+	-		
		Plasmócitos		-	-	+		
		Proliferação fibroblástica intersticial		++	+	+		
		Neoformação capilar		-	-	-		
	Alteração Vascular	Vasculites Agudas	Alterativas		+	-	-	
			Exsudativas		+	-	-	
			Necrotizantes		-	-	-	
		Vasculites crônicas proliferativas		-	-	-		
		Necrose		Microabscessos		-	-	-
		Extravasamento de hemácias		-	-	-		
Bacilos copia	Quantitativa		++	+++	+++			
	Localização	Infiltrado		+	+++	+++		
		Ramos nervosos		+	+	+		
		Endotélio vascular		-	-	-		

Tabela 3. Avaliação das biópsias obtidas de áreas reacionais e não reacionais de pacientes com eritema nodoso hansênico.

IDENTIFICAÇÃO						
LEITURA HISTOLÓGICA				10	11	12
ALTERAÇÕES EPIDÉRMICAS	Exocitose			-	-	-
	Espongiose			-	-	-
	Degeneração vacuolar da basal			-	-	-
	Espessamento da membrana basal			-	-	-
	Figuras de contração de queratinócitos			-	-	-
	Necrose	Focal		-	-	-
		Segmentar		-	-	-
		Total		-	-	-
	Hiperplasia			-	-	+
	Hiperqueratose			-	-	-
Paraqueratose			-	-	-	
INFILTRADO ESPECÍFICO	Extensão	Focal		+	+	+
		Confluente		-	+++	-
	Localização	Superficial		+	++	+
		Médio		+	+++	++
		Profundo		+	+++	+
		Subcutâneo		+	+++	-
	Estádio Evoluti	Ativo em progressão		-	-	-
		Ativo em regressão		+	+	+
		Residual		-	-	-
EPIFENÔMENOS	Agudos	Dilatação e congestão vascular		+	-	+
		Tumefação endotelial		++	-	++
		Trombose		-	-	-
		Edema intersticial		-	-	-
		Exsudação Neutrofílica	Infiltrado	++	+	++
			Interstício	+	-	-
		Deposição de Fibrina	Infiltrado	-	-	-
			Interstício	-	-	-
		Envolvimento de ramos nervosos		-	-	-
	Sub-agudos Crônicos	Células linfocitoides		+	+	+
		Eosinófilos		+	-	-
		Plasmócitos		-	-	-
		Proliferação fibroblástica intersticial		-	++	++
		Neoformação capilar		-	++	-
	Alteração Vascular	Vasculites Agudas	Alterativas	-	-	-
			Exsudativas	++	-	-
			Necrotizantes	-	-	-
		Vasculites crônicas proliferativas		-	++	-
		Necrose Microabscessos		-	-	-
		Extravasamento de hemácias		-	-	-
Bacilos cópia	Quantitativa		+++	++++	+++	
	Localização	Infiltrado	+++	+++	+++	
		Ramos nervosos	-	+	+	
		Endotélio vascular	-	-	-	

Tabela 3. Avaliação das biópsias obtidas de áreas reacionais e não reacionais de pacientes com eritema nodoso hansênico.

IDENTIFICAÇÃO						
LEITURA HISTOLOGICA			13	14a	14b	
ALTERAÇÕES EPIDÉRMICAS	Exocitose		-	-	-	
	Espongiose		+	-	-	
	Degeneração vacuolar da basal		+	-	-	
	Espessamento da membrana basal		-	-	-	
	Figuras de contração de queratinócitos		+	-	-	
	Necrose	Focal	-	-	-	
		Segmentar	-	-	-	
		Total	-	-	-	
	Hiperplasia		+	-	-	
	Hiperqueratose		-	-	-	
Paraqueratose		-	-	-		
INFILTRADO ESPECÍFICO	Extensão	Focal	+	++	+	
		Confluente	-	+	+	
	Localização	Superficial	+	+	+	
		Médio	+	+	+	
		Profundo	+	+	++	
		Subcutâneo	+	+	+++	
	Estádio evolutivo	Ativo em progressão	-	+	+	
		Ativo em regressão	-	-	-	
		Residual	+	-	-	
	EPIFENÔMENOS	Agudos	Dilatação e congestão vascular		++	+
Tumefação endotelial			++	++	++	
Trombose			+	-	-	
Edema intersticial			-	+	-	
Exsudação Neutrófila			Infiltrado	++	+	++
			Interstício	+	-	-
Deposição de Fibrina			Infiltrado	+	-	-
			Interstício	-	+++	++
Envolvimento de ramos nervosos			-	-	-	
Sub-agudos Crônicos			Células linfocitóides		+	++
		Eosinófilos		+	-	-
		Plasmócitos		-	+	+
		Proliferação fibroblástica intersticial		+	++	+
		Neoformação capilar		-	-	-
Alteração Vascular		Vasculites Agudas	Alterativas	++	++	++
			Exsudativas	++	-	-
			Necrotizantes	++	-	-
		Vasculites crônicas proliferativas		-	-	+
		Necrose	Microabscessos	+	-	-
		Extravasamento de hemácias		++	++	-
Bacilos - cópia		Quantitativa		-	+++	+++++
	Localização	Infiltrado	-	++	++	
		Ramos nervosos	-	-	-	
		Endotélio vascular	-	+++	+++++	

Tabela 3. Avaliação das biópsias obtidas de áreas reacionais e não reacionais de pacientes com eritema nodoso hansênico.

IDENTIFICAÇÃO				14c	15a	15b		
LEITURA HISTOLÓGICA								
ALTERAÇÕES EPIDÉRMICAS	Exocitose			-	-	-		
	Espongiose			-	-	-		
	Degeneração vacuolar da basal			-	-	-		
	Espessamento da membrana basal			-	-	-		
	Figuras de contração de queratinócitos			-	+	-		
	Necrose	Focal		-	-	-		
		Segmentar		-	-	-		
		Total		+++	-	-		
	Hiperplasia			-	+	-		
	Hiperqueratose			-	-	-		
Paraqueratose			-	-	-			
INFILTRADO ESPECÍFICO	Extensão	Focal		+	+	+		
		Confluente		-	-	-		
	Localiza- ção	Superficial		+	+	+		
		Médio		+	+	+		
		Profundo		+	+	+		
		Subcutâneo		-	+	+		
	Estádio Evoluti- vo	Ativo em progressão		+	-	-		
		Ativo em regressão		-	+	+		
		Residual		-	-	-		
EPIFENÔMENOS	Agudos	Dilatação e congestão vascular		+++	+	-		
		Tumefação endotelial		+	+++	-		
		Trombose		+++	-	-		
		Edema intersticial		++	+	-		
		Exsudação Neutrofí- lica	Infiltrado		+	++	-	
			Interstício		+	+	-	
		Deposição de Fibrina	Infiltrado		++	-	-	
			Interstício		++	++	-	
	Envolvimento de ramos nervosos			-	-	-		
	Sub-agudos Crônicos	Células linfocitóides		-	++	+		
		Eosinófilos		-	-	-		
		Plasmócitos		-	+	-		
		Proliferação fibroblástica intersticial		+	+	-		
		Neoformação capilar		+	-	-		
	Alteração Vascular	Vasculites Agudas	Alterativas		+	+	-	
			Exsudativas		+	-	-	
			Necrotizantes		+	-	-	
		Vasculites crônicas proliferativas		+	-	-		
		Necrose		Microabscessos		-	-	-
		Extravasamento de hemácias			++	+	-	
Bacilos cópia	Quantitativa		+++	+++	++			
	Localização	Infiltrado		++	+++	++		
		Ramos nervosos		-	-	-		
		Endotélio vascular		++	-	-		

Tabela 3. Avaliação das biópsias obtidas de áreas reacionais e não reacionais de pacientes com eritema nodoso hansênico.

IDENTIFICAÇÃO				18a	18b	19a
LEITURA HISTOLÓGICA						
ALTERAÇÕES EPIDÉRMICAS	Exocitose			-	-	-
	Espingiose			-	-	-
	Degeneração vacuolar da basal			-	-	-
	Espessamento da membrana basal			-	-	-
	Figuras de contração de queratinócitos			-	-	-
	Necrose	Focal		-	-	-
		Segmentar		-	-	-
		Total		-	-	-
	Hiperplasia			-	-	-
	Hiperqueratose			-	-	-
Paraqueratose			+	+	+	
INFILTRADO ESPECÍFICO	Extensão	Focal		-	-	-
		Confluente		+	+	+
	Localização	Superficial		+	+	+
		Médio		+	+	+
		Profundo		+	+	+
		Subcutâneo		+	-	+
	Estádio Evoluti- vo	Ativo em progressão		-	-	-
		Ativo em regressão		+	+	+
		Residual		-	-	-
EPIFENÔMENOS	Agudos	Dilatação e congestão vascular		+	-	-
		Tumefação endotelial		++	++	+
		Trombose		-	-	-
		Edema intersticial		-	-	-
		Exsudação Neutrôfi- lica	Infiltrado	++	++	+
			Interstício	+	-	-
		Deposição de Fibrina	Infiltrado	++	-	-
			Interstício	-	-	-
		Envolvimento de ramos nervosos		-	-	-
	Sub-agudos Crônicos	Células linfocitóides		+	+	++
		Eosinófilos		-	-	-
		Plasmócitos		-	-	-
		Proliferação fibroblástica intersticial		+	+	+
		Neoformação capilar		-	-	-
	Alteração Vascular	Vasculites Agudas	Alterativas	+	-	++
			Exsudativas	-	-	-
			Necrotizantes	-	-	-
		Vasculites crônicas proliferativas		-	-	-
		Necrose	Microabscessos	-	-	-
Extravasamento de hemácias		-	-	-		
Bacilos copia	Quantitativa		+++	+++	+++	
	Localização	Infiltrado	+++	+++	+++	
		Ramos nervosos	+	+++	+	
		Endotélio vascular	-	-	+	

Tabela 3. Avaliação das biópsias obtidas de áreas reacionais e não reacionais de pacientes com eritema nodoso hansênico.

IDENTIFICAÇÃO LEITURA HISTOLÓGICA				19b	20a	20b	
ALTERAÇÕES EPIDÉRMICAS	Exocitose			-	-	-	
	Espongiose			-	-	-	
	Degeneração vacuolar da basal			-	-	-	
	Espessamento da membrana basal			-	-	-	
	Figuras de contração de queratinócitos			-	-	-	
	Necrose	Focal		-	-	-	
		Segmentar		-	-	-	
		Total		-	-	-	
	Hiperplasia			-	-	-	
	Hiperqueratose			-	-	-	
Paraqueratose			-	-	-		
INFILTRADO ESPECÍFICO	Extensão	Focal		+	+	+	
		Confluente		-	-	-	
	Localização	Superficial		+	+	+	
		Médio		-	-	-	
		Profundo		-	-	-	
		Subcutâneo		+	-	-	
	Estádio Evolutivo	Ativo em progressão		-	-	-	
		Ativo em regressão		+	+	+	
		Residual		-	-	-	
EPIFENÔMENOS	Agudos	Dilatação e congestão vascular		-	-	-	
		Tumefação endotelial		-	-	-	
		Trombose		-	-	-	
		Edema intersticial		-	-	-	
		Exsudação Neutrofilica	Infiltrado		-	-	-
			Interstício		-	-	-
		Deposição de Fibrina	Infiltrado		-	-	-
			Interstício		-	-	-
		Envolvimento de ramos nervosos		-	-	-	
	Sub-agudos Crônicos	Células linfocitoides		+	-	-	
		Eosinófilos		-	+	+	
		Plasmócitos		-	-	-	
		Proliferação fibroblástica intersticial		-	-	-	
		Neoformação capilar		-	-	-	
	Alteração Vascular	Vasculites Agudas	Alterativas		-	+	-
			Exsudativas		-	-	-
			Necrotizantes		-	-	-
		Vasculites crônicas proliferativas		-	-	-	
		Necrose	Microabscessos		-	-	-
		Extravasamento de hemácias		-	-	-	
Facilios cópia	Quantitativa		+++	+++	+++		
	Localização	Infiltrado		+++	+++	+++	
		Ramos nervosos		++	+	+	
		Endotélio vascular		++	+	+	

Tabela 3. Avaliação das biópsias obtidas de áreas reacionais e não reacionais de pacientes com eritema nodoso hansênico.

IDENTIFICAÇÃO				21	22		
LEITURA HISTOLÓGICA							
ALTERAÇÕES EPIDÉRMICAS	Exocitose			-	-		
	Espongiose			-	-		
	Degeneração vacuolar da basal			-	-		
	Espessamento da membrana basal			-	-		
	Figuras de contração de queratinócitos			-	-		
	Necrose	Focal		-	-		
		Segmentar		-	-		
		Total		-	-		
	Hiperplasia			-	+		
Hiperqueratose			-	-			
Paraqueratose			-	-			
INFILTRADO ESPECÍFICO	Extensão	Focal		+	+		
		Confluente		-	-		
	Localização	Superficial		+	+		
		Médio		++	+		
		Profundo		+	+		
		Subcutâneo		+	+		
	Estádio Evolutivo	Ativo em progressão		-	-		
		Ativo em regressão		+	+		
		Residual		-	-		
EPIFENÔMENOS	Agudos	Dilatação e congestão vascular		+	++		
		Tumefação endotelial		++	+++		
		Trombose		+	++		
		Edema intersticial		+	-		
		Exsudação Neutrofílica	Infiltrado		++	+++	
			Interstício		+	+	
		Deposição de Fibrina	Infiltrado		++	++	
			Interstício		-	-	
	Envolvimento de ramos nervosos		-	-			
	Sub-agudos e Crônicos	Células linfocitoides		+	++		
		Eosinófilos		-	-		
		Plasmocitos		-	++		
		Proliferação fibroblástica intersticial		+	-		
		Neoformação capilar		-	-		
	Alteração Vascular	Vasculites Agudas	Alterativas		++	++	
			Exsudativas		-	+	
			Necrotizantes		-	-	
		Vasculites crônicas proliferativas		-	-		
		Necrose		Microabscessos		-	-
Extravasamento de hemácias		-	-				
Bacilos - cópia	Quantitativa		+++	+			
	Localização	Infiltrado		+++	+		
		Ramos nervosos		+	-		
		Endotélio vascular		-	-		

TABELA 4 - Frequência de imunoglobulinas humanas, frações do complemento e fibrinogênio em biópsia de pele de pacientes hansenianos com reação tipo eritema nodoso (ENH).

Reagentes biológicos	Porcentagem de positividade
anti IgT	0%
anti IgG	0%
anti IgM	8%
anti cadeia k appa	0%
anti cadeia lambda	0%
anti C ₃ c	40%
anti C1q	44%
anti fibrinogênio	0%

TABELA 5 - Distribuição dos resultados obtidos de acordo com a localização dos depósitos fluorescentes em estruturas cutâneas de áreas reacionais.

Nº do Caso	Depósito Locali- zado na ZMB	Depósito Localizado na ZMB e vaso
3a	+	-
4a	+	+
7a	+	+
7b	+	-
11	+	-
13	+	+
14a	+	+
14b	+	+
16a	+	+
17	-	+
18a	+	+
20a	+	+
22	+	+

Abreviatura utilizada : ZMB = zona de membrana basal

Sinais utilizados: + = presença de depósito fluorescente.

- = ausência de depósito fluorescente.

6. DISCUSSÃO

As características clínicas, patológicas e conduta terapêutica no ENH são bem conhecidas^{5,10,27}. O entendimento do quadro anátomo-patológico e da fisiopatologia desta reação tem facilitado o reconhecimento e a compreensão das diversas manifestações deste epifenômeno da hanseníase. Os vários estudos efetuados na tentativa de identificar os mecanismos envolvidos nesta reação não foram capazes de elucidar totalmente sua patogênese. Assim, são pertinentes trabalhos bem conduzidos e criteriosos sobre o ENH com o fito de colher novas informações sobre sua patogenia, que possam conduzir a progressos no seu tratamento e prevenção.

Analisando as características histológicas vemos que correspondem, de modo geral, as descrições dos autores^{5,10,27,33,53,56,72} citados na revista de bibliografia. Basicamente temos reação inflamatória aguda ou sub-aguda, com graus variados de intensidade (Tabela 3) assentados sobre infiltrados virchovianos. O estudo histopatológico não demonstrou as alterações próprias das vasculites agudas de pequenos vasos superficiais, isto é, necrose de parede vascular com deposição de fibrina, leucócitoclasia e extravasamento de hemácias, presentes nas vasculites chamadas alérgicas e que são relacionadas à de posição de IC23. A participação dos pequenos vasos na reação é representada por dilatação vascular, tumefação endotelial

que, por vezes, é proeminente e exsudação neutrofilica. Em capilares e vênulas, ao nível de focos exudativos mais densos, observamos deposição de fibrina na parede ou luz vascular. Raramente notamos extravasamento de hemácias (figs 21,22). Estas alterações poderiam sugerir vasculites. No entanto, trombose de vasos em áreas de maior exsudação neutrofilica é compatível com as alterações que ocorrem nos vasos mais centrais do processo inflamatório agudo, onde o aumento de viscosidade sanguínea aliado a alterações endoteliais cria condições para a formação de trombose. O extravasamento de hemácias pode também fazer parte da reação inflamatória aguda correspondendo a um grau entre o de permeabilidade veno-capilar. Por outro lado, sempre estas alterações vasculares ocorreram em áreas onde a reação exsudativa era intensa e nunca como fenómeno inicial, isolado, raro e próprio das vasculites por IC (fig 22).

Deste modo, concordamos com WADE⁷⁹, RATH de SOUZA⁵⁴ e REA⁶⁰ que as alterações observadas a nível de capilares e vênulas não definem vasculites, mas sim, a participação própria destes segmentos da circulação sanguínea no processo inflamatório agudo.

MURPHY et al. ⁴¹ realizaram um estudo de microscopia ótica e eletrônica relatando o encontro de vasculite em setor de circulação terminal, porém, os critérios adotados por estes autores para definirem vasculites, não são inteiramente

convinentes.

As alterações observadas nas pequenas veias e artérias do plexo dérmico profundo e tecido celular subcutâneo podem ser rotuladas de vasculites (figs 7, 8, 10, 11). Estes segmentos da circulação não participam dos fenômenos exsudativos da inflamação aguda e, a presença de reatividade endotelial (tumefação e proliferação), edema, exsudação sero-fibrino-neutrofilica com dissociação da parede muscular espessamento sub-endotelial, caracterizam uma inflamação de parede vascular, portanto, uma vasculite.

Para WADE⁷⁹ estas alterações dos vasos do derma profundo e tecido celular subcutâneo seriam secundarias ao processo inflamatório presente nos tecidos adjacentes, fato este conhecido da patologia geral. Somos, porém, mais favoráveis às observações de RATH DE SOUZA⁵⁴, para quem o envolvimento destes vasos esta na dependência da infiltração dos mesmos por macrófagos e bacilos.

Analisando os achados imunohistoquímicos verificamos inicialmente que, em relação às Ig, tivemos apenas dois casos onde houve depósito de IgM na ZMB. Em doze casos com ENH e em dois livres desta reação, observamos depósitos do frações do complemento neste local (figs 23, 24). Em três biópsia de ENH os depósitos só foram verificados a este nível.

Observações semelhantes foram feitas por QUISMO RI051 et al, A localização e a aparência granular dos depósitos fluorescentes sugeriram aos autores que as Ig envolvidas poderiam ser auto-anticorpos dirigidos contra Ag cutâneos. Contudo, BULLOCK⁹ et al, investigando sete pacientes virchovianos livres de ENH observaram depósitos lineares fluorescentes de IgM na junção derme-epiderme. Para verificar a procedência dos anticorpos envolvidos na reação, os autores empregaram a técnica de imunofluorescência indireta, utilizando soro destes pacientes, em substrato de pele humana sadia e de macaco. Os resultados negativos obtidos nestes testes sugeriram que os depósitos de IgM encontrados na pele de pacientes virchovianos não seriam provocados por auto-anticorpos, mas si, devido a reação cruzada entre Ag de M. leprae e componentes da membrana basal da epiderme. Sugeriram ainda que a membrana basal poderia atuar como uma armadilha para os IC resultantes tanto de sua propriedade de retenção ou por afinidade desta pelos IC.

Mais recentemente, NAAFS et al 42, empregando 17 tipos de anticorpos monoclonais dirigidos contra o M. leprae, observaram que 8 destes reagem com determinantes antigênicos presentes em células basais, queratinócitos, parede arteriolar, substâncias intercelulares, extrato córneo e axônios de nervos periféricos de pele humana normal. Estes resultados sugeriram a existência de similaridade ou mesmo identidade entre os deter

minantes antigênicos de tecidos humanos e aqueles presentes no M.leprae.

Frente a estas observações e aliado ao fato de termos observado depósitos fluorescentes em dois casos livre de reação, acreditamos que a identificação destes depositado na ZMB são manifestações inespecíficas ao quadro de ENH.

Para compararmos e interpretarmos as relações entre os depósitos vasculares de frações do complemento e quadro histopatológico, necessitamos confrontar estes achados para cada biópsia, ou seja:

- Biópsia 4a;

Imunofluorescência: depósitos de C3 e Clq em vasos de pequeno calibre próximos a ZMB.

Histopatologia : reação de grau discreto.

Baciloscopia : 2++ (bacilos no infiltrado; e endotelio vascular).

- Biópsia 7a:

Imunofluorescência: deposito de Clq em vasos de pequeno calibre próximos a ZMB,

Histopatologia : reação de grau moderado.

Baciloscopia : 1+ (bacilos em ramos nervosos).

- Biópsia 13:

Imunofluorescência: depósito de C3 em vasos calibrosos do derma profundo (fig 25).

Histopatologia : reação de grau moderado com vasculites alterativas, exsudativas e necrotizantes em vasos do derma profundo e tecido celular subcutâneo

Baciloscopia : negativa.

- Biópsia 14a:

Imunofluorescência: depósito de Clq em vasos de pequeno calibre próximos a ZMB e, em vasos de médio calibre, em toda a extensão do derma.

Histopatologia : reação de grau intenso com vasculites alterativas no derma profundo e tecido celular subcutâneo.

Baciloscopia : 4+ (bacilos em infiltrado, parede e endotélio vascular presença de bacilos típicos).

- Biópsia 14b:

Imunofluorescência: depósito de Clq em vasos de pequeno calibre próximos a ZMB.

Histopatologia : reação de grau intenso com vasculites alterativas no derma profundo e tecido celular subcutâneo.

Baciloscopia : 5+ (bacilos no infiltrado e endotélio vascular).

- Biópsia 16a:

Imunofluorescência: depósito de r i em vasos pie pequeno calibre próximo a ZMB e Clq em vasos reais calibrosos localizados em toda a extensão do derma.

Histopatologia : reação de grau intenso com vasculites alterativas em vasos do derma profundo.

Baciloscopia : 4i- (bacilos no infiltrado e nervos).

- Biópsia 17:

Imunofluorescência: depósitos de Clq em vasos de pequeno calibre e de C3 e Clq em vasos mais calibrosos do derma profundo (figs 26, 27) .

Histopatologia : reação de grau intenso, inclusive com microabscessos.

Baciloscopia : 2+ (bacilos no infiltrado).

- Biópsia 18a:

Imunofluorescência: depósitos de C3 e Clq em vasos calibrosos do derma médio profundo (fig 28).

Histopatologia : reação de grau moderado; vasculite alterativa no derma profundo.

Baciloscopia : 3+ (bacilos no infiltrados, e endotélio vascular) .

- Biópsia 20a:

Imunofluorescência: depósito de Clq em vasos de vários calibres localizados em toda a extensão do derma.

Histopatologia : reação de grau moderado; vasculites alternativas no derma profundo.

Baciloscopia : 3+(bacilos em infiltrados, nervos e endotélio vascular)

- Biópsia 22.

Imunofluorescência: depósito de Clq em vasos de médio e pequeno calibre localizados em toda a extensão do derma. Depósito de C3 em vasos mais calibrosos

do derma profundo(figs 29,30,31,32).

Histopatologia : reação de grau intenso com vasculites alterativas e exsudativas no derma profundo e tecido celular subcutâneo.

Baciloscopia : 1+ (bacilos no infiltrado).

Analisando as relações acima, observamos que os depósitos de frações do complemento em pequenos vasos ocorreu principalmente junto a ZMB (fig.23) e não correspondeu a presença de vasculites nesta localização, sugerindo uma correlação entre intensidade da reação e presença destes depósitos. Os depósitos fluorescentes em pequenos vasos coincidiam em 3 fragmentos com a presença de bacilos no endotélio vascular. Esta associação favorece o papel dos IC no desenvolvimento da reação inflamatória aguda sem caracterizar uma vasculite.

Na verdade depósitos de IC na parede de pequenos vasos podem representar um estímulo á reação inflamatória, propiciando dilatação vascular, aumento da permeabilidade e exsudação de e elementos figurados sem caracterizar vasculite. Esta seria uma reação quase fisiológica" dos IC depositados naqueles locais enquanto as vasculites seriam uma exacerbação

deste processo, definindo pois, um processo imunopatológico.

Em relação aos depósitos de frações do complemento em vasos mais calibrosos e profundos do derma e tecido celular subcutâneo observados em sete casos (figs 25, 26, 27), notamos que em seis casos houve relação entre os depósitos e a presença de vasculites alterativas e/ou exsudativas e/ou necrotizantes; em três casos detectou-se bacilos em parede vascular ou endotélio. Esta relação condiz com a colocação de RATH DE SOUZA⁵⁴ de que o envolvimento inflamatório dos vasos mais calibrosos esta na dependência de infiltração especifica prévia da parede vascular. Podemos raciocinar que o Ag na parede vascular provocaria a formação de IC a este nível, estimulando o afluxo de elementos exsudativos a partir de capilares e vênulas situados em sua periferia.

De modo geral, podemos dizer que a correlação dos dados histopatológicos com os dados imunohistoquímicos não nos permite sugerir uma patogênese para o ENH. Analisando os achados histopatológicos onde verificamos que a reação exsudativa é sempre mais intensa em localização extravascular e, que os vasos da circulação terminal apresentam alterações compatíveis com sua participação na reação aguda, somos tentados a aceitar a hipótese de alguns autores ^{7,8,66} na qual os IC se formariam, também, em localização extravascular. Assim, na evolução da hanseníase virchoviana, mesmo nos estados regressivos, há a

fluxo constante de monocitos sangüíneos para manter o "turnover" do infiltrado macrofágico, portanto, a nível de lesões específicas há sempre um afluxo sangüíneo acima das condições basais, tanto e que as lesões são em geral "eritemato-ferruginosas" e a permeabilidade aumentada para passagem de células sangüíneas, possibilita também a passagem de Tg e complemento. A medida em que os macrófagos no rompem e liberam Ag para o interstício há condições para formação de IC nesta localização e conseqüente estímulo à reação inflamatória aguda. Enquanto nas fases ativas progressivas da hanseníase virchoviana os bacilos podem ser encontrados em grande quantidade no endotélio dos vasos da circulação terminal, com a terapêutica e regressão da infecção estes desaparecem do endotélio, permanecer nos macrófagos do infiltrado, ramos nervosos, músculos eretores, parede de vasos mais calibrosos e bainha de pelos. A parede dos vasos mais calibrosos funcionaria como localização extravascular para os capilares e vênulas que se dispõem em sua periferia, A partir destes vasos, o exsudato inflamatório penetraria e dissociaria sua parede muscular e sub-endotélio. Esta interpretação patogênica teria comprovação na imunofluorescência se encontrássemos depósitos fluorescentes extravasculares e na parede dos vasos mais calibrosos. Nesta última localização os depósitos foram encontrados com grande freqüência associados às alterações inflamatórias e não conseguimos detectá-los em localização extravascular. Resta a hipótese de

que o afluxo neutrofílico tenha provocado a digestão da maior parte dos IC ou que seus elementos tenham passivamente se deslocado até serem retidos na ZMB.

A não detecção de IC devido a prévia fagocitose e destruição por neutrófilos e fato já referido nas vasculites alérgicas. Estes elementos podem, no entanto, ser detectados quando, nos processos de vasculites, provocamos artificialmente a reação pela injeção de histamina em pele sadia e realizamos biópsias seqüenciais previas a formação da púrpura palpável. Os elementos do IC permaneceriam na parede de vasos mais calibrosos porque nestes a estrutura é mais complexa que o meio extravascular do restante do derma.

Toda discussão é baseada em conjecturas calcadas nos achados histopatológicos e imunohistoquímicos confronto dos com os conhecimentos da patologia inflamatória, imunopatologia e da literatura pertinente. Na realidade o que existe de palpável no presente trabalho é que, em lesões de ENH detectamos com freqüência IC. Estes achados apontam para a participação da imunidade humoral na gênese deste fenômeno conforme sugere a maioria dos trabalhos. Consideramos, no entanto, que os mecanismos desta participação ainda permanecem pouco esclarecidos.

Nosso material não nos fornece dados suficien-

tes para discutirmos as outras hipóteses patogênicas do ENH. Vários pesquisadores^{16,37,39,60,80} propuseram que o desencadeamento do ENH seria devido a queda na atividade das células T supressoras alterando a relação CD4+/CD8+ encontrada na hanseníase virchoviana fora dos períodos reacionais. Segundo os autores, isto permitiria uma expressão da IMC suficiente para a formação de Ig e, conseqüentemente, IC. Esta é uma hipótese atrativa, principalmente para estabelecermos uma via através da qual alguns fatores desencadeariam o ENH. No entanto, sempre podemos contrapor que esta supressão seja mais uma conseqüência do que uma causa, desde que na evolução desta reação fatores inespecíficos podem estimular, também, de maneira inespecífica, a imunidade celular.

Ainda merecem considerações alguns achados do presente trabalho. No caso 14 o infiltrado virchoviano apresentava-se ativo em progressão, sendo que o ENH em geral incide em casos regressivos durante o tratamento específico. Na verdade, em paciente virchoviano em atividade, o infiltrado não mostra a mesma fase evolutiva em uma mesma lesão ou lesões diferentes. Um foco de infiltrado virchoviano mostra tendência natural à regressão que se acentua com o tratamento. Dentro dos macrófagos os bacilos proliferam, em grande parte se fragmentam e sua interação com as organelas citoplasmáticas da origem à progressiva vacuolização, própria do estado regressivo, ao mesmo tempo outros macrófagos fagocitam bacilos viáveis provenientes da

rotura dos mais antigos. Estes macrófagos mais jovens, ou formam novos focos no local ou se dirigem para outras localizações orgânicas disseminando a infecção e dando origem a novos focos ativos e em progressão. Assim, um paciente virchoviano ao lado de infiltrados ativos em progressão mostra focos regressivos que criam condições para o desenvolvimento do ENII.

Dois casos (2 e 13) mostram, na vigência de ENH, infiltrado virchoviano residual. Nesta situação, a reação deve-se desencadear porque o Ag esta presente nos focos, porem sem a expressão morfológica bacilar.

Finalmente, temos o caso 14, onde um paciente associou alterações compatíveis de ENH com lesões de eritema necrosante, características do fenômeno de Lúcio. Neste caso a biópsia apresentava um intenso parasitismo das células endoteliais dos vasos de vários calibres por bacilos (figs 12, 13) com frações importantes de bacilos típicos. Uma das explicações neste caso, se baseia no que dissemos a respeito da variabilidade de aspectos evolutivos que apresentam os infiltrados na hanseníase virchoviana ativa, ou seja, onde o infiltrado era mais regressivo e com bacilos granulosos houve reação de ENH (figs 14,15) e onde o infiltrado era mais progressivo com presença de bacilos típicos, principalmente no endotélio vascular, desenvolveu-se o fenômeno de Lúcio (figs 16 a 20). Uma explicação patogênica para o fenômeno de Lúcio e que

a presença do Ag no endotélio de capilares e vênulas varia a formação de IC nestes vasos, desenvolvendo-se, então , uma verdadeira vasculite leucocitoclastica com necrose da parede dos vasos, deposição fibrinóide, leucocitoclasia e necrose epidérmica .

Não foi realizada avaliação imunohistoquímica na biópsia do fenômeno de Lúcio, mas a biópsia de outra área mostrou depósito muito nítido de C1q em vasos de pequeno calibre e parede de vasos mais-calibrosos do derma profundo, o que demonstra a participação de IC neste fenômeno.

É possível que esta hipótese corresponda à verdade, porém nos chama a atenção que no fenômeno de Lúcio a necrose é generalizada acompanhando a distribuição dos infiltrados desde a profundidade. Neste caso, poderíamos sugerir que as vasculites alterativas do derma profundo (figs 10, 11, 19) e tecido celular subcutâneo sejam alterações primarias, bloqueando o retorno venoso e propiciando o aspecto livedóide da pele durante este fenômeno, produzindo assim, alterações microscópicas semelhantes às observadas na mucosa intestinal, durante a fase estagnante do choque irreversível,



Figura 1 - Caso 8 - ENH. Aspecto Geral.

Focos de reação inflamatória exsudativa ao longo de infiltrado virchoviano. HE(aumento original 10 x)

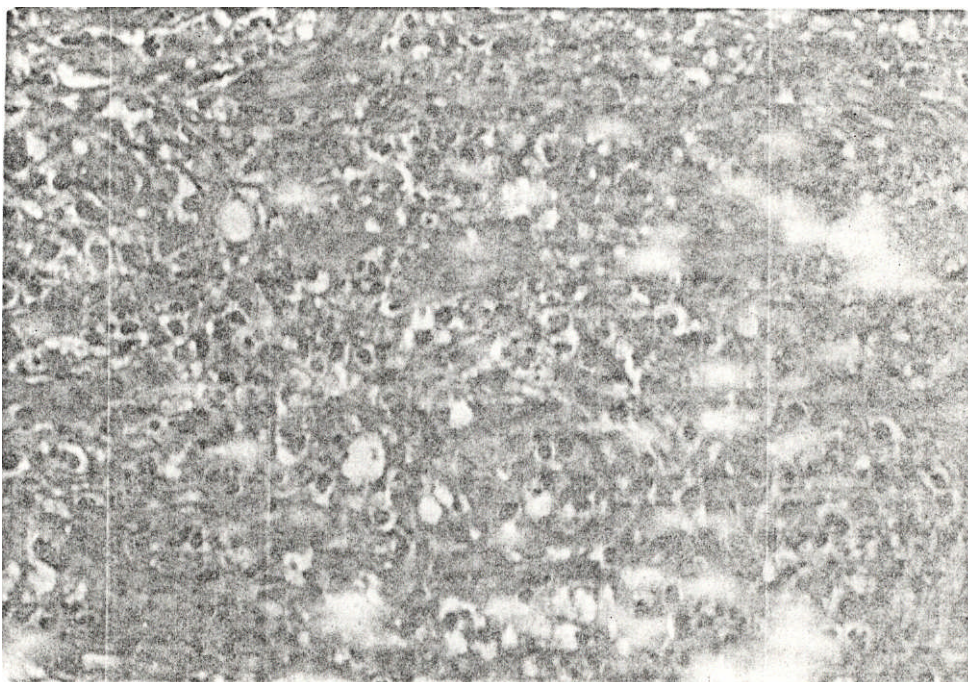


Figura 2 -Caso 8 - ENH

Exsudação neutrofílica difusa em meio a infiltrado virchoviano regressivo. HE (aumento original 100x)

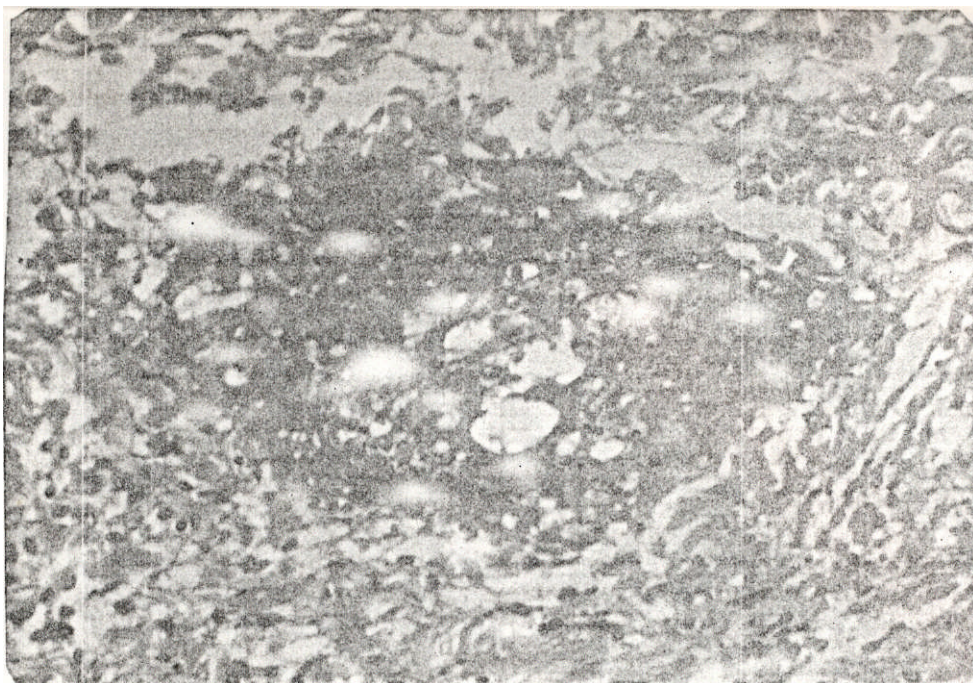


Figura 3 - Caso 16 - ENH Exsudação neutrofílica e deposição de fibrina em infiltrado virchoviano regressivo. HE (aumento original 100%)

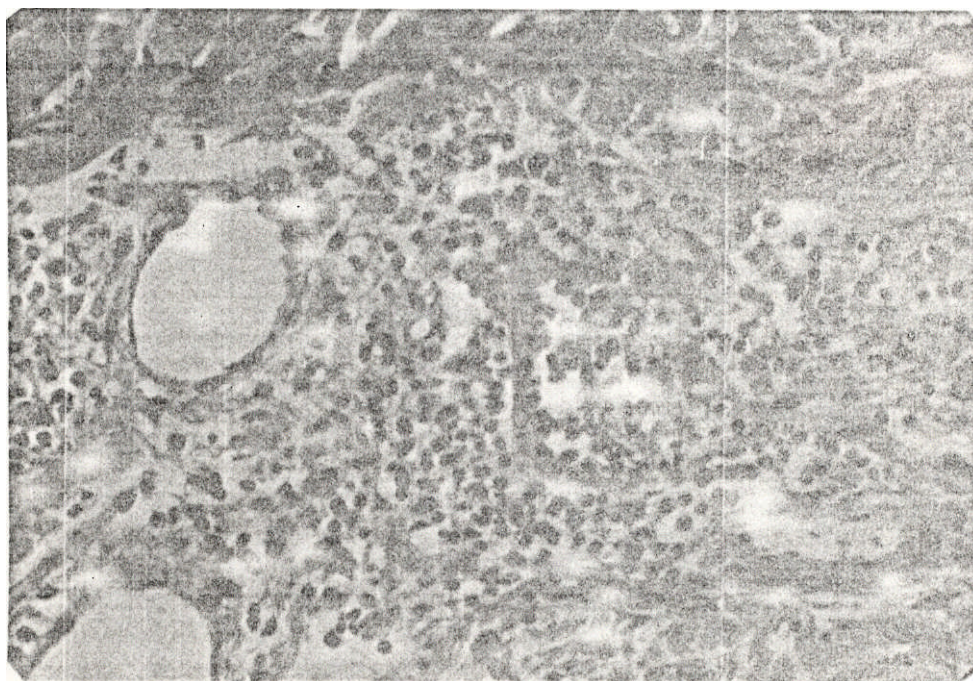


Figura 3 - Caso 5 - ENH - Vasos superficial com marginalização de neutrófilos contornado por infiltrado inflamatório mononuclear. HE (aumento original 100 x)

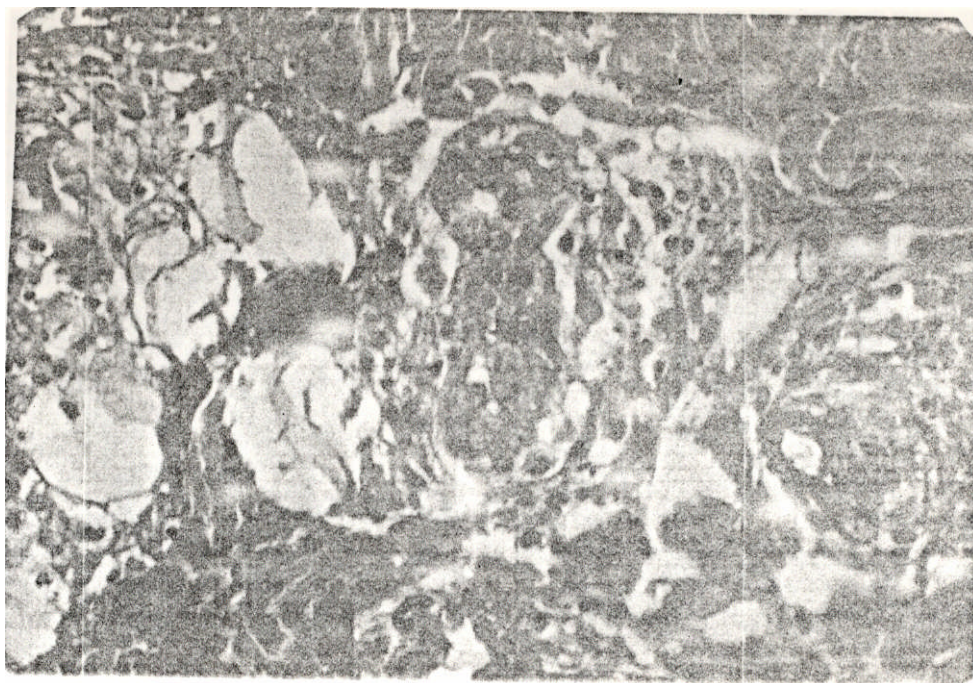


Figura 5 - Caso 8 - ENH - Vasos do derma médio. Intensa tumefação e proliferação endotelial. Destaque para a mitose (seta). HE (aumento original 100x)



Figura 6 - Caso 8: EMI. Vaso do derma médio. Dilação vascular e intensa tumefação endotelial. HE (aumento original 100x)

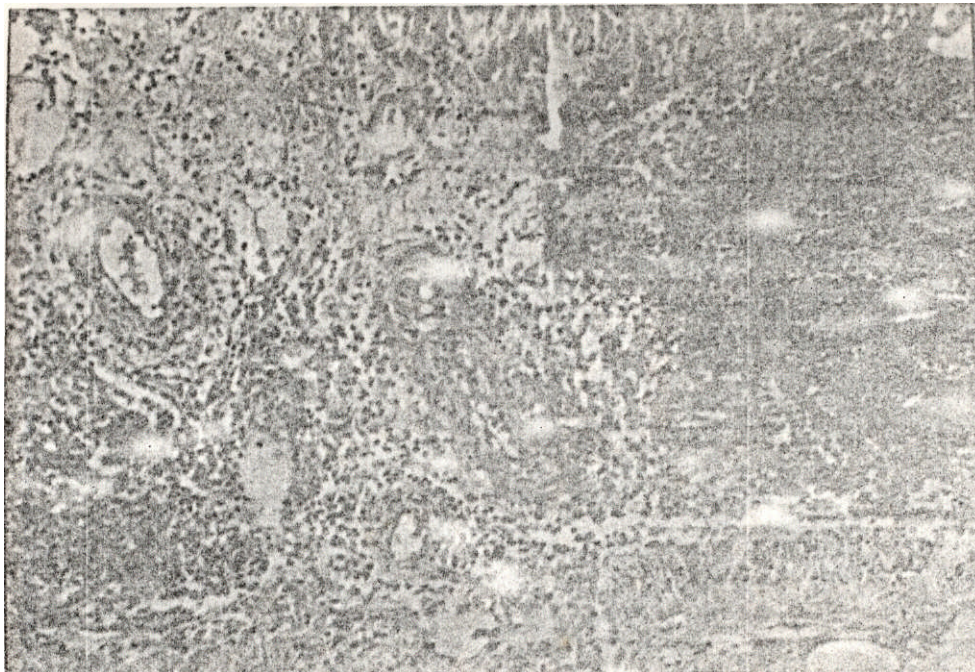


Figura 7 - Caso 5: ENH

Vasos do derma profundo adjacentes a áreas com Intensa exsudação neutrofílica. Edema, dissociação e penetração de celular inflamatórias na parede vascular. HE (aumento original 40x)

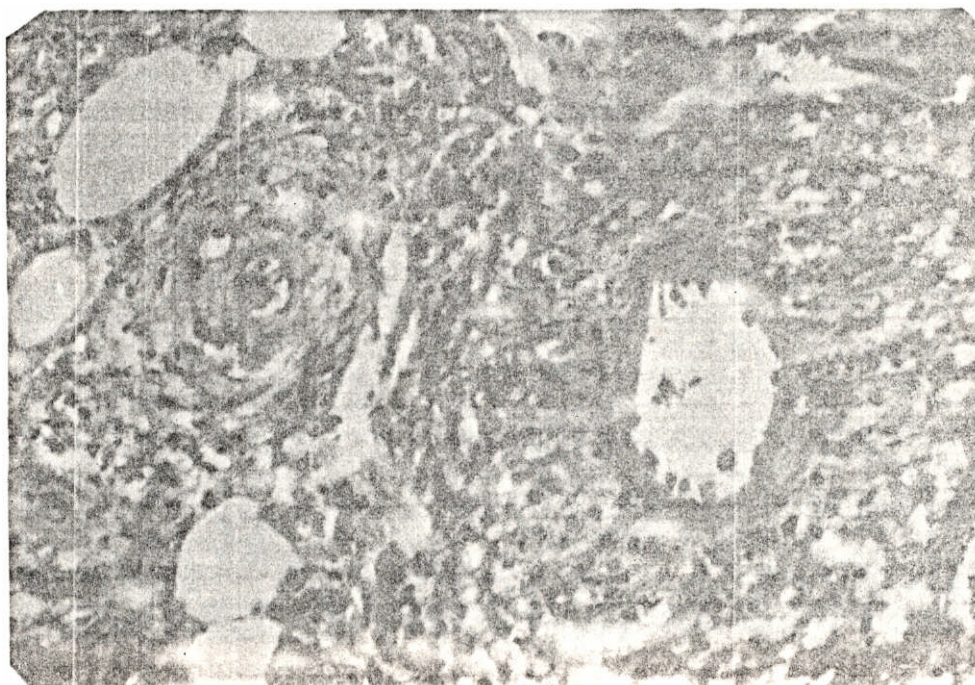


Figura 8 - Caso 13: ENH

Exsudação neutrofílica ao longo de infiltrado virchoviano contornando vaso do derma profundo. HE (aumento original 100 x)



Figura 9 - Caso 14: ENH. Aspecto Geral.
Pele e tecido celular subcutâneo, HE (aumento original 100 x)

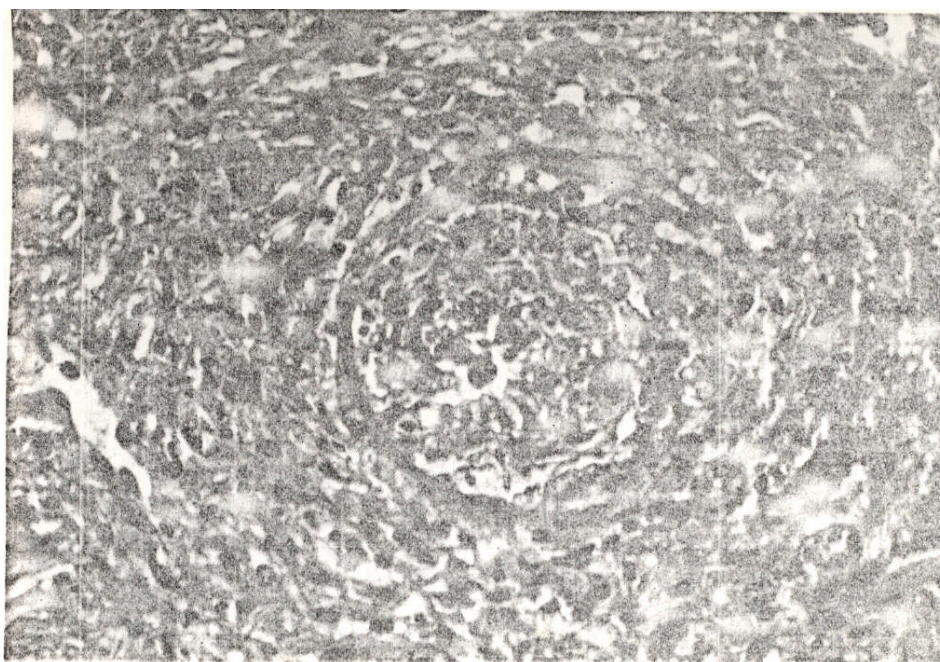


Figura 10 - Caso 14: ENH. Aproximação.
Infiltrado virchoviano penetrado por células inflamatórias mononucleares. Vaso central com dissociação da parede e redução da luz. HE (aumento original 40x)

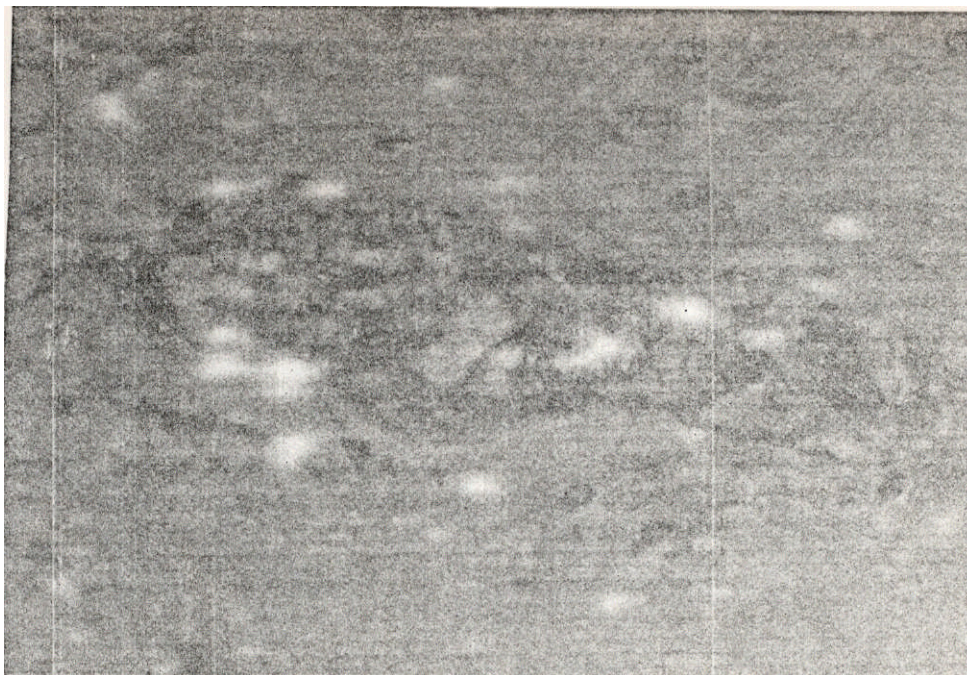


Figura 11 - Caso 14: ENH.

Detalhe do vaso mostrando dissociação da parede por infiltrado virchoviano e proliferação endotelial. HE (aumento original 40x)

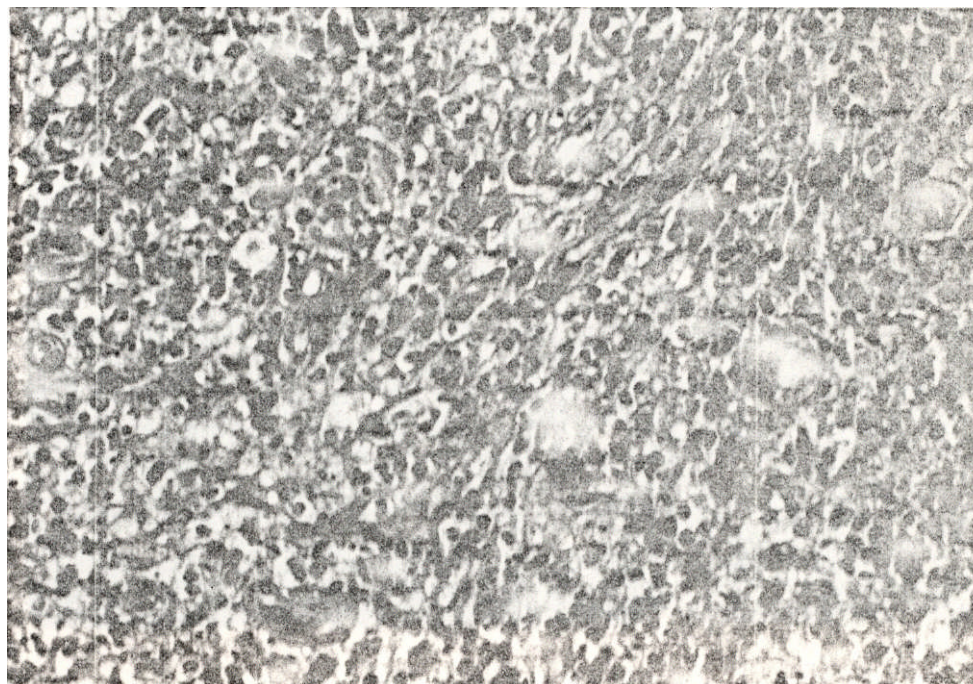


Figura 12 - Caso 14: ENH.

Detalhe do vaso mostrando dissociação da parede por infiltrado virchoviano e proliferação endotelial. HE (aumento original 40x)

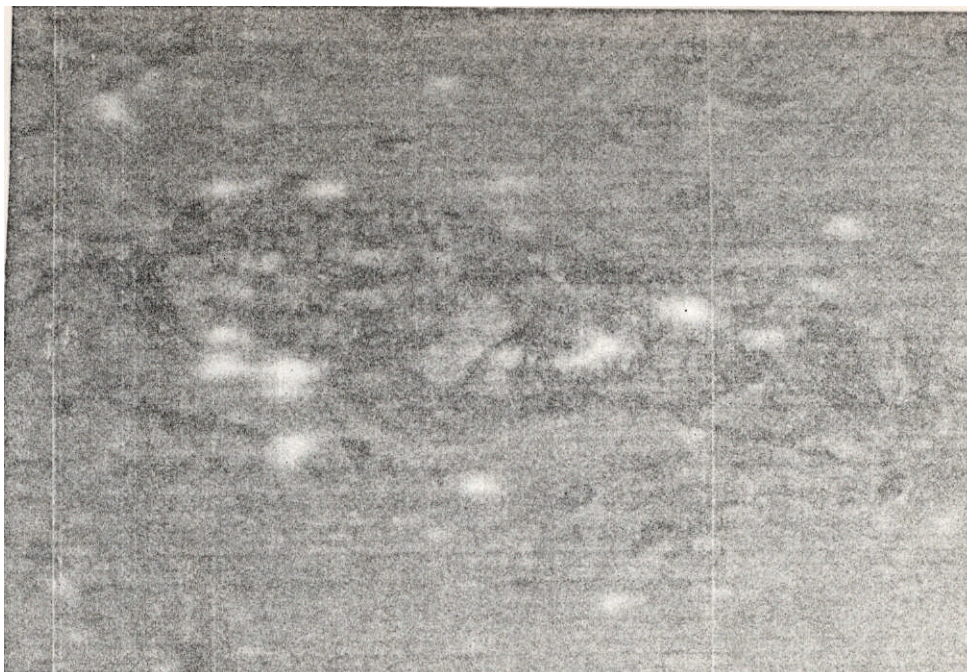


Figura 13 -. Caso 14: ENH

Infiltrado virchoviano focal em torno de pequenos vasos. Bacilos (alguns típicos) em macrófagos e endotélio vascular. Fite Faraco(aumento original] 160x)

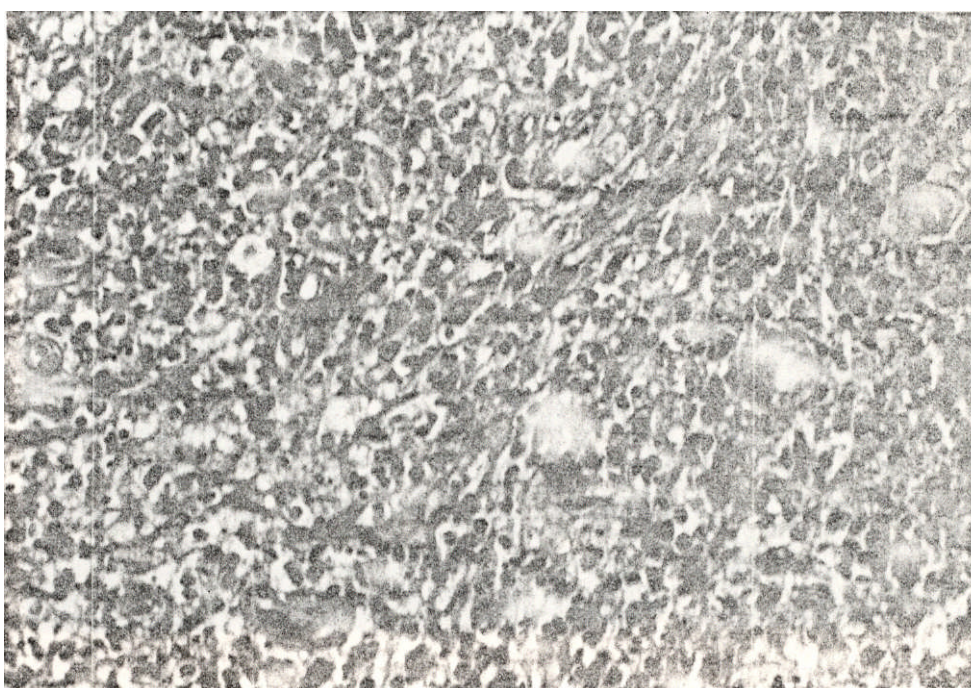


Figura 14 - Caso 14: ENH

Área com exsudação neutrofilina ao longo de infiltrado virchoviano regressivo. (aumento original 100 x).

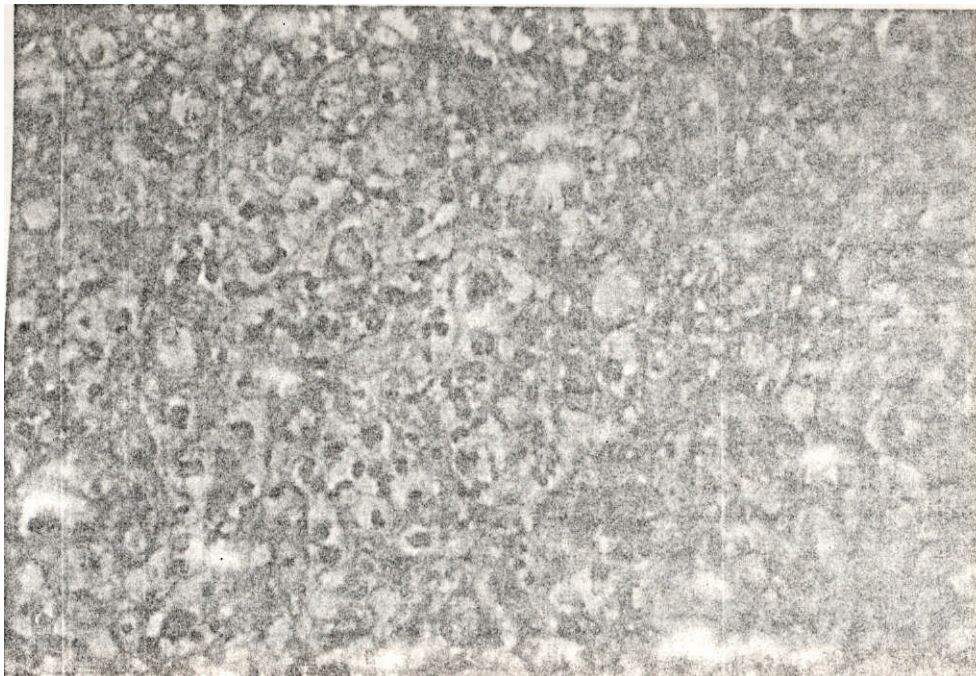


Figura 15 - Caso 14: ENH. Mesma área

Escassos grânulos bacilares. Fite-Faraco (aumento original 160 x).

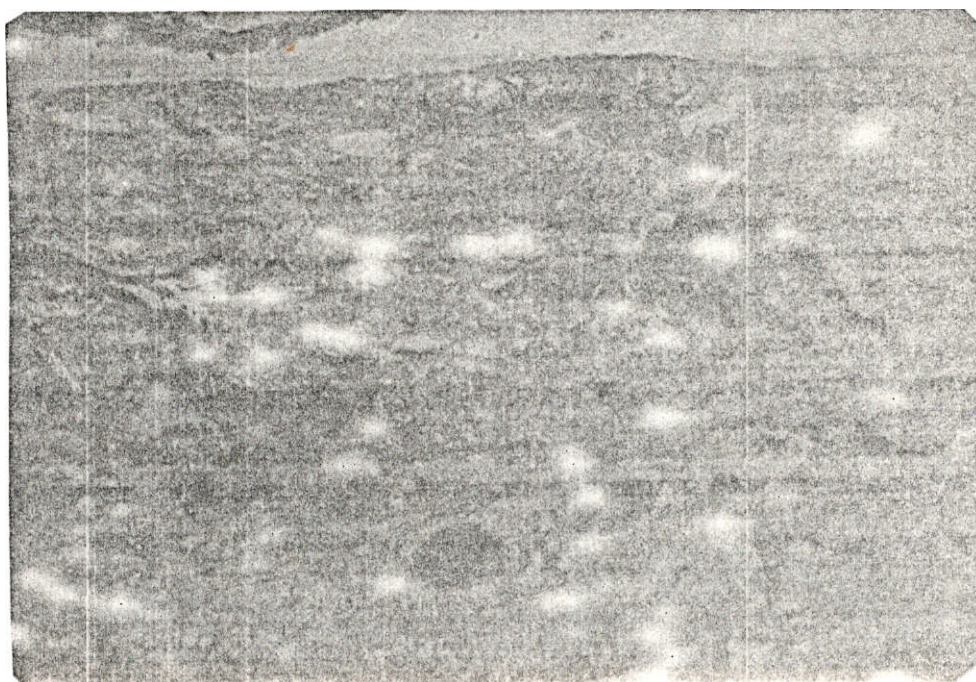


Figura 16 - Caso 14: Fenômeno de Lucio. Aspecto geral.

Observar necrose e destacamento da epiderme. HE(aumento original 10 x).

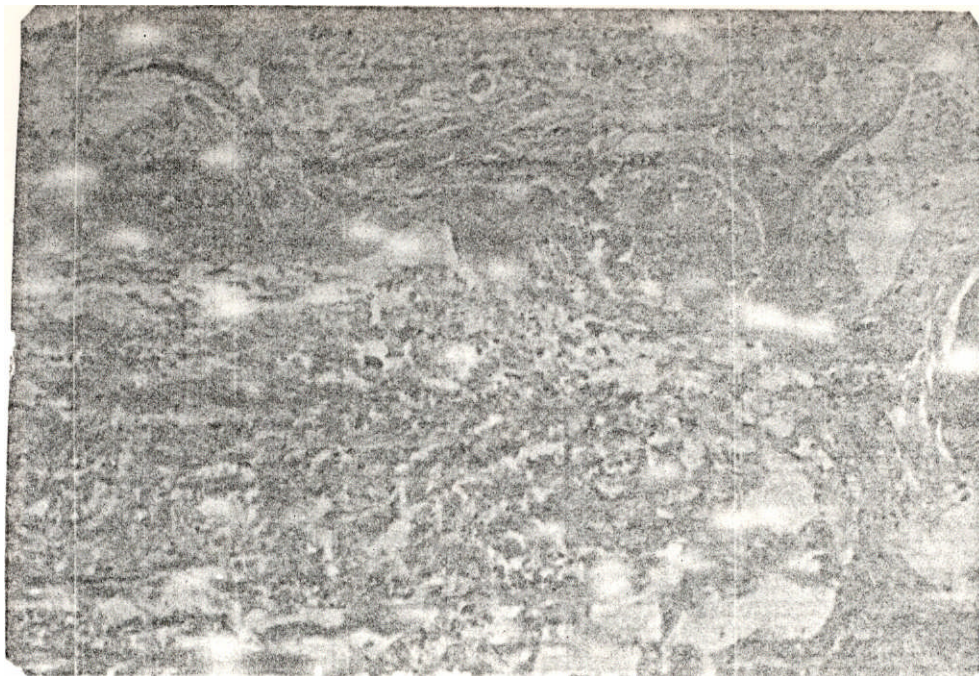


Figura 17 - Caso 14: Fenômeno Lucio. Aproximação

Pequenos vasos com trombose e necrose do infiltrado com intensa fragmentação nuclear. HE (aumento original 40x)

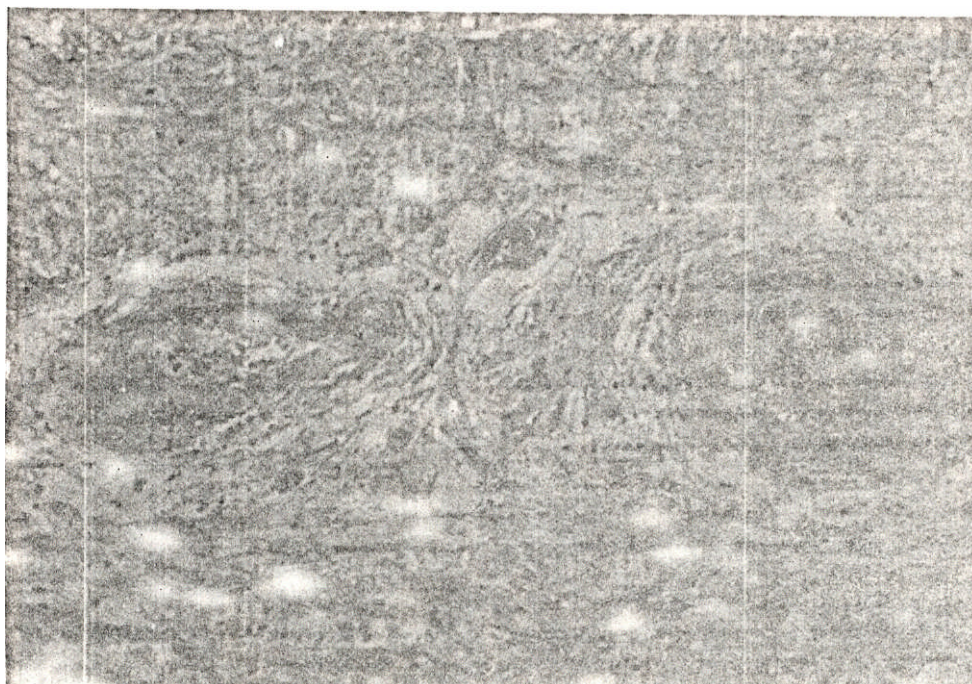


Figura 18 - Caso 14 : Fenômeno de Lucio.

Trombose em vênulas com exsudação e fragmentação de neutrófilos na parede. HE (aumento original 100 x)

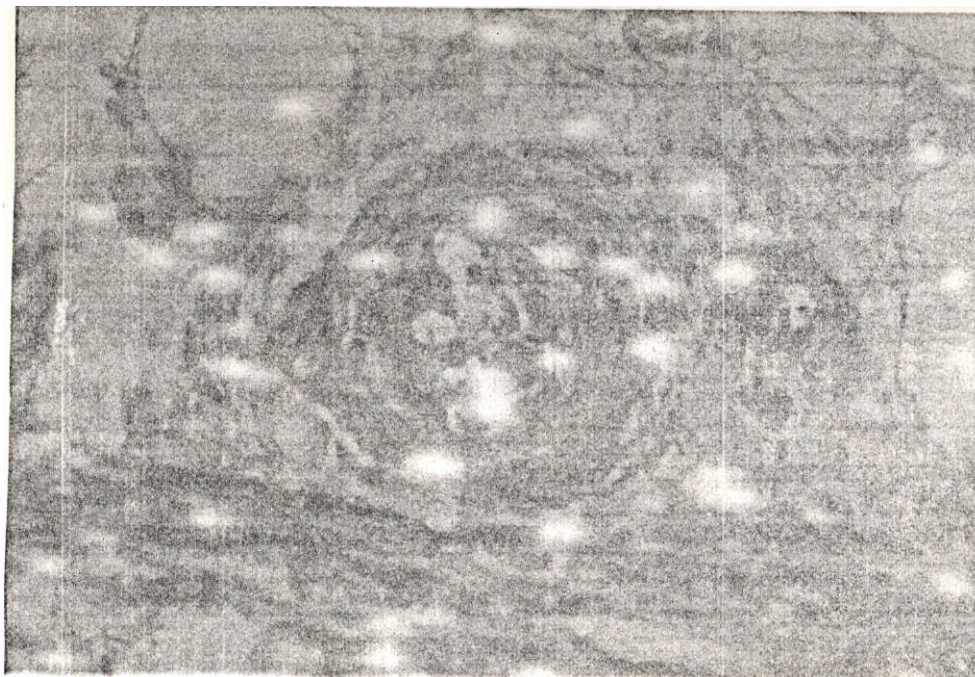


Figura 19 - Caso 14: Fenômeno de Lúcio.

Vaso do derma profundo com dissociação da parede por infiltrado virchoviano.

HE (aumento original 100x)

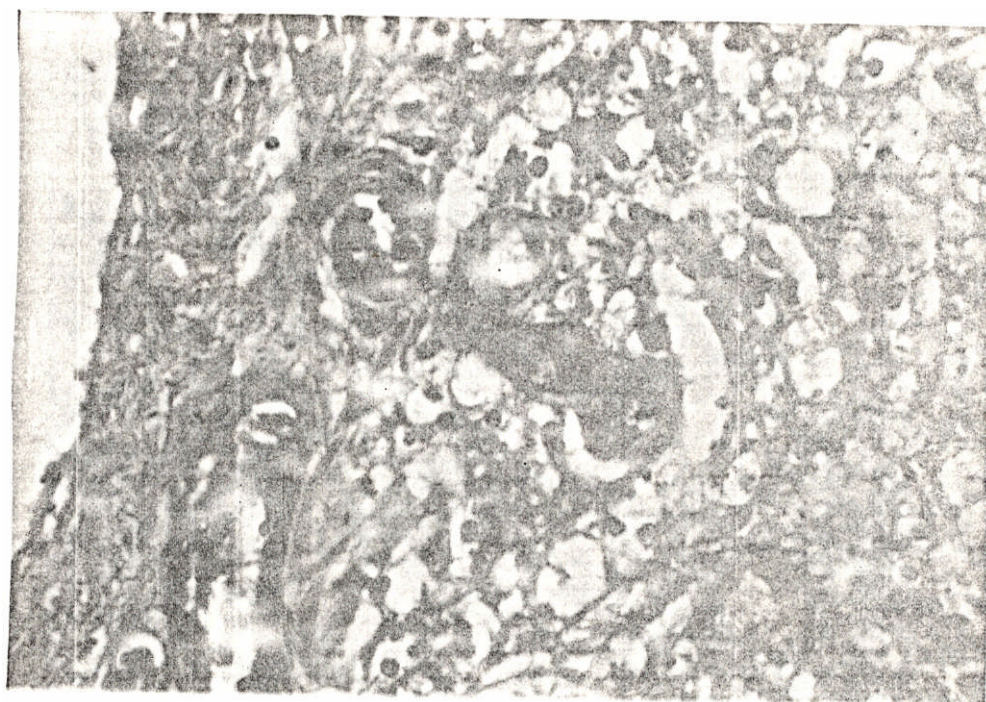


Figura 20 - Caso 14: Fenômeno de Lúcio.

Bacilos em endotélio de pequeno vaso superficial.

Fite-Faraco (aumento original 160x)

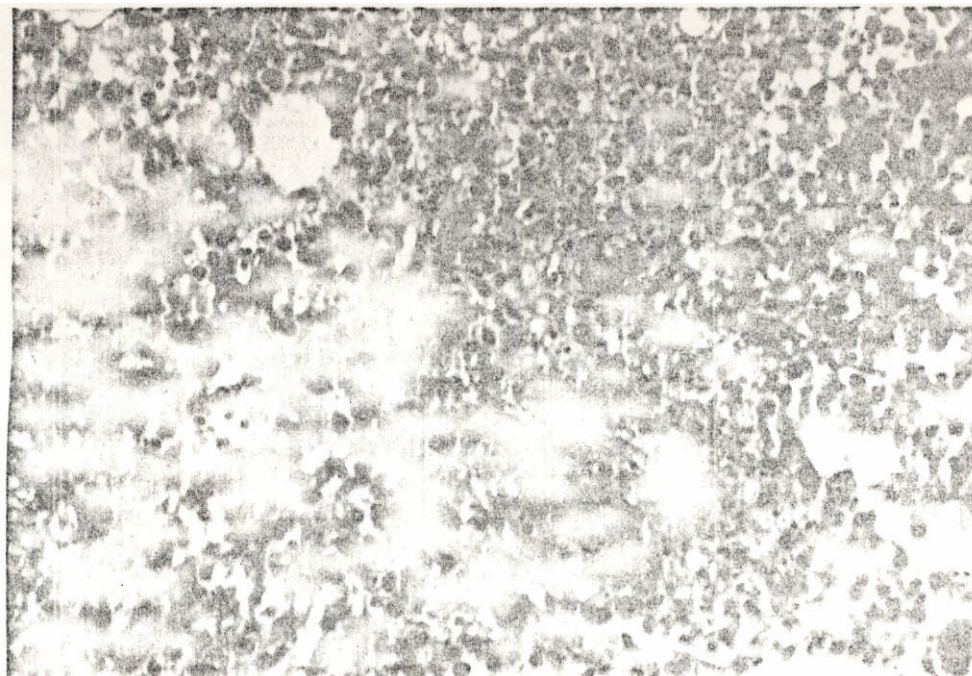


Figura 21 - Caso 17: ENH

Area com exsudato neutrofilico ao longo de infiltra do virchoviano repressivo. Deposição de fibrina e pequeno vaso com trombo de fibrina, tumefação e proliferação endotelial. HE (aumento original 100x)

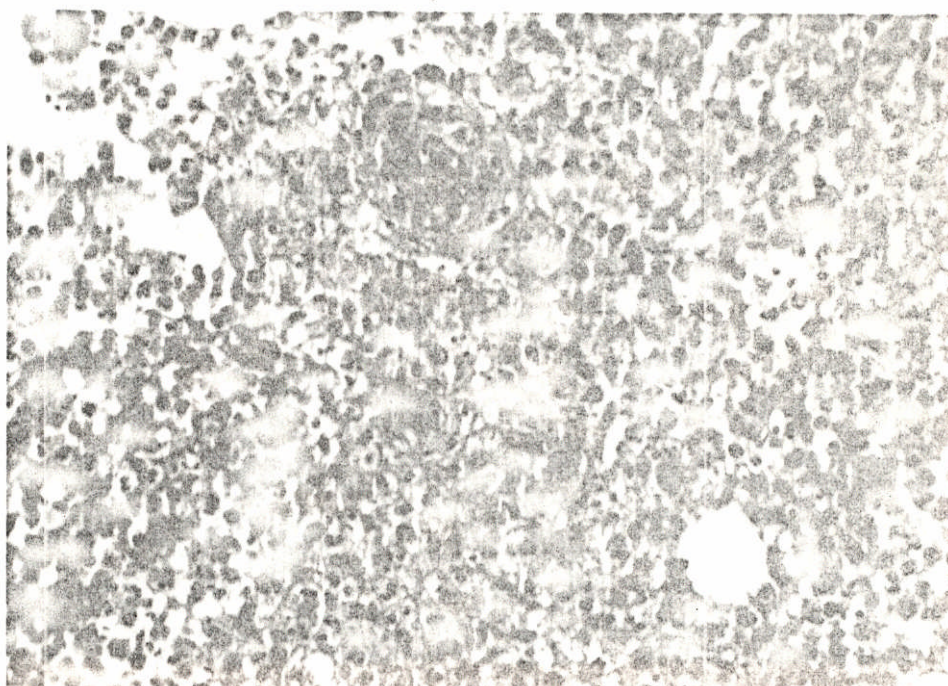


Figura 22 - Caso 18 ENH

Área corn intensa exsudação neutrofllica e depsito de fibrina em parede pequeno vaso. HE (aumento original '10 x).

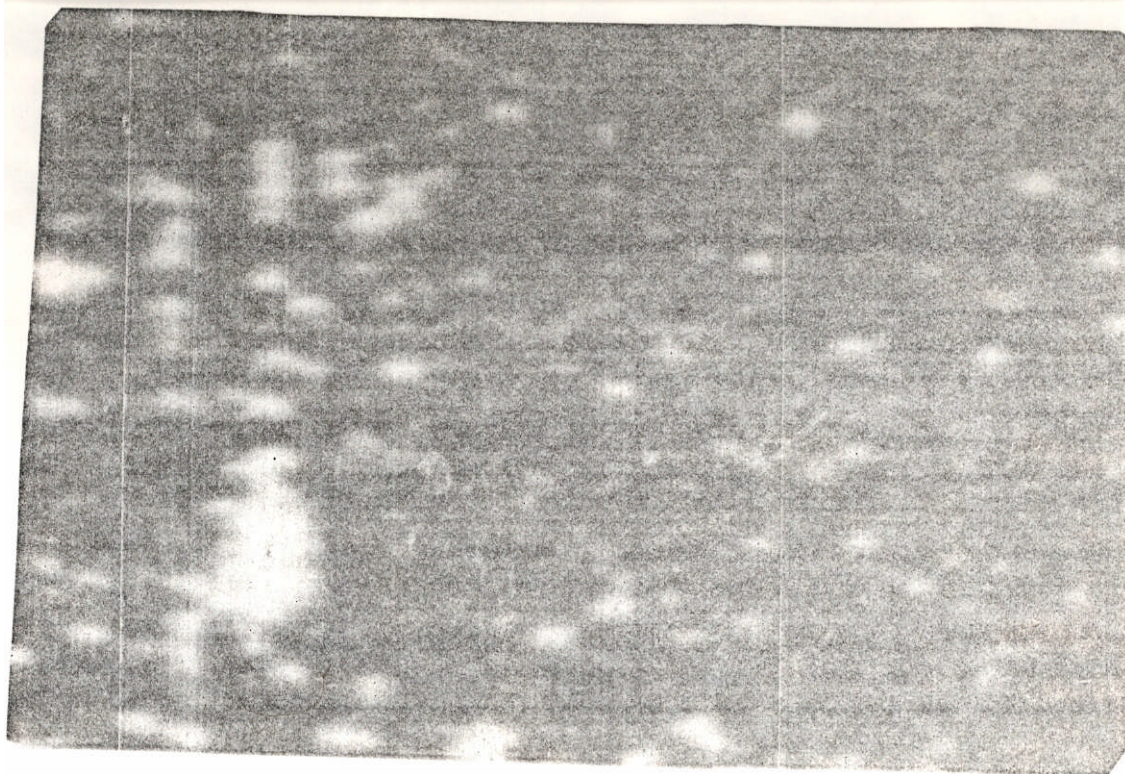


Figura 23 - Caso 16: ENH

Depósito de C3 na ZMB e vasos de pequeno calibre
proximos a ZMB. IFD (imunofluorescencia direta)
(aumento original /10x)

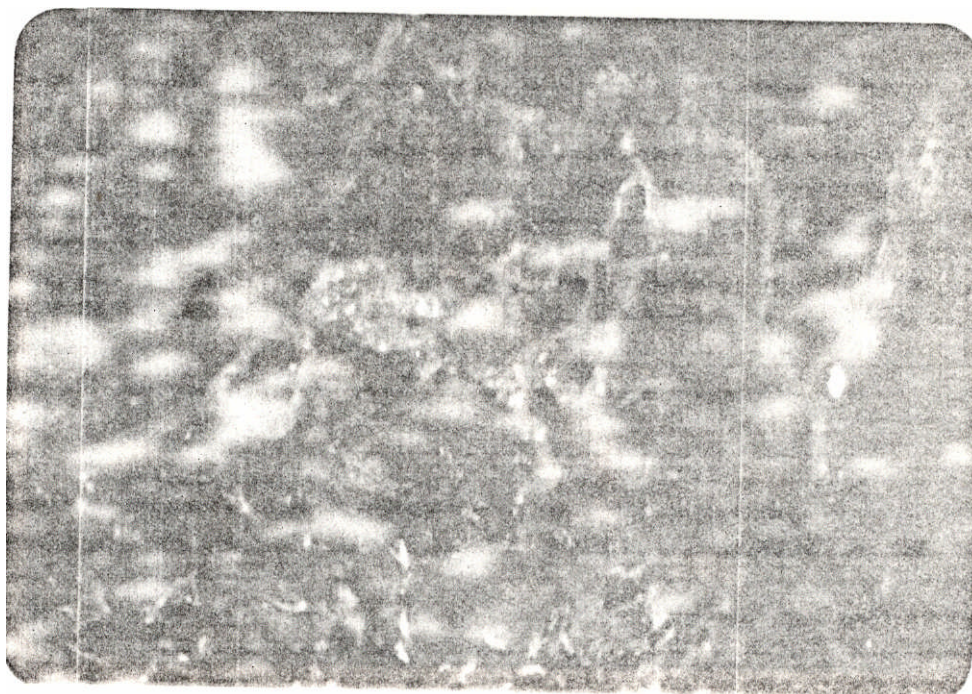


Figura 24 - Caso 20: ENH

Depósito de C1q na ZMB e vasos próximos a ZMB. IFD
(aumento original 40 x).

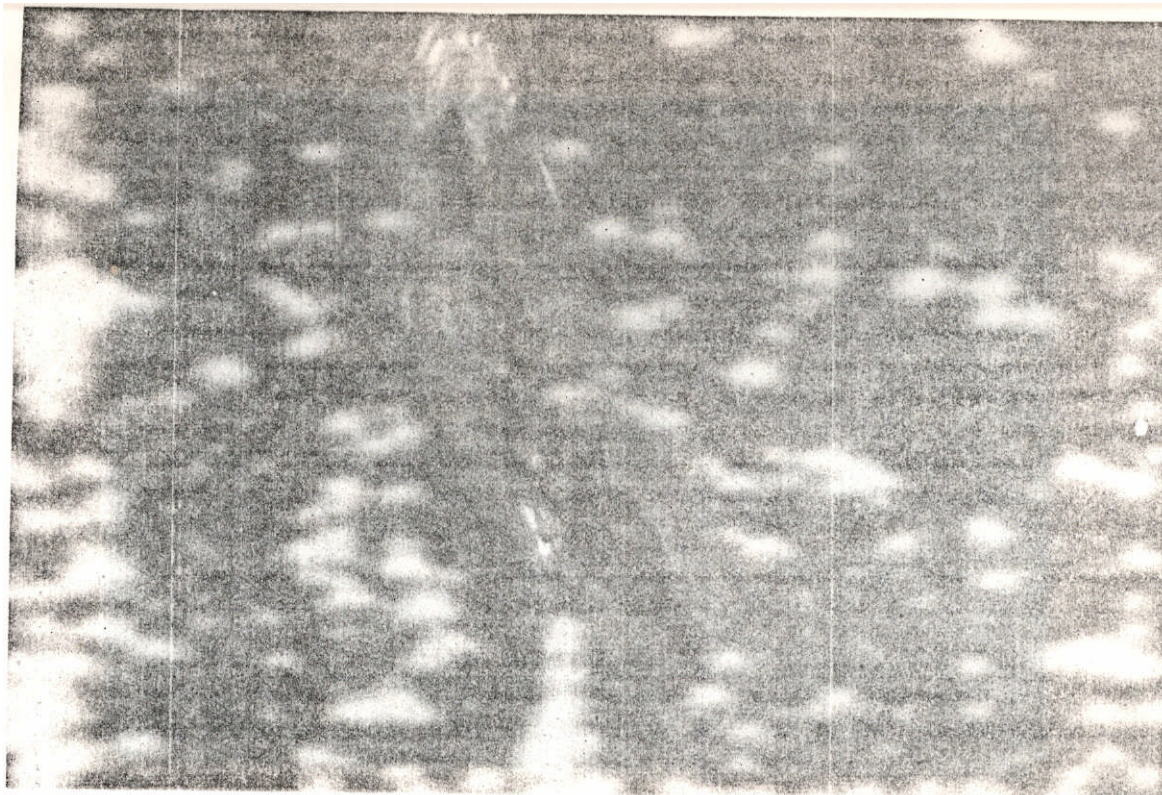


Figura 25 - Caso 13: ENH

Deposito de C3 em vaso de grande calibre do derma profundo. IFD (aumento original 40x).

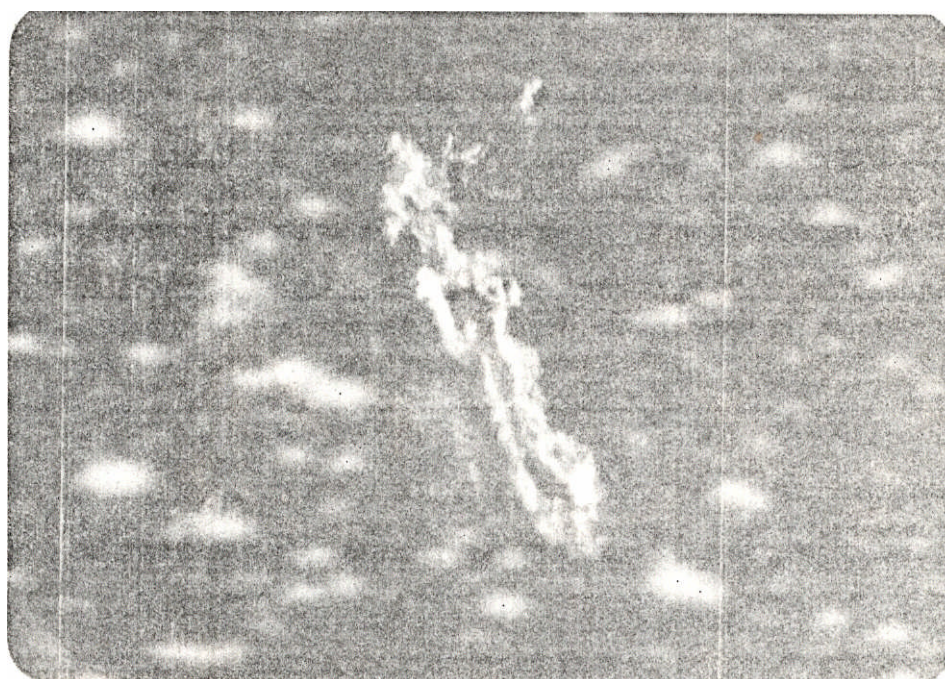


Figura 26 - Caso 17: ENII

Depósito de C1q em vaso calibroso do derma profundo. IFD (aumento original 40 x).

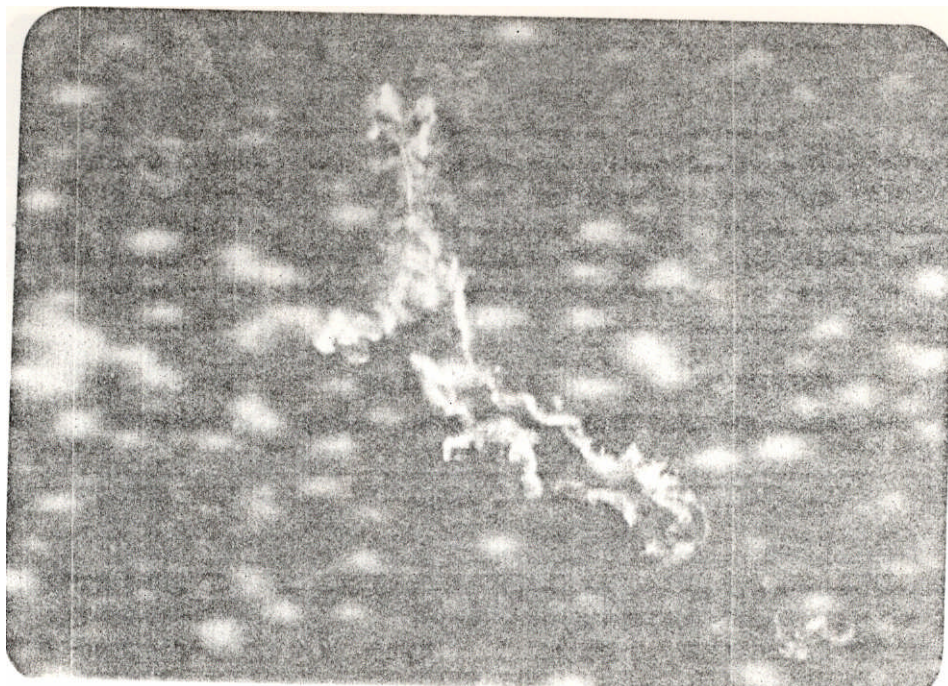


Figura 27 - Caso 17: ENH

Depósito de C3 em vaso calibroso do derma profundo. IFD (aumento original 10 x).

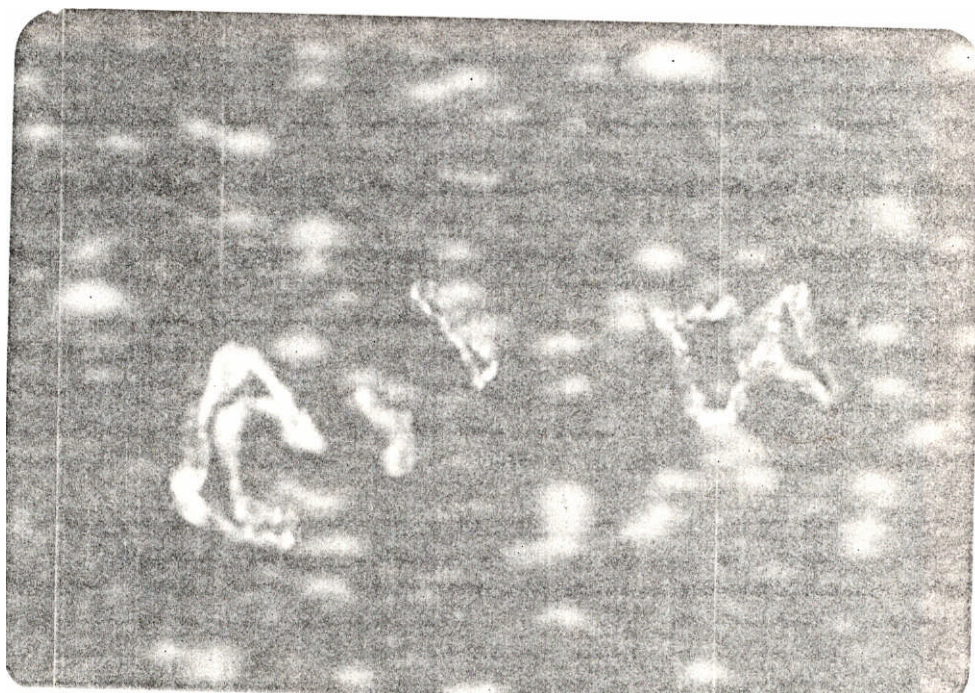


Figura 28 - Caso, 18: ENH

Depósito de C3 em vasos calibrosos de derma médio e profundo. TFD (aumento original do x).

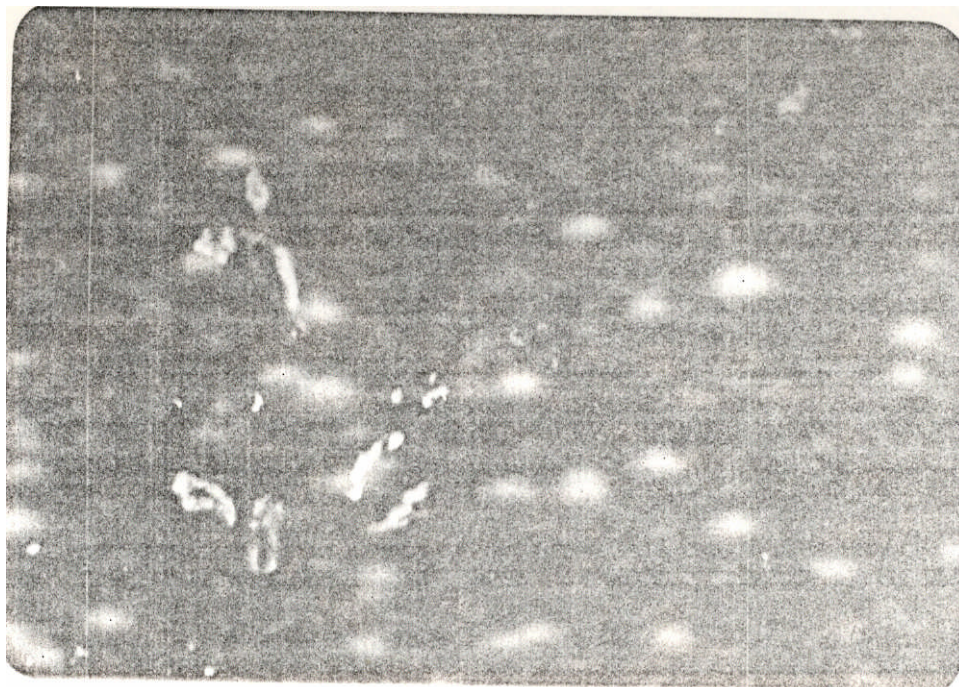


Figura 29 - Caso 22: ENH

Depósito de C1q em vasos de pequeno e médio calibre localizados em toda a extensão do derma. IFD (aumento original 40x)

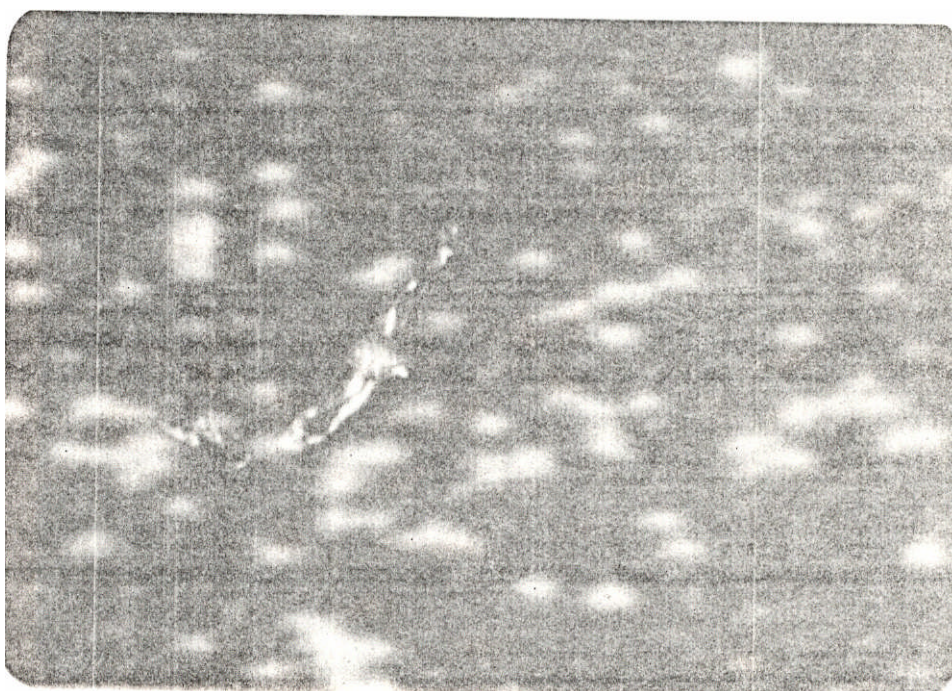


Figura 30 -Caso 22: ENH

Depósito de C3 em vasos de médio calibre do derma médio e profundo. IFD (aumento original 40x)

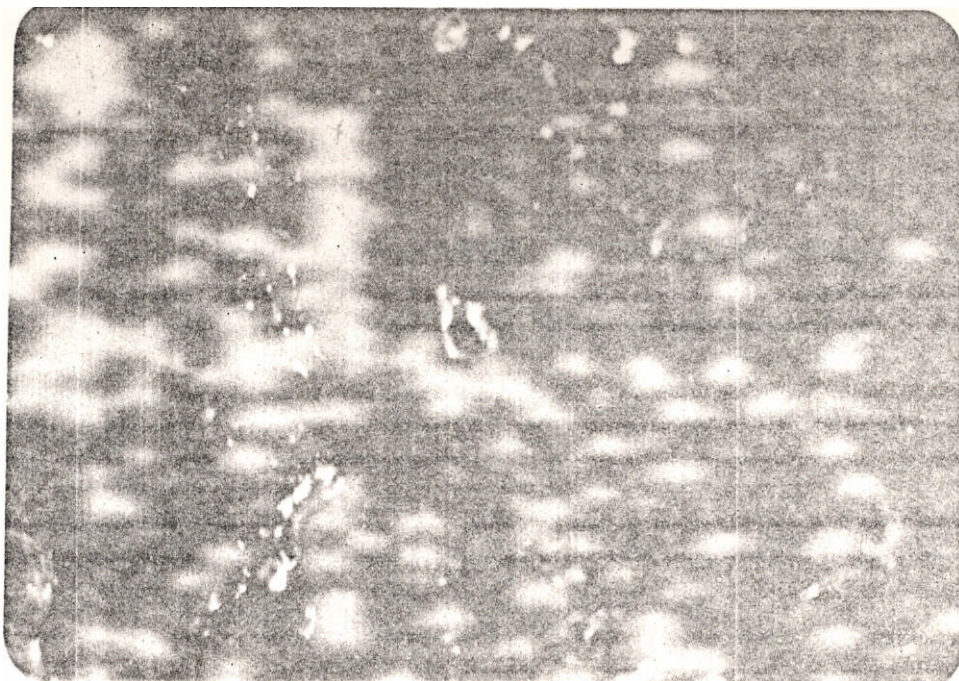


Figura 31 - Caso 22:

Deposito de Clq em vasos de vários calibres em toda a extensão do derme IFT (aumento original. 40 x).

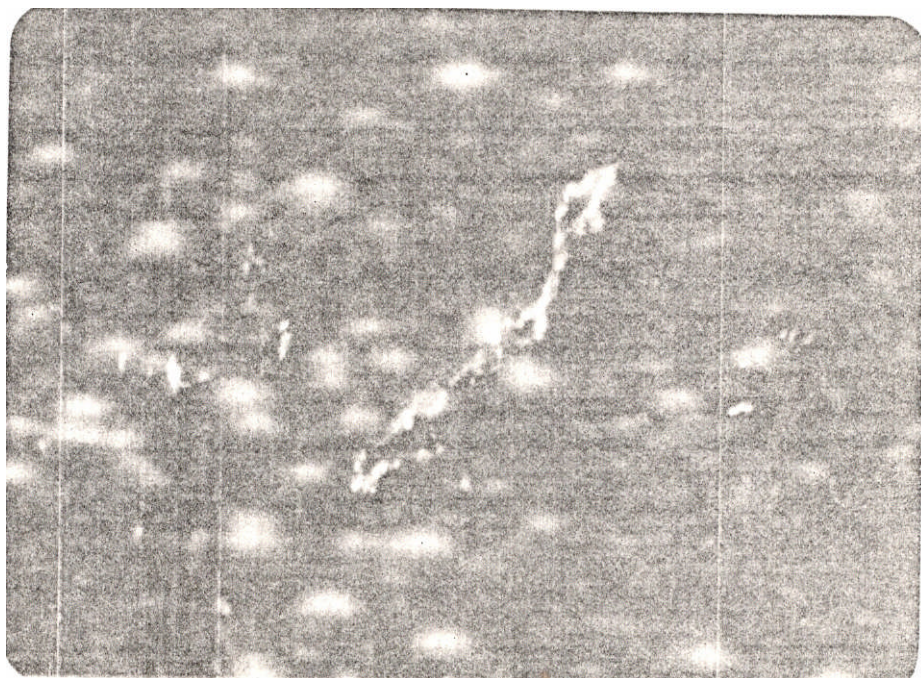


Figura 32 - Caso 22: FNH

Deposito de Giq em vasos de vários calibres em toda a extensão do derma. IFD (aumento original 10 x).

7. CONCLUSÕES

Comparando os achados histopatológicos com os achados imunohistoquímicos e os dados observados na literatura, constatamos que:

- 1) Em biopsias de lesões de ENH detectamos 52%) depósitos de Ig e frações do complemento em vaso de pequeno calibre, vasos mais calibrosos do derma profundo e tecido celular subcutâneo e na zona de membrana basal da epiderme. Nas lesões específicas sem alterações histopatológicas próprias do ENH estes depósitos foram detectados apenas na zona de membrana basal.
- 2) Depósitos de frações do complemento em pequenos vasos superficiais não corresponderam a alterações microscópicas, próprias das vasculites por IC.
- 3) Os depósitos de frações do complemento em vasos mais calibrosos do derma profundo e tecido celular subcutâneo corresponderam as alterações vistas sob a forma de vasculites alterativas, exsudativas e necrotizantes.

4) Confrontando estes resultados com os dados da literatura, concluímos:

4.1) Embora seja evidente a presença de IC no ENH, o mecanismo de participação destes elementos na patogênese da reação continua pouco claro.

4.2) Os depósitos de IC em ZMB podem representar manifestações inespecíficas dentro do quadro de ENH.

4.3) Observando-se os depósitos imunes nas paredes de pequenos vasos, sem as correspondentes vasculites, podemos inferir que estes depósitos estimulando uma reatividade a nível de reação inflamatória exsudativa, sem agressão e destruição dos elementos da parede vascular.

4.4) Há fortes indícios que o envolvimento inflamatório de vasos mais calibrosos do derma profundo e tecido celular subcutâneo esteja relacionado com formação de IC na parede destes vasos.

8. RESUMO

O ENH é um episódio reacional verificado em pacientes multibacilíferos cuja etiologia tem sido associada aos IC. Os dados histopatológicos da lesão bem como a demonstração de IC em vasos com vasculites serviram de base para o conceito de que o ENH seria uma manifestação clínica da reação do ARTHUS. Contudo, a dificuldade de reprodução dos trabalhos que demonstraram imunoglobulinas e complemento em parede de vasos e/ou extravascularmente em lesões de ENH, tem lançado dúvidas na participação de IC na patogênese desta reação.

Na presente investigação, o estudo da reação de ENH empregando elementos para detecção de IC através da técnica de imunofluorescência em associação com técnicas histopatológicas rotineiras, teve por finalidade avaliar a participação dos IC neste quadro reacional.

Para a realização deste estudo foram analisadas 34 biópsias, das quais 25 apresentaram quadro histopatológico reacional compatível com ENH e 09 quadros não reacionais. Este material foi submetido a imunofluorescência direta, empregando antisoros rotineiramente utilizados para a detecção de IC.

A análise dos resultados indicou que:

- 1) Em biópsias de lesões de ENH detectamos frequentemente (52%) depósitos de imunoglobulinas e/ou complemento em vasos de pequeno calibre do derma superficial, vasos mais calibrosos do derma profundo e tecido celular subcutâneo e na zona de membrana basal da epiderme. Nas lesões específicas sem alterações histopatológicas próprias do ENH estes depósitos foram detectados apenas na ZAB (dois casos).
- 2) Os depósitos de frações do complemento em pequenos vasos superficiais não corresponderam a alterações microscópicas próprias das vasculites por IC.
- 3) Os depósitos de frações do complemento em vasos mais calibrosos do derma profundo e tecido celular subcutâneo corresponderam as alterações vistas sob a forma de vasculites alterativas, exsudativas e necrotizantes.
- 4) Confrontando estes resultados com os dados da literatura, concluímos:
 - 4.1) Embora seja evidente a presença de IC no ENH, o mecanismo de participação

destes elementos na patogênese da reação continua pouco claro.

4.2) Os depósitos de IC em ZMB podem representar manifestações inespecíficas dentro do quadro de ENH.

4.3) Observando-se depósitos imunes nas paredes de pequenos vasos, sem as correspondentes vasculites, podemos inferir que estes depósitos estão estimulando uma reatividade a nível de reação inflamatória exsudativa, sem agressão e destruição dos elementos da parede vascular.

4.4) Há fortes indícios que o envolvimento inflamatório de vasos mais calibrosos do derma profundo e tecido celular subcutâneo esteja relacionado com formação de IC na parede destes vasos.

9. SUMMARY

The erythema nodosum leprosum (ENL) is a reactional episode seen in multibacillary patients which has been associated to immune complexes. The histopathologic data as well as the immune complexes demonstration in vessels with vasculitis observed in some studies served as a basis for the concept that the ENL would be a clinical manifestation of the ARTHUS phenomenon. Further studies didn't reproduce exactly this findings and some doubts are raised the immune complexes participation in ENL.

The present investigation had as an aim evaluate the participation of immune complexes in ENL, through routine histopathologic techniques associated immunofluorescence in skin biopsies performed during these reactional episodes.

Thirty-four biopsies were analysed in this study, twenty-five from which presented histopathologic picture proper to ENL and nine of them presented a non-reactional picture. This material is submitted to direct immunofluorescence, utilizing anti-serum for immune complexes detection.

The results indicated that:

- 1.) In biopsies of ENL lesions we often (52) detected immunoglobulin deposits and/or

complement in small vessel of the superficial dermis, medium sized vessels of the deep dermis and subcutaneous fat and at the basal membrane (BMZ) of epidermis. In the specific lesions without histopathologic alterations proper of ENL these deposits were detected only at BMZ.

2.) The deposits of the complement fractions in superficial small vessels didn't correspond to microscopic alterations proper of the vasculitis by immune complexes.

3.) The deposits of the complement fractions in medium sized vessels of the deep dermis and subcutaneous fat corresponded to exudate and necrotizing vasculitis.

4.) Comparing these results with the literature data we have concluded:

4.1. We found immune complexes in biopsies in ENL, but the exact role of the elements in reaction pathogenesis remain unclear;

4.2. The immune complexes deposits in BNIZ may represent non specific manifesta

tions within the picture of ENL;

4.3. Observing the immune deposits on the wall of the small vessels, without the corresponding vasculitis, we can conclude that these deposits are stimulating a reactivity as a exudative inflammatory reaction, without destruction of the elements components of the vascular wall;

4.4. There are strong evidences that the inflammatory involvement of medium sized vessels of the deep dermis and subcutaneous fat are related to the immune complexes formation on the wall of these vessels.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGNELLO, V. et al. - Precipitin reactions of the Clq component of complement with aggregated gamma-globulin and immune complexes in gel diffusion. Immunology, 19:909-15, 1970.
2. ALONSO, A.M. - Eritema nodoso na lepra. Bol serv. Nac. Lepra, 15:72-85, (nº esp., 1956).
3. ARTHUS, M. - Injections répétées de serum de cheval chez la lapin. Compt. rend. soc. Biol., 55:817, 1903.
4. BARRERA, F. P. & CHAVARRIA PERA, A. - Manifestações agudas da lepra. Rev. med. Latino Americana, 12:773-805, 1927.
5. BASTAZINI, I. - Contribuição ao estudo da reação hanseníase. Botucatu, 1973. Tese - Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu (MUM)).
6. BECHELLI, L. M. & ROTBERG, A. - Compêndio de leprologia. 2ª ed. Rio de Janeiro, Serviço Nacional da Lepra, 208-18, 1956.
7. BJORVATN, B. et al. - Immune complexes and complement hypercatabolism in patients with leprosy. Clin. exp. Immunol., 26:388-96, 1976.
8. BJUNE, G. - Significance of immune reactions in leprosy. J. Oslo Cy. Hosp., 30:81-100, 1980.
9. BULLOCK .et al. - Immunohistologic alteration of skin and ultrastructural changes of glomerular basement membranes in leprosy. Amer. J. trop. med. Hyg., 23:81-6, 1974.

10. CASTRO, A. M. - Contribuição ao estudo anátomo-clínico da reação leprótica. Rev. Bras. Leprologia, 11:23-54, 1953.
11. COCHRANE, R. G. - A practical textbook of leprosy. London Oxf. Univ. Press, 1947, p.98.
12. CONGRESSO INTERNACIONAL DE LEPROLOGIA, 6, Madrid, 1953. Memória... Madrid, Asociacion Internacional de la lepra, 1953.
13. DANIELSEN, D.C. & BOECK, C.M. - Trépité de la _spdalskhad ou elephantiasis des Grecs. Paris, J.B. Bailliere, 1848, p. 208-15.
14. FARACO, J. - Bacillos de Hansen e cortes de parafina; metho do complementar para pesquisa de bacillos de Hansen em cortes de material incluído em parafina. Rev. bras. Leprol., 6:177-80, 1938.,
15. FITE, G.L. - Staining of acid-fast bacilli In paraffin sections. Amer. J. Path., 14:491-507, 1938.
16. FLAGEUL, B. et al. - Changes in the T cell content of dermal granulomas and peripheral blood during o course of leprosy. In: INTERNATIONAL LEPROSY CONGRESS, 12, Nova Deli, 1984. Proceedings... 1984, p.154-6.
17. FLEURY, R.N. & BASTAZINI, I. - Reação hansenica com lesões viscerais. Hansen. Int., 3:87-93, 1978.
18. GELBER, R.H. 'et al. - Clinical correlation of Clq precipitating substances in the sera of patients with leprosy. Amer. J. trop. Med. Hyg., 23:471-7, 1974.

19. GELL, P.G.H. & COOMBS, R.R.A. - Clinical aspects of immunology. Oxford, Blackwell, 1963.
20. GOFHMAN- YAHR M.- Aspects on research in the immunology of leprosy. Current thoughts on the pathogenesis of reactional lepromatous leprosy. In: INTERNATIONAL LEPROSY CONGRESS, 11, Mexico, 1978, Amsterdam, Excerpta Medica, 1980, p.146-50.
21. GOLDMAN, M. - Fluorescent antibody methods. New York, Academic Press Inc, 1968, p.1-103.
22. GONÇALEZ, E. et al. - Case records of the Massachusetts General Hospital - case 49/1985 - ENL. New Engl. J. Med., 313:1464-71, 1985.
23. GOWER, R.G. et al. - Leukocytoclastic vasculites:sequential appearance of immunoreactants and cellular changes in serial biopsies. J. inv. Derm. , 69:477-84, 1977.
24. HALLOPEAU, H. & GRANDCHAMP. L,P. - Diagnostic des leprides erithemateuses et de l'erytheme noueux. Bull Soc. Franc. Dermat. Syph., 16:153-4, 1905.
25. HARTER, P. - L'erytheme nodosum de Murata. Revue de La Literature etude de 185 cas. Bull. Soc. Path. Exot., 55: 993-1024, 1965.
26. HANSEN, G.H. & LOFT, C. - A lepra em seus aspectos clínicos e patológicos. Rev. bras. Leprol., 10:209-28, 1942.
27. HASTINGS, R.C. - Leprosy. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1985.

28. JOB, C.K. et al. - Erythema nodosum leprosum, a clinical pathological study. Int. J. Leprosy, 32:177-84, 1964.
29. LARA & RODRIGUES, apud SOUZA LIMA, L. & MAURANO, F.- Reação leprótica. Rio de Janeiro, Serviço Nacional de Lepra, 1949, p.144-6.
30. LEONARD WOOD MEMORIAL CONFERENCE ON LEPROSY, Manila, 1931, Philp. J. Sc., 41:1941-5, 1931.
31. LILLIE, R.D. - Histopathologic technic and practical histochemistry, 2.ed. New York, Blakinston, 1954, p,114-5.
32. LONDONO, F. et al. - Erythema nodosum leprosum. Arc. berm., 113:234-5, 1977.
33. MALABAY, M.C. et al. - The histopathology and histochemistry of erythema nodosum.leprosum. Int. J. Leprosy, 33:28-49, 1965.
34. MIRANDA, R.N. - Contribuição ao estudo do tema Eritema nodoso na Lepra. Bol. Serv. Nac. Lepra, 15:85-90 (nº esp)9 1956.
35. MODLIN, R.L. et al. - Tissue and blood T-lymphocyte subpopulations in erythema nodosum leprosum. Arch. Derm.. 121:216-19, 1985.
36. MORAN, C.J. et al. - Evidence for circulating immune complexes in leprosy. Lancet., 2:572-3, 1972.
37. MSHANA, R.N. et al. - Thymus dependent lymphocytes in leprosy. It lymphocyte subpopulations defined by monoclonal antibodies. Int. J. Leprosy, 50:291-6, 1982.

38. MSHANA, R.N. et al. - Demonstration of mycobacterial anti
gens in leprosy tissues. Int. J. Leprosy, 50:1-10, 1982.
39. MSHANA, R.N. - Hypothesis: erythema nodosum leprosum is pre
cipitated by imbalance of T lymphocytes. Leprosy Rev.,
53:1-7, 1982.
40. MURATA, M. - Ueber erythema nodosum leprosum. Jap. Z. fur.
Dermat. U. Urol., 12:1013-51, 191P.
41. MURPHY, G. F. et al. - Erythema nodosum leprosum: nature and
extent of the cutaneous microvascular alterations. J.
Amer. Acad. Dermatol., 14:59-69, 1986.
42. NAAFS, B. et al. - Mycobacterium leprae monoclonal antibo
dies cross-react with skin: An alternative response in
leprosy. J. inv. Derm., 94:685-88, 1990.
43. OPROMOLLA, D.V.A. & FLEURY, R.N. - Nocões de hansenologia
In: Centro de Estudos "Dr. Reynaldo Quagliato". Bauru,
Instituto Lauro de Souza Lima, 1980, p. 84796, 101-7.
44. PECORARO, V.E. - Eritema nodoso na lepra. Rev:bras.Leprol.,
10: 67-89,1942.
45. PEPLER, W.J. et al. - The histopathology of acute panniculi
tis nodosa leprosa (Erythema nodosum leprosum) Int. J.
Leprosy, 23:53-60,1955.
46. PETRI, V. - An usual case of erythema nodosum leprosum,,
Hans. Int., 6:51-4, 1981.
47. PFALTZGRAFF, E.R. & BRYCESON, A. - IN: HASTINGS, R.C. - Le-
prosy. Edinburgh,Churchill Livingstone, 1985, p.134-76
cap. VII.

48. PHILIPPSON, L. - Die histologie der acut entstehenden hype
raemischen (erythmatoesen). Flecke der Lepra tuberosa .
Arch. f. path. Anat. u. Phys. f. Kiln. Med., 132:229-39,
1892.
49. PITT, A.L. et al. - Reaction leprosa manifestaciones humora
les y su correlaciOn clinica. Leprologia, 7:127-32, 1962.
50. PORTUGAL, H. - Patologia da Lepra. Rev.bras. Leprol. 9 12:
49-64, 1944.
51. QUISMORIO, F.P. et al. - Immunoglobulin deposits in leproma
tous leprosy. Arch. Dem., 111:331-34, 1975.
52. RAMOS e SILVA, J. - Eritema nodoso na lepra. Bol. Serv.Nac.
Lepra, 15:5-8, 1956.
53. RAMU, G. & RAMANUJAM, K. - Reactive states in lepromatous
leprosy. A study clinical and bacteriological aspects.
Leprosy in India, 36:3-19, 1964,
54. RATH DE SOUZA, P. - Estrutura histol0gica; outros dados la
boratoriais; bacterioscopia. Bol. Serv. Mac. Lepra, 15-:
26-9, 1956. (Ng esp)
55. REA, T.H. et al. - Erythema nodosum leprosum in the absence
of chemotera py: a role for cell-mediate iMmunity. Lan
cet., 2:1252 , 1972. (reply).
-
56. REA, T.H. et al. - Erythema nodosum leprosum in a General
Hospital. 'Arch perm ., 111:1575-80, 1975.
57. REA, T.H. et al. - Immunologic responses in patients with
lepromatous leprosy. Arch Derm ., 112:791-800, 1976.

58. REA, T.H. et al. - Erythema nodosum leprosum. Arch berm ., 113:234-5, 1977.
59. REA: T.H. et al. - Epidermal keratinocyte Ia expression, Langerhans cell hyperplasia and lymphocytic infiltration in skin lesions of leprosy. Clin. exp. Immunol., 65:253-59, 1986.
60. REA, T.H. - An overview of reacional states in Hansen's disease (HD). Star, 49:1-5, 1989.
61. REES, R.F.W. - The microbiology of leprosy. IN: HASTINGS, [C. - Leprosy. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1985, p. 31-32.
62. RIDLEY, D.S. - A bacteriologic study of erythema nodosum leprosum. Int. J. Leprosy, 28:254-66, 1960.
63. RIDLEY, D.S. & JOPLING, W.H. - Classification of leprosy according to immunity: a five-group system. Int. J. Leprosy, 34:255-73, 1966,
64. RIDLEY, D.S. - Reactions in leprosy. Leprosy Hey., 40:77-81, 1969.
65. RIDLEY, D.S. - Skin biopsy in leprosy. Basle, Documenta Gelgy, 1977, 13-5, p.57.
66. RIDLEY, M.J. & RIDLEY, D.S. - The immunopathology of erythema nodosum leprosum: the role of extravascular complexes. Leprosy Rev., 54:95-107, 1983.
67. ROJAS-ESPINOSA, O. et al. - Presence of soluble M. leprae derived antigen in the inflammatory exsudate of reacional lepromatous leprosy. LaarDay ROV.U:229-38, 1985.

68. SAITZ, E.W. et al. - Complement and second component of complement in leprosy. Int. J. Leprosy, 36:400-04, 1968.
69. SELL, S. Immunopathology. In: KISSANE, J.M. - Anderson's Pathology. 9B ed. St. Louis, Mosby Company, 1990, p.512.
70. SHEN, Y.J. et al. - Identification in situ of activated T_H lymphocytes in human leprosy skin lesion. Int. J. Leprosy, 55:494-8, 1987.
71. SOUZA LIMA, L. & MAURANO, F. - Reação leprotica. Rio de Janeiro, Serviço Nacional de Lepra, 1949, p.9-13, 144-6.
72. STEIN, A.A.V. - Zur morphologie der leprareaktion I. Mitteilung histologische veränderungen bei der I. typus von leprareaktionen. Int. J. Leprosy, 7:149-60, 1939.
73. THANGARAJ, H. et al, - Epidermal changes in reactional leprosy: Keratinocyte Ia expression as a indicator of cell-mediated responses. Int. J. Leprosy, 56:401-5, 1988.
74. TOLENTINO, M.M. - Reagao hansenica com especial referencia ao comprometimento hepatico. Campinas, 1975. Tese- Faculdade de Ciencias Medicas (UNICAMP).
75. TRINDADE, M.A.B. - Reaggo de Mitsuda em contatos consanguíneos de doentes de hanseniose com formas bacilíferas. São Paulo, 1987. Tese- Escola Paulista de Medicina.
76. TURK, J.L. - Reactions in leprosy. In: BONOMO, L. & TURK, J. L. Proceedings of the International Symposium of Immune Complex Diseases. Milan, Carlo Erba, 1970, p.165-71.
77. TURK, J.L. - Imunologia em clinica medica. Sao Paulo, Manole, 1973.

78. WADE, H.W. - Lepra reaction in tuberculoid leprosy. Int. J. Leprosy, 2:279-92, 1934.
79. WADE, H.W. - The nature of erythema nodosum type of reaction lesion in lepromatous leprosy, with special reference to effects of repeated reactions. In: CONGRESS INTERNATIONAL OF LEPROSY. ,6, Madrid.1953,Memoria.Madrid, 1953,p.725-9.
80. WALLACH, D. et al. - Imbalances in T cell subpopulations in lepromatous leprosy. Int. J. Leprosy, 50:282-90, 1982.
81. WALDORF, D. et al. - Impaired delayed hypersensitivity in patients with lepromatous leprosy. Lancet, 2:773-5, 1966.
82. WATERS, M.F.R. et al. - Mechanisms of reaction in leprosy. Int. J. Leprosy, 39:417I-28, 1971.
83. WEMAMBU, S.N. et al. - Erythema nodosum leprosum: clinical manifestation of the Arthus phenomenon. Lancet, 2:933-5, 1969.

SOLUÇÕES E REAGENTES

Imunofluorescência

1.1. Tampão fosfato (PSB)

cloreto de sódio	8,17 g
fosfato de sódio monobásico	0,36 g
fosfato de sódio dibásico ...	2,65 g
timerosal	0,1 g
H ₂ O destilada q.s.p.....	1000ml

pH= 7,2

1.2. Azul de Evans

azul de Evans	10 mg
PBS q.s.p	100 ml

para uso diluir 1/10

1.3. Tween 80 - 1%.

tween 80	1,0 ml
PBS	99 ml

1.4. Glicerina tamponada

glicerina	90 ml
tampão carbonato-bicarbonato (solução A+B)	10 ml

pH= 9,5

1.4.1. Solução A+B

Solução A

carbonato de sódio	5,3 g
H ₂ O destilada	100 ml

Solução

bicarbonato de sódio	4,2 g
H ₂ O destilada	100 ml

Solução A +
solução A 10 ml
solução 3 13 ml
pH= 9,5

1.5. Agar 0,1%

agar noble 0,1 gr
H2O destilada 100 ml

1.6. Antísoros:

anti IgT conjugado à fluoresceína
anti IgM conjugado à fluoresceína
anti IgG conjugado à fluoresceína
anti C3c conjugado à fluoresceína
anti Clq conjugado à fluoresceína

anti fibrinogênio conjugado à fluoresceína
anti cadeia kappa conjugado à fluoresceína
anti cadeia lambda conjugado ,à fluoresceína