

Eliane Aparecida Silva

**QUANTIFICAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE
ANTICORPOS ANTI-PGL-I, NEOPTERINA E
PROTEÍNA C REATIVA EM PACIENTES COM
HANSENÍASE DURANTE A POLIQUIMIOTERAPIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais (Modalidade Biologia Tropical) da Faculdade de Medicina de Botucatu - Universidade Estadual Paulista, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa Dra Fátima Regina Vilani Moreno

**Botucatu - SP
2005**



Foram tantas coisas feitas juntos, momentos fotografados e quadrados em nossos corações, que facilitaram muito minha chegada até aqui.

*Armando, Linda, Beto e Elaine
dedica este trabalho a vocês, por terem
acreditado em mim.*

Dedico

To Dear Vasos Korkow

*Who has always waited for me on the other side of the
ocean.*

Martha, Daniel e Rodrigo

*que, pelo afeto e receptividade, me auxiliaram na
conquista dos meus objetivos*

Agradecimentos

Este trabalho congrega o interesse, a dedicação e os esforços de muitos, portanto, é difícil enumerar todas as pessoas que tiveram uma participação, em diferentes momentos.

Àqueles de quem eu puder me lembrar, meu muito obrigado; os que porventura, não estiverem aqui citados, perdoem-me e considerem-se agradecidos.

Agradecimentos

*À Prof.^a. Dr.^a. Fátima Regina Vilani Moreno,
minha orientadora e amiga, que acompanhou pacientemente
e com muito critério a elaboração deste trabalho e cuja
orientação foi fundamental para a sua conclusão.*

*Ao Prof. Dr. Diltor Vladimir Araújo
Opromolla, “in memoriam”, pelo grande incentivo que
recebi na minha carreira e pela demonstração de amor à
pesquisa científica.*

*A Deus, que onipotente e onipresente,
sempre nos orienta e conduz para mais perto de sua
infinita grandeza e bondade.*

Agradeço a todos que estiveram comigo nesta caminhada

Ao Dr. Bernard Naafs, pelas idéias, ensinamentos e por demonstrar que a amizade pode ultrapassar qualquer barreira em relação a diferenças culturais.

À chefe da Equipe Técnica de Imunologia, Maria Esther Salles Nogueira, por toda a ajuda e amizade ao longo desses anos.

Ao Prof. José Roberto Lauris, professor da Faculdade de Odontologia de Bauru, USP, por rever e orientar a escolha de métodos para a análise estatística deste trabalho.

À Dr.^a Samira Bührer-Sécula, pesquisadora do Royal Tropical Institute, Holanda, pelo fornecimento do Kit ELISA Anti-PCP-9, utilizado neste estudo.

Ao Dr. Somei Ura, pelos ensinamentos transmitidos na prática clínica da hanseníase e por permitir a coleta de material para a elaboração deste trabalho.

À Dr^a. Elizabeth Sampaio, por autorizar a minha presença no seu serviço, permitindo o aprendizado da técnica de detecção de anticorpos anti-PGL-D.

Aos colegas pesquisadores do Instituto Lauro de Souza Lima, pelo apoio e carinho que sempre tenho recebido em especial: Elaine, Fabiana, Suzana, Vânia, Ana Carolina, Rose, Lúcia, Sônia e Dr Dirceu.

Às pesquisadoras Patrícia e Andréa, pela grande amizade e apoio que sempre têm demonstrado desde nosso ingresso na carreira e nos momentos mais difíceis da minha vida.

À pesquisadora e amiga Oda Maria, pelo carinho com que me acolheu em sua casa e pelo grande incentivo que recebi, especialmente no início deste trabalho.

À Érika, amiga, bióloga do Laboratório de Imunologia, por sua preciosa e ativa participação neste trabalho.

Aos meus colegas de trabalho e funcionários do laboratório de Imunologia do Instituto Lauro de Souza Lima: Marcia, Nice, Débora, Lariza, Érika, Tracema, Margarete e Luciana, por terem sempre colaborado para a realização desta pesquisa e pelo carinho demonstrado.

Aos funcionários da Biblioteca do Instituto Lauro de Souza Lima, Maria Helena, Gorete, Leninha, Cidinha, Lucimara, que nunca deixaram de atender a um pedido meu ou ajudar-me diante de alguma dúvida.

À Diretoria do Instituto Lauro de Souza Lima, por me permitir desenvolver este trabalho na instituição.

A Telma, do Centro de Processamento de Dados, pela ajuda durante a impressão deste trabalho.

Às minhas amigas e colegas de trabalho, Izilda, Cássia, Célia, Luciene e Selma pelo constante encorajamento e amizade.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu e do Departamento de Moléstias Infecciosas e Diagnóstico por Imagem, por toda a ajuda e pronto atendimento durante todo o período do programa de Pós-Graduação.

Aos docentes do programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina, pela qualidade dos cursos oferecidos.

À Beatriz, colega de pós-graduação, pela colaboração e estímulo no decorrer do curso.

Às funcionárias da Biblioteca da Faculdade de Medicina de Botucatu, Selma e Meire, pela elaboração da ficha catalográfica e formatação das referências bibliográficas.

À Fundação Paulista Contra a Hanseníase, pelo apoio financeiro para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos pacientes que participaram deste estudo, permitindo que por meio dele, a busca por melhor entendimento da doença seja alcançada.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. Aspectos Gerais.....	16
1.2. Formas Clínicas	17
1.3. Exame Bacteriológico	20
1.4. Poliquimioterapia	21
1.5. Aspectos Imunológicos	22
1.6. Estados Reacionais	23
1.7. Ensaaios Sorológicos	25
2. OBJETIVOS	30
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	32
3.1. Casuística	32
3.2. Métodos.....	32
3.2.1. Exame Baciloscópico	32
3.2.2. Coleta de Sangue.....	33
3.2.3. Pesquisa de Anticorpos Anti-PGL-I.....	33
3.2.4. Quantificação de Neopterina	35
3.2.5. Quantificação de CRP	36
3.2.6. Análise Estatística	36

4. RESULTADOS.....	39
4.1. Análise dos resultados em relação aos grupos de pacientes MB e PB	40
4.1.1. Pesquisa de anticorpos anti-PGL-I.....	40
4.1.2. Quantificação de Neopterinina.....	42
4.1.3. Quantificação de CRP	44
4.2. Análise dos resultados em relação à forma clínica dos pacientes (HV, HD e HT)	46
4.2.1. Pesquisa de anticorpos anti-PGL-I.....	46
4.2.2. Quantificação de Neopterinina.....	48
4.2.3. Quantificação de CRP	50
4.3. Análise dos resultados em relação aos estados reacionais	52
4.3.1. Pesquisa de anticorpos anti-PGL-I.....	52
4.3.2. Quantificação de Neopterinina.....	54
4.3.3. Quantificação de CRP	56
4.4. Exame Baciloscópico	58
4.5. Correlação entre o IB e os níveis de anticorpos anti-PGL-I, neopterinina e CRP.....	60
4.5.1. IB x anticorpos anti-PGL-I	60
4.5.2. IB x Neopterinina	62
4.5.3. IB x CRP	64

5. DISCUSSÃO	67
6. CONCLUSÕES.....	79
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
8. RESUMO.....	97
9. ABSTRACT.....	100
10. APÊNDICES.....	103
11. ANEXO.....	129

INTRODUÇÃO



1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos Gerais

A hanseníase foi inicialmente denominada "Doença de Hansen" (Morbus Hansen - MH), em referência ao médico norueguês Gerhardt Henrick Armauer Hansen, que, em 1873, estudando pacientes ao redor de Bergen, identificou a primeira bactéria patogênica ao homem, o *Mycobacterium leprae* (M. leprae), ou seja, o agente etiológico desta patologia(1).

Esta doença infecciosa crônica é considerada como uma das mais antigas e estigmatizantes ao homem, em virtude das deformidades que dela podem decorrer tendo sido considerada incurável até o início dos anos quarenta, época em que surgiu a sulfona. Em 1982, com o aparecimento da terapia com múltiplas drogas, houve um declínio na prevalência da doença. A Organização Mundial de Saúde (OMS) relatou que o número estimado de pacientes hansenianos no mundo havia se reduzido de 10-12 milhões, em 1985, para 1,8 milhões em 1995, um decréscimo de mais de 80%(2). Esse resultado promissor levou a OMS a adotar a meta de eliminação da hanseníase como um problema de saúde pública, almejando a prevalência de menos de 1 paciente para cada 10.000 habitantes até o ano de 2000(3). Entretanto, apesar dos esforços, não se conseguiu alcançar a meta de eliminação proposta, assim esse prazo foi estendido para 2005.(4)

Trata-se de uma doença com elevado grau de contágio, em que a interação entre parasita e hospedeiro resulta em comprometimento de pele e nervos, causando deformidades com incapacidades físicas numa proporção significativa de pacientes. A gravidade dessas incapacidades pode, até mesmo, gerar perdas econômicas e segregação social, o que, ainda hoje, é um dos principais problemas associados à doença (5).

O agente etiológico da hanseníase é um bacilo, membro da família das micobactérias, que se caracteriza por um envelope celular lipofílico consistindo em uma cadeia longa de ácidos graxos (C60-C86), conhecido

como ácido micólico, do qual o nome micobactéria é derivado. Em virtude da presença de um esqueleto de peptidoglicana no envelope celular, as micobactérias são classificadas como bactérias Gram positivas. A parede celular do *M. leprae* consiste em várias moléculas, como: proteínas, glicolipídeos, glicopeptidolipídeo e glicolipídeos fenólicos, como o PGL-I⁽⁶⁾. Este glicolipídeo consiste em um esqueleto fenol-glicosilado esterificado por uma cadeia de ácidos graxos ligados ao oligossacarídeo, na qual reside a especificidade da molécula^(7,8). O PGL-I forma uma camada frouxa em torno do bacilo, correspondendo a 2% de massa total bacteriana, e se acumula em macrófagos nos tecidos de pacientes virchovianos⁽⁹⁾.

O *M. leprae* não é tóxico, sendo um parasita intracelular obrigatório de células do sistema mononuclear fagocitário e células de Schwann. É álcool-ácido resistente, com capacidade de reter o corante vermelho, a carbo-fucsina, ao ser corado pelo método convencional de Ziehl-Neelsen, podendo ser encontrado isoladamente ou formando grupamentos em esfregagos de pele ou em cortes histológicos denominados globia. Apesar de todo o desenvolvimento tecnológico disponível, ainda não é possível cultivar este bacilo *in vitro*^(10, 11).

O ser humano é considerado o principal hospedeiro e reservatório do *M. leprae*. A principal via de transmissão acredita-se ser o trato respiratório, que funciona como porta de entrada do bacilo^(12,13,14). Deste modo, o contato íntimo e prolongado de pessoas suscetíveis com pacientes bacilíferos, associado a fatores externos como desnutrição, higiene e baixo nível socioeconômico, propiciariam a transmissão da doença (15).

1.2. Formas Clínicas

A hanseníase pode se manifestar sob amplo espectro clínico, correspondendo a distintos padrões da resposta imunológica do hospedeiro ao *M. leprae* (16).

Em um pólo deste espectro, esta a forma de resistência ao bacilo, a hanseníase tuberculóide (HT), na qual se desenvolve acentuada resposta

Introdução

imune celular com efetivo controle da multiplicação bacilar. Clinicamente, os pacientes HT apresentam lesões em pequeno número, bem localizadas, delimitadas, com distribuição assimétrica e de coloração acastanhada. A baciloscopia é negativa e a reação de Mitsuda é positiva. Esta forma clínica é estável em suas características e tende, na sua evolução, para a cura com ou sem tratamento ^(17, 18, 19)

O outro pólo do espectro está representado pela hanseníase virchoviana (HV), forma de baixa resistência, em que a resposta imune celular seletivamente falha em eliminar o bacilo do organismo, resultando na disseminação da doença. As manifestações clínicas iniciais são de máculas hipocrômicas que progressivamente se transformam em lesões eritemato-acastanhadas, localizadas simetricamente, brilhantes, com bordas mal definidas. Tais lesões podem envolver grandes superfícies da pele, com até 10 bilhões de bacilos por grama de tecido, formando, em algumas áreas, nódulos denominados hansenomas. Nesses pacientes há comprometimento de mucosas, nervos, articulações, ossos e vísceras. A baciloscopia é sempre positiva e a reação de Mitsuda, negativa ^(17, 18, 19).

O grupo dimorfo (HD) apresenta manifestações intermediárias variáveis entre HT e HV, de acordo com o grau de resposta imune ao *M. leprae*. Caracteriza-se clinicamente por lesões em placas, com o centro aparentemente normal e bordas de limite interno bem definido e externo difuso para a pele circunvizinha. Os nervos periféricos são freqüentemente acometidos de maneira extensa e intensa. Na baciloscopia encontra-se grande quantidade de bacilos, ainda que em menor número que nos pacientes virchovianos. Já a reação de Mitsuda pode ser negativa ou fracamente positiva nos casos mais próximos ao pólo HT ^(17, 18, 19).

A hanseníase indeterminada é considerada a fase inicial da doença e caracteriza-se por máculas hipocrômicas ou áreas circulares de pele aparentemente normal com distúrbios de sensibilidade. O teste de Mitsuda pode ter diferentes graus de positividade, até negativo. A baciloscopia de material originado das lesões é negativa. Se não for tratada, na maioria das

Introdução

vezes evolui para uma das formas características da doença; pode, no entanto, curar-se espontaneamente ^(17, 18, 19).

A classificação oficialmente utilizada no Brasil é a proposta no VI Congresso Internacional de Leprologia de Madri ⁽²⁰⁾, que divide a doença em dois tipos polares: tuberculóide e virchoviano, e em dois grupos intermediários: dimorfo e indeterminado, de acordo com critérios clínicos e bacteriológicos.

Ridley & Jopling ⁽²¹⁾ propuseram uma classificação baseada em critérios clínicos, baciloscópicos, imunológicos e histopatológicos, levando-se em conta a resistência do paciente à infecção. Deste modo, os dimorfos (borderlines) foram subdivididos e passaram a incluir os casos próximos aos pólos HT e HV, à medida que se diferenciavam conforme esses critérios. Criou-se, assim, um espectro, no qual os extremos eram constituídos pelos tipos polares tuberculóide (TT) e lepromatoso (LL), tendo os borderlines sido subdivididos em borderline-tuberculóide (BT), borderline-borderline (BB) e borderline-lepromatoso (BL).

Em 1982, a OMS estabeleceu uma classificação que pudesse selecionar o esquema adequado de poliquimioterapia (POT). Assim, definiu-se que pacientes paucibacilares (PB) eram representados por aqueles com formas HI, TT ou BT com índice baciloscópico (IB) menor do que dois em qualquer sítio avaliado. Já os pacientes multibacilares (MB) eram definidos como os BB, BL e LL ou os que apresentassem IB maior ou igual a dois ⁽²²⁾. Entretanto, em consequência da dificuldade em se estabelecer uma avaliação baciloscópica de qualidade, a estratégia sugerida para os países endêmicos, pela OMS, foi uma classificação simplificada, essencialmente clínica, que utiliza o número de lesões cutâneas e/ou troncos nervosos acometidos do paciente. De acordo com essa recomendação, são considerados PB os casos de hanseníase com até cinco lesões cutâneas e/ou com apenas um tronco nervoso acometido, e MB os casos com mais de cinco lesões cutâneas e/ou mais de um tronco nervoso acometido. Portanto, sob o ponto de vista operacional, o Ministério da Saúde optou pelo método classificatório baseado na contagem do número de lesões ⁽⁴⁾.

1.3. Exame Bacteriológico

O exame bacteriológico é um método de avaliação do número de bacilos encontrados nos esfregagos de pele obtidos depois de corados e examinados ao microscópio, em imersão. Esse número varia consideravelmente nos diferentes tipos de hanseníase e com a evolução da doença; é muito influenciado pelo tratamento, de modo que o exame bacteriológico no início da terapêutica auxilia a conduta clínica a ser instituída ^(10, 11).

A quantidade de bacilos é denominada de índice bacteriológico ou baciloscópio (IB), que varia de 0 (zero) a 6+. O IB pode ser registrado de diversos modos, sendo o sistema mais completo representado pela Escala Logarítmica de Ridley, baseado no número de bacilos em um campo microscópico médio, como detalhado abaixo):

IB = 0 (nenhum bacilo em 100 campos)

IB = 1 + (1 a 10 bacilos em média em 100 campos)

IB = 2 + (1 a 10 bacilos em média em 10 campos)

IB = 3 + (1 a 10 bacilos em um campo)

IB = 4 + (10 a 100 bacilos em um campo)

IB = 5 + (100 a 1000 bacilos em um campo)

IB = 6 + (acima de 1000 bacilos em um campo)

Os números de 0 a 6 representam o IB de cada esfregago. Se esfregagos de outros locais forem realizados, a média aritmética dos IB de cada esfregago será o IB do paciente.

Nos pacientes MB, mais especificamente nos virchovianos, observa-se que não há queda do IB durante os primeiros 12 meses de tratamento, pois os bacilos vivos e os mortos estarão sendo contados, já que ambos coram-se em vermelho pela carbo-fucsina. Nestes pacientes, queda acentuada do IB será observada dentro de cinco ou mais anos do início do tratamento ⁽²³⁾.

Portanto, o uso de métodos mais sensíveis para indicar a cura do paciente vem sendo objeto de estudos, pois os exames baciloscópicos são influenciados pela subjetividade de suas avaliações.

1.4. Poliquimioterapia

As drogas de primeira linha no tratamento da hanseníase são a dapsona, clofazimina e rifampicina. Inicialmente, essas drogas eram administradas isoladamente, porém, logo se notou clinicamente e, depois, se provou, experimentalmente, a resistência do bacilo de Hansen à dapsona e, em seguida, à rifampicina. Contudo, o número de casos com bacilos resistentes á dapsona aumentou em proporções alarmantes. A partir disso, passou-se a observar tanto resistência secundária, em que pacientes começavam a piorar em decorrência do aparecimento de bacilos resistentes, como primária, em que os indivíduos já se contaminavam com bacilos resistentes. Essa situação fez com que a OMS, em 1982(24), recomendasse esquemas terapêuticos associando as drogas de primeira linha, ficando assim determinado:

- Para os pacientes PB, preconiza-se tomar dapsona (100 mg/dia auto-administrada) e rifampicina (600 mg/mês supervisionada) no período de seis meses de tratamento. Se houver recidiva, deve-se repetir o tratamento com o mesmo esquema; porém, se for constatada mudança para a forma MB, o esquema deve ser o correspondente a essa forma.
- _ Nos pacientes MB, administra-se dapsona (100 mg/dia auto-administrada), clofazimina (50 mg/dia auto-administrada e 300 mg/mês supervisionada) e rifampicina (600 mg/mês supervisionada) por 24 meses. Caso ocorra recidiva após esse tratamento, o mesmo esquema deverá ser repetido⁽²³⁾.

Esse esquema poliquimioterapico é considerado eficaz e bem tolerado pelos pacientes, especialmente pelos MB, que são liberados do tratamento no período de 24 meses, época em que a grande maioria não apresenta mais bacilos viáveis. Atualmente admite-se que doentes com IB muito alto, na ocasião do diagnóstico, continuem o tratamento para além de 2 anos; por outro lado, aqueles com índices baixos e lesões incipientes podem parar com a medicação em 12 meses, ficando assim a critério do médico(23).

1.5. Aspectos Imunológicos

A resposta imune na hanseníase tem envolvido numerosos estudos, cujo grande interesse é com relação à apresentação espectral da doença onde se encontram dois pólos contrastantes. Um com uma profunda anergia ou ausência de resposta imunológica específica para o *M. leprae*, o pólo virchoviano, e o outro pólo com uma forte resposta de células T, o tuberculóide(21.25).

Vários estudos comprovam a relação da resposta imune do paciente hanseniano com as diferentes formas clínicas da doença. Deste modo, alguns modelos têm emergido^(25,26,27,28). Sabe-se que, numa resposta imune específica o mediador central é a célula T CD4, responsável por distintos padrões de citocinas que poderiam correlacionar-se com o espectro da doença. Neste sentido, Yamamura et al.(29), por meio da reação em cadeia da polimerase, encontraram significativa expressão de interleucina-2 (IL-2), interferon-gama (IFN- γ) e linfotoxinas nas lesões cutâneas de pacientes HT, caracterizadas por resistência à proliferação do *M. leprae* e também a cura espontânea. Em contraste, as citocinas IL-4, IL-5 e IL-10 foram mais fortemente expressas em lesões de pacientes HV correlacionadas a uma resposta imune celular ineficiente ou mesmo ausente ao *M. leprae*. Os trabalhos realizados por Sieling & Modlin^(30,31), sobre os padrões de citocinas

e de células T em lesões cutâneas de pacientes hansenianos, corroboram esses achados.

No sangue periférico, estudos têm também demonstrado esse tipo de perfil. Este fato foi mostrado por Mutis et al.(32), que, estudando o padrão de citocinas produzidas pelos linfócitos T do sangue periférico em hansenianos, encontraram linfócitos com atividades semelhantes aos Th1 (helper 1) e Th2 (helper 2). Segundo os autores, na forma HT os bacilos estimulariam os linfócitos Th1 a produzirem altos níveis de IL-2 e de IFN- γ , responsáveis pela manutenção da resposta imune celular. Já na forma HV, a estimulação dos linfócitos Th2 levaria a produção das citocinas IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10. A IL-4 e IL-10 são supressoras da atividade macrofágica, e a IL-4, paralelamente, estimula linfócitos B a produzirem anticorpos. Assim, o aumento dessas citocinas possibilitaria a persistência e replicação do *M. leprae* no interior do fagócito.

Portanto; dependendo da subpopulação de células T e da atividade macrofágica, haverá predominância de mecanismos de defesa ou de disseminação da doença, apresentados clinicamente pelas formas tuberculóide e virchoviana, respectivamente.

1.6. Estados Reacionais

Os fenômenos agudos que interrompem a marcha evolutiva crônica da hanseníase são denominados reação(10). Assim, podem-se ter reações mediadas por células ou por anticorpos em todas as formas clínicas, com exceção do grupo indeterminado, podendo essas reações serem definidas como manifestações clínicas resultantes de alterações no equilíbrio imunológico entre o hospedeiro e o agente infectante. Esses episódios reacionais na hanseníase podem ocorrer durante o curso natural da doença, no decorrer do tratamento; ou após o seu término, e afetam, principalmente, pele e nervos, podendo causar incapacidades da função do nervo periférico.

Essas reações são classificadas em dois tipos, de acordo com Ridley & Jopling(21): reação tipo 1 e tipo 2.

A reação tipo 1, também conhecida como reação reversa, acomete pacientes HT e HD e relaciona-se, provavelmente, ao aumento da reação de hipersensibilidade tardia (do tipo IV de Gel e Coombs) contra os antígenos do *M. leprae*(19'33). Em geral, não há comprometimento sistêmico e as manifestações são predominantemente localizadas. Caracteriza-se clinicamente pela exacerbação de lesões preexistentes e pelo aparecimento de novas. As lesões tomam-se mais edematosas e eritematosas.

Os tuberculóides reacionais e os dimorfos reacionais diferem entre si por algumas características. Do ponto de vista clínico, nos tuberculóides o estado geral está conservado, as lesões são bem delimitadas e pode ou não haver comprometimento dos nervos periféricos; se isso acontecer, são poucos os nervos acometidos. Nos pacientes dimorfos, as lesões às vezes não apresentam limites muito precisos, são mais edematosas, e os nervos periféricos em geral são acometidos.

A reação tipo 2, também denominada de eritema nodoso hansênico, ocorre em torno de 60% dos pacientes HV ou, HD próximos ao pólo V, sendo mais freqüente após o início do tratamento. Porém, alguns pacientes podem apresentá-la mesmo antes do início da terapêutica(35). Esse surto reacional é uma reação inflamatória aguda sistêmica que envolve a formação de imunocomplexos (predominando a reação de hipersensibilidade do tipo III de Gel e Coombs). Clinicamente é definida como uma complicação imunológica da hanseníase MB que se apresenta como nódulos, papulas e placas eritematosas, dolorosos em todo o tegumento, podendo ulcerar. Os pacientes podem apresentar sinais de comprometimento sistêmico como febre, inflamação de linfonodos, neuropatia, envolvimento articular, testicular, ocular e de extremidades(36).

A patogênese da reação tipo 2 está relacionada com a presença de depósitos de imunocomplexos nos tecidos e o envolvimento da resposta imunológica mediada por células evidenciada pela alteração do perfil de

citocinas do sangue periférico e da lesão, indicando parâmetros de resposta imune Th1 em pacientes com este tipo de reação(37).

1.7. Ensaios Sorológicos

Métodos laboratoriais têm sido desenvolvidos com a finalidade de auxiliar no diagnóstico precoce da hanseníase, no monitoramento da eficácia da quimioterapia e no estudo da epidemiologia da doença.

Em 1980, Brennan & Barrow(38) descreveram a presença de um peptidoglicolípido específico do *M. leprae*, o PGL, que era sorologicamente ativo. No ano seguinte, Hunter & Brennan(7) isolaram um glicolípido fenólico (PGL-1) do fígado de tatus infectados pelo *M. leprae*, o que permitiu a identificação da porção sacarídica característica: 3,6-di-O- metil-13-D-glicopiranosil-2,3-di-O-metil-a-L-ramnopiranosil-3-O-metil-a-L-ramnopiranosil. Posteriormente, os autores descreveram outros glicolípidos fenólicos: o PGL-II e o PGL -111(39).

Com a descoberta da fração antigênica do glicolípido (3,6-di-O-metil 13-D-glicopiranosil), foi possível demonstrar que anticorpos anti-*M. leprae* são capazes de se ligar aos glicolípidos fenólicos, sendo então reconhecidos como o determinante antigênico primário do bacilo(8•40). A partir daí, Fujiwara et al., em 1984(41), sintetizaram o resíduo trissacarídeo e dissacarídeo associado a soro-albumina bovina (BSA), que se mostrou altamente antigênico e específico.

Um ensaio imunoenzimático (ELISA) foi desenvolvido por Cho et al.(42), utilizando o antígeno dissacarídeo sintético altamente específico do *M. leprae*, o PGL-I, tendo sido encontrados resultados semelhantes aos testes com o antígeno natural. Cruaud et al.(43) obtiveram resultados semelhantes diluindo o antígeno em hexano. Deste modo, a sorologia específica tem se mostrado bastante útil na compreensão dos mecanismos imunológicos da hanseníase. Por essa metodologia, pesquisadores têm demonstrado níveis

crescentes de anticorpos anti-PGL-I do pólo tuberculóide ao pólo virchoviano, dentro do espectro da doença(44.45).

O PGL-I é um produto do bacilo viável(46) e tem a capacidade de neutralizar radicais livres provenientes do metabolismo oxidativo intrafagolisossomal nos macrófagos humanos(47). Sua associação com a viabilidade do *M. leprae* o torna um valioso marcador da carga bacilar em pacientes MB com doença ativa.

Como o *M. leprae* é estritamente intracelular, a resistência depende da imunidade mediada por células, representada pela fagocitose dos bacilos pelos macrófagos, processamento antigênico intracitoplasmático e apresentação dos determinantes antigênicos aos linfócitos T. Estes, devidamente estimulados, vão se diferenciar, proliferar e liberar citocinas de perfil Th1 que estimulam o afluxo e fixação de macrófagos nos focos de proliferação bacilar e, principalmente, potencializam a ação destrutiva desses macrófagos sobre os bacilos fagocitados(26).

Estudos *in vitro* revelam que monócitosimacróforos humanos, quando estimulados pelo INF- γ , produzem neopterinina(48•49), cuja concentração pode ser facilmente detectada no soro e na urina dos indivíduos(50). A neopterinina é um produto sintetizado a partir da guanosina trifosfato (GTP), via ciclodiolase I GTP, em macrófagos ativados, sendo utilizada para monitorar doenças associadas com a ativação da imunidade mediada por célula.

Suas principais aplicações clínicas são: como indicador prognóstico de doenças malignas, de infecção pelo HIV e de complicações em rejeição de enxerto; no controle do seguimento de infecções crônicas; no monitoramento da imunoterapia estimuladora e no diagnóstico diferencial de infecções agudas virais e bacterianas⁽⁵¹⁾.

Na hanseníase, Hamerlinck et al., em 1999(52), avaliaram os níveis de neopterinina sérica em pacientes reacionais e sem reação, antes do tratamento com PQT. Encontraram níveis significativamente mais elevados apenas nos pacientes reacionais. Nesse mesmo estudo, os autores

Introdução

acompanharam um grupo de pacientes livres de reação, durante o tratamento com PQT, e um outro grupo de pacientes com reação e tratados com prednisona. Verificaram que, neste último grupo, a concentração sérica de neopterina que estava elevada antes do uso de prednisona, diminuía com o emprego deste imunossupressor. Assim, sugeriram que a neopterina poderia ser um marcador para os estados reacionais na hanseníase, proporcionando um parâmetro laboratorial para avaliar a resposta à terapia e a resolução do surto reacional.

Existem, ainda, relatos de níveis séricos elevados de neopterina em pacientes com infecção bacteriana intracelular pelo *M. tuberculosis* e em infecções parasitárias pelo *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax*, sugerindo que os níveis de neopterina correlacionam-se com os índices de atividade da resposta imune celular nestas infecções(53' 54).

A pesquisa de neopterina sérica realizada em pacientes com leishmaniose revelou níveis elevados nos pacientes com o tipo visceral, antes do tratamento. Nesse mesmo estudo, os autores verificaram um declínio desses níveis com a terapêutica(55).

Semelhante ao que ocorre em outros processos infecciosos, a resposta inflamatória na hanseníase é basicamente uma reação sistêmica do organismo à infecção ou à lesão tecidual. Os estágios iniciais desta resposta são conhecidos como fase aguda.

No início do processo inflamatório, estão presentes as proteínas de fase aguda. Estas pertencem a um grupo de proteínas plasmáticas, cujas concentrações se alteram significativamente após uma injúria celular, tal como aquelas causadas por infecções bacterianas, fúngicas ou virais, cirurgias, traumas, queimaduras, crescimento tumoral e estados inflamatórios crônicos e agudos de várias etiologias(56).

Entre esses marcadores de fase aguda, encontra-se a proteína C reativa (CRP), que é uma beta-globulina com capacidade de ativar o sistema complemento e a fagocitose. Sua concentração sérica pode aumentar de níveis inferiores a 1,0 mg/dl a 400 mg/dl nas primeiras 24-48 horas da reação inflamatória⁽⁵⁷⁾.

Introdução

Recentes investigações têm demonstrado que a produção dessa proteína em nível hepático seria induzida por citocinas, entre elas a IL-1, IL-6 e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)^(58,59,60), ou IL-1 e IL-6 associadas (61).

É pouco conhecida a participação das proteínas de fase aguda nas reações imunológicas presentes na hanseníase. Sabe-se que a concentração de CRP encontra-se elevada em doenças infecciosas(62) e que na HV, principalmente nos pacientes virchovianos reacionais, está consideravelmente aumentada⁽⁶³⁾.

Sehgal et al.(64) avaliaram os níveis séricos de CRP em pacientes hansenianos com reação tipo 2, durante e após o episódio reacional. Verificaram que os valores séricos desta proteína correlacionavam-se bem com as alterações ocorridas durante os surtos, podendo ser bom marcador para monitorar o curso da reação.

Posteriormente, Foss et al.(65) demonstraram que os níveis séricos de CRP estavam elevados nos hansenianos com reação tipo 2. Entretanto, nos pacientes HV não reacionais e HT, estes valores eram comparáveis aos dos indivíduos saudáveis do grupo controle. Os autores também encontraram níveis de TNF- α significativamente elevados no grupo de pacientes com reação tipo 2 e demonstraram uma correlação positiva entre CRP e TNF- α . Sugeriram que a concentração elevada destas proteínas tem a capacidade de aumentar o processo inflamatório agudo na reação tipo 2 e favorecer a fagocitose e ativação de macrófagos, contribuindo assim para a eliminação do bacilo.

Com base no exposto e considerando que existem poucos estudos avaliando os níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I, neopterin e CRP em pacientes com hanseníase, no momento do diagnóstico e durante o tratamento poliquimioterápico, julgamos oportuna a realização deste estudo.

OBJETIVOS



2. OBJETIVOS

O presente estudo foi realizado com a finalidade de:

A. Avaliar a resposta imune e inflamatória de pacientes com hanseníase no momento do diagnóstico e aos 2, 4, 6 e 12 meses de tratamento com PQT e nos estados reacionais, mediante os seguintes parâmetros:

- detecção dos níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I;
- quantificação dos níveis de neopterinina sérica;
- determinação dos níveis de CRP

B. Avaliar o IB dos pacientes no momento do diagnóstico e correlacionar os resultados com os níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I, neopterinina e CRP.

CASUÍSTICA E MÉTODOS



3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. Casuística

O grupo de estudo foi constituído por 43 indivíduos, dos quais 25 eram pacientes com hanseníase atendidos no Serviço de Dermatologia Dr. Diltor Opromolla, do Instituto Lauro de Souza Lima de Bauru, e 18 eram voluntários sadios, funcionários da mesma instituição, que participaram como grupo controle. Dos 25 pacientes estudados, 13 eram do sexo feminino e 12 do sexo masculino, com idade variando de 38 a 76 anos.

Os pacientes foram classificados de acordo com os critérios estabelecidos no 6º Congresso Internacional de Madri (1953)⁽²⁰⁾, sendo **09** virchovianos, **06** dimorfos e **10** tuberculóides. Levando-se em conta o esquema de PQT estabelecido pela OMS (1982)⁽²²⁾, os pacientes foram ainda classificados em MB (15) e PB (10). Entre os 25 pacientes avaliados, 13 apresentaram reações, sendo 08 com reação tipo 1 e 05 com reação tipo 2.

Ao serem incorporados no estudo, os pacientes e o grupo controle foram esclarecidos sobre os propósitos dos procedimentos a serem adotados tendo a coleta de sangue sido realizada após plena concordância deles e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. A Comissão de Ética em Pesquisa do Instituto Lauro de Souza Lima emitiu parecer favorável à realização deste estudo (anexo).

3.2. Métodos

3.2.1. Exame Baciloscópico

A baciloscopia foi realizada no momento do diagnóstico, de modo que o IB de cada paciente foi calculado pela média dos índices de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) nos esfregaços de linfa cutânea, colhidos em

quatro locais (lesão ativa ou área com alteração de sensibilidade, lóbulos auriculares, cotovelo)(66), corados pelo método de Ziehl-Neelsen e quantificados de 0 a 6+, de acordo com a escala logarítmica proposta por Ridley & Hilson(4:67).

3.2.2. Coleta de Sangue

Amostras de sangue foram coletadas por punção venosa (10 ml), sem anticoagulante para obtenção de soro, o qual foi distribuído em alíquotas e estocado a -20°C até o momento do uso.

As amostras de sangue dos pacientes foram coletadas em cinco momentos: no momento do diagnóstico (momento 0) e após 2, 4, 6 e 12 meses de tratamento (momentos 2, 4, 6 e 12, respectivamente). As amostras sanguíneas do grupo controle foram coletadas em um único momento. O soro foi empregado na determinação dos níveis de anticorpos anti PGL-I, neopterin e CRP.

3.2.3. Pesquisa de anticorpos anti-PGL-I

Para detecção de anticorpos IgM anti-PGL-I do *M. leprae* em soro de pacientes e do grupo controle, foi utilizado o método imunoenzimático ELISA, desenvolvido de acordo com a metodologia descrita por Bretti et al.(68), empregando-se *kit* padronizado pelo Royal Tropical Institute de Amsterdã. A técnica baseia-se no uso de placas de poliestireno que apresentam 96 orifícios revestidos pelo antígeno semi-sintético NTP-BSA (trissacarídeo natural ligado ao radical fenil e acoplado a soro albumina bovina).

As placas foram revestidas com o antígeno semi-sintético e com BSA (soro albumina bovina) na proporção de 1:1, isto é, 48 orifícios foram recobertos com o antígeno, e 48 orifícios, somente com BSA. O antígeno foi diluído em tampão acetato carbonato de amônia, pH 8,2, na concentração

de 0,01 mg/ml, e o BSA, na concentração de 0,1 g/ml. Cada orifício da placa recebeu 50 µl do antígeno ou do BSA. As placas foram incubadas por 18 horas a temperatura ambiente e, em seguida, foram estocadas a 4°C até o momento do uso.

Para a realização do teste, as placas foram lavadas quatro vezes com solução salina tamponada (SST), pH 7,2, contendo 0,1% de Tween 20 (SST-T) e, a seguir, foram bloqueadas por 60 min com 100 µl de BSA a 1% em tampão fosfato, na temperatura de 37°C.

Os soros a serem testados foram diluídos 1:500 em SST-T contendo 10% de soro normal de cabra e, a seguir, foram adicionados, em duplicata, aos orifícios das placas. Como controle foram empregados soros positivo e negativo. Após incubação da placa por 60 min a 37°C e quatro lavagens com SST-T, adicionaram-se 50 µl de soro de cabra anti-IgM humana conjugado a peroxidase (Cappel/Organon Teknika, Turnhout, Belgium), diluído 1:10.000 em SST-T contendo 10% de soro normal de cabra.

As placas foram agitadas suavemente e incubadas por 60 min a 37°C e, a seguir, foram realizadas quatro lavagens com SST-T. Posteriormente, foram adicionados 50 µl/orifício do substrato crom6geno (2,2 mM de ortofenilenodiamina e 3,5 mM de peróxido de hidrogênio em 33 mM de tampão citrato-fosfato pH 5,0). A reação processou-se no escuro, por 15 minutos, a temperatura ambiente e foi interrompida pela adição de ácido sulfúrico 2,5 N

A atividade enzimática foi avaliada por leitura espectrofotométrica em 490 nm. Os resultados foram expressos em densidade óptica (D.O.), subtraindo-se os valores médios das D.O. obtidas nos orifícios com BSA dos orifícios com NTP-BSA. Foram considerados positivos os soros com D.O. 0,200 (cut-off)(69).

3.2.4. Quantificação de Neopterin

Os níveis séricos de neopterin foram avaliados mediante o ensaio imunoenzimático por competição (Neopterin ELISA, IBL, Hamburg, Germany). Resumidamente, o teste foi iniciado colocando-se nos orifícios da placa, previamente sensibilizada com anticorpo policlonal de cabra anti-IgG de coelho, 10 µl dos soros-padrão de neopterin, 10 µl dos soros controles, cujos valores médios eram: 3,5-5,9 nmo1/1 e 17-28 nmo1/1, e 10 µl das amostras de soro a serem testadas, em duplicata.

A seguir, foram acrescentados 100 µl de neopterin marcada com peroxidase na diluição 1:201 e 50 µl de anticorpo de coelho anti-neopterin. Imediatamente a placa foi incubada por 90 min em campo escuro, temperatura ambiente. Durante esse período, a neopterin das amostras compete com a neopterin conjugada à enzima para se unir aos sítios de ligação do anticorpo anti-neopterin; este complexo imune se ligará ao anticorpo que reveste a placa. Essa etapa foi seguida por lavagem intensa para assegurar a remoção de todos os componentes não ligados.

Após a adição de 200 µl do substrato tetrametil-benzidina (TMB), por 10 min, à temperatura ambiente, a reação foi bloqueada adicionando-se 100 µl de NaOH 2 N. A leitura foi realizada em microleitor automático de FUSA, empregando o comprimento de onda de 450 nm.

Por ser um método competitivo, o valor da D.O. será inversamente proporcional à concentração de neopterin das amostras. Portanto, quanto mais alta for a concentração de neopterin na amostra, mais baixo será o valor da D.O. Os resultados foram expressos em nmo1/1 a partir de curva padrão estabelecida em cada ensaio. Foram considerados normais os valores <10 nmo1/1(70)

3.2.5. Quantificação de CRP

Para pesquisa da CRP, utilizou-se *Kit* comercial da marca Omega Diagnostics (Scotland, UK), por aglutinação passiva com partículas de látex.

O teste foi realizado em placas de fundo escuro delimitadas por 6 campos; em cada campo foram colocados 25 μ l de soro e adicionados 25 de partículas de látex sensibilizadas com anticorpos anti-CRP. Em seguida, a mistura foi homogeneizada e as placas permaneceram sob agitação suave, durante dois minutos. Posteriormente, procedeu-se à leitura observando-se a presença ou não de aglutinação manifestada visualmente pela formação de grumos.

Os soros com resultados positivos, no exame qualitativo, foram diluídos em solução de NaCl a 0,9%, na razão 2, a partir de 1:2. Os resultados foram expressos em mg/l, considerando-se positivo 6mg/l.

3.2.6. Análise Estatística

Para verificar se houve diferença significativa nos níveis de anticorpos anti-PGL-I, neopterin e CRP entre pacientes com hanseníase MB e PB, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney (comparação de duas amostras independentes). Para os pacientes classificados nas diferentes formas clínicas (HV, HD e HT) e nos estados reacionais (reação tipo 1, tipo 2 e sem reação), foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (comparação de mais de duas amostras independentes) e o teste de comparações múltiplas de Dunn.

Para verificar diferenças no decorrer do tratamento (momento do diagnóstico e após 2, 4, 6 e 12 meses), foram utilizados o teste de Friedman e o teste de comparações múltiplas de Dunn.

A correlação entre o IB e os achados sorológicos (anticorpos anti- PGL-I, neopterin e CRP) foi estabelecida calculando-se os coeficientes de correlação não paramétrica por postos (Spearman) entre pares de variáveis.

Em todas as situações estudadas, os dados estatísticos calculados foram considerados significativos quando $p < 0,05$ (p = probabilidade de erroneamente concluir pela significância)⁽⁷¹⁾

RESULTADOS



4. RESULTADOS

Os resultados da quantificação de anticorpos, neopterinina e CRP serão apresentados levando-se em consideração:

- ❖ a classificação dos pacientes em MB ou PB, de acordo com o esquema terapêutico determinado pela OMS;
- ❖ a forma clínica dos pacientes (HV, HD, HT) segundo o 6º Congresso Internacional de Madri;
- ❖ presença ou não de reação (tipo 1 ou tipo 2).

Cabe salientar que, em vista da pesquisa de anticorpos anti-PGL-I e da quantificação de neopterinina terem sido empregadas por nós pela primeira vez e, portanto, não estarem padronizadas em nosso laboratório, resolvemos utilizar o grupo controle (constituído por 18 voluntários sadios) com a finalidade de avaliar a especificidade e a sensibilidade da técnica de ELISA empregada nessas investigações. Deste modo, como os valores foram todos negativos no grupo controle, os resultados serão apresentados considerando, apenas, o grupo de pacientes e o efeito da POT sobre esses pacientes.

4.1. Análise dos resultados em relação aos grupos de pacientes MB e PB

4.1.1. Pesquisa de anticorpos anti-PGL-I

Os níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I foram significativamente maiores nos pacientes MB quando comparados aos PB, em todos os momentos avaliados ($p < 0,05$), conforme representado na Figura 1.

Os pacientes MB produziram níveis maiores de anticorpos no momento do diagnóstico (momento 0), havendo diferença estatisticamente significativa entre os momentos 0 e 4, 0 e 6, 0 e 12 e entre 2 e 12 meses de tratamento.

Com relação aos pacientes PB, os níveis foram sempre baixos, não havendo diferença significativa durante o tratamento.

No grupo controle os resultados foram todos negativos (inferiores a 0,200).

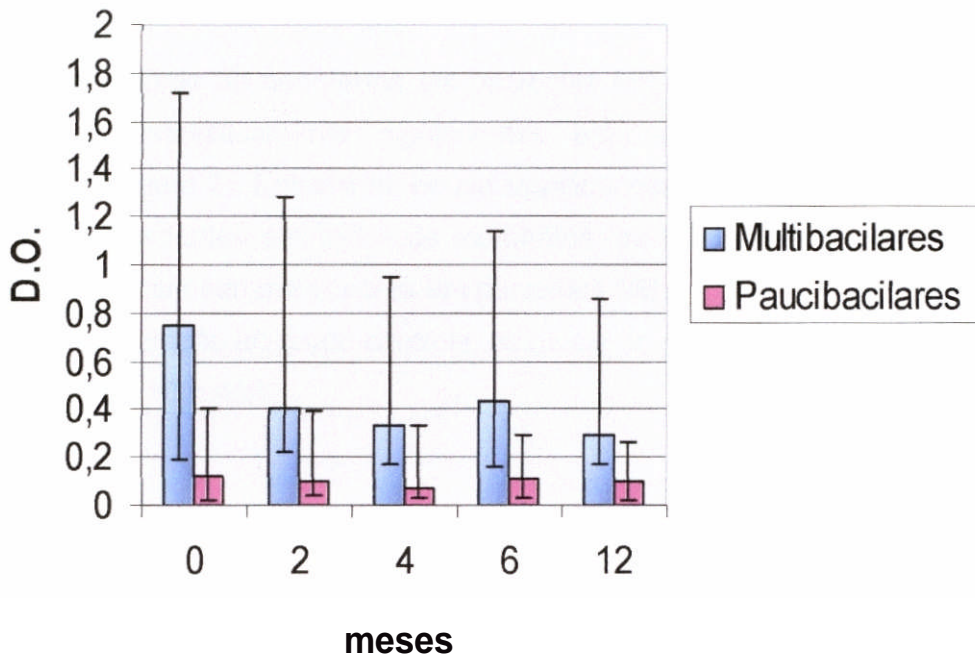


Figura 1: Pesquisa de anticorpos anti-PGL-I em soro de pacientes com hanseníase. Valores expressos em mediana, 1° e 3° quartil.

Análise Estatística: diferença significativa entre MB e PB em todos os momentos ($p < 0,05$).

❖ MB: momentos 0 e 4. 0 e 6, 0 e 12. 2 e 12 ($p < 0,05$).

4.1.2. Quantificação de Neopterin

Os valores de neopterin em pacientes MB e PB não apresentaram diferenças estatisticamente significantes em nenhum dos momentos avaliados (Figura 2). Entretanto, houve significância estatística entre os dois grupos de pacientes em todos os momentos, de modo que, os níveis de neopterin foram sempre maiores em pacientes MB.

Com relação ao grupo controle, os níveis de neopterin foram sempre menores que 10 nmol/l.

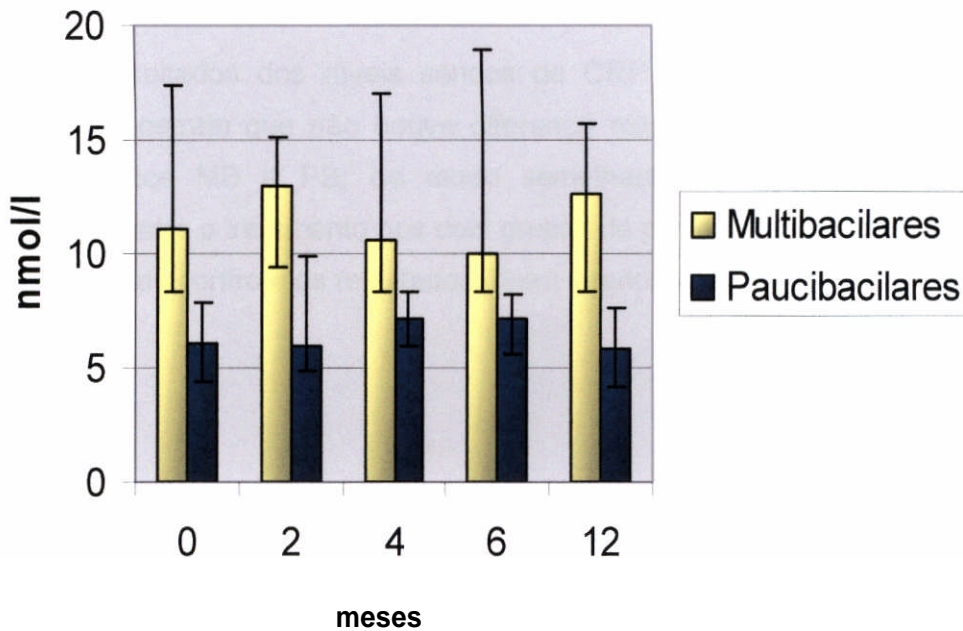


Figura 2: Quantificação de Neopterin em soro de pacientes com hanseníase. Valores expressos em mediana, 1° e 3° quartil.

Análise Estatística: diferença significativa entre MB e PB em todos os momentos avaliados ($p < 0,05$).

4.1.3. Quantificação de CRP

Os resultados dos níveis séricos de CRP estão apresentados na Figura 3 e mostram que não houve diferença estatisticamente significativa entre pacientes MB e PB; de modo semelhante, também não houve diferença durante o tratamento nos dois grupos de pacientes.

No grupo controle os resultados foram inferiores a 6 mg/l.

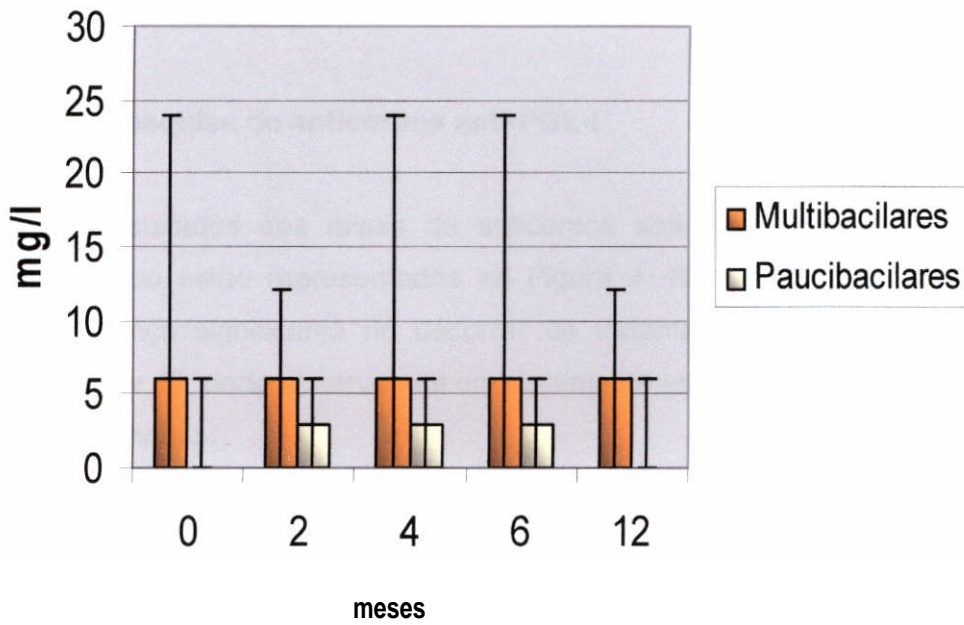


Figura 3: Quantificação da proteína C reativa em pacientes com hanseníase. Valores expressos em mediana, 10 e 3° quartil.

Análise Estatística: os resultados não foram significantes.

4.2. Análise dos resultados em relação à forma clínica dos pacientes (HV, HD e HT)

4.2.1. Pesquisa de anticorpos anti-PGL-1

Os resultados dos níveis de anticorpos anti-PGL-I nas diferentes formas clínicas estão representados na Figura 4. Nos pacientes HV não houve diferença significativa no decorrer do tratamento, exceto entre os momentos 0 e 12, onde observou-se um declínio de anticorpos anti-PGL-I no final do tratamento.

Nos pacientes HD houve significância entre os momentos 0 e 6 e 0 e 12 meses, ou seja, níveis menores de anticorpos foram encontrados a partir do 6º mês de tratamento.

Quanto aos pacientes HT não verificou-se diferença estatisticamente significativa durante o tratamento.

A análise dos resultados de acordo com as formas clínicas dos pacientes revelou diferença significativa apenas entre os pacientes HV e HT no 2º e 4º mês de tratamento.

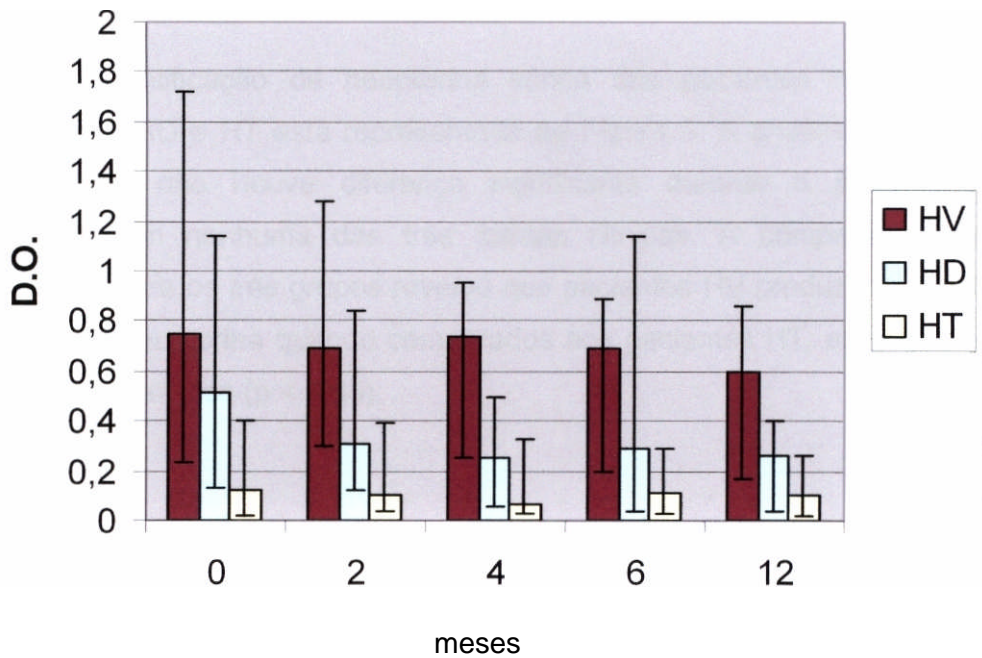


Figura 4: Pesquisa de anticorpos anti-PGL--I no soro de pacientes com hanseníase virchoviana, dimorfa e tuberculbide. Valores expressos em mediana, 1° e 3° quartil.

Análise Estatística: diferenças significantes entre as formas clinicam: HV e HT - momentos 2 e 4 ($p < 0,05$).

- diferença significante no decorrer do tratamento:
 - HV — no momento 0 e 12 ($p < 0,05$),
 - HD – momentos 0 e 6, 0 e 12 ($p < 0,05$).

HT — momentos 0 e 6, 0 e 12 ($p < 0,05$).

4.2.2. Quantificação de Neopterinina

A quantificação de neopterinina sérica dos pacientes nas formas clínicas HV, HD e HT está representada na Figura 5. A análise estatística revelou que não houve diferença significativa durante o período de tratamento em nenhuma das três formas clínicas. A comparação dos resultados entre os três grupos revelou que pacientes HV produziram níveis maiores de neopterinina quando comparados aos pacientes HT, em todos os momentos avaliados ($p < 0,05$).

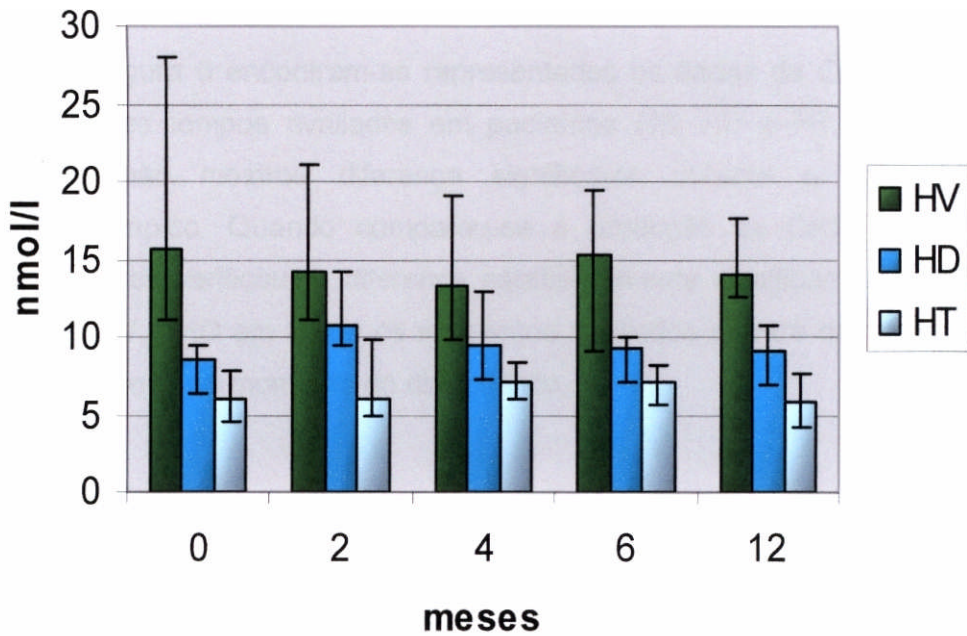
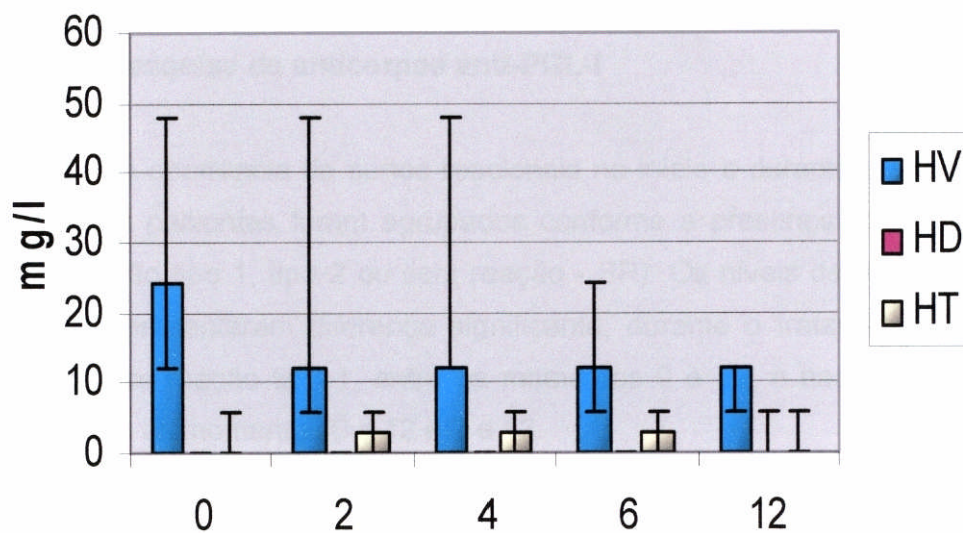


Figura 5: Quantificação de neopterin em soro de pacientes com hanseníase virchowiana, dimorfa e tuberculóide. Valores expressos em mediana, 1° e 3° quartil.

Análise Estatística: diferença significativa entre pacientes HV e HT em todos os momentos ($p < 0,05$).

4.2.3. Quantificação de CRP

Na Figura 6 encontram-se representados os dados da CRP obtidos nos diferentes tempos avaliados em pacientes HV, HD e HT. A análise estatística não mostrou diferença significativa durante o tratamento poliquimioterápico. Quando comparou-se a produção de CRP entre as formas clínicas verificou-se diferença estatisticamente significativa entre os pacientes HV e HD em todos os momentos avaliados e entre os pacientes HV e HT apenas no momento do diagnóstico.



meses

Figura 6: Quantificação da proteína C reativa em pacientes com hanseníase virchowiana, dimorfa e tuberculóide. Valores expressos em mediana, 1° e 3° quartil.

Análise Estatística: diferença significativa entre as formas clínicas:

- ❖ HV e HD em todos os momentos ($p > 0,05$)

4.3. Análise dos resultados em relação aos estados reacionais

4.3.1. Pesquisa de anticorpos anti-PGL-1

Com a ocorrência de surtos reacionais no início e durante o período estudado, os pacientes foram agrupados conforme a presença ou não de reação (reação tipo 1, tipo 2 ou sem reação - SR). Os níveis de anticorpos anti-PGL-I apresentaram diferença significativa, durante o tratamento, nos pacientes com reação tipo 1, entre os momentos 0 e 12, e naqueles sem reação, entre os momentos 0 e 12 e 2 e 12.

Quando os resultados foram analisados considerando a presença ou não de reação, nenhuma diferença significativa foi observada (Figura 7).

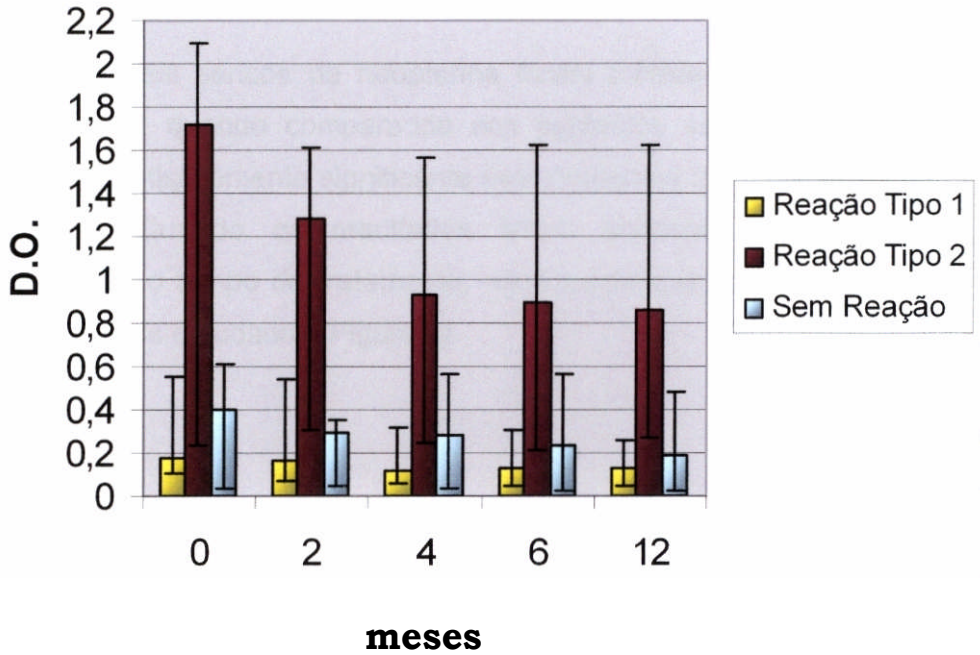


Figura 7: Pesquisa de anticorpos anti-PGL-I em pacientes hansenianos com ou sem reação. Valores expressos em mediana, 1º e 3º quartil.

Análise Estatística - diferença significativa no decorrer do tratamento:

- ❖ pacientes com reação tipo 1: momento 0 e 12 ($p < 0,05$).
- pacientes SR: momentos 0 e 12, 2 e 12 ($p < 0,05$).

4.3.2. Quantificação de Neopterin

Os níveis séricos de neopterin foram maiores em pacientes com reação tipo 2 quando comparados aos pacientes sem reação, havendo diferença estatisticamente significativa nos momentos 2, 4, 6 e 12 meses de tratamento. Quando os resultados foram analisados levando-se em consideração o tempo de tratamento, verificou-se que não houve diferença nos três grupos estudados (Figura 8).

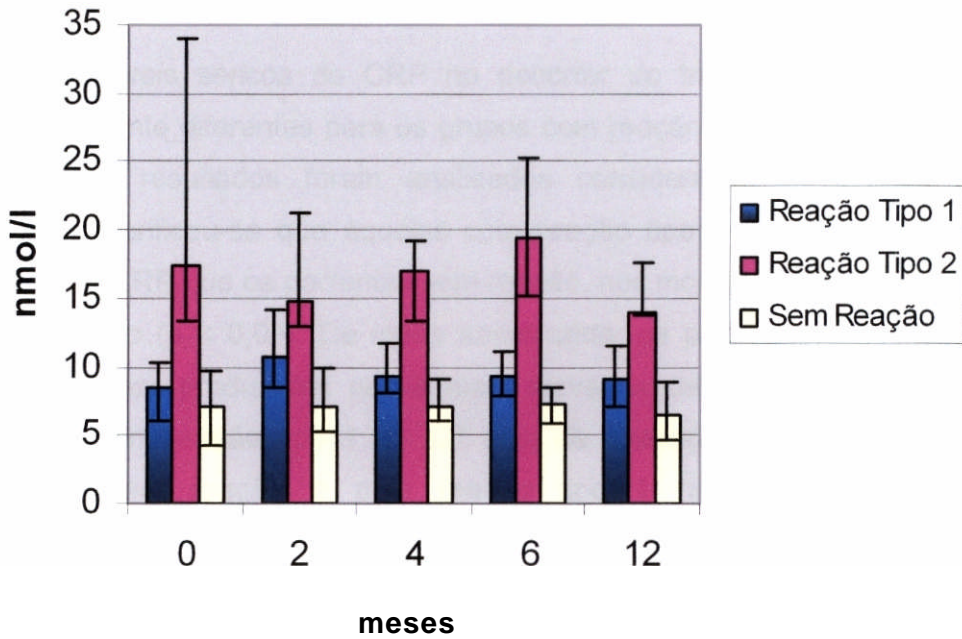


Figura 8: Quantificação de neopterina em pacientes hansenianos com ou sem reação. Valores expressos em mediana, 1° e 3° quartil.

Análise Estatística: diferença significativa entre pacientes com reação tipo 2 e SR nos momentos 2, 4, 6 e 12 meses ($p < 0,05$).

4.3.3. Quantificação de CRP

Os níveis séricos de CRP no decorrer do tratamento não foram estatisticamente diferentes para os grupos com reação tipo 1, tipo 2 ou SR. Quando os resultados foram analisados considerando os grupos de pacientes, verificou-se que aqueles com reação tipo 2 produziram níveis maiores de CRP que os pacientes sem reação, nos momentos 0 e 12 meses de tratamento ($p < 0,05$). De modo semelhante, os pacientes com reação tipo 2 também produziram níveis mais elevados desta proteína que os pacientes com reação tipo 1 no 12º mês da avaliação ($p < 0,05$). Entre pacientes sem reação e com reação tipo 1 não houve diferença estatisticamente significativa (Figura 9).

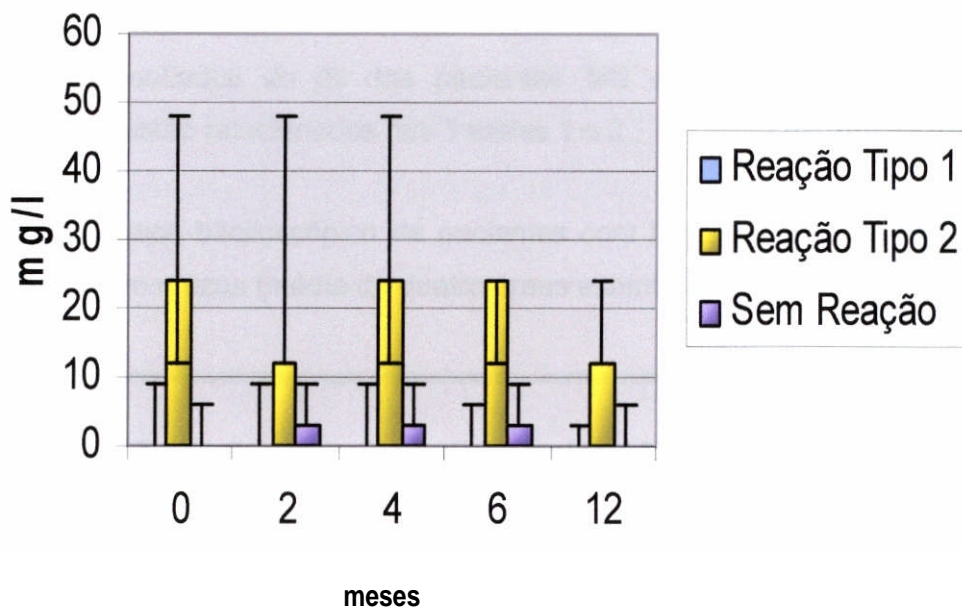


Figura 9: Quantificação da proteína C reativa em pacientes hansenianos com ou sem reação. Valores expressos em mediana, 10 e 30 quartil.

Análise Estatística: diferença significativa entre:

- ❖ pacientes com reação tipo 2 e SR nos momentos 0 e 12 ($p < 0,05$).
- ❖ pacientes com reação tipo 2 e tipo 1 no momento 12 ($p < 0,05$).

4.4. Exame Baciloscópico

Os resultados do IB dos pacientes MB e PB, no momento do diagnóstico, estão relacionados nas Tabelas 1 e 2 .

Tabela 1: Índice baciloscópico de pacientes com hanseníase MB. Valores expressos em cruces (média de quatro áreas examinadas).

Pacientes MB	Índice Baciloscópico (+)
ABM	3,0
AGS	0,5
JAS	3,6
JFM	3,5
JJL	2,3
JR	0,25
JRS	2,5
LLV	1,5
MBP	3,2
MZP	5,0
RFPS	3,3
RR	2,0
RV	3,2
SPC	1,6
TFO	2,6

Tabela 2: Índice baciloscópico de pacientes com hanseníase PB. Valores expressos em cruzes (média de quatro áreas examinadas).

Pacientes PB	Índice Baciloscópico (+)
APV	0,0
EFD	0,3
GST	0,83
JGS	0,0
LJS	0,0
MMC	0,16
SBP	0,0
TBS	0,4
TSV	0,0
VSP	0,0

4.5. Correlação entre o IB e os níveis de anticorpos anti-PGL-I, neopterin e CRP.

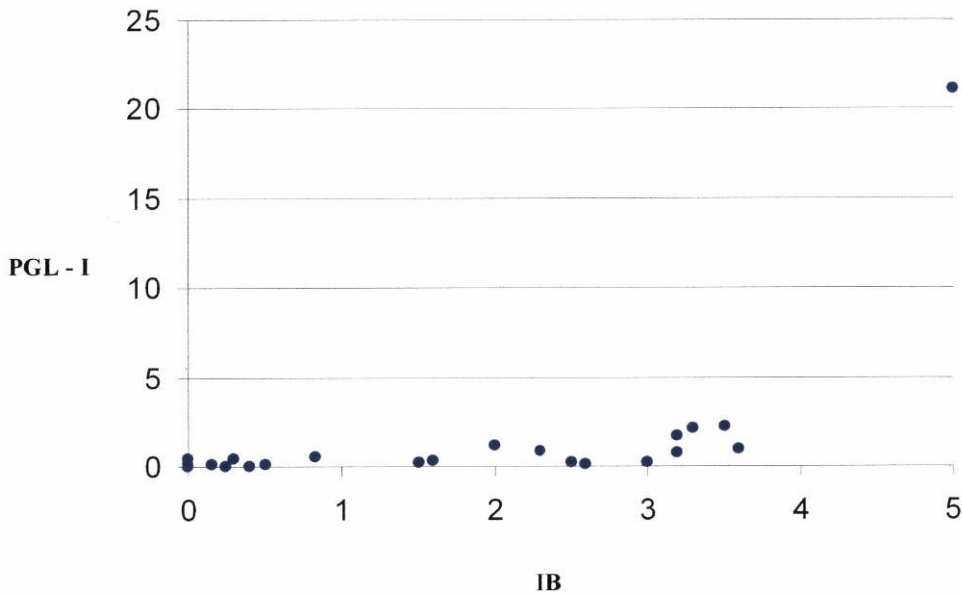
Os resultados do IB foram correlacionados com os achados sorológicos obtidos no momento do diagnóstico (momento 0).

4.5.1. IB x anticorpos anti-PGL-I.

Nos pacientes com IB entre 0 e 0,9 verificou-se que no momento do diagnóstico a pesquisa de anticorpos anti-PGL-I foi negativa (inferior a 0,200). À medida que o IB aumentou, os níveis de anticorpos também aumentaram, mostrando uma correlação positiva entre essas duas variáveis ($r = 0,70$; $p < 0,05$) (Tabela 3 e Figura 10).

Tabela 3 e Figura 10: Correlação entre índice baciloscópico e níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I em pacientes com hanseníase.

IB	Nº de pacientes	Momento 0 (Mediana)
0,0 - 0,9	12	0,122
1,0 - 1,9	2	0,276
2,0 - 2,9	4	0,492
3,0 - 3,9	6	1,351
4,0 - 5,0	1	21,144

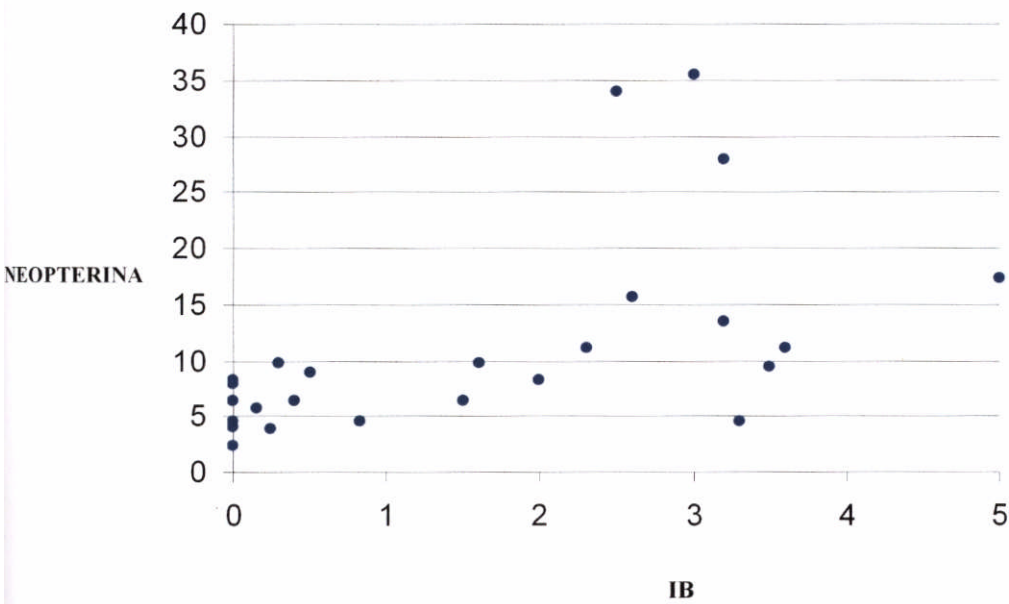


4.5.2. IB x Neopterin

Os resultados da correlação entre IB e neopterin estão representados na Tabela 4 e Figura 11. Os pacientes com IB menor ou igual a 1,9 apresentaram níveis baixos de neopterin (inferiores a 10 nmol/l) no momento do diagnóstico. Observou-se correlação positiva entre IB e níveis séricos de neopterin ($r = 0,68$; $p < 0,05$).

Tabela 4 e Figura 11: Correlação entre índice Baciloscópico e níveis séricos de neopterina em pacientes com hanseníase.

IB	Nº de pacientes	Momento 0 (Mediana)
0,0 - 0,9	12	6,034
1,0 - 1,9	2	8,059
2,0 - 2,9	4	13,355
3,0 - 3,9	6	12,220
4,0 - 5,0	1	17,338

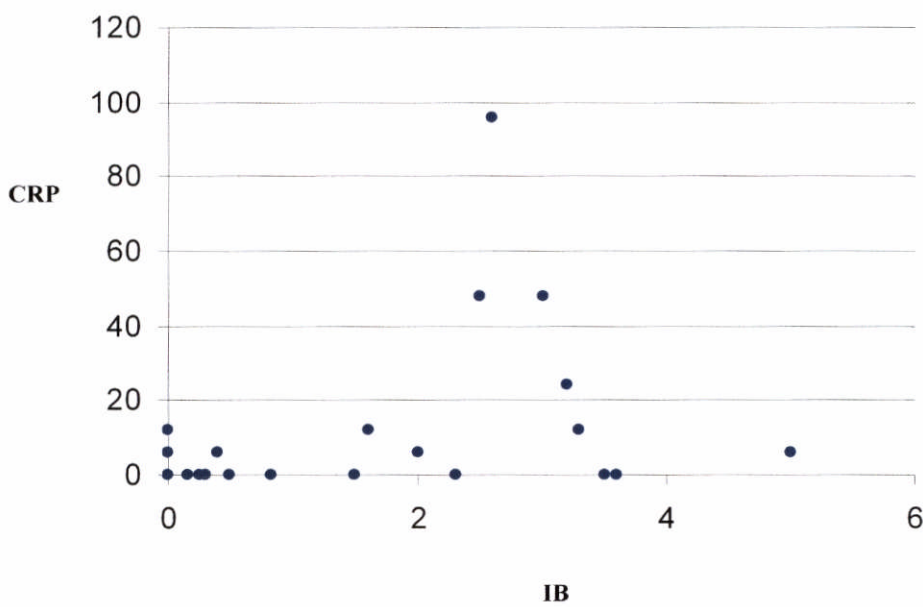


4.5.3. IB x CRP

Os valores da CRP apresentaram-se elevados nos pacientes com 1B entre 2,0 e 3,9. O estudo da correlação revelou que não houve correlação entre as duas variáveis ($r = 0,35$; $p = 0,08$) (Tabela 5 e Figura 12).

Tabela 5 e Figura 12: Correlação entre índice Baciloscópico e níveis séricos de proteína C reativa em pacientes com hanseníase.

IB	Nº de pacientes	Momento 0 (Mediana)
0,0 - 0,9	12	0
1,0 - 1,9	2	6
2,0 - 2,9	4	27
3,0 - 3,9	6	18
4,0 - 5,0	1	6



5. DISCUSSÃO

Critérios clínicos e laboratoriais podem ser empregados no seguimento do tratamento de pacientes com hanseníase. Particularmente com relação aos testes sorológicos, a detecção de anticorpos específicos ao glicolípido fenólico do *M. leprae* (anti-PGL-I) tem mostrado ser um bom marcador do efeito da PQT em pacientes MB com alta carga bacilar (72, 73).

Ao monitorarmos os níveis de anticorpos anti-PGL-I, observamos que 73% dos pacientes MB apresentaram positividade antes do tratamento e que, no decorrer do seguimento, houve um significativo declínio nos níveis de anticorpos, a partir do 4º mês de tratamento, em relação ao valor detectado no momento do diagnóstico, tendo esse declínio se acentuado aos 12 meses.

Achados semelhantes aos nossos foram encontrados por Cunha⁽⁷⁴⁾, em 1998, que detectou altos níveis de anticorpos anti-PGL-I em pacientes MB no momento do diagnóstico, bem como uma redução significativa ao longo do tratamento com PQT, paralela à melhora do quadro clínico, mostrando que a eficácia terapêutica pode ser avaliada pela queda da concentração de anticorpos anti-PGL-I.

Verificamos, ainda, que enquanto a maioria dos pacientes MB apresentava elevados níveis desses anticorpos, os PB exibiam baixos níveis de anticorpos com uma positividade de 40% no momento do diagnóstico, havendo um declínio no decorrer do tratamento. Esses achados estão de acordo com os encontrados na literatura (74, 75)

Utilizando-se a técnica de ELISA, estudos demonstram que os níveis de anticorpos anti-PGL-I em pacientes MB variam entre 75% e 100% de positividade, enquanto nos PB variam entre 15 e 40% de positividade (76), semelhante aos resultados obtidos por nós.

Em nosso estudo também avaliamos os níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I nas formas polares da hanseníase (HV e HT), bem como no grupo HD. Os resultados demonstraram que 40% dos pacientes HT, 67% dos HD e 78% dos HV apresentaram positividade no momento do

diagnóstico. Esses valores crescentes de anticorpos anti-PGL-I dentro do espectro da doença do pólo HT para o HV, têm sido observados na literatura (42,77, 78).

Vale aqui salientar o estudo de Chanteau et al., em 1988⁽⁷⁹⁾, que estudaram a utilização de três diferentes antígenos sintéticos do PGL-I para testes sorológicos, como o dissacarídeo-octil-BSA (D-O-BSA), o trissacarídeo-octil-BSA (T-O-BSA) e o trissacarídeo-fenil-BSA (T-P-BSA). Os autores demonstraram a eficiência dos testes com esses três antígenos, especialmente nos pacientes MB, parecendo o teste com o T-P-BSA ser mais específico e sensível para detectar níveis séricos de anticorpos em pacientes PB.

No presente estudo, para a realização da técnica de ELISA, empregamos o antígeno T-P-BSA, o que talvez seja o motivo de termos encontrado elevado percentual de positividade (40%) nos pacientes HT, no momento do diagnóstico.

Outra possível explicação para o fato de o grupo de pacientes HT ter positividade de 40% para anti-PGL-I, seria esses pacientes apresentarem um maior comprometimento neural. Essa provável relação foi demonstrada em estudo realizado por Roche et al., revelando que o aumento da resposta de anticorpos anti-PGL-I espelha o aumento do comprometimento de nervos e, conseqüentemente, as incapacidades físicas (80).

Durante a PQT, os resultados demonstraram que os pacientes HV e HD apresentaram uma diminuição significativa de anticorpos específicos, respectivamente, aos 12 meses e a partir do 6º mês de tratamento. Isto relaciona-se, possivelmente, com uma tendência de melhora da resposta imune celular nesses pacientes, bem como a ação da terapêutica, especialmente nos HD.

Com relação aos pacientes HT, não se observou diferença significativa nos níveis de anti-PGL-I no decorrer do tratamento, apesar de alguns deles terem apresentado resultados positivos, com níveis decrescentes de anticorpos durante a PQT. Além do nosso trabalho, outros

também relataram níveis significativamente menores de anticorpos anti-PGLI em pacientes submetidos a PQT, principalmente nos HV, em relação aos níveis detectados antes do tratamento^(75,81,82), provavelmente, em decorrência da diminuição da carga bacilar.

Apesar de constatarosmos que pacientes HV e HD tratados por 12 meses apresentaram níveis inferiores aos valores detectados nas amostras no momento do diagnóstico, a eficácia do tratamento não deve ser avaliada somente pela queda destes anticorpos séricos, uma vez que os anticorpos podem permanecer na circulação durante muito tempo. Assim, a utilização de outros parâmetros poderia auxiliar no acompanhamento da terapêutica e no estabelecimento da alta clínica.

Desse modo, os achados de Douglas et al.⁽⁸³⁾ reforçam a idéia do emprego de testes sorológicos com antígenos específicos do *M. leprae*, como o PGL-I, para determinar os níveis de anticorpos específicos e do IB na avaliação da eficácia da quimioterapia nos casos de hanseníase da forma HV. Eles demonstraram que os níveis de anticorpos anti-PGL-I diminuíram ao longo do tratamento, de modo que o valor médio de declínio foi de 55% no primeiro ano, 44% no segundo, e 32% no terceiro ano, totalizando um decréscimo de 68% no período de três anos, em relação ao início da terapia. Em paralelo observaram também um declínio do IB.

No presente estudo, quando correlacionamos os níveis de anticorpos anti-PGL-I com o IB, verificamos correlação positiva ($p < 0,05$), sugerindo que o teste sorológico pode ser empregado no acompanhamento da terapêutica, especialmente em pacientes com IB acima de 2+.

Os resultados da correlação obtidos neste estudo estão de acordo com aqueles encontrados por Cho et al.⁽⁸⁴⁾, que afirmaram haver boa correlação entre IB e níveis de anti-PGL-I nos indivíduos sem tratamento e no decorrer da PQT.

Além desses marcadores laboratoriais utilizados para a monitoração terapêutica, a quantificação de neopterina nos pacientes com hanseníase revelou que os MB produzem níveis maiores deste composto, quando

comparados aos PB. De modo semelhante, quando os pacientes foram agrupados de acordo com a forma clínica encontramos níveis maiores nos pacientes HV.

Na literatura consultada existem poucos estudos quantificando a neopterinina em pacientes com hanseníase. Schmutzhard et al.⁽⁸⁵⁾, ao avaliarem a excreção de neopterinina urinária em pacientes hansenianos, verificaram níveis elevados em 80% deles, não havendo diferença entre pacientes HT e HV.

Hamerlink et al.⁽⁵²⁾, ao acompanharem pacientes hansenianos sem reação, por um período de 18 meses de tratamento, evidenciaram poucas mudanças nos valores de neopterinina, concordando com os resultados encontrados por nós, que, ao analisarmos separadamente os MB e PB, também não obtivemos alterações significativas ao longo do tratamento. No entanto, ao compararmos os níveis deste composto entre pacientes MB e PB, obtivemos diferença significativa entre eles em todo o período de seguimento. Nossos resultados diferem daqueles obtidos por Hamerlink et al.⁽⁵²⁾, que não encontraram diferença significativa entre pacientes MB e PB.

Analisando os nossos resultados individualmente podemos observar que dos 09 pacientes HV, 05 tiveram reação tipo 2 e 02 reação tipo 1 (e portanto, deveriam ser classificados como virchovianos subpolares); dos 06 pacientes dimorfos, 04 deles tiveram reação tipo 1. Na reação tipo 2 está descrito que os pacientes exibem ativação transitória da resposta imune celular com produção de INF737>. De modo semelhante, também na reação tipo 1 existe um aumento da resposta imune celular. Sendo assim, é possível que as alterações nos pacientes MB, quanto à produção de neopterinina, sejam decorrentes do aumento da imunidade celular como conseqüência dos estados reacionais.

Nos pacientes PB (10 HT) a quantificação de neopterinina foi semelhante ao grupo controle, isto é, os níveis foram inferiores a 10 nmol/l. Embora os pacientes fossem virgem de tratamento quando foram incorporados a este estudo, é possível que eles já tivessem produzido

neopterina durante a resposta imune celular ao bacilo nas fases iniciais do processo infeccioso e, no momento, este metabólito estaria sendo produzido em quantidades mínimas. Cabe salientar que Hamerlink et al. também encontraram valores de neopterina próximo ao valor normal, nos pacientes PB avaliados ⁽⁵²⁾.

Em outras patologias, estudos têm demonstrado concentrações elevadas de neopterina em pacientes com tuberculose pulmonar^(53,86) e em indivíduos HIV soropositivos assintomáticos⁽⁷⁾. Immanuel et al.⁽⁸⁸⁾ encontraram níveis de neopterina sérica em pacientes HIV soropositivos coinfectados com tuberculose, tendo esses níveis diminuído com a terapia antituberculose, porém os valores se mantiveram positivos. Neste mesmo estudo, verificaram níveis mais elevados naqueles pacientes com linfócitos T CD4 < 200mm³, indicando progressão da doença HIV ou um prognóstico de piora. Na leishmaniose os níveis de neopterina se apresentam elevados nos pacientes com leishmaniose visceral; porém, na forma cutânea da doença, os níveis mostraram-se inferiores a 10 nmol/l, concordando com os resultados observados em nossos pacientes HT ⁽⁵⁵⁾.

O estudo da correlação entre a quantificação de neopterina e IB, no momento do diagnóstico, revelou correlação positiva entre esses parâmetros, indicando que quanto maior a carga bacilar, maior é o nível de neopterina liberada. Uma possível explicação para esse fato pode estar relacionada ao afluxo constante de monócitos/macrófagos para o foco inflamatório em pacientes MB. Sabe-se que nestes pacientes o infiltrado inflamatório é constituído por granulomas macrofágicos extensos e abarrotados de bacilos e que, mesmo com o tratamento poliquimioterápico, o antígeno bacilar permanece por muitos anos nos tecidos, o mesmo ocorrendo com os granulomas macrofágicos multivacuolados (células de Virchow)⁽⁸⁹⁾. Sendo assim, é possível que esteja havendo um influxo constante de monócitos para o foco inflamatório, os quais seriam estimulados a produzirem neopterina; ao contrário das células de Virchow que não apresentariam essa capacidade.

Alterações sorológicas inespecíficas estão bem documentadas na hanseníase, especialmente na forma HIV, como elevados níveis de imunoglobulinas, presença de auto-anticorpos e concentração de CRP aumentada. Embora possam contribuir para a avaliação da atividade da doença, é importante salientar que a análise isolada de qualquer um desses parâmetros não é suficiente para indicar ou prever sua exacerbação.

A CRP parece desempenhar importante papel biológico, pois é uma molécula conservada entre vertebrados e apresenta rápida e imediata elevação durante a reação de fase aguda⁽⁹⁰⁾. Entre as diversas funções atribuídas à CRP, talvez a mais importante seja a sua capacidade de se ligar a componentes da membrana celular (principalmente à fosfocolina)⁽⁹¹⁾, assim como à cromatina e seus fragmentos^(92.93), formando complexos que ativam a via clássica do complemento, com liberação de opsoninas e eventual fagocitose e remoção dessas estruturas da circulação⁽⁹⁴⁾. É interessante observar que a ligação da CRP às membranas celulares se dá apenas após a ruptura destas. Essa propriedade sugere importante papel da CRP na defesa inespecífica do hospedeiro, em virtude da remoção de restos celulares derivados de células necróticas ou danificadas no processo inflamatório, tanto de microorganismos como do próprio hospedeiro, permitindo assim a reparação tecidual.

Há uma grande variação individual na quantidade absoluta de CRP produzida em resposta a um estímulo específico, seja ele inflamatório, infeccioso ou traumático, de modo que uma única determinação de CRP não deveria ser interpretada isoladamente⁽⁹⁵⁾. Portanto, num dado paciente, os níveis séricos da CRP deveriam ser analisados dentro do contexto clínico e preferencialmente de forma seriada, a fim de informar com maior precisão e precocidade o grau de atividade inflamatória.

Neste estudo, ao compararmos a produção de CRP entre as formas clínicas verificamos que os pacientes HV apresentam níveis maiores desta proteína, particularmente no momento do diagnóstico, quando comparados

aos demais pacientes; por outro lado, ao avaliarmos o efeito do tratamento com PQT na concentração da CRP, nenhuma alteração foi observada.

As alterações nos níveis de CRP encontradas nos pacientes HV, podem ser devido ao fato desses pacientes exibirem processo inflamatório intenso, com elevada carga bacilar, alteração da resposta imune humoral e danos teciduais.

Nos pacientes HD e HT, encontramos níveis baixos de CRP, possivelmente em virtude da limitação do método semiquantitativo. O uso de métodos com alta sensibilidade, incluindo a metodologia quantitativa por nefelometria, permitiria a detecção de concentrações com limite inferior mais baixo⁽⁹⁶⁾.

Alguns pesquisadores não puderam detectar proteínas de fase aguda, em soro normal humano, pelos métodos de aglutinação em látex ou eletroforese em gel de agarose. No entanto, usando o método de radioimunoensaio, com limite de detecção cerca de cinquenta vezes mais baixo do que o de tais métodos, as proteínas de fase aguda puderam ser determinadas na concentração de até 3 ug/l⁽⁹⁶⁾

No decorrer do estudo, os pacientes apresentaram sinais clínicos de reações tipo 1 e tipo 2. Como estabelecemos os períodos de coleta fixos, nem sempre o momento da reação foi exatamente o da coleta. Desse modo, agrupamos os pacientes em três grupos (reação tipo 1, tipo 2 e sem reação) e analisamos os parâmetros determinados ao longo do seguimento.

Quando avaliamos os níveis de anticorpos anti-PGL-I nos estados reacionais e durante a PQT, não verificamos diferença significativa entre pacientes SR e com reação, sugerindo que a pesquisa de anticorpos não parece ser um bom parâmetro para diferenciar os pacientes reacionais dos não reacionais.

Nossos resultados mostraram-se concordantes com o estudo realizado por Stefani et al.⁽⁹⁷⁾, que avaliaram pacientes hansenianos recém- diagnosticados, com reação tipo 1 e 2, e associaram os resultados com IB. Verificaram que, independente do estado reacional, os pacientes

apresentaram altos níveis de IgM anti-PGL-I, estando o perfil desses anticorpos diretamente associado com o IB.

Nossos resultados também concordam com àqueles obtidos por Cunha em 2001, que verificou ausência de diferenças significantes nos níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I entre os grupos de pacientes sem reação, com reações tipo 1 e tipo 2, aos 12, 24 e 36 meses de acompanhamento⁽⁹⁸⁾.

Alguns pesquisadores sugerem que, durante o surto da reação tipo 2, os pacientes HV, que apresentam perfil de resposta imune humoral (Th2), desenvolvem ativação transitória da resposta imune celular (Th1), o que pode levar à inibição da resposta Th2 e, conseqüentemente, diminuição da produção de anticorpos^(37 99). Este fato poderia justificar a não alteração nos níveis de anticorpos, durante o curso do quadro de reação tipo 2, conforme encontrado em nosso estudo.

No grupo de pacientes que apresentaram reação tipo 1, verificamos diferença significativa durante o tratamento, entre os momentos 0 e 12, apresentando diminuição com a quimioterapia. Nossos resultados estão de acordo com os achados de Roche et al.⁽¹⁰⁰⁾ que sugerem não haver envolvimento direto dos anticorpos IgM anti-PGL-I na patogênese da reação tipo 1. Os autores também mostraram que 88% dos episódios de reação tipo 1 ocorrem em pacientes não tratados ou dentro dos primeiros 6 meses de terapia, fato este ocorrido em nossa pesquisa.

Sabe-se que o PGL-I não parece ser um antígeno de células T (101), sendo a resposta imune celular direcionada, de maneira geral, aos antígenos protéicos. O seu papel na imunidade celular é o de favorecer a sobrevivência do bacilo no interior dos macrófagos e inibir a proliferação de linfócitos⁽¹⁰²⁾. Desse modo, outros antígenos liberados dos bacilos degradados devem ser o alvo da resposta imunológica durante a reação tipo 1.

Ao avaliarmos os resultados obtidos nos estados reacionais para neopterinina, encontramos níveis elevados nos pacientes com reação tipo 2, apontando assim para uma reatividade inflamatória intensa desses pacientes

com carga bacilar elevada, o que proporciona um dado valioso em relação a mudanças rápidas e agudas no curso da doença.

Nossos achados podem ser comparados aos obtidos por Hamerlink et al.⁽⁵²⁾, que, ao avaliarem a concentração sérica de neopterinina em relação à ocorrência de surtos reacionais e à influência do tratamento com corticosteróides, encontraram níveis aumentados de neopterinina nos estados reacionais, tanto na reação tipo 1 quanto na 2, e níveis diminuídos durante o tratamento imunossupressor.

Em 2004, Faber et al.⁽¹⁰³⁾, estudando os níveis de neopterinina em soro de pacientes com reação tipo 1, durante o tratamento com esteróides, encontraram níveis elevados desse composto, que diminuía com o uso da prednisona, sugerindo que a neopterinina parece ser um marcador útil para o diagnóstico e monitoramento deste tipo de reação. No entanto, nossos resultados não concordam com esses achados e mostram que altos níveis de neopterinina sérica na hanseníase estão relacionados com a carga bacilar apontada pela correlação positiva entre neopterinina e IB ($p < 0,05$).

Em nosso estudo, do ponto de vista clínico, a ausência de níveis elevados de neopterinina, no grupo de pacientes com reação tipo 1, poderia ser em decorrência deste tipo de reação ser detectada tardiamente e, até mesmo, perdida, e isto tornar difícil obter valores elevados, uma vez que o trabalho celular já teria acontecido, pois os retornos dos pacientes foram agendados segundo protocolo preestabelecido. Contudo, quando os resultados foram analisados individualmente foi possível observar que dos 08 pacientes que tiveram reação tipo 1, 05 deles tiveram neopterinina positiva em um dos momentos da coleta, o que provavelmente seria a fase inicial ou final da reação.

Na reação tipo 2 ocorre o contrário, visto que esta se desenvolve em poucas horas, podendo haver um ou mais surtos, o que a torna crônica, mantendo assim um nível mais elevado de trabalho celular e, conseqüentemente, níveis aumentados de neopterinina. Os resultados de Sampaio & Sarno⁽³⁷⁾ e Nath et al.⁽⁹⁹⁾ reforçam nossos achados, pois revelam

que durante o episódio reacional do tipo 2 haveria ativação da resposta imune celular. tipo Th1.

Ao monitorarmos a concentração de CRP, no decorrer do tratamento, nos grupos reacionais, não encontramos diferenças significantes. Entretanto, quando os resultados foram analisados, comparando os grupos de pacientes, verificamos que aqueles com reação tipo 2 produziram níveis maiores de CRP que os sem reação, no momento do diagnóstico e aos 12 meses de tratamento. De modo semelhante, os com reação tipo 2 também produziram níveis mais elevados desta proteína que os pacientes com reação tipo 1 no 12 mês da avaliação, quando a ocorrência de reação tipo 1 foi menor. Em geral, neste tipo de reação não há comprometimento sistêmico e as manifestações são predominantemente localizadas.

Nossos dados estão de acordo com os resultados obtidos por Foss em 1991⁽¹⁰⁴⁾ e Foss et al. em 1993⁽⁶⁵⁾, que demonstram maiores níveis de CRP nos pacientes MB com reação tipo 2.

Cabe salientar que a CRP é capaz de se ligar a tecidos danificados *in vivo*⁽¹⁰⁵⁾ e de ativar a via clássica do sistema complemento⁽¹⁰⁶⁾. Neste caso a clivagem da CRP por enzimas proteolíticas pode liberar peptídeos com efeitos de quimiotaxia e estimuladores das funções de leucócitos polimorfonucleares⁽¹⁰⁷⁾. Muitos destes eventos estão presentes na reação tipo 2, podendo a CRP desempenhar um papel nos mecanismos fisiopatológicos desta reação.

Em resumo, a detecção sérica de anti-PGL-I, neopterin e CRP nos permite estabelecer algumas considerações sobre o papel destes mediadores no decorrer do tratamento:

- ❖ O teste anti-PGL-I pode ser empregado no acompanhamento da terapêutica de pacientes HV e HD, correlacionando os resultados com a carga bacilar. Nos pacientes PB, o teste revelou-se de pouca aplicabilidade prática; assim, o desenvolvimento de testes sorológicos

com outros antígenos do *M. leprae* poderia ser útil na avaliação desses pacientes durante o tratamento.

- ❖ A pesquisa de neopterinina não se constitui em ferramenta eficiente no seguimento da terapêutica; entretanto, proporciona uma vantajosa combinação com o IB como indicador de episódios reacionais em pacientes com IB e níveis de neopterinina elevados.
- ❖ A CRP não se mostrou eficaz no acompanhamento da POT nos pacientes MB e PB.

CONCLUSÕES



6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste estudo podemos concluir que:

- ❖ Em pacientes MB os níveis de anticorpos anti-PGL-I diminuíram com o tratamento poliquimioterápico, deste modo sua determinação pode ser útil no acompanhamento desses pacientes durante a PQT.
- ❖ A quantificação de neopterinina pode ser utilizada como indicador dos estados reacionais, particularmente nos pacientes MB; entretanto não pode ser utilizada como ferramenta laboratorial para monitorar a resposta terapêutica com PQT, uma vez que não houve diferença significativa no decorrer do tratamento.
- ❖ A utilização do método de detecção da CRP sérica durante o tratamento de pacientes MB e PB mostrou-se de pouca aplicabilidade.
- ❖ A ocorrência de episódios reacionais durante o tratamento com PQT não parece estar relacionada com alteração dos níveis de anticorpos anti-PGL-1 entre os pacientes com reação tipo 1, tipo 2 e sem reação, pois não houve diferença estatisticamente significativa.

Os resultados deste estudo sugerem a necessidade de uma avaliação mais profunda do papel da neopterinina nos mecanismos imunopatológicos da hanseníase e a pesquisa de antígenos do *M. leprae* que possam ser empregados em testes sorológicos para pacientes PB.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hansen GHA. Üdersogelsen angaend spedalskhendens arsager. Norsk Laegevil 1873; 4:1-88.
2. Noordeen SK. Eliminating leprosy as a public health problem: why the optimism is justified. Int J Lepr Other Mycobact Dis 1995; 63: 559-66.
3. World Health Organization. Progress towards the elimination of leprosy as a public health problem. Weekly Epidemiol rec 1993; 68: 181.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia para controle da Hanseníase. Brasília; 2002.
5. Talhari S, Neves RG. Hansenologia. Manaus: Calderaro Ltda; 1984.
6. Brennan PJ. Structure of mycobacteria: recent developments in defining cell wall carbohydrates and proteins. Rev Infect Dis 1989; 11: 420-30.
7. Hunter SW, Brennan PJ. A novel phenolic glycolipid from *Mycobacterium leprae* possibly involved in immunogenicity and pathogenicity. J Bacteriol 1981; 147: 728-35.
8. Hunter SW, Fujiwara T, Brennan PJ. Structure and antigenicity of the major specific glycolipid antigen of *Mycobacterium /eprae*. J Biol Chem 1982; 257: 15072-8.

1 Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas. Requisitos uniformes para originais submetidos a revistas biomédicas. Ann Intern Méd 1997; 126:36-47.

National Library of Medicine. List of journals indexed In Index Medicus. Washington, 2003. 240p.

Referências Bibliográficas

9. Young DB. Detection of mycobacterial lipids in skin biopsies from leprosy patients. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1981; 49: 198-204.
10. Jopling WH, McDougall AC, Bakos L. Manual da Hanseníase. 4.ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 1991.
11. Rees RJW. The microbiology of leprosy. In: Hastings RC, editor. *Leprosy*. 4th ed. Edinburg: Churchil Livingstone; 1994. p.49-83.
12. Shepard CC. The nasal excretions of *Mycobacterium /eprae* in leprosy. *Int J Lepr* 1962; 30:10-8.
13. Davey TF, Rees RJW. The nasal discharge in leprosy: clinical and bacteriological aspects. *Lepr Rev* 1974; 45:121-34.
14. Opromolla DVA, Ura S. Epidemiologia. In: *Noções de Hansenologia*. 2.ed. Bauru: Centro de Estudos "Dr Reynaldo Quagliato". Instituto Lauro de Souza Lima, 2000. p.101-7.
15. Organização Mundial da Saúde. WHO Expert Committee on leprosy: fourth report. *Tech Rep Ser/ World Health Organ* 1977; 607:1-48.
16. Bechelli LM, Curban GV. Lepra. In: *Compêndio de Dermatologia*, 6.ed. São Paulo: Atheneu; 1988. p.132-63.
17. Pfaltzraff RE, Ramu G. Clinical leprosy. In: Hastings RC, Opromolla DVA. *Leprosy*. Edinburg: Churchill Livingstone, 2.ed. 1994. p.237-290.

Referências Bibliográficas

18. Talhari S, Neves RG. Manifestações cutâneas e diagnóstico diferencial. In: Hanseníase. 3.ed. Manaus: Dermatologia Tropical; 1997. p.5-40.
19. Opromolia DVA. Manifestações Clínicas e Reações. In: Noções de Hansenologia. 2ed. Bauru: Centro de Estudos "Dr Reynaldo Quagliato". Instituto Lauro de Souza Lima; 2000. p.51-58.
20. Memória Del 6th Congresso Internacional de Leprologia, 1953; Madrid: Association International de la Lepra, 1953. p. 1344.
21. Ridley DS, Jopling WH. Classification of Leprosy According to Immunity. A five- group system. Int J Lepr 1966; 34: 255-73.
22. World Health Organization. Chemotherapy of leprosy for control programmes. Tech Rep Ser/World Health Ogan. Gineve: 1982; 675: 37p.
23. Opromolla DVA. Terapêutica. In. Noções de Hansenologia. 2.ed. Bauru: Centro de Estudos "Dr Reynaldo Quagliato". Instituto Lauro de Souza Lima; 2000. p.95-99.
24. Organização Mundial da Saúde. Quimioterapia da Hanseníase para Programas de Estudos. Genebra; 1982. 37p. (série de informes técnicos, n.607).
25. Foss NT. Aspectos Imunológicos da hanseníase: immunological aspects of leprosy. Medicina (Ribeirão Preto) 1997; 30: 335-9.

26. Avila JL, Convit J. Studies on cellular immunity in leprosy. I Lysosomal enzymes. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1970; 38: 359-64.
27. Modlin RL. Th1-Th2 paradigm: insights from leprosy. *J Invest Dermatol* 1994; 102: 828-32.
28. Goulart IMB, Penha GO, Cunha G. Imunopatologia da hanseníase: a complexidade dos mecanismos da resposta imune do hospedeiro ao *Mycobacterium leprae*. *Rev Soc Bras Med Trop* 2002; 35: 365-75.
29. Yamamura M, Uyemura K, Deans RJ, Weinberg K, Rea TH, Bloom BR, et al. Defining protective responses to pathogens: cytokine profiles in leprosy lesions. *Science* 1991; 254: 277-79.
30. Sieling PA, Modlin RL. T cell and cytokine patterns in leprosy skin lesion. *Springer Semin Immunopathol* 1992; 13: 413-26.
31. Sieling PA, Modlin RL. Cytokine patterns at the site of mycobacterial infection. *Immunobiology* 1994; 191: 378-87.
32. Mutis T, Kraakman EM, Cornelisse YE, Haanen JB, Spits H, De Vries RR, et al. Analysis of cytokine production by Mycobacterium-reactive T cell. Failure to explain *Mycobacterium leprae* specific nonresponsiveness of peripheral blood T cells from lepromatous leprosy patients. *J Immunol* 1993; 150: 4641-51.
33. Barnetson R, Bjune G, Pearson JMH, Kronwall G. Cell mediated and humoral immunity in "reversal reactions". *Int J Lepr* 1976; 44: 267-73.

34. Naafs B. Leprosy reactions: new knowledge. Trop Geogr Med 1994; 46: 80-4.
35. Rea TH, Levan NE. Erythema nodosum leprosum in a general hospital. Arch Dermatol 1975; 111: 1575-80.
36. Smith C, Nocholl P, Braked WW, Lockwood D, Naafs B, Scollard D, et al. Special workshop on repeated and late reactions. Int J Lepr Other Mycobact Dis 2002; 70: 339-41.
37. Sampaio EP, Sarno EN. Expression and cytokine secretion in the states of immune reactivation in leprosy. Braz J Med Biol Res 1998; 31: 69-76.
38. Brennan PJ, Barrow WW. Evidence for species-specific lipid antigens in *Mycobacterium leprae*. Int J Lepr 1980; 48: 382-7.
39. Hunter SW, Brennan PJ. Further specific extracellular phenolic glycolipid antigens and a related diacylphthiocerol from *Mycobacterium leprae*. J Biol Chem 1983; 258: 7556-62.
40. Young DB, Buchanan TM. A serological test for leprosy with a glycolipid specific for *Mycobacterium leprae*. Science 1983; 221: 1057-9.
41. Fujiwara T, Hunter Sw, Cho SN, Aspinall GO, Brennan PJ. Chemical synthesis and serological of disaccharides and trisaccharides of phenolic glycolipid antigens from the leprosy bacillus and preparation of a disaccharide protein conjugate for serodiagnosis of leprosy. Infect Immun 1984; 43: 245-52.

42. Cho SN, Yanagihara DL, Hunter SW, Gelber RH, Brennan PJ. Serological specificity of phenolic glycolipid-I from *Mycobacterium leprae* and use in serodiagnosis of leprosy. *Infect Immun* 1983; 41: 1077-83.
43. Cruaud P, Yamashita JT, Casabona NM, Papa F, David HL. Evaluation of a novel 2,3-diacil-trehalose-2'-sulphate (SL-IV) antigen for case finding and diagnosis of leprosy and tuberculosis. *Res Microbiol* 1990; 141: 679-94.
44. Schwerer B, Meeker HC, Sersen G, Levis WR. IgM antibodies against phenolic glycolipid-I from *Mycobacterium leprae* in leprosy sera relationship to bacterial index and erythema nodosum leprosum. *Acta Leprol* 1984; 2: 395-402.
45. Maeda SM, Rotta O, Mychalany NS, Camargo ZP, Sunderkötter CE, Yamashita JT. Comparison between anti-PGL-I serology and Mitsuda reaction: clinical reading, microscopic findings and immunohistochemical analysis. *Lepr Rev* 2003; 74: 263-74.
46. Roche PW, Britton NJ, Neupane KD, Failbus SS, Cho SN, Theuvenet WJ. The response to chemotherapy of serum *Mycobacterium leprae*-specific antigen in multibacillary leprosy patients. *Am J Trop Med Hyg* 1991; 44: 702-8.
47. Neill MA, Klebanoff SJ. The effect of phenolic glycolipid-I from *Mycobacterium leprae* on the antimicrobial activity of human macrophages. *J Exp Med* 1988; 167: 30-42.

48. Huber C, Batchelor JR, Fuchs D, Hausen A, Lang A, Niederwieser D, et al. Immune response associated production of neopterin. Release from macrophages primarily under control of interferon-gamma. *J Exp Med* 1984; 160: 310-6.
49. Nathan CF. Peroxide and pteridine: a hypothesis of the regulation of macrophage antimicrobial activity by interferon-gamma. In: J Gresser. *Ed Interferon*. London: Academic Press 1986; p.125-43.
50. Woloszczuk W, Troppmair J, Leiter E, Flener R, Schwarz M, Kovarik J, et al. Relationship of interferon-gamma and neopterin levels during stimulation with alloantigens *in vivo* and *in vitro*. *Transplantation* 1986; 41: 716-9.
51. Huber C, Fuchs D, Hausen A, Margreiter R, Reibnegger G, Spielberger M, et al. Pteridines as a new marker to detect human T cells activated by allogeneic or modified self major histocompatibility complex (MHC). *J Immunol* 1983; 130: 1047-50.
52. Hamerlinck FFV, Klaster PR, Walsh DS, Bos JD, Walsh GP, Faber WR. Serum neopterin as a marker for reactional states in leprosy. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 24: 405-9.
53. Fuchs D, Hausen A, Kofler M, Kosanowski H, Reibnegger G, Wachter H. Neopterin as an index of immune response in patients with tuberculosis. *Lung* 1984; 162: 337-46.
54. Reibnegger G, Boonpucknavig V, Fuchs D, Hausen A, Schmutzhard E, Wachter H. Urinary neopterin excretion is elevated in patients with malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1984; 78: 545-6.

55. Hamerlink FF, van Goal T, Faber WR, Kager PA. Serum neopterin concentrations during treatment of leishmaniasis: useful as test of cure? *FEMS Immunol Med Microbiol* 2000; 27: 31-4.
56. Walmsley RN, White GH. *A guide to diagnostic clinical chemistry*. London: Blackwell, 1994.
57. Pepys MB, Baltz ML. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. *Adv Immunol* 1983; 34: 141-212.
58. Moshage HJ, Roelofs HMJ, Van Pelt JF, Hazenberg BPC, Van Leeuwen MA, Limburg PC, et al. The effect of interleukin-1 interleukin6 and its interrelationship on the synthesis of serum amyloid A and C-reactive protein in primary cultures of adult human hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 155: 112-7.
59. Kushner I, Ganapathy M, Schultz D. The acute phase response is mediated by heterogeneous mechanisms. *Ann N Y Acad Sci* 1989; 557: 19-30.
60. Dinarello CA. Role of interleukin-1 in infectious diseases. *Immunol Rev* 1992; 127: 119-46.
61. Taylor AW, Ku No, Mortensen RF. Both human IL-1 and IL-6 induce synthesis of C-reactive protein (CRP) by PLC/PRF/5 hepatoma cell line. *Ann N Y Acad Sci* 1989; 557: 532-3.
62. Ballou SP, Kushner I. C-reactive protein and the acute phase response. *Adv Int Med* 1992; 37: 313-36.

63. Languillon J, Garayon A. Précis de Leprologie. 2.ed. Paris: Masson; 1986.
64. Sehgal VN, Bhattacharya SN, Shah Y, Sharma VK, Gupta CK. Reaction in leprosy: acute phase reactant response during and after remission. Int J Dermatol 1992; 31: 632-4.
65. Foss NT, Oliveira EB, Silva CL. Correlation between TNF production, increase of plasma C-reactive protein level and suppression of T lymphocyte response to concanavalin A during erythema nodosum leprosum. Int J Lepr Other Mycobact Dis 1993; 61: 218-26.
66. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Área Técnica de Dermatologia Sanitária. Legislação sobre o controle da Hanseníase no Brasil. Brasília; 2000.
67. Ridley DS, Hilson GRF. A logarithmic index of bacilli in biopsies. I. Method. Int J Lepr Other Mycobact Dis 1967; 35: 184-6.
68. Brett SJ, Payne SN, Gigg J, Burgess P, Gigg R. use of synthetic glycoconjugates containing the *Mycobacterium leprae* specific and immunodominant epitope of phenolic glycolipid-I in the serology of leprosy. Clin Exp Immunol 1986; 64: 476-83.
69. Bühner-Sekuka S, Cunha MG, Ferreira WA, Klaster PR. The use of whole blood in a dipstick assay for detection of antibodies to *Mycobacterium Ieprae*: a field evaluation. FEMS Immunol Med Microbiol 1998; 21:197-201.

70. Westermann J, Thiemann F, Gerstner L, Tatzber F, Kozák I, Bertsch T, et al. Evaluation of a new simple and rapid enzyme-linked immunosorbent assay kit for neopterin determination. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38: 345-53.
71. Zar JH. *Biostatistical analysis*. 3th ed. New Jersey: Prentice Hall; 1996.
72. Payne SN, Drapper P, Rees RJW. Sorological activity of purified glycolipid from *Mycobacterium leprae*. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1982; 50: 220-21.
73. Saad MHF, Medeiros MA, Gallo MEN, Gontijo PP, Fonseca LS. IgM immunoglobulins reacting with the phenolic glycolipid antigen from *Mycobacterium leprae* in sera of leprosy patients and their contacts. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1990; 85: 191-4.
74. Cunha MGS. Níveis de anti-PGL-I no soro de pacientes com hanseníase tratados com quinolona e poliquimioterapia. [dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1998.
75. Bonato VLD. Correlação dos anticorpos anti-PGL-I com o índice baciloscópico, a reação de Mitsuda, o tratamento poliquimioterápico e as interleucinas nas diferentes formas da hanseníase. [dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1995.
76. Oskam L, Slim E, Bühner-Sékula S. Serology: recent developments, strengths, limitations and prospects: a state of the art overview. *Lepr Rev* 2003; 74: 196-205.

77. Bach MA, Wallach D, Flageul B, Hoffenbach A, Cottenot F. Antibodies to phenolic glycolipid I and to whole *Mycobacterium leprae* in leprosy patients: evolution during therapy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1986; 54: 256-67.
78. Koster FT, Scollard DM, Umland ET, Fishbein DB, Hanly WC, Brennan PJ, et al. Cellular and humoral immune response to a phenolic glycolipid antigen (PGL-I) in patients with leprosy. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 551-6.
79. Chanteau S, Cartel JL, Roux J, Plichart R, Bach MA. Comparison of synthetic antigens for detecting antibodies to phenolic glycolipid I in patients with leprosy and their household contacts. *J Infect Dis* 1988; 157: 770-6.
80. Roche PW, Britton WJ, Failbus SS, Williams D, Pradhan HM, Theuvenet WJ. Operational value of serological measurements in multibacillary leprosy patients: clinical and bacteriological correlates of antibody responses. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1990; 58: 480-90.
81. Chanteau S, Cartel JL, Celerier P, Plichart R, Desforges S, Roux J. PGL-I antigen and antibody detection in leprosy patients: evolution under chemotherapy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1989; 57: 735-43.
82. Repka JCD, Brana LR, Fabricio LH, Lemos AL, Penteado SRF, Stahike P. Imunologia na hanseníase — Aspectos de avaliação imunológica no tratamento. *Arq Biol Tecnol* 1991; 34: 53-60.
83. Douglas JT, Steven LM, Fajardo T, Cellona RV, Madarang MG, Abalos RM, et al. The effects of chemotherapy on antibody levels in lepromatous patients. *Lepr Rev* 1988; 59: 127-35.

84. Cho SN, Cellona RV, Villahermosa LG, Fajardo Jr TT, Balagon MVF, Abalos RM. et al. Detection of phenolic glycolipid I of *Mycobacterium leprae* in sera from leprosy patients before and after start of multidrug therapy. Clin Diagn Lab Immunol 2001; 8: 1138-42.
85. Schmutzhard E, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter. H Is neopterin a marker of cell mediated immune response helpful in classifying leprosy? East Afr Med J 1986; 63: 577-80.
86. Immanuel C, Swamy R, Kannapiran M, Vijayalakshmi S, Sundaram V, Jaganath K. Neopterin as a marker for cell mediated immunity in patients with pulmonary tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 1997; 1:175-80.
87. Lambin P, Desjobert H, Debbia M, Fine JM, Muller JY. Serum neopterin and beta 2-microglobulin in anti-HIV positive blood donors. Lancet 1986; 22: 1216.
88. Immanuel C, Victor L, Cheivi KS, Padmapriyadarsini C, Rehman F, Lliayas S, et al. Serum neopterin level in HIV infected patients with & without tuberculosis. Indian J Med Res 2005; 121: 220-5.
89. Fleury RN. Patologia e manifestações viscerais. In. Noções de Hansenologia. 2.ed. Bauru: Centro de Estudos "Dr Reynaldo Quagliato". Instituto Lauro de Souza Lima; 2000. p.63-71.
90. Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. Immunol Today 1994; 15: 74-80.

91. Volanakis JE, Kaplan MH. Specificity of C-reactive protein for choline phosphate residues of pneumococcal C-polysaccharide. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971; 136: 612-4.
92. Robey FA, Jones KD, Tanaka T, Liu TV. Binding of C-reactive protein to chromatin and nucleosome core particles. A possible physiological role of C-reactive protein. *J Biol Chem* 1984; 259: 7311-6.
93. Robey FA, Jones KD, Steinberg AD. C-reactive protein mediates the solubilization of nuclear DNA by complement *in vitro*. *J Exp Med* 1985; 161:1344-56.
94. Mortensen RF, Osmand AP, Lint TF, Gewurz H. Interaction of C-reactive protein with lymphocytes and monocytes: complement-dependent adherence and phagocytosis. *J Immunol* 1976; 117: 774-81.
95. Pepys MB. C-reactive protein fifty years on. *Lancet* 1981; 1: 653-7.
96. Ribeiro MA. C-reactive protein: Re-evaluation of a diagnostic laboratory test. *Br J I Dis* 1997; 1: 212-25.
97. Stefani MMA, Martelli CMT, Morais-Neto OL, Martelli P, Costa MB, Andrade ALSS. Assessment of anti-PGL-I as a prognostic marker of leprosy reaction. *I J Lepr Other Mycobact Dis* 1988; 66: 356-64.
98. Cunha MGS. Episódios reacionais e relação com recidiva em doentes com hanseníase multibacilar tratados com diferentes esquemas terapêuticos. Tese [doutorado] Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2001.

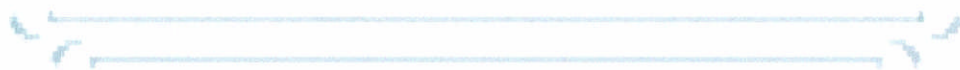
Referências Bibliográficas

99. Nath I, Vemuri N, Reddi AL, Jain S, Brooks P, Colston MJ, et al. The effect of antigen presenting cells on the cytokine profiles of stable and reactional lepromatous leprosy. *Immunol Lett* 2000; 75: 69-76.
100. Roche PW, Le Master J, Butlin CR. Risk factors for type 1 reactions in leprosy. *Int J Lepr* 1997; 65: 450-5.
101. Brett SJ, Lowe C, Payne SN, Draper P. Phenolic glycolipid I of *Mycobacterium leprae* causes nonspecific inflammation but has no effect on cell-mediated responses in mice. *Infect Immun* 1984; 46: 8028.
102. Fournie JJ, Adams E, Mullins RJ, Basten A. Inhibition of human lymphoproliferative responses by mycobacterial phenolic glycolipids. *Infect Immun* 1989; 57:3653-9
103. Faber WR, Iyer AM, Fajardo TT, Dekker I, Villahermosa LG, Abalos RM et al. Serial measurement of serum cytokines, cytokine receptors and neopterin in leprosy patients with reversal reactions. *Lepr Rev* 2004; 75: 274-81.
104. Foss NT. Proteína C reativa e fator de necrose tumoral na hanseníase. Tese [Livre Docência]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1991.
105. Kaplan MH. C-reactive protein: relation to disease and pathological significance. *Ann N Y Acad Sci* 1982; 389: 419-22.
106. Volanakis JE. Complement activation by C-reactive protein complexes. *Ann N Y Acad Sci* 1982; 389: 235-49.

Referências Bibliográficas

107. Gotschlich EC. C-reactive protein: a historical overview. *Ann N Y Acad Sci* 1989; 557: 9-18.

RESUMO



8. RESUMO

A hanseníase é doença infecciosa crônica, causada pelo *Mycobacterium leprae*, um parasita intracelular obrigatório não cultivável em meios artificiais. Esta doença pode se manifestar sob amplo espectro clínico, correspondendo a distintos padrões da resposta imunológica do hospedeiro ao *M. leprae*. Em um pólo deste espectro, está a forma de resistência ao bacilo, a hanseníase tuberculóide (HT), na qual se desenvolve acentuada resposta imune celular específica com efetivo controle da multiplicação bacilar. O outro pólo do espectro está representado pela hanseníase virchoviana (HV), forma de baixa resistência, em que a resposta imune celular seletivamente falha em eliminar o bacilo do organismo, resultando na disseminação da doença. O grupo dimorfo (HD) apresenta manifestações intermediárias variáveis entre HT e HV, de acordo com o grau de resposta imune ao *M. leprae*.

Considerando que na hanseníase existem poucos estudos avaliando os níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I, neopterin e proteína C reativa (CRP) no momento do diagnóstico e durante o tratamento poliquimioterápico, realizamos este estudo com os seguintes objetivos:

- A. Avaliar a resposta imune e inflamatória de pacientes com hanseníase no momento do diagnóstico e aos 2, 4, 6 e 12 meses de tratamento com poliquimioterapia (POT) e nos estados reacionais, mediante a determinação dos níveis séricos de anti-PGL-I, de neopterin e de CRP.
- B. Avaliar o índice baciloscópico (IB) dos pacientes no momento do diagnóstico e correlacionar os resultados com os níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I, neopterin e CRP.

Participaram deste trabalho 25 pacientes virgens de tratamento, atendidos no Instituto Lauro de Souza Lima de Bauru, classificados de acordo com os critérios estabelecidos no 6º Congresso Internacional de Madri em 09 HV, 06 HD e 10 HT. Levando-se em conta o esquema terapêutico determinado pela Organização Mundial de Saúde, os pacientes foram ainda classificados em 15 multibacilares (MB) e 10 paucibacilares (PB). Entre os 25 pacientes

avaliados 13 apresentaram reações, sendo 08 com reação tipo 1 e 05 com reação tipo 2.

No momento do diagnóstico foi determinado o IB de cada paciente, mediante a coleta de linfa cutânea. As amostras de sangue foram coletadas em cinco momentos: no momento do diagnóstico e após 2, 4, 6 e 12 meses de tratamento e o soro foi empregado na determinação dos níveis de anticorpos anti-PGL-I, neopterina e CRP.

A quantificação dos anticorpos foi realizada pelo método de ELISA, empregando-se o *Kit* da Royal Tropical Institute de Amsterdã. Para a detecção de neopterina sérica, foi utilizado o teste de ELISA por competição, desenvolvido pela empresa IBL, Hamburg (Germany). Os níveis séricos de CRP foram determinados pelo teste de aglutinação passiva em partículas de látex.

Os resultados revelaram baixos níveis de anticorpos anti-PGL-I nos pacientes HT, níveis médios nos HD e elevados nos HV. No decorrer do tratamento, houve um declínio estatisticamente significativo nos pacientes MB. Verificamos correlação positiva entre os níveis de anti-PGL-I e IB no momento do diagnóstico.

A quantificação de neopterina sérica revelou níveis elevados nos pacientes MB especialmente nos HV, e uma correlação positiva entre este composto e o IB. No entanto, os resultados mostraram-se de pouco valor para monitorar os pacientes durante a PQT, uma vez que não houve diferença estatisticamente significativa.

Com relação aos níveis séricos de CRP não verificamos resultados significastes no decorrer do tratamento, porém ao compararmos os grupos de pacientes, observamos níveis mais elevados nos HV.

Durante o estudo, os pacientes apresentaram sinais clínicos de reações tipo 1 e tipo 2. Desse modo, quando avaliamos os níveis de anti-PGL-I entre os pacientes com e sem reação, não encontramos diferença significativa. Quando avaliamos os resultados de neopterina, obtivemos níveis elevados

nos pacientes com reação tipo 2. Do mesmo modo, esse grupo de pacientes apresentou níveis maiores de PCR.

A partir desses achados, concluímos que: a detecção de anticorpos antiPGL-I pode ser empregada no acompanhamento da PQT de pacientes HV e HD; a pesquisa de neopterina apresenta-se útil como indicador de estado reacional, principalmente em pacientes com reação tipo 2; a CRP não se mostrou eficaz no seguimento do tratamento dos pacientes com hanseníase.

ABSTRACT



9. ABSTRACT

Leprosy is a chronic infectious disease caused by the *Mycobacterium leprae*, an obligated intracellular parasite, yet to be cultivated in artificial media. The disease may present with a wide clinical range that will correspond to the immunological response of the host to the *M. leprae*. In one pole is the resistant form, the tuberculoid leprosy (HT), in which the strong specific cellular immune response controls bacillary multiplication. The other pole is represented by lepromatous leprosy (HV), low resistant form in which the cellular immunity fails to eliminate bacilli from the infected host and infection disseminates. The borderline (HD) presents variable intermediate manifestations between HT and HV, depending on the grade of immunity against *M. leprae*.

Considering that anti-PGL-I antibodies, neopterin and C reactive protein (CRP) were evaluated in a few studies, at diagnosis and during multidrugtherapy (MDT) treatment, the aims of the present study were:

A. Evaluate the immune and inflammatory responses in leprosy patients at diagnosis of the disease and 2, 4, 6 and 12 months of treatment with MDT, and at reactional episodes. This was accomplished by anti-PGL-I antibodies, neopterin and CRP serum levels determination.

B. Evaluate the bacilloscopic index (IB) of leprosy patients at diagnosis and correlate it with serum levels of anti-PGL-I antibodies, neopterin and CRP. Twenty-five non-treated patients attended at the Instituto Lauro de Souza Lima took part of this study. They were classified according to the criteria established at the 6^o International Leprosy Congress, Madri. There were 09 HV, 06 HD and 10 HT. According to the World Health Organization orientation for treatment scheme, the 15 patients were classified as multibacillary (MB) and 10 as paucibacillary (PB). Among the 25 evaluated patients, 13 presented reactional episodes, 08 were type 1 and 05 type 2. Cutaneous lymph was collected at diagnosis for IB determination. Blood samples were drawn at five moments: at diagnosis, 2, 4, 6 and 12 months of treatment. Sera were used for anti-PGL-I antibodies, neopterin and CRP

serum level determination. The ELISA kit developed by the Royal Tropical Institute of Amsterdam was used for anti-PGL1 antibody quantification. Neopterin levels were determined using a competitive ELISA test developed by IBL, Hamburg (Germany). The CRP levels were determined using a latex passive agglutination test. Results showed low levels of anti-PGL-I antibodies in HT patient, average levels in HD and increased levels in HV. Throughout treatment there was a significant decrease in the anti-PGL-I antibodies levels in MB patients. A positive correlation was obtained between anti-PGL-I levels and IB at the moment of diagnosis. Neopterin serum levels were increased in MB patients, especially on HV. There was a positive correlation between neopterin and IB. The results, however, showed little monitoring value for patients on MDT scheme. No significant results were obtained during treatment for CRP levels, but when comparing the groups of patients, HV showed increased CRP levels. No statistical difference was found for anti-PGL-I levels between patients who presented type 1 and type 2 reactions during the study. Neopterin levels were elevated in patients with type 2 reaction. The CRP levels were equally elevated in the type 2 reactional patients. We could conclude that: detection of anti-PGL-I antibodies may be used for follow-up of HV and HD patients on MDT; neopterin level is a good indicator for reactional episodes, mainly in patients with type 2 reaction; CRP was not efficient for follow-up of leprosy patients on treatment.

APÊNDICE



10. APÊNDICE

Tabela 1: Níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I nos pacientes multibacilares no decorrer do tratamento. Valores expressos em D.O. (Positivo >_ 0,200).

Pacientes Multibacilares N = 15	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
ABM	0,232	0,289	0,259	0,211	0,271
AGS	0,131	0,120	0,066	0,041	0,047
JAS	0,977	0,691	0,956	0,813	0,601
JFM	2,227	1,992	1,328	1,274	1,470
JJL	0,793	0,406	0,337	0,432	0,299
JR	0,026	0,064	0,026	0,025	0,022
JRS	0,192	0,318	0,258	0,196	0,173
LLV	0,229	0,222	0,174	0,162	0,223
MBP	1,726	1,610	1,569	1,621	1,621
MZP	21,144	16,704	12,064	16,008	12,24
RFPS	2,104	1,282	0,938	0,898	0,865
RR	1,144	0,840	0,502	1,140	0,409
RV	0,757	0,764	0,742	0,692	0,696
SPC	0,324	0,307	0,310	0,207	0,170
TFO	0,112	0,074	0,066	0,062	0,042
	2,14	1,71	1,30	1,58	1,27
Média ±DP	±5,30	±4,18	±3,01	±4,02	±3,07
Mediana	0,75	0,40	0,33	0,43	0,29

Tabela 2: Níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I nos pacientes paucibacilares no decorrer do tratamento. Valores expressos em D.O. (Positivo >_ 0,200).

Pacientes Paucibacilares N = 10	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
APV	0,029	0,035	0,018	0,024	0,024
EFD	0,438	0,222	0,225	0,198	0,120
GST	0,482	0,394	0,339	0,291	0,262
JGS	0,036	0,012	0,0075	0,027	0,019
LJS	0,135	0,127	0,086	0,128	0,099
MMC	0,113	0,085	0,070	0,111	0,102
SBP	0,407	0,391	0,382	0,374	0,272
TBS	0,022	0,041	0,045	0,031	0,023
TSV	0,015	0,050	0,037	0,047	0,056
VSP	0,406	0,394	0,405	0,437	0,376
Média ±DP	0,21 ±0,19	0,17 ±0,16	0,16 ±0,16	0,16 ±0,15	0,13 ±0,12
Mediana	0,12	0,10	0,07	0,11	0,10

Tabela 3: Níveis séricos de neopterinina em pacientes com hanseníase multibacilar no decorrer do tratamento. Valores expressos em nmol. (Valor normal < 10 nmol/1 ou 2,5 ng/ml).

Pacientes Multibacilares N = 15	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
ABM	35,544	21,159	13,263	25,376	19,481
AGS	8,846	15,122	10,376	8,901	9,929
JAS	11,059	7,219	9,740	8,326	18,023
JFM	9,472	9,422	6,040	7,070	5,003
JJL	11,068	10,942	12,856	9,662	10,669
JR	3,903	7,509	7,368	7,078	6,835
JRS	34,019	22,726	22,907	19,481	13,713
LLV	6,402	10,515	13,545	12,296	13,13
MBP	13,382	14,814	17,055	15,201	13,921
MZP	17,338	12,971	19,171	110,113	17,579
RFPS	4,601	11,028	8,979	9,015	12,422
RR	8,297	14,154	8,365	9,951	8,243
RV	27,972	21,928	23,267	11,903	15,774
SPC	9,717	7,282	6,054	7,708	8,29
TFO	15,642	14,245	10,561	18,941	12,57
	14,48	13,40	12,63	18,73	12,37
Média ±DP	±10,12	±5,15	±5,64	±25,83	±4,25
Mediana	11,05	12,97	10,56	9,95	12,57

Tabela 4: Níveis séricos de neopterina em pacientes com hanseníase paucibacilar no decorrer do tratamento. Valores expressos em D.O. (valor normal <10 nmol/l ou 2,5 ng/ml).

Pacientes Paucibacilares N = 10	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
APV	6,365	5,729	6,01	6,101	4,036
EFD	9,749	12,699	8,667	9,438	7,586
GST	4,587	7,088	6,724	7,653	4,220
JGS	2,33	3,53	5,205	3,095	2,311
LJS	7,876	10,465	10,964	8,771	9,77
MMC	5,708	6,002	8,375	6,607	5,958
SBP	4,086	4,936	6,545	5,456	5,172
TBS	6,361	3,929	7,652	7,74	8,054
TSV	4,520	9,855	7,917	8,243	5,612
VSP	8,243	5,991	4,262	5,620	6,312
	5,98	7,02	7,23	6,87	5,90
Média ±DP	±2,21	±3,01	±1,91	±1,88	±2,17
Mediana	6,03	5,99	7,18	7,13	5,78

Tabela 5: Níveis séricos de proteína C reativa nos pacientes multibacilares no decorrer do tratamento. Valores expressos em mg/I (Positivo > 6 mg/I).

Pacientes Multibacilares N = 15	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
ABM	48	12	12	24	6
AGS	0	0	0	0	0
JAS	0	0	0	0	0
JFM	0	0	0	0	6
JJL	0	0	0	0	6
JR	0	0	0	0	0
JRS	48	12	0	6	12
LLV	0	0	0	0	0
MBP	24	96	48	24	24
MZP	6	0	24	12	12
RFPS	12	48	48	24	96
RR	6	12	6	6	0
RV	24	12	12	12	6
SPC	12	6	12	6	0
TFO	96	48	48	48	12
Média ±DP	18,40 ±27,06	16,40 ±27,26	14,00 ±18,92	10,80 ±13,83	12,00 ±24,21
Mediana	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0

Tabela 6: Níveis séricos de proteína C reativa em pacientes com hanseníase paucibacilar no decorrer do tratamento. Valores expressos em mg/l (Positivo \geq 6 mg/l).

Pacientes Paucibacilares N = 10	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
APV	6	6	6	6	0
EFD	0	0	0	0	0
GST	0	0	0	0	0
JGS	0	0	0	0	0
LJS	12	12	6	32	96
MMC	0	0	0	0	0
SBP	6	6	6	6	6
TBS	6	6	12	6	6
TSV	0	0	0	0	0
VSP	0	24	48	24	0
	3,00	5,40	7,80	7,40	10,80
Média \pm DP	\pm 4,24	\pm 7,72	\pm 14,71	\pm 11,35	\pm 30,03
Mediana	0,0	3,0	3,0	3,0	0,0

Tabela 7: Níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I nos pacientes tuberculóides no decorrer do tratamento. Valores expressos em D.O. (Positivo $\geq 0,200$).

Pacientes Tuberculóides N = 10	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
APV	0,029	0,035	0,018	0,024	0,024
EFD	0,438	0,222	0,225	0,198	0,120
GST	0,482	0,394	0,339	0,291	0,262
JGS	0,036	0,012	0,0075	0,027	0,019
LJS	0,135	0,127	0,086	0,128	0,099
MMC	0,113	0,085	0,070	0,111	0,102
SBP	0,407	0,391	0,382	0,374	0,272
TBS	0,022	0,041	0,045	0,031	0,023
TSV	0,015	0,050	0,037	0,047	0,056
VSP	0,406	0,394	0,405	0,437	0,376
	0,20	0,17	0,16	0,16	0,13
Média \pm DP	$\pm 0,19$	$\pm 0,16$	$\pm 0,16$	$\pm 0,15$	$\pm 0,12$
Mediana	0,12	0,10	0,07	0,11	0,10

Tabela 8: Níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I nos pacientes dimorfos no decorrer do tratamento. Valores expressos em D.O. (Positivo >_ 0,200).

Pacientes Dimorfos N = 06	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
AGS	0,131	0,120	0,066	0,041	0,047
JFM	2,227	1,992	1,328	1,274	1,470
JJL	0,793	0,406	0,337	0,432	0,299
JR	0,026	0,064	0,026	0,025	0,022
LLV	0,229	0,222	0,174	0,162	0,223
RR	1,144	0,840	0,502	1,140	0,409
	0,75	0,60	0,40	0,51	0,41
Média ±DP	±0,83	±0,73	±0,48	±0,55	±0,53
Mediana	0,51	0,31	0,25	0,29	0,26

Tabela 9: Níveis séricos de anticorpos anti-PGL-1 nos pacientes virchovianos no decorrer do tratamento. Valores expressos em D.O. (Positivo >_ 0,200).

Pacientes Virchovianos N = 09	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
ABM	0,232	0,289	0,259	0,211	0,271
JAS	0,977	0,691	0,956	0,813	0,601
JRS	0,192	0,318	0,258	0,196	0,173
MBP	1,726	1,610	1,569	1,621	1,621
MZP	21,144	16,704	12,064	16,008	12,24
RFPS	2,104	1,282	0,938	0,898	0,865
RV	0,757	0,764	0,742	0,692	0,696
SPC	0,324	0,307	0,310	0,207	0,170
TFO	0,112	0,074	0,066	0,062	0,042
	3,06	2,44	1,90	2,30	1,85
Média ±DP	±6,81	±5,36	±3,83	±5,16	±3,92
Mediana	0,75	0,69	0,74	0,69	0,60

Tabela 10: Níveis séricos de neopterina em pacientes com hanseníase tuberculóide no decorrer do tratamento. Valores expressos em nmol/I (valor normal <10 nmol/I ou 2,5 ng/ml).

Pacientes Tuberculóides N = 10	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
APV	6,365	5,729	6,01	6,101	4,036
EFD	9,749	12,699	8,667	9,438	7,586
GST	4,587	7,088	6,724	7,653	4,220
JGS	2,33	3,53	5,205	3,095	2,311
LJS	7,876	10,465	10,964	8,771	9,77
MMC	5,708	6,002	8,375	6,607	5,958
SBP	4,086	4,936	6,545	5,456	5,172
TBS	6,361	3,929	7,652	7,74	8,054
TSV	4,520	9,855	7,917	8,243	5,612
VSP	8,243	5,991	4,262	5,620	6,312
	5,98	7,02	7,23	6,87	5,90
Média ±DP	±2,21	±3,01	±1,91	±1,88	±2,17
Mediana	6,03	5,99	7,18	7,13	5,78

Tabela 11: Níveis séricos de neopterinina em pacientes com hanseníase dimorfa no decorrer do tratamento. Valores expressos em nmol/I (valor normal < 10 nmol/I ou 2,5 ng/ml).

Pacientes Dimorfos N = 06	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
AGS	8,846	15,122	10,376	8,901	9,929
JFM	9,472	9,422	6,040	7,070	5,003
JJL	11,068	10,942	12,856	9,662	10,669
JR	3,903	7,509	7,368	7,078	6,835
LLV	6,402	10,515	13,545	12,296	13,13
RR	8,297	14,154	8,365	9,951	8,243
	7,99	11,27	9,75	9,15	8,96
Média ±DP	±2,51	±2,87	±3,02	±1,97	±2,89
Mediana	8,57	10,72	9,37	9,28	9,08

Tabela 12: Níveis séricos de neopterinina em pacientes com hanseníase virchoviana no decorrer do tratamento. Valores expressos em nmol/I (valor normal < 10 nmol/I ou 2,5 ng/ml).

Pacientes Virchovianos N = 09	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
ABM	35,544	21,159	13,263	25,376	19,481
JAS	11,059	7,219	9,740	8,326	18,023
JRS	34,019	22,726	22,907	19,481	13,713
MBP	13,382	14,814	17,055	15,201	13,921
MZP	17,338	12,971	19,171	110,113	17,579
RFPS	4,601	11,028	8,979	9,015	12,422
RV	27,972	21,928	23,267	11,903	15,774
SPC	9,717	7,282	6,054	7,708	8,29
TFO	15,642	14,245	10,561	18,941	12,571
	18,80	14,81	14,55	25,11	14,64
Média ±DP	±11,07	±5,97	±6,29	±32,42	±3,45
Mediana	15,64	14,24	13,26	15,20	13,92

Tabela 13: Níveis séricos de proteína C reativa em pacientes com hanseníase tuberculóide no decorrer do tratamento. Valores expressos em mg/l (Positivo > 6 mg/l).

Pacientes Tuberculóides N = 10	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
APV	6	6	6	6	0
EFD	0	0	0	0	0
GST	0	0	0	0	0
JGS	0	0	0	0	0
LJS	12	12	6	32	96
MMC	0	0	0	0	0
SBP	6	6	6	6	6
TBS	6	6	12	6	6
TSV	0	0	0	0	0
VSP	0	24	48	24	0
	3,00	5,40	7,80	7,40	10,80
Média ±DP	±4,24	±7,72	±14,71	±11,35	±30,03
Mediana	0,0	3,00	3,0	3,0	0,0

Tabela 14: Níveis séricos de proteína C reativa nos pacientes dimorfos no decorrer do tratamento. Valores expressos em mg/l (Positivo > 6 mg/l)

Pacientes Dimorfos N = 06	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
AGS	0	0	0	0	0
JFM	0	0	0	0	6
JJL	0	0	0	0	6
JR	0	0	0	0	0
LLV	0	0	0	0	0
RR	6	12	6	6	0
	1,00	2,00	1,00	1,00	2,00
Média ±DP	±2,44	±4,89	±2,44	±2,44	±3,09
Mediana	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela 15: Níveis séricos de proteína C reativa nos pacientes virchovianos no decorrer do tratamento. Valores expressos em mg/I (Positivo >_ 6 mg/I).

Pacientes Virchovianos N = 09	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
ABM	48	12	12	24	6
JAS	0	0	0	0	0
JRS	48	12	0	6	12
MBP	24	96	48	24	24
MZP	6	0	24	12	12
RFPS	12	48	48	24	96
RV	24	12	12	12	6
SPC	12	6	12	6	0
TFO	96	48	48	48	12
	30,00	26,00	22,66	17,33	18,66
Média ±DP	±30,00	±32,03	±20,29	±14,52	±29,91
Mediana	24	12	12	12	12

Tabela 16: Níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I nos pacientes hansenianos com reação tipo 1 no decorrer do tratamento. Valores expressos em D.O. (Positivo > 0,200).

<i>Pacientes com Reação Tipo 1 N=08</i>	<i>Momento (meses)</i>				
	<i>0</i>	<i>2</i>	<i>4</i>	<i>6</i>	<i>12</i>
A G S	0,131	0,120	0,066	0,041	0,047
J J L	0,793	0,406	0,337	0,432	0,299
L L V	0,229	0,222	0,174	0,162	0,223
M M C	0,113	0,085	0,070	0,111	0,102
R R	1,144	0,840	0,502	1,140	0,409
S P C	0,324	0,307	0,310	0,207	0,170
T F O	0,112	0,074	0,066	0,062	0,042
T S V	0,015	0,050	0,037	0,047	0,056
Média ±DP	0,35 ±0,39	0,26 ±0,26	0,19 ±0,16	0,27 ±0,37	0,16 ±0,13
Mediana	0,18	0,17	0,12	0,13	0,13

Tabela 17: Níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I nos pacientes hansenianos com reação tipo 2 no decorrer do tratamento. Valores expressos em D.O. (Positivo > 0;200).

Pacientes com Reação Tipo 2 N = 5	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
ABM	0,232	0,289	0,259	0,211	0,271
JRS	0,192	0,318	0,258	0,196	0,173
MBP	1,726	1,610	1,569	1,621	1,621
MZP	21,144	16,704	12,064	16,008	12,24
RFPS	2,104	1,282	0,938	0,898	0,865
	5,07	4,04	3,01	3,78	3,03
Média ±DP	±9,02	±7,10	±5,08	±6,85	±5,17
Mediana	1,72	1,28	0,93	0,89	0,86

Tabela 18: Níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I nos pacientes hansenianos sem reação no decorrer do tratamento. Valores expressos em D.O. (Positivo $\geq 0,200$).

Pacientes sem Reação N =12	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
APV	0,029	0,035	0,018	0,024	0,024
EFD	0,438	0,222	0,225	0,198	0,120
GST	0,482	0,394	0,339	0,291	0,262
JAS	0,977	0,691	0,956	0,813	0,601
JFM	2,227	1,992	1,328	1,274	1,470
JGS	0,036	0,012	0,0075	0,027	0,019
JR	0,026	0,064	0,026	0,025	0,022
LJS	0,135	0,127	0,086	0,128	0,099
RV	0,757	0,764	0,742	0,692	0,696
SBP	0,407	0,391	0,382	0,374	0,272
TBS	0,022	0,041	0,045	0,031	0,023
VSP	0,406	0,394	0,405	0,437	0,376
	0,49	0,42	0,37	0,35	0,33
Média \pm DP	$\pm 0,62$	$\pm 0,55$	$\pm 0,42$	$\pm 0,39$	$\pm 0,42$
Mediana	0,40	0,30	0,28	0,24	0,19

Tabela 19: Níveis séricos de neopterina nos pacientes hansenianos com reação tipo 1 no decorrer do tratamento. Valores expressos em nmol/I (valor normal < 10 nmol/I ou 2,5 ng/ml).

Pacientes com Reação Tipo 1 N = 08	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
A G S	8,846	15,122	10,376	8,901	9,929
J J L	11,068	10,942	12,856	9,662	10,669
L L V	6,402	10,515	13,545	12,296	13,13
M M C	5,708	6,002	8,375	6,607	5,958
R R	8,297	14,154	8,365	9,951	8,243
S P C	9,717	7,282	6,054	7,708	8,29
T F 0	15,642	14,245	10,561	18,941	12,571
T S V	4,520	9,855	7,917	8,243	5,612
Média ±DP	8,77 ±3,51	11,01 ±3,33	9,75 ±2,56	10,28 ±3,88	9,30 ±2,79
Mediana	8,57	10,72	9,37	9,28	9,10

Tabela 20: Níveis séricos de neopterinina nos pacientes hansenianos com reação tipo 2 no decorrer do tratamento. Valores expressos em nmol/I (valor normal < 10 nmol/I ou 2,5 nd/ml).

Pacientes com Reação Tipo 2 N = 05	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
A B M	35,544	21,159	13,263	25,376	19,481
J R S	34,019	22,726	22,907	19,481	13,713
M B P	13,382	14,814	17,055	15,201	13,921
M Z P	17,338	12,971	19,171	110,113	17,579
R F P S	4,601	11,028	8,979	9,015	12,422
	20,97	16,53	16,27	35,83	15,42
Média ±DP	±13,42	±5,14	±5,36	±41,94	±2,97
Mediana	17,33	14,81	17,05	19,48	13,92

Tabela 21: Níveis séricos de neopterina nos pacientes hansenianos sem reação no decorrer do tratamento. Valores expressos em nmol/l (valor normal < 10 nmol/l ou 2,5 ng/ml).

Pacientes sem Reação N=12	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
A P V	6,365	5,729	6,01	6,101	4,036
E F D	9,749	12,699	8,667	9,438	7,586
G S T	4,587	7,088	6,724	7,653	4,220
J A S	11,059	7,219	9,740	8,326	18,023
J F M	9,472	9,422	6,040	7,070	5,003
J G S	2,33	3,53	5,205	3,095	2,311
J R	3,903	7,509	7,368	7,078	6,835
L J S	7,876	10,465	10,964	8,771	9,77
R V	27,972	21,928	23,267	11,903	15,774
S B P	4,086	4,936	6,545	5,456	5,172
T B S	6,361	3,929	7,652	7,74	8,054
V S P	8,243	5,991	4,262	5,620	6,312
	8,50	8,36	8,53	7,35	7,75
Média ±DP	±6,68	±5,03	±5,00	±2,23	±4,73
Mediana	7,12	7,15	7,04	7,36	6,57

Tabela 22: Níveis séricos de proteína C reativa nos pacientes com reação tipo 1 no decorrer do tratamento. Valores expressos em mg/I (Positivo > 6 mg/I).

Pacientes com Reação Tipo 1 N=08	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
AGS	0	0	0	0	0
JJL	0	0	0	0	6
LLV	0	0	0	0	0
MMC	0	0	0	0	0
RR	6	12	6	6	0
SPC	12	6	12	6	0
T F O	96	48	48	48	12
TSV	0	0	0	0	0
Média ±DP	14,25 ±33,31	8,25 ±16,64	8,25 ±16,64	7,50 ±16,58	2,25 ±4,46
Mediana	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela 23: Níveis séricos de proteína C reativa nos pacientes com reação tipo 2 no decorrer do tratamento. Valores expressos em mg/I (Positivo >_ 6 mg/I).

Pacientes com Reação Tipo 2 N=05	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
A B M	48	12	12	24	6
JRS	48	12	0	6	12
M B P	24	96	48	24	24
MZP	6	0	24	12	12
RFPS	12	48	48	24	96
Média ±DP	27,60 ±19,71	33,60 ±39,25	26,40 ±21,46	18,00 ±8,48	30,00 ±37,46
Mediana	24	12	24	24	12

Tabela 24: Níveis séricos de proteína C reativa nos pacientes sem reação no decorrer do tratamento. Valores expressos em mg/I (Positivo > 6 mg/I),

Pacientes sem Reação N=12	Momento (meses)				
	0	2	4	6	12
APV	6	6	6	6	0
EFD	0	0	0	0	0
GST	0	0	0	0	0
JAS	0	0	0	0	0
JFM	0	0	0	0	6
JGS	0	0	0	0	0
JR	0	0	0	0	0
L J S	12	12	6	32	96
R V	24	12	12	12	6
SBP	6	6	6	6	6
TBS	6	6	12	6	6
V S P	0	24	48	24	0
Média ±DP	4,50 ±7,29	5,50 ±7,74	7,50,± 13,56	7,16 ±10,59	10,00 ±27,23
Mediana	0,0	3,0	3,0	3,0	0,0

Tabela 25: Níveis séricos de anticorpos anti-PGL-I e neopterina nos indivíduos do grupo controle. Valores expressos em D.O. (Positivo >_ 0.200) e em nmol/I (valor normal < 10 nmol/I ou 2,5 ng/ml), respectivamente.

Grupo	Anti-PGL-1	Neopterina
Controle		
AP	0,014	6,82
CS	0.032	7,54
DD	0,034	5,01
DS	0,033	7,24
EAS	0,063	9,52
FCS	0,078	3,70
HE	0,134	7,35
JM	0,094	4,02
LM	0,031	5,54
LMS	0,106	4,98
MB	0,088	3,67
ME	0,046	5,40
MIA	0,013	7,63
ML	0,119	7,03
MOP	0,044	6,89
PSR	0,044	6,63
JJ	Ú,Ú58	5,71
TCP	0,122	2,59

ANEXO



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE

INSTITUTO LAURO DE SOUZA LIMA
CAIXA POSTAL 3021 – CEP: 17034-971 – BAURU – SP – BRASIL
FONE: 55 14 3103-5852 – 3103-5856
FAX: 55 14 3103-5914 – 3103-5856

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA

Bauru, 01 de Dezembro de 2004

Ilma. Sra.
**PqC Eliane Aparecida
Silva** Equipe Técnica de
Imunologia Instituto Lauro de
Souza Lima

Prezada Senhora

Verificados os arquivos deste CEP, atesto que o projeto de pesquisa intitulado "*Estudos dos níveis séricos de AC anti-PLG-1, neopterina, proteína C reativa e interleucina-6 em pacientes hansenianos durante, quimioterapia*". protocolo nº 0067, recebeu do relator, parecer favorável e foi considerado *aprovado* neste CE.P, em reunião do dia 30/09/2004.

Agradecendo sua colaboração, aproveito para renovar meus protestos de elevado apreço.

Atenciosamente



Dr. José Fernando Casquei Monti
Coordenador do Comitê de Ética
em Pesquisa Instituto Lauro de
Souza Lima