

NEUROPATIA HANSÊNICA: PARTICIPAÇÃO DOS MASTÓCITOS NA FIBROSE DO NERVO

Nádia Aparecida de Arantes Montagna

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia) da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Dermatologia).

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Leila Chimelli

Prof^a. Dr^a. Maria Leide Wan-Del-Rey de Oliveira

Prof. Dr. Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda

Rio de Janeiro

Setembro / 2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

NEUROPATIA HANSÊNICA: PARTICIPAÇÃO DOS MASTÓCITOS NA FIBROSE DO NERVO

Nádia Aparecida de Arantes Montagna

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Leila Chimelli
Prof^a. Dr^a. Maria Leide Wan-Del-Rey de Oliveira
Prof. Dr. Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Dermatologia).

Aprovada por:

Presidente, Prof^a. Dr^a.

Prof^a. Dr^a.

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Rio de Janeiro

Setembro / 2005

Montagna, Nádía Aparecida de Arantes

Neuropatia Hansênica: participação dos mastócitos na fibrose do nervo./ Nadia Aparecida de Arantes Montagna - Rio de Janeiro: UFRJ/Faculdade de Medicina, 2005.

xii, 124 f. : il. color; 31 cm.

Orientadores: Leila Chimelli; Maria Leide Wan-Del-Rey de Oliveira; Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda.

Tese (Doutorado) – UFRJ / Faculdade de Medicina / Dermatologia / 2005

Referências Bibliográficas: f. 87 - 106

1. Hanseníase. 2. Sistema Nervoso Periférico. 3. Mastócitos. 4. Fibrose. 5. Contagem de células. -- Tese. I. Chimelli, Leila. II. Oliveira Maria Leide Wan-Del-Rey de. III. Mandarim-de-Lacerda, Carlos Alberto. IV. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Dermatologia. V. Título.

AGRADECIMENTOS

Ao professor doutor ABSALOM DE LIMA FILGUEIRA, Titular da Disciplina de Dermatologia e Coordenador do Programa de Pós Graduação em Dermatologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), atento ao nosso progresso e objetivo nos seus conselhos que, com ampla visão de integração interdisciplinar, me recebeu no Doutorado em Dermatologia.

À professora doutora LEILA CHIMELLI, exemplo de dedicação ao trabalho e modelo de integridade profissional, pela orientação e sugestão na escolha do tema, colocando à minha disposição sua casuística de neuropatias periféricas.

À professora doutora MARIA LEIDE WAN-DEL-REY DE OLIVEIRA pelo profissionalismo e idealismo contagiantes com que se dedica ao estudo e combate à hanseníase no Brasil. Agradeço a atenção e orientação na parte clínico-epidemiológica.

Ao brilhante pesquisador professor doutor CARLOS ALBERTO MANDARIM-DE-LACERDA por ter colocado à minha disposição o Laboratório de Morfometria Cardiovascular da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), pelo inestimável auxílio em todas as etapas da metodologia utilizada bem como na análise estatística, permitindo um estudo integrado que associou sua experiência de morfologista à neuropatologia.

À professora doutora ALBANITA VIANA DE OLIVEIRA, atual sub reitora de pós-graduação da UERJ, de quem recebi os mais fundamentais ensinamentos de Anatomia Patológica e cuja participação em minha vida profissional antecede este trabalho.

À professora doutora DAURITA DARCI DE PAIVA, constante incentivadora, que, durante o período em que esteve à frente da Disciplina de Anatomia Patológica da UERJ, proveu o Serviço de todo o material necessário à realização das biopsias de nervo periférico utilizadas neste estudo.

À bióloga ANRIETE TAUFNER, pessoa de especial valor, pela amizade e por sua inestimável contribuição e dedicação na execução técnica do material tão fundamental para o estudo do nervo periférico.

À bióloga SUELI MENEZES DA CUNHA, pela boa vontade, assessoria e orientação técnica na realização dos cortes semifinos.

Ao doutor CARLOS FREDERICO FERREIRA CAMPOS pela inestimável colaboração na documentação fotográfica.

À equipe de bibliotecárias da biblioteca do Centro Biomédico da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, pelo especial carinho e atenção com que sempre fui recebida. Sua eficiência na busca e obtenção do material bibliográfico foi fundamental à realização deste estudo.

Às secretárias do Serviço de Dermatologia, GILSARA JACCOURD DA COSTA e DEISE PEREIRA DA CUNHA, pelo indispensável suporte administrativo e atenção dispensados ao longo do curso.

A todo o corpo docente e discente do Serviço de Dermatologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, com quem mantive um convívio bastante agradável.

Ao LEONARDO MENDONÇA, CAROLINE DOS SANTOS, DANIELE BEZERRA E KARLA PIRES, alunos do Programa de Pós Graduação em Morfologia da UERJ, pela contribuição em algumas das etapas metodológicas deste trabalho.

À minha amada filha CAROLINA DE ARANTES MONTAGNA pelo inestimável auxílio nas inúmeras revisões e diagramação do material fotográfico.

Aos pacientes portadores de hanseníase, sofredores com as deformidades e ainda discriminados pela sociedade que indiretamente, tornaram possível este trabalho, meu mais profundo agradecimento.

RESUMO

A hanseníase, doença infecto-contagiosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae*, é responsável por lesão irreversível do nervo periférico onde a fibrose ocupa papel crucial. Os mastócitos, embora classicamente relacionados às reações de hipersensibilidade, têm papel relevante em outras condições patológicas. Triptase, a protease predominante no seu citoplasma, é apontada como tendo participação na produção de colágeno tipo I. O presente estudo tem como objetivo: a) descrever os aspectos morfológicos do nervo sural em série de casos de hanseníase, procurando determinar as alterações morfológicas prevalentes nos nervos de pacientes tratados e portadores de dor crônica; b) quantificar os mastócitos e a fibrose separadamente no epineuro e no peri-endoneuro, determinando sua localização preferencial de modo a investigar possível relação entre eles; c) comparar a densidade de mastócitos e de fibrose entre as formas clínicas TT-BT e LL-BL e entre os casos tratados e virgens de tratamento. Foram analisadas 24 biopsias de nervo sural de pacientes com hanseníase sendo nove casos virgens de tratamento e quinze casos tratados e portadores de dor crônica. Os mastócitos foram identificados e quantificados a partir de marcação imunohistoquímica com anticorpo antitriptase e o volume de fibrose por mm² foi obtido com o auxílio do programa Image Pró Plus. As alterações morfológicas prevalentes nos casos tratados e portadores de dor crônica foram densa fibrose nos três compartimentos do nervo, neoformação vascular epineural e quantidade variável de carga bacilar residual endoneural. Comparando a densidade de mastócitos e de fibrose entre as formas clínicas TT-BT e LL-BL, não houve diferença significativa. Entretanto, o volume de fibrose foi maior nos casos tratados. Houve associação significativa entre o volume de fibrose e a densidade de mastócitos no epineuro ($p < 0,05$) o que não ocorreu no peri-endoneuro. Considerando-se que na hanseníase o epineuro é rico em colágeno tipo I enquanto no endoneuro predomina o colágeno do tipo III, é provável uma participação dos mastócitos ricos em triptase na fibrose epineural através da produção de colágeno tipo I.

Palavras-chave: Hanseníase, Sistema Nervoso Periférico, Mastócitos, Fibrose, Contagem de células.

Rio de Janeiro
setembro/2005

ABSTRACT

Leprosy, a disease caused by *Mycobacterium leprae*, is an important health problem worldwide. It is responsible for an irreversible nerve damage in which fibrosis plays an important role. Mast cells, historically known for their involvement in hyper sensibility reactions, have been shown to be relevant in many other pathological conditions. Mast cells mediator tryptase has been proposed to stimulate type I collagen production. The present study intends: a) to describe morphological aspects of the sural nerves in leprosy, exploring the prevalent pathological features in treated case whose patients complained from chronic pain: b) to quantify tryptase-rich mast cells as well as fibrosis in both the epineurial and the peri-endoneurial spaces disclosing their preferential localization in order to explore a possible relationship between them: c) to compare mast cells as well as fibrosis density between TT-BT and LL-BL clinical forms and between treated and untreated cases. Twenty four sural nerve biopsies from patients with leprosy neuropathy were included in this study, nine of them untreated and fifteen treated cases. Mast cells stained with mouse antihuman mast cell antitryptase were identified and quantitatively estimated in the epi and in the peri-endoneurial compartments. Fibrosis volume was quantified with the aid of Image Pro plus Software. In the fifteen treated patients biopsied for chronic pain, the most prevalent histopathological findings were global fibrosis, epineurial vascular growth and a variable residual fragmented endoneurial bacillary load. No significant difference was observed when comparing mast cells as well as fibrosis density between TT-BT and LL-BL clinical forms. However, fibrosis density was higher in the treated group. There was a remarkable association between the fibrosis increase and the mast cells density in the epineurial space but not in the peri-endoneurial space of the nerves with leprosy neuropathy ($p < 0,05$). Since the epineurium in leprosy is type I collagen rich, while in the endoneurium type III collagen predominates, the present findings led us to suggest a role for tryptase-rich mast cells in promoting epineurial type I collagen production in leprosy neuropathy.

Key-words: Leprosy, Peripheral Nervous System, Mast cells, Fibrosis, Cell count.

Rio de Janeiro
Setembro / 2005

LISTA DE ANEXOS

Anexo I. (A) Representação gráfica da prevalência da hanseníase no Brasil entre 1985 e 2003.	107
(B) Representação gráfica da taxa de detecção de casos novos de hanseníase no Brasil entre 1986 e 2003.	
Anexo II. Representação gráfica do impacto na redução de incapacidades físicas graus II e III no Brasil entre 1987 e 1998.	108
Anexo III. Descrição morfológica das biopsias do nervo sural nos casos virgens de tratamento.	109
Anexo IV. Descrição morfológica das biopsias do nervo sural nos casos tratados.	111
Anexo V. Documento de aprovação do estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa.	114
Anexo VI. Comprovante de apresentação do trabalho intitulado “Contribution of tryptase-rich mast cells to collagen proliferation in leprous neuropathy” no 8 th European Congress of Neuropathology, 25-28 June 2005, Amsterdam, The Netherlands.	115
Anexo VII. Carta de aceitação do trabalho intitulado “Alterações perineurais na neuropatia hansênica” pela Comissão Científica do XXV Congresso Brasileiro de Patologia - 12 a 16 de outubro/2005, Natal, RN.	116
Anexo VIII. Carta de aceitação do trabalho intitulado “Contribuição dos mastócitos na colagenização do nervo na hanseníase” pela Comissão Científica do XXV Congresso Brasileiro de Patologia – 12 a 16 de outubro/2005, Natal, RN.	117
Anexo IX. Cópia da prova do artigo intitulado “Leprosy: contribution of mast cells to epineurial collagenization”, aceito para publicação pela revista CLINICAL NEUROPATHOLOGY.	118

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

<i>M. leprae</i>	Mycobacterium leprae
OMS	Organização Mundial de Saúde
PQT	Poliquimioterapia
TT	Hanseníase tuberculóide polar
LL	Hanseníase lepromatosa polar
BT	Hanseníase borderline tuberculóide
BB	Hanseníase borderline borderline
BL	Hanseníase borderline lepromatosa
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
MS	Ministério da Saúde
MCs	Mastócitos
MCM	Mastócito de mucosa
MCTC	Mastócito de tecido conjuntivo
MC _T	Mastócito que contém triptase
MC _{TC}	Mastócito que contém triptase e quimase
SNP	Sistema Nervoso Periférico
HUCFF	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro

LISTA DE TABELAS, GRÁFICOS E FIGURAS

Tabela 1.	Características clínicas dos pacientes com neuropatia hansênica	43
Tabela 2.	Achados morfológicos nos nervos surais de pacientes hansênicos tratados.	47
Gráfico 1.	Densidade numérica de mastócitos nos diversos compartimentos do nervo sural de ambos os grupos estudados.	49
Gráfico 2.	Percentual de volume de fibrose nos diversos compartimentos do nervo de ambos os grupos estudados.	50
Gráfico 3.	Relação entre a densidade de mastócitos e de volume de fibrose no epineuro dos casos com hanseníase.	51
Gráfico 4.	Densidade de fibras mielínicas em ambos os grupos estudados.	52
Figura 1.	Fotomicrografias de nervo sural fixado em glutaraldeído e incluído em resina.	21
Figura 2.	Fotomicrografias de aspectos patológicos gerais do nervo sural na hanseníase	53
Figura 3.	Fotomicrografias de nervo sural normal e de fibrose do nervo na hanseníase.	54
Figura 4.	Fotomicrografias de alterações epineurais e perineurais na neuropatia hansênica.	55
Figura 5.	Fotomicrografias de alterações perineurais e endoneurais na hanseníase.	56
Figura 6.	Fotomicrografias de necrose caseosa com depósitos de cálcio na neuropatia hansênica e de reação neural.	57
Figura 7.	Fotomicrografias de mastócitos marcados com anticorpo monoclonal antitriptase.	58

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	5
2.1 OBJETIVO GERAL	5
2.1.1 Objetivos específicos	5
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	6
3.1 HISTÓRICO	6
3.2 A HANSENÍASE E SUA RELAÇÃO COM O NERVO PERIFÉRICO	10
3.3 ARQUITETURA MICROSCÓPICA DO NERVO PERIFÉRICO	18
3.4 MECANISMOS DE DESTRUIÇÃO E INVASÃO DO NERVO PERIFÉRICO NA NEUROPATIA HANSÊNICA	22
3.5 MASTÓCITOS	26
3.6 RELAÇÃO DO MASTÓCITO COM O NERVO PERIFÉRICO NA NEUROPATIA HANSÊNICA	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1 AMOSTRAS	32
4.1.1 Grupo I (estudo)	32
4.1.2 Grupo II (controle)	34
4.2 FIXAÇÃO E PREPARO TÉCNICO DO MATERIAL	34
4.2.1 Preparo técnico do material incluído em parafina	34
4.2.2 Técnica imuno-histoquímica	35
4.2.3 Preparo técnico do material incluído em resina	37
4.3 MÉTODOS QUALITATIVOS	38
4.4 MÉTODOS QUANTITATIVOS	38
4.4.1 Quantificação dos mastócitos	38
4.4.2 Quantificação da fibrose	39
4.4.3 Quantificação das fibras mielínicas	39
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	40

5 RESULTADOS	41
5.1 DADOS CLÍNICOS	41
5.2 DADOS QUALITATIVOS	44
5.2.1 Alterações epineurais e perineurais	45
5.2.2 Alterações endoneurais	45
5.3 DADOS QUANTITATIVOS	48
5.3.1 Quantificação dos mastócitos	48
5.3.2 Quantificação da fibrose	49
5.3.3 Quantificação das fibras mielínicas	51
6 DISCUSSÃO	59
6.1 BIÓPSIA DO NERVO SURAL NA HASENÍASE	59
6.2 ASPECTOS CLÍNICOS GERAIS	61
6.3 ASPECTOS QUANTITATIVOS E QUALITATIVOS	67
6.3.1 Aspectos morfológicos gerais	67
6.3.2 Aspectos morfológicos observados nos pacientes portadores de dor crônica	68
6.3.2.1 Fibrose	69
6.3.2.2 Alterações perineurais	71
6.3.2.3 Alterações vasculares	73
6.3.2.4 Carga bacilar residual e reação neural	74
6.3.2.5 Recidiva	76
6.3.2.6 Abscessos frios (cl clinicamente)	78
6.4 RELAÇÃO FUNCIONAL DO MASTÓCITO COM O NERVO PERIFÉRICO NA HANSENÍASE	80
7 CONCLUSÕES	85
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87

1 INTRODUÇÃO

A hanseníase, doença infecto-contagiosa de evolução lenta, é causada pelo *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*). Manifesta-se principalmente por sinais e sintomas dermato-neurológicos, sendo uma das principais causas de incapacidade física nos países endêmicos. Apesar de sua baixa patogenicidade, o também chamado bacilo de Hansen é de alta infectividade circulando em locais que comportam grandes aglomerados populacionais, mantendo por milênios a cadeia epidemiológica da doença nas regiões mais pobres do mundo (LOCKWOOD, 2004a).

Apesar dos esforços da Organização Mundial de Saúde (OMS) com a estratégia de eliminação e a implementação do tratamento poliquimioterápico (PQT) na década de 80, a doença ainda é considerada um grande problema de saúde pública em países africanos, asiáticos e nas Américas onde o Brasil é responsável por 80% dos casos. O compromisso de eliminá-la no mundo até o ano 2000 (alcance da prevalência de menos de 1 caso por 10 000 habitantes) foi atingido em 112 países dos 122 considerados endêmicos. Atualmente somente 10 países, dentre eles o Brasil, não conseguiram alcançá-lo (WHO, 2004).

A hanseníase, apesar do amplo espectro de lesões cutâneas, acomete essencialmente o nervo periférico desde seu início (DASTUR, 1955; DASTUR et al., 1966, 1970). Nas formas indeterminadas, alterações quantitativas nos nervos da derme em cortes semifinos, já são observadas (RAPOSO, 2005). O comprometimento do tecido nervoso periférico é sua característica principal sendo responsável pelas áreas de hipoestesia e anestesia cutâneas. A lesão do nervo

periférico ocorre em todas as formas clínicas da doença independente do estado imunológico do paciente sendo uma das causas mais comuns de neuropatia periférica não traumática no mundo (MARTYN & HUGHES, 1997).

A agressão ao tecido nervoso é responsável por dano neural irreversível onde a fibrose ocupa papel crucial. Nenhuma outra neuropatia é capaz de causar tamanho grau de fibrose. A progressiva perda de função do nervo causa incapacidades e deformidades físicas que têm grande impacto na qualidade de vida dos pacientes estigmatizando-os e provocando sua rejeição pela sociedade. Estima-se que cerca de 50% dos pacientes com hanseníase no mundo desenvolvem deformidades e/ou incapacidades (PONNIGHAUS et al., 1990; VAN BRAKEL & ANDERSON, 1997).

Alguns estudos têm demonstrado que o mastócito, classicamente conhecido como um dos mediadores da hipersensibilidade imediata e reações alérgicas, tem também papel relevante em outras condições patológicas (MOTA, 1995; METCALFE et al., 1997; YONG, 1997). A literatura tem demonstrado sua participação na síntese do colágeno, remodelamento tecidual e fibrose (GARBUZENKO et al., 2002; ABE et al., 2000; CAIRNS & WALLS, 1997).

A presença de mastócitos (MCs) no nervo periférico humano normal há tempos foi observada (OLSSON, 1971) e, a despeito de sua identificação em diversas neuropatias, seu papel nas doenças do nervo periférico ainda não está claramente estabelecido, com resultados inconsistentes e conclusões por vezes especulativas (OLSSON, 1967; KNORR-HELD & MEIER, 1990; MIDRONI & BILBAO, 1995). Não encontramos na literatura observações sobre a presença, distribuição, degranulação ou papel dos mastócitos na neuropatia hansênica. Dentro

deste contexto sua relação funcional com o nervo periférico na hanseníase é assunto a ser investigado.

Examinando histopatologicamente nervos periféricos com hanseníase, observamos a presença constante de um número considerável de mastócitos. Tendo em vista que uma das funções clássicas dos mastócitos nos diversos órgãos relaciona-se ao remodelamento tecidual pós-inflamatório e, sabendo que a hanseníase induz à proliferação colágena nos nervos periféricos, indagamos sua possível participação no processo de fibrose que ocorre na neuropatia hanseniana e que, em última análise, conduz à perda de função do nervo.

Considerando ainda que, dos casos da série estudada, alguns pacientes sofriam de dor crônica e persistente depois de terminado o tratamento, tornou-se interessante buscar nos achados histopatológicos subsídios que pudessem contribuir para a melhor compreensão deste evento.

Justifica-se este estudo pelo fato de ser a disfunção do nervo o problema maior a ser enfrentado hoje na hanseníase. Mesmo sob controle a hanseníase continuará sendo uma das principais causas de neuropatia crônica no mundo. A cura clínica não libera o paciente que permanece sob risco de desenvolver reações e incapacidades. Os achados clínicos e morfológicos do nervo periférico ainda são elementos fundamentais que possibilitam a identificação precoce das lesões incapacitantes, objetivando a prevenção de seqüelas que acompanharão o indivíduo por toda sua vida.

O papel dos MCs em nervos periféricos, embora tenha sido alvo de estudos clínicos e experimentais, não está ainda esclarecida. Não há na literatura nenhum estudo investigativo sobre sua densidade, distribuição e função na neuropatia hansênica.

A compreensão dos mecanismos envolvidos na crescente colagenização do nervo na hanseníase poderá contribuir para a prevenção da perda de função e conseqüente incapacidade.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a participação de mastócitos na fibrose do nervo sural na hanseníase.

2.1.1 Objetivos específicos

QUALITATIVOS

- Descrever os aspectos morfológicos do nervo sural em série de casos de hanseníase procurando determinar as alterações patológicas prevalentes nos nervos de pacientes tratados e portadores de dor crônica.

QUANTITATIVOS

- Quantificar, nos casos selecionados de neuropatia hansênica, a fibrose e os mastócitos marcados por imuno-histoquímica no epineuro e no perineuro, determinando sua localização preferencial.
- Comparar a densidade de mastócitos e de fibrose nos casos estudados:
 - A) em ambos os compartimentos do nervo.
 - B) entre as formas clínicas TT-BT e LL-BL.
 - C) entre os casos tratados e virgens de tratamento.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 HISTÓRICO

A hanseníase é uma das doenças mais antigas de que padece a humanidade. De natureza infecto-contagiosa crônica, é causada pelo *M. leprae* ou bacilo de Hansen, em homenagem ao seu descobridor Gerhardt Hansen que, em 1873, o descreveu (ANTIA & PANDYA, 1976).

A doença surgiu provavelmente na Índia sendo citada no Livro dos Vedas, em torno de 1300 AC, com o nome de “kushtha”. Há ainda sinais de sua presença quase tão antigos na China, Japão e na Palestina (SKINSNES, 1973). Embora seja consenso de que a “lepra” bíblica não era de fato hanseníase, este erro levou à estigmatização, repulsa e segregação de várias pessoas nos últimos 2000 anos (SKINSNES, 1970; KAPLAN, 1993).

Acredita-se que a hanseníase tenha atingido os países do Mediterrâneo através do exército de Alexandre o Grande ao retornar da Índia três séculos antes de Cristo. Daí difundiu-se lentamente pela Grécia e Império Romano (KALISCH, 1975). No século VII chegou aos países escandinavos levada pelos Vikings (Apud GRIMAUD & VALLAT, 2003).

A doença evoluiu com estigma de síndrome social. Na Europa medieval há registros de decretos proibindo casamentos e forçando os doentes a portarem sinal de infâmia. Felipe IV, rei da França, determinou que todos os “leprosos” fossem agrupados e queimados até que a doença fosse erradicada (SKINSNES, 1973). Na verdade, a remoção dos doentes da sociedade visava prevenção muito mais moral que física.

No início do século XIII já disseminava por toda a Europa, época em que proliferaram os chamados “leprosários” com o intuito de isolar as pessoas em função de sua disseminação (SKINSNES, 1973).

A hanseníase não existia na América pré-Colombiana até ser introduzida por conquistadores e imigrantes europeus no século XVI (SOUZA-ARAÚJO, 1946). Posteriormente, o tráfico de escravos africanos também contribuiu para sua disseminação nas Américas, em especial para o Brasil (SMITH, 2003) que desde então vem se mantendo como um dos países endêmicos em relação à doença (WHO, 2004).

Foi somente no século XIX que Gerhard Armauer Hansen descobriu o *M. leprae* associando, pela primeira vez, uma doença humana a uma bactéria (SKINSNES, 1973). Entretanto, bem antes deste evento, a participação do nervo periférico na hanseníase já fora reconhecida pelas pesquisas do norueguês Danielssen, sogro e mentor de Hansen (HABIB, 2002).

Virchow, em 1882, apontou o nervo periférico como sendo o sitio primário de infecção na doença, enquanto Fite, em 1943, categoricamente afirmou que para o patologista “toda lepra é lepra neural” (ANTIA & SHETTY, 1997). O *M. leprae*

difunde-se entre os seres humanos sem nenhum hospedeiro intermediário, sendo sua principal porta de entrada, o trato respiratório superior (REES & MEADE, 1974).

Em 1966, o conceito de formas polares de Rabello (FERNANDEZ, 1953; JULIÃO & ROTBERG, 1963) foi ampliado por Ridley e Jopling com a classificação espectral e imunopatológica da hanseníase, que tem sido amplamente utilizada desde então (RIDLEY & JOPLING, 1966). Em um dos pólos deste espectro está a forma de resistência ao bacilo, hanseníase tuberculóide polar (TT), na qual ocorre acentuada resposta imune celular tardia desencadeada pelo *M. leprae*. O outro extremo do espectro é representado pela hanseníase virchowiana ou lepromatosa polar (LL), forma de baixa resistência em que a resposta imune celular falha na função de eliminar o bacilo do organismo. A classificação de Ridley e Jopling desmembra o grupo intermediário do espectro chamado borderline, de acordo com sua proximidade evolutiva a um desses pólos com objetivo de posicionar o paciente dentro de um espectro imunológico. O grupo borderline é um grupo complexo e imunologicamente instável, onde se situa a maior parte dos doentes. São as formas borderline tuberculóide (BT), borderline-borderline (BB), e borderline lepromatosa (BL). Essa classificação vigente para investigação científica promoveu um ordenamento clínico bacteriológico e histológico da doença.

Em 2000 um grupo de pesquisadores obteve a descodificação genética do *M. leprae* (COLE et al., 2001; YOUNG, 2001). O bacilo parece ter se livrado de genes não essenciais o que talvez explique seu pequeno potencial de crescimento impossibilitando seu cultivo *in vitro*, característica que dificulta consideravelmente as pesquisas sobre a doença.

Nos últimos 20 anos tem havido um grande esforço para a eliminação da hanseníase no mundo e suas conseqüências. Este progresso deve-se à implementação da poliquimioterapia (PQT) proposta pela OMS em 1982 (WHO Tech. Rep. Ser. nº 675) que, amplamente utilizada, tem levado à cura de pacientes, redução dos reservatórios de infecção e interrupção de sua transmissão. Ela encurtou a duração do tratamento aumentando com isto a adesão dos pacientes ao mesmo. Reduziu ao mínimo a resistência às drogas e os índices de recidiva. O bom resultado do programa levou a OMS a propor sua eliminação até o ano 2000, depois estendida a 2005, o que significa alcançar uma prevalência de menos de 1 caso por 10 000 habitantes (WHO-Strategic plan, 2000a).

A primeira política brasileira de controle da doença surgiu em 1920. No período compreendido entre 1930-1940, formulou-se e consolidou-se a política do isolamento compulsório em colônias mediante a criação do Serviço Nacional de Lepra (SOUZA-ARAÚJO, 1956).

Em 1944 o Estado do Rio de Janeiro iniciou suas atividades de controle da hanseníase e em 1986 adotou o tratamento poliquimioterápico preconizado pela OMS. Atualmente a doença está presente em todos os municípios do Estado com cerca de 20% da população vivendo em municípios de alta endemicidade com cerca de 1500 casos novos por ano e taxa de detecção de 1,86 casos/10000 habitantes em 2004 (BRASIL, MINISTÉRIO D SAÚDE, 2004).

O Programa Nacional de Controle e Eliminação da hanseníase está inserido na Atenção Básica do Ministério da Saúde (Secretaria de Vigilância em Saúde-SVS/MS) e a recomendação vigente é a descentralização das ações de diagnóstico e tratamento para todas as equipes do Programa de Saúde da Família (BRASIL,

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999). Todavia, a despeito de todos os esforços e da drástica e gradual redução do número de casos, a hanseníase persiste como uma das mais importantes endemias e problemas de Saúde Pública no Brasil (WHO, 2004).

Segundo estimativa da OMS, cerca de 10 países dentre eles o Brasil, não conseguiram atingir a meta de eliminação em 2005. No momento a doença concentra-se em seis principais países endêmicos: Índia, Brasil, Madagascar, Moçambique, Myamar e Nepal o que corresponde a 90% da prevalência na doença em todo o mundo (WHO, 2004). Estima-se que durante o período compreendido entre 2000-2005, cerca de 2.5 milhões de pessoas acometidas pela doença necessitarão de diagnóstico e tratamento (WHO-THE FINAL PUSH, 2000a).

A hanseníase é hoje a principal causa de incapacidade permanente no mundo (NILSEN et al., 1989; HAIMANOT & MELAKU, 2000) e, mesmo não sendo fatais, os sintomas crônicos afligem os indivíduos na fase mais produtiva de suas vidas, acarretando um enorme ônus para a sociedade (BAINSON & VAN DEN BORNE, 1998; CAPRARA, 1998).

3. 2 A HANSENÍASE E SUA RELAÇÃO COM O NERVO PERIFÉRICO

A importância das lesões do nervo periférico na hanseníase é reconhecida desde os primeiros relatos da doença. Danielsen e Boeck em 1848 descreveram processo inflamatório em diferentes partes do nervo antes mesmo da descoberta de seu agente etiológico (Apud MANGHANI & DASTUR, 1992). Segundo ambos, os achados clínicos estariam intimamente relacionados ao reconhecimento de um dano

neural subjacente. Em 1882, Virchow sugeriu que o nervo periférico poderia ser o principal local de infecção na doença. (KALISCH, 1975).

Em 1936, Ernakova e colaboradores publicaram estudo descrevendo lesões de hanseníase no trajeto dos nervos periféricos, mais acentuadas nos ramos superficiais. Observaram ainda que a doença não ultrapassava os gânglios das raízes posteriores (HABIB, 2002).

Foi Fite que, em 1951, reacendeu o interesse pelo nervo periférico como órgão alvo na hanseníase (FITE, 1951), cabendo a Dastur em 1955, provar esta afirmação através de estudo histológico detalhado de ramos nervosos intradérmicos nas lesões cutâneas precoces (DASTUR, 1955). A partir de então se seguiram diversos outros estudos histopatológicos de lesões do nervo na hanseníase sendo reforçada sua predileção pelas células de Schwann (WEDDELL & PALMER, 1963; LONG, 1965; FRIEDMAN et al., 1969; DASTUR et al., 1966; JOB & DESIKAN, 1968) que assumiriam papel fagocitário frente a uma partícula estranha. Ela, não sendo um fagócito profissional, estando limitada por uma membrana basal e tendo vida média muito maior que o macrófago, seria o local de eleição para abrigar e tolerar a presença do *M. leprae* (WEDDELL & PALMER, 1963).

No Brasil, no início da década de 40, o neurologista Oswaldo Freitas Julião foi pioneiro em destacar a importância da hanseníase no diagnóstico diferencial das neuropatias periféricas (BARREIRA & MARQUES Jr., 1997). Seu papel e contribuição no estudo das neuropatias periféricas, em especial a neuropatia hansênica no Brasil é indiscutível (JULIÃO & ROTBERG, 1963).

Os primeiros estudos em ultramicroscopia nos nervos de hanseníase surgiram no Japão com a descrição de alterações axonais e das células de Schwann no nervo auricular, na forma lepromatosa da doença (NISHIURA et al., 1957). Posteriormente outros grupos relataram em detalhes a ocupação bacilar das células de Schwann predominantemente nas fibras amielínicas e menos freqüentemente nas fibras mielínicas (JOB, 1971; DASTUR et al., 1973; JOB & VARGHESE, 1975).

A partir da década de 60 neurologistas e patologistas indianos deram inestimável contribuição à compreensão de vários aspectos do acometimento neural na hanseníase. Nesta época surgiram estudos histopatológicos clássicos com o nervo periférico na doença. O patologista Darab Dastur, em colaboração com os cirurgiões plásticos Noshir Antia e Vanaja Shetty, deu relevante contribuição ao estudo do nervo periférico na hanseníase (DASTUR et al. 1966; ANTIA et al, 1966; ANTIA et al. 1970; SHETTY et al, 1977; ANTIA et al., 1980; SHETTY et al., 1980; SHETTY & ANTIA, 1984). Seus trabalhos foram instrumentais na compreensão da correlação entre a clínica e os achados histopatológicos. Dastur foi um dos primeiros a usar o método de microdissecção de fibras (teasing nerve fiber), mostrando o acometimento seletivo de fibras amielínicas (DASTUR & RAZZAK, 1971). Em longa carreira dedicada à hanseníase até sua morte em 2000, Dastur descreveu inúmeros outros aspectos da doença (DASTUR et al., 1966; DASTUR & PORWAL, 1979; DASTUR et al., 1991).

Em 1966 Srinivasan e Noordeen chamaram a atenção para as deformidades causadas pela hanseníase correlacionando-as com o tempo de evolução e com a forma clínica (SRINIVASAN & NOORDEEN, 1966 a e b). Em estudo retrospectivo, Gupte (1979) observou que 75% dos pacientes que desenvolviam deformidades o faziam de maneira silenciosa, sem sinais ou sintomas de neurite ou episódios de

reação. Em 1982, Srinivasan e colaboradores enfatizaram este fato sugerindo ser esta a forma mais comum de paralisia nos troncos nervosos. Afirmando que a hanseníase é, na maior parte do tempo silenciosa, os autores propuseram o termo “paralisia silenciosa dos nervos”. Outros termos como “neurite silenciosa” também são utilizados para designar esta situação. Este é o maior desafio enfrentado no controle da doença visto que a neuropatia progride mesmo após a cura clínica.

Um nervo periférico pode ser destruído em até um terço de suas fibras sem causar déficit sensitivo ou motor (JOB & DESIKAN, 1968) e isto se deve ao constante reagrupamento de suas fibras. Esta é a provável razão pela qual um tronco nervoso leve ou moderadamente afetado, pode exibir funções normais e a gradual perda de função pode não ser detectada clinicamente.

O nervo periférico é o maior e mais importante reservatório do *M. leprae* (ANTIA & PANDYA, 1976). Seu acometimento na hanseníase é representado por uma neuropatia ascendente com preferência por certos nervos periféricos expostos a traumas, baixas temperaturas e em proximidade com articulações (BRAND, 1959). Nos membros superiores os segmentos do nervo ulnar acima do epicôndilo medial, o nervo mediano acima do túnel do carpo e o nervo radial são preferencialmente afetados. Nos membros inferiores, o nervo peroneuro comum e o nervo tibial posterior são os mais acometidos (PEARSON & ROSS, 1975a).

As três funções fisiológicas do nervo, autonômica, sensitiva e motora podem ser afetadas. Com freqüência, o componente autonômico é o mais precoce seguido pelo sensitivo (PEARSON & ROSS, 1975a). Em geral observa-se uma perda sensitiva grave e extensa com pouca ou nenhuma disfunção motora. Habitualmente não se observa disfunção motora sem alterações sensitivas aparentes.

Uma das características clássicas da hanseníase é representada por áreas de anestesia cutânea e isto tem levado à crença geral de que os pacientes não sentem dor. Entretanto, a dor neuropática tem se manifestado como um problema cada vez maior entre os portadores de hanseníase (HIETAHARJU et al., 2000; STUMP et al., 2004). Embora a perda de sensibilidade seja o paradigma da doença, alguns pacientes convivem de fato com dor crônica intensa a ponto de interferir na sua qualidade de vida. Alguns dados sobre o alto consumo de analgésicos por pacientes com hanseníase enfatizam a dimensão do problema (SEGASOTHY et al., 1986). Na verdade, o tratamento poliquimioterápico recomendado pela OMS visa a destruição do bacilo, não sendo capaz de promover a recuperação do nervo nem impedir a dor crônica que causa desconforto para muitos pacientes.

Em 1952, Montel observou que alguns pacientes com hanseníase podiam exibir quadro clínico de neuropatia inflamatória sem lesões cutâneas aparentes e chamou esta forma de “lepra neural dermatologicamente assintomática ou lepra mínima” (MONTEL, 1952). Nesta mesma época Wade denominou estes casos de

No Brasil, o único dado epidemiológico publicado mostra que esta forma em nosso meio, acomete cerca de 4% dos pacientes (GARBINO et al., 2004).

Não há, até o presente momento, consenso sobre como classificar estes casos.

Em alguns pacientes, as lesões cutâneas aparecem posteriormente ao acometimento neural (MISHRA et al., 1995; SKACEL et al., 2000) e, por este motivo, o termo “forma neurítica primária” foi sugerido como mais apropriado (PANNIKAR et al., 1983). Clinicamente o paciente se apresenta com um déficit sensitivo ou motor em um ou vários troncos nervosos sendo o nervo ulnar o mais comumente acometido (KAUR et al, 1991; MAHAJAN et al, 1996). A biopsia do nervo nestes casos é essencial para diagnóstico diferencial com outras neuropatias (UPLEKAR & ANTIA, 1986; JACOB & MATHAI, 1988; JARDIM et al., 2004).

Embora os nervos periféricos possam ser acometidos em todas as formas de hanseníase, eles tendem a ser mais precoce e rapidamente atingidos no pólo tuberculóide da doença. Os aspectos clínicos deste pólo indicam que o acometimento do nervo é uma manifestação precoce e intrínseca desta forma. Pacientes com a forma borderline também estão mais propensos a desenvolver lesão neural grave e progressiva (PEARSON & ROSS, 1975a).

A hanseníase é uma doença em geral assintomática e de evolução lentamente progressiva. Entretanto, esse caráter insidioso pode ser interrompido por fases de agudização. O termo “reação” refere-se a estes momentos de exacerbação súbita das manifestações clínicas e corresponde a uma situação de hipersensibilidade aguda aos antígenos bacilares por desequilíbrio imunológico (BRYCESON & PFALTZGRAFF, 1990; TURK et al., 1991). As reações são a

expressão da instabilidade imunológica inerente à doença e, em algum momento, cerca de 20 a 50% dos pacientes experimentam episódios reacionais (RIDLEY & JOPLING, 1966).

As reações hansênicas são divididas em dois tipos: reação do tipo I ou reação reversa e reação do tipo II ou eritema nodoso hansênico. A reação do tipo I ocorre, em geral, nas formas não polares e associa-se a um aumento da imunidade celular contra antígenos bacterianos (reação ascendente) liberados pela destruição do bacilo em virtude do tratamento. O termo “descendente” reflete, ao contrário, uma redução da imunidade celular com progressão da doença para o pólo lepromatoso (NAAFS et al., 1979). Entretanto, o termo “reação reversa” é usado para referir reação ascendente, ou seja, de aumento da imunidade.

O eritema nodoso hansênico, ou reação tipo II ocorre nas formas lepromatosas e acompanha-se de sintomas sistêmicos com acometimento de múltiplos órgãos.

É durante essas fases chamadas de “reacionais”, que ocorre o máximo de destruição do nervo (NILSEN et al., 1989; JOB, 1996a; NAAFS, 2000a). Considerando-se que a hanseníase é doença silenciosa na maior parte do tempo, os episódios de reação representam a fase em que o paciente se sente efetivamente doente. Os pacientes com maior risco de desenvolverem episódios de reação são os de formas lepromatosas, com mais de 10 lesões cutâneas e que apresentam três ou mais troncos nervosos espessados (JOB, 1996b; KUMAR et al., 2004). A principal fonte desses episódios é a presença do *M. leprae* e seus antígenos. Muitos dos sintomas e complicações clínicas da doença são decorrentes das reações imunes contra constituintes antigênicos bacilares.

Os episódios reacionais podem ocorrer antes, durante ou após o tratamento, espontaneamente ou precipitados por fatores diversos. Podem ainda envolver somente a pele, somente o nervo ou ambos (SHETTY et al., 2000). Pode haver reação predominantemente clínica com leves alterações histológicas ou, ao contrário, reação histológica sem correspondente clínico (RIDLEY & RADIA, 1981). O acometimento do nervo pode ser agudo e doloroso com chance de comprometer sua função ou ocorrer de forma silenciosa sem sinais ou sintomas clínicos de inflamação (NAAFS et al., 1979, 2000; SRINIVASAN et al., 1982b; VAN BRAKEL & KHAWAS, 1994). O termo “paralisia silenciosa do nervo” sugerido por Srinivasan e colaboradores para designar esta situação foi prontamente aceito e hoje “neurite ou neuropatia silenciosa” são também utilizados na literatura. Alguns estudos indicam que entre 60 e 75% de pacientes com deformidades evoluíram de forma silenciosa (GUPTE, 1979; SRINIVASAN, 1982b). Pacientes com a forma neurítica primária e borderline são o grupo mais vulnerável a desenvolver neuropatia silenciosa (KAUR et al., 1991). Todos estes dados indicam que a neuropatia silenciosa é a maior geradora de paralisias e deformidades nos pacientes com hanseníase e a única maneira de reconhecer e diagnosticar precocemente a neuropatia silenciosa é o exame de todos os troncos nervosos das extremidades incluindo mapeamento de sensibilidade, independente de sua espessura ou queixas do paciente.

Neurite e dano neural não são sinônimos embora muitas vezes sejam utilizados com o mesmo objetivo. Em *stricto sensu*, neurite significa inflamação do nervo. Entretanto, a resposta do tecido nervoso à invasão bacteriana é ampla e variável. Observamos desde a simples presença do bacilo sem qualquer celularidade inflamatória e sem alterações funcionais do nervo até sua total destruição e perda de função (JOB, 1989). Na prática clínica, o diagnóstico de

neurite é feito quando há dor, sensibilidade aumentada, edema ou sensação de fisgadas ou formigamento na pele suprida pelo nervo. Entretanto, o termo “neurite” é utilizado num sentido mais amplo, significando dor espontânea ou provocada, com ou sem comprometimento da função (PEARSON & ROSS, 1975a; JOB, 1989; VAN BRAKEL & KHAWAS, 1994).

O dano neural, que pode ser agudo, crônico ou recidivante em todas as formas, evolui para a destruição progressiva das fibras nervosas que são substituídas por fibrose. A agressão ao nervo periférico é seguida por remodelamento da matriz extracelular que, com o tempo, culmina em proliferação colágena nos três compartimentos do nervo (GRIFFIN & HOFFMAN, 1993). Os axônios, as células de Schwann e sua bainha de mielina são progressivamente destruídos e substituídos por tecido colágeno que, em última análise, constitui o maior obstáculo à regeneração do nervo.

3.3 ARQUITETURA MICROSCÓPICA DO NERVO PERIFÉRICO

Para a melhor compreensão das alterações patológicas no nervo periférico, é conveniente que sua estrutura histológica normal seja compreendida. O nervo periférico é formado por dois tecidos: fibras nervosas e o tecido conjuntivo que as circunda. É dividido em três compartimentos distintos: o epineuro, o perineuro e o endoneuro. O epineuro é formado por tecido conjuntivo denso que envolve o conjunto de feixes nervosos mantendo-os agrupados (Figura 1A). Constitui-se de fibras colágenas orientadas oblíqua e longitudinalmente, sendo entrecortadas por numerosos vasos sanguíneos, linfáticos e tecido adiposo. Cerca de metade da área da superfície de corte de um nervo periférico é formada por epineuro. O perineuro é

uma estrutura também colágena disposta em camadas compactas que circundam cada feixe nervoso. O perineuro agrupa as diversas fibras nervosas formando cada um dos feixes. Age como verdadeiro cinturão, exercendo pressão, e, com sua propriedade elástica, cria a forma circular de cada feixe, (Figura 1B). O perineuro não é uma simples membrana, mas uma estrutura colágena multilaminar em que cada uma das camadas é revestida por membrana basal. Funciona como uma barreira semipermeável entre as fibras nervosas e o líquido intersticial (JOB, 1989; OLSSON, 1990). O número de camadas do colágeno perineural varia de acordo com o tamanho do feixe. No nervo sural o perineuro exhibe entre cinco e oito camadas sendo que as camadas mais externas fundem-se com o colágeno epineural. O endoneuro refere-se ao espaço delimitado pelo perineuro. Contém as fibras nervosas que ali são mantidas sob pressão (Figura 1C). O número e tamanho dos feixes varia ao longo da trajetória do nervo devido ao constante reagrupamento das fibras.

Os axônios, distribuídos no endoneuro, são a unidade básica do nervo e têm calibres variados. Os axônios maiores são mais facilmente identificáveis por serem revestidos por uma bainha de mielina (Figura 1D). A bainha de mielina é uma camada cilíndrica de lipídios e proteínas produzidos pela célula de Schwann com a função de promover um isolamento elétrico para o axônio aumentando assim a velocidade de condução do impulso nervoso. Cada axônio de grande calibre é circundado pelo citoplasma de apenas uma célula de Schwann que se enrola em torno dele formando camadas concêntricas e regulares (MIDRONI & BILBAO, 1995). Ao longo do comprimento axonal, a continuidade da bainha de mielina é interrompida a intervalos regulares por estreitamentos conhecidos como nodos de

Ranvier, local onde a célula de Schwann termina. Quanto maior o diâmetro axonal, maior sua velocidade de condução e maior a espessura de sua bainha de mielina.

Há ainda os axônios de calibres bem menores que, agrupados, compartilham uma única célula de Schwann e são chamados de axônios amielínicos. Então, enquanto a célula de Schwann produtora de mielina, engloba apenas um axônio mielinizado, vários axônios amielínicos são circundados por apenas uma célula de Schwann. Ainda no endoneuro, o espaço entre cada fibra nervosa é ocupado por fibrilas colágenas, arteríolas e vênulas.

O conteúdo endoneural no seu conjunto compreende fibras nervosas mielínicas de grande e pequeno calibre e fibras nervosas amielínicas cujo número é quatro vezes maior que o de fibras mielínicas. O restante da área endoneural é ocupado por tecido conjuntivo sendo 15% correspondentes a vasos, líquido intersticial e macromoléculas (MIDRONI & BILBAO, 1995). No endoneuro as fibras são organizadas nos diversos feixes que se reagrupam de tal modo que até um terço pode ser danificado sem causar perda sensitiva ou motora identificável clinicamente (JOB, 1989).

Os nervos periféricos são estruturas bastante protegidas e formam um compartimento metabólico distinto do resto do organismo. Isto se deve às funções do tecido conjuntivo perineural e à barreira sangue-nervo (SHANTAVEERAPPA & BOURNE, 1966; BODDINGIUS, 1984) não sendo acometidos pelas diversas infecções piogênicas nem pelo *Mycobacterium tuberculosis*. Apenas o *M. leprae* e alguns vírus são capazes de penetrar nos nervos (PEARSON & ROSS, 1975a; PEDLEY et al, 1980).

PÁGINA EM BRANCO MESMO. Aqui vai entrar uma página fotográfica
figura!!!

As alterações patológicas do nervo periférico são mais bem compreendidas e apreciadas em cortes transversais. A maneira ideal de examinar o conteúdo endoneural é através da fixação do nervo periférico em glutaraldeído e sua posterior inclusão em resina plástica para a obtenção dos chamados cortes semifinos com 1µm de espessura, corados pelo azul de toluidina (Figura 1 A, B, C e D). É o modo mais eficaz de avaliar todas as categorias de neuropatias periféricas. Este método permite a observação da superfície endoneural, densidade e distribuição das fibras mielínicas em função de seu diâmetro e espessura. Permite ainda observar as alterações da bainha de mielina, densidade dos núcleos das células de Schwann e fibroblastos (MIDRONI & BILBAO, 1995). É importante frisar que mesmo os melhores cortes parafinados não conseguem equiparar-se a esta técnica.

A mielina e os axônios são estruturas frágeis e de consistência gelatinosa. Conseqüentemente, sua exposição cirúrgica, manipulação e fixação, com freqüência resultam em perda da circularidade e outros artefatos que não devem ser confundidos com alterações patológicas (HAUW et al, 1982).

3.4 MECANISMOS DE INVASÃO E DESTRUIÇÃO DO NERVO PERIFÉRICO NA NEUROPATIA HANSÊNICA

Embora sejam encontrados no citoplasma de macrófagos e de células endoteliais, a afinidade especial do bacilo de Hansen pelas células de Schwann foi constatada por diversos estudos (WEDDELL & PALMER, 1963; JOB & DESIKAN, 1968; DASTUR et al, 1973, JOB & VARGHESE, 1975; ANTIA, 1982) e os eventos etiopatogênicos que culminam com o dano neural têm sido investigados sob diversos ângulos. Considera-se que mecanismos distintos de lesão neural podem

ocorrer em diferentes fases da doença podendo mesmo co-existir (JOB & DESIKAN, 1968).

A entrada do bacilo de Hansen na célula de Schwann é o evento mais importante para o acometimento do nervo na hanseníase (JOB, 1971; DASTUR & PORWAL, 1979). Ela seria o hospedeiro ideal para a multiplicação e sobrevivência do bacilo, pois dotada de vida média longa e, não sendo a fagocitose sua atividade primordial, é incapaz de destruí-lo (SRINIVASAN et al. 1982a; RAMBUKKANA et al., 1998).

Segundo a literatura vigente, a forma pela qual o *M. leprae* penetra no nervo periférico tem sido explicada por diferentes hipóteses:

1 – Através de terminações nervosas da derme: em estudo realizado por Khanolkar entre 1951 e 1955 foi sugerido que o bacilo, alojado nos axônios da derme, se difundiria através destes centripetamente (JOB, 1989). Entretanto, estudos em ultramicroscopia têm mostrado a raridade deste evento (PEARSON & ROSS, 1975a; JOB, 1989).

2 – Através das células de Schwann: As células de Schwann, abundantes nas partes mais superficiais da pele de regiões mais frias do corpo, serviriam como porta de entrada para o *M. leprae* (JOB, 2001). Estudos feitos *in vivo* e *in vitro* demonstraram sua capacidade de englobar o bacilo havendo entre eles uma especial simbiose (MAEDA & NARITA, 1987). As bases moleculares desta afinidade foram reveladas recentemente através de estudo que demonstrou a afinidade seletiva entre o *M. leprae* e a célula de Schwann (RAMBUKKANA et al., 1998; RAMBUKKANA, 2000). O estudo identificou um dos componentes da membrana basal da célula de Schwann, a laminina- $\alpha 2$ e seu receptor α -dystroglican, como

receptores para o *M. leprae* facilitando sua ligação à célula de Schwann. O estudo não só explica como o *M. leprae* penetra na célula de Schwann como justifica sua preferência seletiva pelo sistema nervoso periférico uma vez que tal configuração molecular não está presente no sistema nervoso central (RAMBUKKANNA et al., 1997; FREEDMAN et al, 1999). Entretanto, outros receptores podem também estar envolvidos nesta interação visto que o bloqueio do mesmo não inibe completamente a adesão do *M. leprae* à célula de Schwann (RAMBUKKANNA et al., 1998).

A invasão à célula de Schwann representa o passo inicial crucial para o dano neural nos pacientes. Dentro dela, protegidos portanto do sistema imune, os bacilos se multiplicariam e caminhariam ao longo do nervo por contigüidade, passando de uma célula de Schwann à outra por contigüidade.

3 – Através do epineuro: Em todas as formas de hanseníase o tecido epineural é descrito como mais rico em macrófagos contendo bacilos sendo o principal sítio de acúmulo precoce bacteriano (JOB & DESIKAN, 1968; SCOLLARD et al., 1999). Estudos experimentais evidenciaram uma migração dos macrófagos epineurais para o endoneuro sugerindo que a colonização epineural antecede a endoneural (CHANDI & CHACKO, 1986). É possível, portanto que bacilos atinjam o endoneuro a partir de células epineurais.

4 – Através de capilares endoneurais: Está claro que na forma lepromatosa da hanseníase, a infecção generalizada ocorre por via hematogênica (SCOLLARD et al., 1999, 2000). Segundo esta visão, durante a bacteremia o *M. leprae* aloja-se nos capilares endoneurais sendo então apresentado às células de Schwann (JOB, 1989).

Uma vez o bacilo de Hansen alojado no nervo este pode ser danificado sob diferentes aspectos:

1 – Presença do *M. leprae* ou seus antígenos, preferencialmente em áreas de temperaturas corporais mais baixas favorecendo a localização e multiplicação bacterianas dentro das células de Schwann que servem como ponte entre o bacilo e o nervo (JOB, 1989).

2 – Trauma: A maioria dos nervos sujeitos a lesão são aqueles superficialmente posicionados e próximos a canais fibro-ósseos. A inflamação aumenta seu volume tornando-os mais sujeitos a traumatismos. O trauma por si produzirá mais inflamação com conseqüente alteração da permeabilidade vascular (JOB, 2001).

3 – Vasculite: A ocupação das células endoteliais vasculares pelo *M. leprae* tem sido repetidamente relatada na literatura (TURKEL et al., 1982; SCOLLARD et al., 1999). Vasculite linfocítica dos vasos endoneurais tem também sido associada à hanseníase (CHIMELLI et al., 1997). Alterações secundárias tais como ruptura da continuidade endotelial, espessamento e reduplicação das membranas basais dos capilares e alterações oclusivas dos vasos sangüíneos têm papel significativo no dano neural em todas as formas da doença (JOB, 2001).

4 – Isquemia: Sendo o epineuro e o perineuro estruturas colágenas, portanto pouco expansivas, há considerável aumento da pressão intraneural comprometendo o suprimento sangüíneo do nervo, podendo levar à isquemia e infarto. Este acabará por afetar os axônios remanescentes não acometidos pela doença (JOB, 1989).

3.5 MASTÓCITOS

Os mastócitos (MCs) foram primeiramente descritos por Paul Ehrlich em 1877 enquanto ainda estudante de Medicina. Ehrlich observou que algumas das células chamadas de plasmócitos pelos histologistas da época, continham inúmeros grânulos que se coravam em vermelho pelo azul de anilina diferentemente dos então chamados plasmócitos (THARP, 1989). Assinalou ainda que os grânulos exibiam tamanhos diferentes e se distribuíam uniformemente pelo citoplasma. Acreditando que tais grânulos fossem produto de fagocitose chamou estas células de “mastzellen” que significa “ingurgitadas” ou “bem nutridas” (MOTA, 1995).

Foi Laguesse em 1919, o primeiro a empregar o termo “mastocyte” em substituição à palavra alemã “mastzellen” trocando seu sufixo por outro, de origem grega “cito” (Apud D´ACRI, 2002).

Outra importante descoberta na história dos MCs foi em 1937 quando Holmgren e colaboradores demonstraram que a heparina liberada nos tecidos provinha dos MCs (MOTA, 1995). Alguns anos depois Riley observou sua riqueza em histamina descrevendo seu papel na anafilaxia (RILEY, 1953).

A histogênese dos MCs permaneceu obscura por muitos anos sendo atribuída a diferentes células como linfócitos, macrófagos e fibroblastos (BURNET, 1977; CZARNETZKI et al., 1982). Hoje se sabe, a partir de trabalhos experimentais, que os MCs derivam de precursores hematopoiéticos que migram da medula óssea em fase ainda imatura da medula óssea para os diversos tecidos onde então atingem seu amadurecimento fenotípico e funcional (KITAMURA et al., 1979). Este processo ocorre *in loco* sendo mediado por fatores de crescimento e citocinas (HATANAKA et al., 1979). A ausência de MCs granulados na circulação reforça este conceito.

Em termos filogenéticos o mastócito é uma célula antiga presente em todas as espécies providas de circulação sanguínea. Nos mamíferos são observados em todos os tecidos exceto nos avasculares como osso mineralizado, cartilagens e córnea (NORRBY, 2002). Estima-se que se todos os MCs fossem reunidos em um único órgão, seu volume seria igual ao do baço (WELLE, 1997). Sua onipresença sugere, portanto, importância em atividades fisiológicas comuns a vários órgãos. Localizam-se preferencialmente no epitélio da pele, no trato respiratório, gastrointestinal e gênito-urinário e isto os coloca como uma das primeiras sentinelas a reagir com potenciais antígenos ambientais. Quando observados à microscopia óptica, seu tamanho varia entre 8 e 15 μm sendo sua forma também variável com células redondas, alongadas, fusiformes ou mesmo filiformes. Seu núcleo oscila entre 4 e 7 μm e o citoplasma tem sua área ocupada em até 55% por grânulos metacromáticos que os identificam. Suas características tintoriais variam do azul escuro ao vermelho de acordo com o conteúdo de heparina/histamina (YONG, 1997).

Embora identificados à microscopia óptica convencional como um tipo celular único, são heterogêneos sob o ponto de vista bioquímico, histoquímico e funcional (WELLE, 1997; METCALFE et al., 1997; FORSYTHE & ENNIS, 2000), e isto se deve ao extenso repertório de substâncias bioativas contidas nos seus grânulos. Têm a capacidade única de produzir diferentes substâncias biológicas, estocá-las em grânulos e liberá-las de acordo com as necessidades do momento. O mastócito produz e armazena histamina, heparina, serotonina, prostaglandinas, dopamina, proteoglicanos (heparina, sulfato de condroitina) e proteases (triptase, quimase, carboxipeptidase). Também produz e libera várias citocinas com propriedades inflamatórias e pró-inflamatórias, fatores de crescimento além de outros mediadores

da inflamação e neuropeptídeos (DINES & POWELL, 1997; FORSYTHE & ENNIS, 2000; McNEIL & GOTIS-GRAHAM, 2000; METCALFE et al., 1997). Alguns mediadores são pré-formados e estocados dentro de seus grânulos citoplasmáticos enquanto outros só são sintetizados após ativação celular (METCALFE et al., 1997). O processo de liberação de substâncias chamado de desgranulação pode ocorrer de maneira explosiva ou de forma mais gradual, em pequenas quantidades do tipo “saca bocado”. Após a desgranulação o mastócito é capaz de regenerar, ressintetizar seus grânulos e repopular os tecidos em um processo que dura cerca de 17 dias. (DINES et al., 1997; YONG, 1997). Entretanto a desgranulação ou exocitose, não parece ser o único mecanismo de liberação de substâncias utilizado pelos MCs. Greenberg e Burnstock (1983) documentaram um tipo peculiar de interação ocorrendo especialmente com fibroblastos, chamada de transgranulação. Os autores demonstraram que o líquido extracelular pode ter acesso aos grânulos mastocitários através de cavidades labirínticas formadas pela fusão das membranas citoplasmáticas de ambas as células, de modo a permitir que substâncias sejam liberadas dos grânulos enquanto os mesmos permanecem dentro do citoplasma dos MCs.

Sua capacidade de produzir, armazenar e liberar diferentes substâncias biologicamente ativas pressupõe um papel funcional heterogêneo havendo amplas evidências de sua participação não só nas reações alérgicas, mas também na síntese do colágeno, reações imunes, reparo tecidual, neoplasias e angiogênese (BEFUS et al., 1988; YONG, 1997). Foi Enerback o primeiro a estabelecer o conceito de heterogeneidade dos MCs detalhando seus aspectos histoquímicos e morfológicos no tubo digestivo de roedores (WELLE, 1997). Observou que os MCs das camadas mais profundas da parede intestinal eram semelhantes aos

encontrados no tecido conjuntivo e distintos daqueles confinados à superfície mucosa e lâmina própria. Daí surgiram as denominações MCs de mucosa (MCM) e MCs de tecido conjuntivo (MCTC). Os primeiros são menores, contêm baixos níveis de histamina e têm o sulfato de condroitina como seu principal proteoglicano. Os MCs de tecido conjuntivo são maiores e ricos em heparina que é seu principal proteoglicano (FORSYTHE & ENNIS, 2000). A existência de mais de um tipo de mastócito foi um conceito de crucial importância para a compreensão de seu papel variado.

O método mais comumente utilizado para fixação tecidual à base de formaldeído, restringe a identificação dos MCs devido a modificações estruturais nos seus grânulos que são hidrossolúveis e requerem fixação alcoólica para sua preservação (STROBEL et al, 1981; MARSHALL et al., 1987; YONG, 1997). Entretanto, os MCs de tecido conjuntivo são considerados mais estáveis em fixadores aquosos (YONG, 1997).

O mastócito passa despercebido na coloração pela hematoxilina & eosina (HE) habitualmente usada para exame de cortes histológicos, podendo ser confundido com outros tipos celulares. Sua identificação depende do uso de métodos tintoriais que destaquem seus grânulos citoplasmáticos. Pode-se recorrer ao uso de corantes metacromáticos como o azul de toluidina, ortocromáticos como o alcian blue ou ainda fluorescentes como o orange de acridina (WALLS et al, 1990 a e b). A metacromasia, que varia do azul escuro ao vermelho, deve-se à presença nos grânulos, de seu conteúdo de heparina (YONG, 1997). MCs imaturos contêm grânulos que se coram pelo alcian blue enquanto os maduros se coram em vermelho pela safranina (YONG, 1997). Entretanto nenhum destes métodos é inteiramente específico e este fato, associado aos diversos fixadores utilizados, tem gerado

resultados heterogêneos, por vezes conflitantes em alguns estudos investigativos (STROBEL et al., 1981; WALLS et al., 1990b).

As proteases triptase e quimase são um componente importante dos MCs (ANTUNES et al., 2003). Além de serem quantitativamente predominantes, são também específicas destas células (METCALFE et al., 1997). Têm papel importante em numerosos eventos celulares e teciduais tais como regulação do tônus vascular, resposta inflamatória, destruição tecidual e hidrólise de mediadores inflamatórios (WELLE, 1997). Estudos histoquímicos e imuno histoquímicos subdividiram os MCs humanos em duas categorias segundo padrões de expressão destas proteinases (IRANI et al., 1986) havendo pelo menos duas populações distintas de mastócito. MCs que contêm apenas triptase (MC_T) são separados daqueles que contêm triptase e quimase (MC_{TC}). Os chamados MCs de mucosa (MCM) secretam apenas triptase e os MCs de tecido conjuntivo (MCTC) secretam triptase e quimase. A triptase é sua proteína mais abundante. Enquanto a quimase está presente em apenas uma sub população de MCs, a triptase é encontrada em todos eles. Além disso, a imuno reatividade à quimase é perdida em material fixado em formol (WELLE, 1997) fatos que colocam a triptase como marcador de eleição para MCs humanos (MILLER & SCHWARTZ, 1989; HOGAN & SCHWARTZ, 1997; YONG, 1997). A triptase libera e cliva fibronectina e colagenase tipo IV estando, portanto envolvida na remodelação tecidual. Ativa ainda metaloproteinases e, indiretamente a procolagenase, sugerindo uma contribuição na degradação da matriz extracelular.

Mais recentemente foi desenvolvido um anticorpo monoclonal (AA1) antitriptase, a protease predominante nos grânulos de todos os MCs com elevada sensibilidade e especificidade mesmo em material fixado em formaldeído e incluído em parafina (WALLS et al., 1990a). A imuno-histoquímica permite a identificação do

conteúdo granular do mastócito, revelando assim sua identidade. Desde então, o emprego deste marcador imuno histoquímico passou a ser utilizado nos estudos em material fixado em formol sendo considerado marcador seletivo para MCs.

3.6 RELAÇÃO DO MASTÓCITO COM O NERVO PERIFÉRICO E A NEUROPATIA HANSÊNICA

A presença de MCs no Sistema Nervoso Periférico (SNP) foi observada em alguns estudos experimentais. No período compreendido entre 1961 e 1969 foi demonstrada sua presença no tronco nervoso periférico de animais de laboratório em condições fisiológicas e patológicas revelando sua distribuição preferencial em torno dos vasos sanguíneos do epineuro, perineuro e, em menor grau, entre as fibras do endoneuro. Observou-se ainda sua desgranulação como resposta a estímulos diferentes (GAMBLE & GOLDBY, 1961; OLSSON & SJOSTRAND, 1969). Há, entretanto raros relatos sobre sua distribuição no SNP humano (OLSSON, 1971). São ainda muito raros na literatura estudos sobre a participação dos MCs em neuropatias periféricas humanas (KNORR-HELD & MEIER, 1990) e, a despeito de terem sido observados nos três compartimentos do nervo periférico em algumas neuropatias, seu papel ainda não está completamente esclarecido (MIDRONI & BILBAO, 1995). Não há na literatura estudos sobre sua densidade, distribuição e função na neuropatia hansênica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho se propôs a realizar estudo retrospectivo de casos selecionados dos arquivos dos Departamentos de Patologia dos Hospitais Universitários Clementino Fraga Filho (HUCFF) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e do Hospital Pedro Ernesto (HUPE) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUCFF sendo aprovado sob o número 157/04 (vide anexo V).

4.1 AMOSTRAS

Foi estudado um total de vinte e nove fragmentos do nervo sural direito ou esquerdo de dois grupos de pacientes:

4.1.1 Grupo I (estudo)

Foram utilizados blocos de parafina e de resina plástica de nervos surais de vinte e quatro pacientes selecionados dos arquivos dos Serviços de Patologia do HUCFF-UFRJ e do HUPE-UERJ, biopsiados por indicação clínica, com diagnóstico

firmado ou suspeita clínica de hanseníase, no período compreendido entre janeiro de 1999 e dezembro de 2002.

As biopsias de nervo sural direito ou esquerdo foram realizadas segundo técnica padrão (DYCK & TOFGREN, 1968; JOHNSON & SALMON, 1968) estando este clinicamente acometido ou não. Em apenas dois casos foi de natureza fascicular. Em nenhum caso a biopsia foi feita através ou próximo a qualquer lesão de pele, não havendo registro de complicações decorrentes da mesma. À época da biopsia, nove pacientes eram virgens de tratamento e foram biopsiados para investigação de polineuropatia ou para auxiliar na correta classificação da doença. Quinze pacientes tratados foram biopsiados para investigação de dor crônica de difícil controle. Doze haviam recebido tratamento por um mínimo de dois anos nas formas LL-BL e por um mínimo de seis meses nas formas TT-BT, de acordo com os protocolos de poliquimioterapia recomendados pela OMS (WHO, 1982). Três pacientes fizeram uso de monoterapia por dapsona (DDS) por terem sido tratados em período pré poliquimioterápico. Nos casos tratados as biopsias foram realizadas entre seis meses e vinte anos após tratamento.

Os casos foram classificados clinicamente segundo Ridley e Jopling (RIDLEY & JOPLING, 1966). Nos casos com a forma neurítica primária, foram utilizados como parâmetros para classificação o aspecto histopatológico do nervo com ênfase na carga bacilar, associado ao número de troncos nervosos afetados. Com dois ou mais troncos afetados o paciente foi alocado nas formas LL-BL.

Todas as informações clínicas aqui apresentadas foram obtidas por consulta aos prontuários dos pacientes.

4.1.2 Grupo II (controle)

Foram utilizados blocos de parafina e de resina plástica de fragmentos de nervo sural direito ou esquerdo de cinco pacientes com idades variando entre 17 e 68 anos. Os pacientes foram biopsiados no HUCFF para investigação de possível polineuropatia que não se confirmou no exame histopatológico. O material estava em excelente estado de preservação histológica não apresentando nenhuma alteração histopatológica no exame microscópico convencional nem nos cortes semifinos efetuados. Não havia ainda nos seus prontuários clínicos evidência de diabetes mellitus, amiloidose, desnutrição ou alcoolismo.

4.2 FIXAÇÃO E PREPARO TÉCNICO DO MATERIAL

Fragmentos de nervo sural medindo em torno de 1,5cm de comprimento foram fixados em solução de glutaraldeído a 2,5% diluído em tampão cacodilato de sódio a 0,01M e pH 7,3 por até seis horas a 4°C. Em seguida foi dividido em três partes sendo uma maior central e duas menores periféricas. O fragmento central foi processado para inclusão em parafina e microscopia óptica convencional e os dois fragmentos periféricos foram encaminhados para processamento em resina plástica e realização de cortes semifinos.

4.2.1 Preparo técnico do material incluído em parafina

O fragmento maior reservado para cortes parafinados, foi processado por inteiro segundo técnica de rotina com progressiva desidratação, diafanização do

material e inclusão em parafina. No momento da inclusão foi seccionado e posicionado de modo a serem obtidos cortes longitudinais e transversais preservando-se os pré-requisitos estabelecidos para exame adequado do nervo periférico (HAUW et al.,1982). Deste modo, os cortes transversais parafinados puderam ser comparados com os cortes resinados também transversais. Cortes de 5µm foram corados em HE, tricrômico de Gomori, Vermelho Congo e Wade para a avaliação morfológica geral. Foram ainda feitos cortes em branco usando-se lâminas silanizadas para a identificação imuno-histoquímica de MCs segundo técnica abaixo:

4.2.2 Técnica imuno-histoquímica

Técnica realizada em todos os casos de ambos os grupos estudo e controle, através da reação imuno histoquímica da imuno peroxidase – streptavidina - biotina-peroxidase – LSAB DAKO Kit System K0676 - (GUESDON et al., 1979) para a marcação dos MCs pelo anticorpo monoclonal de camundongo antitriptase de mastócito humano (clone AA1, DAKO – M7052).

A partir dos blocos de parafina, foram realizados cortes seriados com aproximadamente 4µm de espessura em micrótomo rotativo American Optical Spencer 820. Os cortes foram colhidos em lâminas silanizadas (DAKO S3003) com antecedência de 24 horas. Foram então desparafinizados com xilol em dois banhos sucessivos à temperatura ambiente por um minuto, sendo então hidratados em concentrações decrescentes de álcool (100, 95, 80, e 70°) por meio minuto cada, e lavados com água destilada. Seguiu-se o bloqueio da peroxidase endógena tecidual pela imersão por 45 minutos em solução de peróxido de hidrogênio a 3% diluído em

água e posterior lavagem com água corrente destilada. A recuperação antigênica foi realizada em forno de microondas doméstico (Sanyo), sendo as lâminas incubadas em banho-maria a 98° C por 40 minutos e imersas em tampão citrato pH 6.0 durante 5 minutos à potência máxima. Para seu esfriamento progressivo foram deixadas no tampão citrato por 20 minutos adicionais em temperatura ambiente. Após isso, as lâminas foram lavadas em água corrente destilada por 5 minutos para a retirada do tampão citrato. O bloqueio de ligações inespecíficas foi obtido pela imersão em solução com soro de albumina bovina (BSA) a 1% diluído em tampão fosfato (PBS). Depois de retirado o excesso do soro, os cortes histológicos foram submetidos à incubação com anticorpo monoclonal de camundongo antitriptase de mastócito humano - clone AA1, DAKO diluído a 1:100 em solução tampão PBS pH 7.4, em câmara úmida durante a noite a 4° C. No dia seguinte seguiram-se três lavagens em PBS por três minutos cada. As lâminas receberam o anticorpo secundário biotilado já diluído – KIT LSAB, DAKO – (anticoelho e anticamundongo). Foi utilizado o anticorpo secundário polivalente (anticoelho, anticamundongo DUET - DAKO) por 20 minutos em temperatura ambiente. Seguiram-se três lavagens em tampão TRIS por 5 minutos cada. Procedeu-se à incubação com complexo streptavidina-biotina-peroxidase – Kit LSAB - por 30 minutos à temperatura ambiente, seguidas novamente por três lavagens em tampão TRIS por 3 minutos cada. Em seguida iniciou-se a revelação da reação com o substrato cromógeno diaminobenzidina (DAB) através da diluição de 1 tablete para 10ml de tampão fosfato (PBS). A solução foi filtrada e foram pingadas 6 gotas de peróxido de hidrogênio para ativação do DAB. A revelação foi acompanhada ao microscópio sendo interrompida por imersão em água no momento da formação do precipitado castanho-escuro. Os cortes foram então submetidos a lavagem em água

corrente por 5 minutos. A contra coloração foi realizada com a hematoxilina de Harris por 1 minuto seguida de lavagem em água corrente destilada por 5 minutos. Procedeu-se então à desidratação do material por banhos com concentrações crescentes de álcool (70, 80, 95, e 100^o) por 3 vezes de 1 minuto cada. Em seguida, diafanização por dois banhos com xilol e, finalmente a montagem das lâminas com goma de Damar. O controle positivo da reação foi realizado com amostras de tonsilas palatinas do arquivo próprio do laboratório, como sugerido pelo fabricante.

4.2.3 Preparo técnico do material incluído em resina

Após fixação do material por seis horas em solução de glutaraldeído a 2,5% diluído em tampão cacodilato de sódio a 0,1M, o material foi lavado em tampão sendo então submetido à etapa de pós-fixação. O material foi imerso em tampão cacodilato de sódio a 1% por três vezes durante 10 minutos a cada banho. Seguiu-se a pós-fixação por 1 hora em frasco escuro com solução de 1:1 de tetróxido de ósmio a 1% e solução de ferrocianeto de potássio a 1,6% e cloreto de cálcio a 10mM. O material foi lavado em tampão cacodilato a 0,1M, depois em água destilada, estando então pronto para a desidratação. Esta foi feita em concentrações crescentes de acetona a 30, 50, 70, 90 e 100%, por 10 minutos cada. Em seguida procedeu-se à imersão do material em mistura de resina e acetona por 20 minutos. Após, iniciou-se impregnação da resina em geladeira durante uma noite com o frasco aberto. No dia seguinte o material foi posicionado em lupa estereoscópica e incluído em formas de silicone usando-se a resina pura. Uma vez nas formas foi mantido em estufa a 60 graus durante 72 horas. Após, o material foi cortado em ultramicrótomo e corado pelo azul de toluidina a 1%.

4.3 MÉTODOS QUALITATIVOS

A análise morfológica qualitativa da amostra em estudo foi realizada com material incluído em parafina e em resina plástica. A partir do material incluído em parafina foram feitas as seguintes colorações: HE para avaliação geral e preliminar, Tricrômico de Gomori para avaliação do grau de fibrose, Vermelho Congo para investigação de substância amilóide e Wade para pesquisa de bacilos álcool ácido resistentes. Do material incluído em resina plástica foram feitos cortes semifinos corados pelo azul de toluidina, visando estudo das alterações mielino-axonais.

4.4 MÉTODOS QUANTITATIVOS

4.4.1 Quantificação dos mastócitos

A quantificação dos MCs foi determinada em cortes transversais, observados à microscopia óptica numa área-teste de $8.600,0\mu\text{m}^2$. Para efeito da quantificação foram considerados dois compartimentos em separado: o epineuro e o peri-endoneuro. A contagem foi realizada usando-se ocular Nikon CFW (x10) contendo sistema teste M42 – Tonbridge Kent® - (WEIBEL, 1979). Os MCs marcados por imuno-histoquímica foram contados em 10 diferentes campos microscópicos aleatórios no epineuro e em 10 no peri-endoneuro por nervo, com objetiva de imersão em óleo x100. Somente foram considerados os MCs íntegros que não cruzavam as linhas proibidas do sistema teste (GUNDERSEN, 1977).

4.4.2 Quantificação da fibrose

A quantificação do volume de fibrose em cada caso foi realizada usando-se o programa Image Pro Plus 5.0® (Media Cybernetics, San Diego USA). O método permite identificar e quantificar estruturas teciduais de interesse. A quantificação é obtida por análise de imagens digitais geradas em um sistema de vídeo microscopia, composto de microscópio Olympus BX-51 acoplado a câmera digital evolution LC. As imagens, obtidas a partir de cortes transversais de nervo corados pelo tricrômico de Gomori, foram capturadas em formato TIFF (36-bit color, 1280 x 1024 pixels). De cada caso foram obtidas cinco imagens e de cada imagem foram selecionadas três áreas no epineuro e três no peri-endoneuro, representativas do seu conteúdo. Em seguida as áreas verdes das amostras foram convertidas em escala de cinza sendo então segmentadas na mesma faixa de semitom para possibilitar ao programa identificar o matiz de cor desejado e determinar o volume de matriz fibrosa, permitindo sua quantificação. Aplicou-se um sistema de filtros objetivando a eliminação de pequenos artefatos histológicos. O resultado foi a transformação da fibrose a ser quantificada em pixels cinza sobre fundo em pixels brancos. Os dados obtidos foram exportados para programa de dados e gráficos em planilha (Excel) e o valor final foi obtido pela média dos valores dos campos selecionados em percentual por mm².

4.4.3 Quantificação das fibras mielínicas

A densidade de fibras mielínicas em cada caso foi estimada em cortes semifinos transversais pelo método de contagem de pontos. Usou-se sistema teste contendo 36 pontos-teste sobreposto a imagem videomicroscópica composta por câmera Kappa acoplada a microscópio LEICA DMRBE (MANDARIM-DE-LACERDA,

2003). A contagem foi feita, em cada caso, em 10 campos aleatórios endoneurais utilizando-se objetiva de x40 (MANDARIM-DE-LACERDA, 2003).

4.5 Análise estatística

As diferenças entre os grupos foram testadas pela análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis seguida do teste de Mann-Whitney. Foi usado o valor de 0,05 como significância estatística (ZAR, 1999).

As diferenças de densidade de MCs e de volume de fibrose entre as formas clínicas LL-BL e TT-BT e entre os casos tratados e virgens de tratamento foram testadas utilizando-se o teste t de Students.

5 RESULTADOS

A apresentação dos resultados foi ordenada em 3 partes: a primeira refere-se aos dados clínicos relevantes. A segunda parte refere-se a uma descrição morfológica sucinta de cada caso e a terceira corresponde aos dados quantitativos obtidos.

5.1 DADOS CLÍNICOS

Os pacientes envolvidos neste estudo compreendiam vinte e um homens (87,5%) e três mulheres (12,5%) totalizando vinte e quatro pacientes, com proporção masculino/feminino de 7:1. As idades variaram de dezesseis a oitenta e dois anos (média±DP de 44±14 anos). Dentre os vinte e quatro casos estudados e de acordo com a classificação de Ridley e Jopling, oito foram classificados clinicamente como forma lepromatosa polar (LL), onze borderline lepromatosa (BL), três borderline tuberculóide (BT) e um tuberculóide polar (TT). Um dos casos, forma neurítica primária, não foi posicionado na escala espectral de Ridley e Jopling por não exibir padrão histológico característico (vide descrição microscópica do caso 18 em anexo). Neste caso, a correlação clínico-patológica que poderia conduzir ao seu posicionamento dentro da escala espectral, foi impossibilitada visto que a paciente não retornou ao hospital após o resultado da biopsia. Do total de vinte e quatro casos estudados, em quatro casos as lesões estavam restritas aos nervos periféricos (forma neurítica primária).

Observou-se associação da hanseníase com hipertensão arterial sistêmica em três casos, diabetes mellitus em três casos, nefrolitíase em um caso, uso de maconha e cocaína em um caso, tuberculose pulmonar em um caso e concomitância de neoplasia maligna e psoríase em um caso. Apenas um paciente relatou caso de hanseníase na família embora não coabitasse com este familiar.

Do grupo de pacientes tratados, 66% exibiram mais de 2 episódios de reação durante e após o tratamento. Em 33% dos pacientes não obtivemos esta informação. Em dois pacientes a doença foi considerada clinicamente como recidiva sendo um deles recidiva neural. A Tabela 1 resume os aspectos clínicos descritos.

A despeito de não haver, na maior parte dos prontuários, formulário ou protocolo de exame sistemático do Sistema Nervoso Periférico, os nervos mais freqüentemente citados como acometidos foram: nervo ulnar 54%; nervos tibial posterior, fibular e mediano 33%; nervo sural, 20%; nervo auricular, 16%; nervo poplíteo lateral 12,5%; nervo radial, 8,3 e nervo facial 4%. Em cinco pacientes (20,8%) esta informação não constava nos prontuários.

O exame eletroneuromiográfico revelou mononeuropatia múltipla em 29% dos casos, polineuropatia sensitivo motora em 29%, mononeuropatia simples em 4% e em nove pacientes (37%) esta informação não constava dos prontuários.

Nos pacientes virgens de tratamento, o tempo de duração dos sintomas no momento da biopsia variou de seis meses a seis anos. Entre os pacientes tratados este tempo variou de três a vinte anos.

Tabela 1 - Características clínicas dos 24 pacientes com neuropatia hansênica.

Caso	Sexo	Idade	Forma Clínica	Tratamento	Doenças associadas	Tempo de evolução
1	M	42	BT	VT		10 meses
2	M	52	LL	T	Hipertensão arterial	8 anos
3	M	45	LL	T		6 anos
4	M	48	BL	T		8 anos
5	M	49	BL	T		7 anos
6	M	25	LL	T		Sem informação
7	F	37	BL	T		9 anos
8	M	37	BL	T		3 anos
9	M	16	BL	VT	Tuberculose	3 anos
10	M	58	BL/NP	VT	Hipertensão arterial	6 meses
11	M	71	LL	T	Hipertensão arterial	8 anos
12	M	28	LL/NP	VT		6 meses
13	M	42	BL/R	T	Diabetes mellitus	16 anos
14	M	44	BL	VT	Diabetes mellitus	6 anos
15	M	39	TT	T		5 anos
16	M	56	BL	VT		Sem informação
17	F	38	BL/R	T	Diabetes mellitus	20 anos
18	F	40	?/NP	VT		Sem informação
19	M	44	BT/NP	VT	Uso de cocaína	3 anos
20	M	50	BT	T		12 anos
21	M	31	LL	T		6 anos
22	M	34	BL	T	Nefrolitíase	4 anos
23	M	30	LL	T		10 anos
24	M	82	LL	VT	Neoplasia maligna e psoríase	1 ano

Tabela 1. M=masculino; F=feminino; LL=lepromatosa; BL=borderline lepromatosa; BT=borderline tuberculóide; TT= tuberculóide; T=tratado; VT= virgem de tratamento; NP= neurítica primária; R=recidiva; Tempo de evolução= tempo decorrido entre o início relatado dos sintomas e a biopsia do nervo.

5.2 DADOS QUALITATIVOS

Em vinte e três dos vinte e quatro fragmentos de nervo sural estudados, foram identificadas alterações histopatológicas características de hanseníase, variando em aspecto e grau. Observou-se acometimento fascicular nas formas TT-BT (Figura 2 A), com alguns feixes preservados ao lado de outros destruídos contendo abundante material caseoso. Histologicamente nestes casos observaram-se granulomas epitelióides com células gigantes e linfócitos (Figura 2 B). Nas formas LL-BL houve acometimento uniforme dos diversos feixes que compõem o nervo (Figura 2 C) com aspecto histopatológico amplo variando entre a presença de raros bacilos sem celularidade inflamatória, até grande quantidade de bacilos com células inflamatórias, nem sempre na mesma proporção da carga bacilar encontrada (Figura 2 D e E). Somente em um

5.2.1 Alterações epineurais e perineurais

Comparando com nervo sural normal (Figura 3 A), observamos no epineuro, fibrose em graus variáveis presente em 95,8% dos casos estudados, independente da forma clínica (Figura 3 B e C). Ainda neste compartimento, observou-se em 70% dos casos, dilatação e proliferação de vasos de médio e pequeno calibre, em geral circundando os diversos feixes nervosos (Figura 4 A e B). Esta alteração foi observada, sobretudo nos casos tratados.

O perineuro exibiu alterações em 83% dos casos e os achados mais freqüentes foram a perda do aspecto compacto e conseqüente multilaminação de suas camadas com fibrose entre elas (Figura 4 C). Este aspecto foi observado em especial nos casos BL-LL, estando ausente nos casos BT-TT. Nos casos virgens de tratamento, células inflamatórias além de bacilos permeavam as diversas camadas perineurais (Figura 4 D). Em seis casos (25%), todos tratados e com mais de oito anos de história clínica, observou-se aspecto peculiar das células perineurais invadindo e subdividindo o endoneuro em múltiplos microcompartimentos (Figura 5 A e B).

5.2.2 Alterações endoneurais

Em todos os casos houve perda de fibras miélicas de grande e pequeno calibre que variou entre 5 e 100% com substituição por fibrose endoneural (Figura 5 A e B). Neoformação vascular endoneural foi observada em 25% dos casos (Figura 4 B e C). Em quinze casos, sendo cinco virgens de tratamento, a perda de fibras

variou entre 90 e 100%. Mielina fina indicando remielinização foi observada em 62% dos casos. Sinais de degeneração axonal foram observados em 12% dos casos, todos virgens de tratamento. Em 20% dos casos foram observados brotamentos axonais indicando regeneração. Atrofia axonal foi observada em 16% casos.

Em quatorze dos quinze casos tratados observou-se quantidade variável de vacúolos contendo restos bacilares fracamente corados nos três compartimentos do nervo, porém com amplo predomínio endoneural. Neste compartimento, localizaram-se em torno de vasos (Figura 5 C) ou no espaço sub perineural (Figura 5 D). Em um caso tratado foram identificados bacilos íntegros no endoneuro.

Um dos casos exibiu volumosa área de necrose caseosa contendo diversos depósitos de cálcio e circundada por escasso infiltrado inflamatório do tipo residual sem granulomas ou células gigantes (Figura 6 A). Este evento é referido na literatura sobre hanseníase como abscesso neural.

Em 12% dos casos (forma BL), dois virgens de tratamento e um tratado, observamos no endoneuro, características histológicas compatíveis com reação neural. Tais características foram representadas pela presença de grande quantidade de linfócitos em meio a congestão vascular e edema endoneural (Figura 6 B e C) associados à presença de células epitelióides agrupadas esboçando granulomas sem necrose caseosa no endoneuro (Figura 6 D e E). Em coloração pelo Wade foram observados nestes casos, bacilos granulares isolados ou formando globias (Figura 6 E, detalhe). A associação de lesão granulomatosa com bacilos facilmente identificáveis em pacientes BL, é compatível com reação intra neural.

Os achados histopatológicos prevalentes encontrados nos casos de pacientes tratados e portadores de dor crônica estão enumerados na tabela 2.

Tabela 2 – Aspectos morfológicos observados nos quinze pacientes tratados e portadores de dor crônica.

MORFOLOGIA	Nº DE CASOS	PERCENTUAL
Fibrose epineural	14 casos	93%
Fibrose e multilaminação perineural	13 casos	86%
Fibrose endoneural	13 casos	86%
Neoformação vascular epineural	13 casos	86%
Restos bacilares endoneurais	12 casos	80%
Neoformação vascular endoneural	6 casos	40%
Bacilos íntegros	1 caso	6%
Necrose caseosa	1 caso	6%
Nervo sem alterações características	1 caso	6%

5.3 DADOS QUANTITATIVOS

5.3.1 Quantificação dos Mastócitos

Os MCs imuno-histoquimicamente marcados pelo anticorpo monoclonal antitriptase, foram facilmente identificados nos nervos de ambos os grupos estudo e controle, exibindo nítida positividade citoplasmática granular (Figura 7 A e B). Observou-se que, em ambos os grupos, a densidade numérica de MCs no epineuro foi maior que no peri-endoneuro embora com valores muito mais altos no grupo estudo (Figura 7 A e B). Foram identificados ora isolados ora agrupados e seu aspecto morfológico variou entre células alongadas e fusiformes ou pequenas e redondas (Figura 7 C). No grupo estudo apresentaram-se ora íntegros, ora desgranulados sendo o último aspecto observado com freqüência no epineuro e muito raramente no endoneuro. No grupo controle não foi observada desgranulação. A liberação dos grânulos ocorreu em pequena quantidade do tipo “saca bocado” (Figura 7 D) ou, mais freqüentemente, de forma explosiva (Figura 7 E). Após a desgranulação, os grânulos livres e igualmente marcados, foram identificados com facilidade (Figura 7 F). A densidade mastocitária por mm^2 , avaliada por meios estereológicos, foi significativamente mais alta no grupo com hanseníase que no grupo controle e no epineuro que no endoneuro ($p < 0,001$) (Gráfico 1). Comparando a densidade de MCs entre as formas TT-BT e LL-BL contidas no grupo estudo, não houve diferença significativa ($p > 0,05$). Separando o grupo estudo em tratados e virgens de tratamento, também não observamos diferença significativa ($p > 0,05$) quanto à densidade mastocitária.

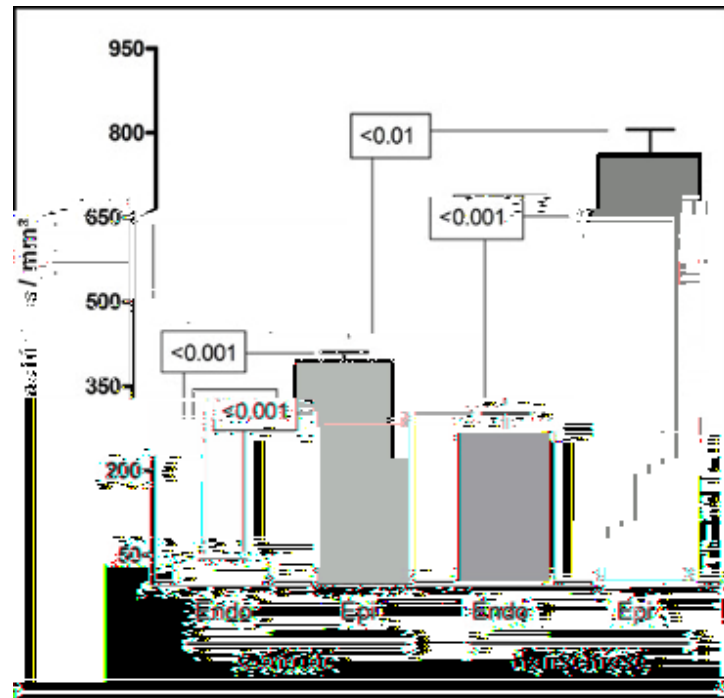


Gráfico 1. Densidade de MCs no epineuro e no endoneuro de ambos os grupos controle e estudo. A densidade de MCs foi significativamente maior em ambos os compartimentos quando comparada à dos casos controle.

5.3.2 Quantificação da fibrose

Os nervos com hanseníase exibiram aumento global de fibrose se comparados aos nervos controle (Figura 3 A, B e C). Observamos ainda maior percentual de fibrose no epineuro que no endoneuro em ambos os grupos estudados porém, com valores bem mais altos no grupo com hanseníase. Comparando a densidade de volume de fibrose entre as formas TT-BT e LL-BL, não houve diferença significativa ($p > 0,05$). Separando o grupo estudo em tratados e virgens de tratamento, observou-se maior percentual do volume de fibrose no grupo de pacientes tratados ($p < 0,05$).

O Gráfico 2 mostra o volume percentual de fibrose em ambos os grupos estudo e controle. Comparando-se a progressão da fibrose no epineuro e no peri-endoneuro vemos uma compatibilidade ascendente de crescimento até 50% do volume de fibrose por mm². A partir deste ponto observa-se somente aumento da fibrose epineural. Ao compararmos o volume de fibrose epineural com a densidade de MCs por mm² no epineuro, utilizando um gráfico de regressão linear (Gráfico 3), vemos uma associação forte e significativamente ascendente entre ambos ($p < 0,005$). Ao contrário, o volume de fibrose endoneural não correlacionou com a densidade de MCs neste compartimento do nervo.

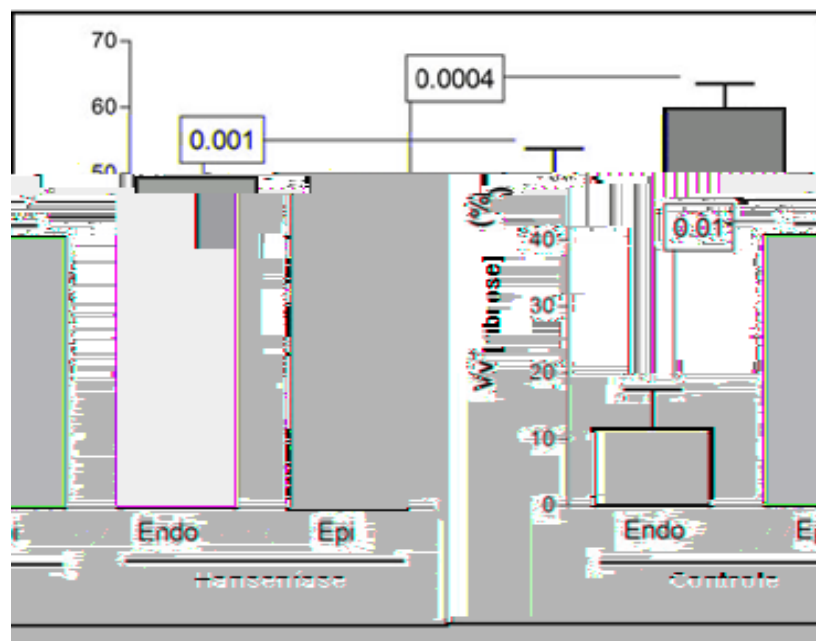


Gráfico 2. Volume de fibrose no epineuro e no peri-endoneuro de ambos os grupos controle e estudo. No grupo com hanseníase, o volume de fibrose foi maior em ambos os compartimentos do nervo.

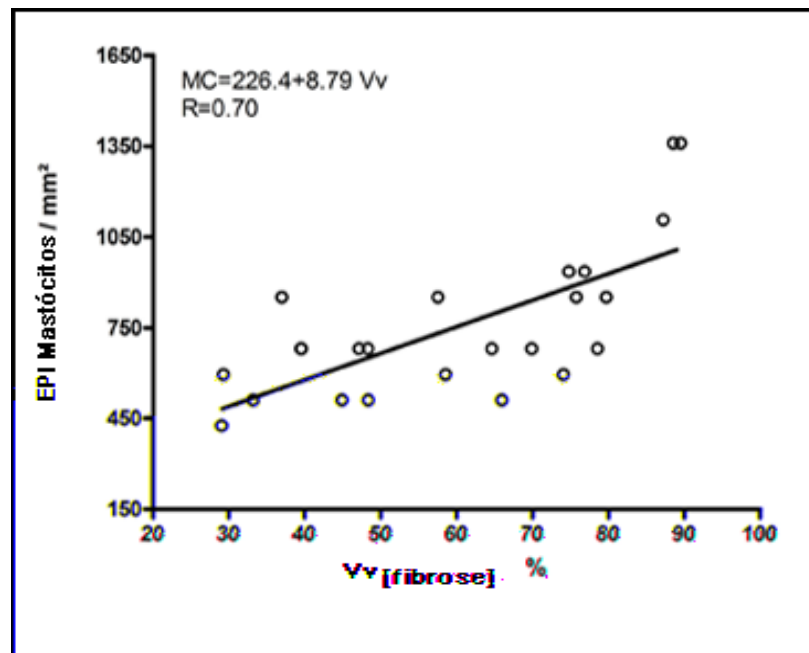


Gráfico 3. Gráfico de regressão linear comparando a densidade dos MCs e o volume de fibrose no epineuro. A equação linear e o coeficiente R são mostrados.

5.3.3 Quantificação das fibras mielínicas

A análise quantitativa da densidade de fibras mielínicas de grande e pequeno calibre foi efetuada em ambos os grupos I (estudo) e II (controle). No grupo controle, observou-se um percentual médio de 55% de fibras ocupando o espaço endoneural com coeficiente de variação de 6%. Nos casos com hanseníase houve significativa perda de fibras ($p<0,001$) com percentual médio de fibras de 10%. Separando-se graficamente os casos com hanseníase em “tratados e virgens de tratamento” observou-se que os pacientes virgens de tratamento, no momento do diagnóstico já apresentavam considerável perda de fibras com valores médios de 15% de fibras remanescentes (Gráfico 4 – A e B).

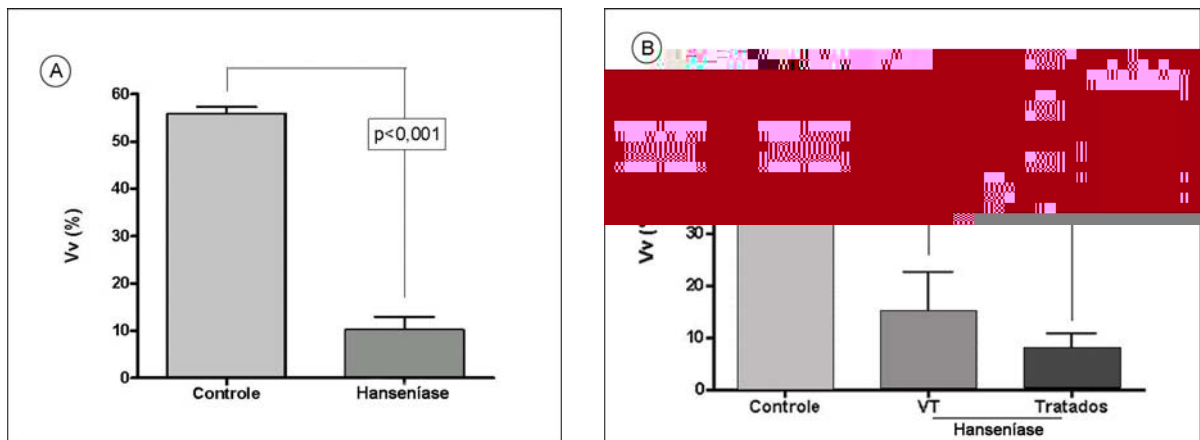


Gráfico 4 - A e B. (A) Densidade de fibras mielínicas em ambos os grupos estudados. Separando o grupo I em virgens de tratamento e tratados (B) observa-se que, ao iniciar o tratamento, a perda de fibras já era considerável.

6 DISCUSSÃO

O principal objetivo deste estudo foi, a partir de estimativa quantitativa, investigar o papel dos MCs na neuropatia hansênica. Entretanto, a revisão dos dados clínicos revelou alguns aspectos relevantes, merecendo breve comentário.

6.1 BIÓPSIA DO NERVO SURAL NA HANSENÍASE

O nervo sural é o nervo periférico mais rotineiramente estudado na maior parte dos laboratórios no mundo e tem sido de grande importância diagnóstica nas neuropatias periféricas (PEDLEY et al, 1980; HAIMANOT et al, 1984; GIBBELS et al, 1987; ANTHONY & CRAIN, 1996). Seu predomínio no material cirúrgico deve-se ao fato de ser ele um nervo sensitivo, de topografia distal, trajeto anatômico previsível, organização fascicular de fibras e com parâmetros morfométricos de normalidade conhecidos. É ainda acessível à avaliação eletrofisiológica, permite a dissecação de grande extensão de suas fibras e não está exposto às lesões do dia-a-dia. Sendo ele sensitivo, não acarreta déficit neurológico exceto por limitada área de anestesia na face lateral do pé (MIDRONI & BILBAO, 1995). Do ponto de vista técnico sua biópsia é de fácil execução. Por todos estes motivos observamos que, no material de arquivo, foi este o nervo mais freqüentemente escolhido para biópsias em casos suspeitos de hanseníase e outras neuropatias.

As biopsias de nervo periférico são em geral realizadas com objetivo diagnóstico para esclarecimento de neuropatia periférica. Entretanto, seu valor vai além do esclarecimento diagnóstico. Na hanseníase, à parte da forma neurítica primária onde este procedimento é essencial e inegável, o exame do nervo periférico é considerado por alguns autores como mais informativo e específico que o da pele, auxiliando também na classificação da doença (KUMAR et al., 1996). Sua utilidade estende-se aos pacientes tratados, mas com queixas neurológicas novas ou persistentes (JACOBS et al., 1993; PORICHHA et al., 2004). Nestes casos a biopsia pode indicar reativação ou atividade da doença. Portanto, mesmo diante de forte suspeita clínica de hanseníase, uma neuropatia atípica justifica a biopsia.

Em apenas um caso da série estudada, o exame microscópico do nervo sural não exibiu alterações características, não colaborando para o diagnóstico. Neste caso específico, em que a clínica neurológica apresentada pelo paciente era de mononeuropatia restrita ao nervo ulnar, opções alternativas de nervo periférico poderiam ter mais utilidade para a determinação do diagnóstico. Dentre estas opções estão os ramos cutâneos do nervo radial e do nervo ulnar. O último é tão importante nas investigações diagnósticas de membro superior quanto o sural para o membro inferior. Entretanto há na literatura, poucos estudos enfatizando estas opções alternativas (SHETTY et al., 1980; FREITAS et al., 1998). Portanto, nos casos de doença localizada deve-se considerar outras opções de nervo mais condizentes com o quadro clínico apresentada pelo paciente.

Em apenas dois casos da série estudada (formas BL), a biopsia foi de natureza fascicular. Esta abordagem tem como objetivo minimizar o déficit sensitivo, entretanto, reduz a já pequena amostra de tecido disponível para diagnóstico. Na hanseníase, em que o acometimento do nervo periférico nas formas tuberculóides é

fascicular, esta opção de procedimento pode dificultar ou mesmo impedir o diagnóstico.

Estudos de eletrocondução dos nervos periféricos na hanseníase são de especial valor nas formas neuríticas primárias, auxiliam no monitoramento da resposta ao tratamento colaborando ainda para melhor compreensão sobre a patogênese da doença. Devido ao padrão assimétrico de acometimento dos nervos na hanseníase, o aspecto de mononeuropatia múltipla é mais freqüentemente relatado (MIDRONI & BILBAO, 1995; CHIMELLI et al., 1997; SKACEL et al., 2000; JARDIM et al., 2004). Entretanto, na série estudada observou-se, em alguns casos, padrão de polineuropatia sensitivo-motora. Isto pode ser explicado pelo curso lento, progressivo e insidioso da hanseníase que, com o tempo, pode tender à simetria com alteração do padrão eletromiográfico (MIDRONI & BILBAO, 1995).

6.2 ASPECTOS CLÍNICOS GERAIS

Embora com índices de prevalência em queda, a hanseníase se mantém como a principal causa de neuropatia não traumática e incapacidades no mundo (NATIONS et al., 1998; BRITTON & LOCKWOOD, 2004). A série de casos estudada põe em evidência a posição central que o dano neural ocupa na doença.

Sabe-se que a hanseníase afeta mais homens que mulheres na proporção de 2:1 (BRYCESON & PFALTZGRAFF, 1990; BRITTON & LOCKWOOD, 2004). Em nossa casuística de biopsias de nervo obtidas de pacientes com hanseníase, observamos proporção bizarra de 7:1 na relação masculino/feminino, bem mais alta do que a relatada para a doença. Entretanto, nossos achados estão de acordo com

outros da literatura referentes a biopsias de nervo em hanseníase (PEDLEY et al, 1980; UPLEKAR et al, 1986; KAUR et al, 1991). Nosso número de casos, embora pequeno, reforça a noção de predomínio de neuropatias mais graves em homens e nas formas LL-BL (LOCKWOOD & SCOLLARD, 1998; WHO, 2001).

Em alguns pacientes observou-se a associação de hanseníase com outras doenças comuns como hipertensão arterial, diabetes e neoplasia maligna. Sabe-se que pacientes diabéticos têm susceptibilidade aumentada a infecções bacterianas e fúngicas bem como dificuldade de recuperação destas infecções (SAVIN, 1974). Nigan e cols. (1979) observaram incidência de diabetes bem mais alta entre pacientes com hanseníase do que na população em geral, sugerindo que esta associação facilita não só a manutenção da cronicidade da doença como também o número de reações. Convém assinalar que, como será visto adiante, os dois pacientes da série que apresentaram recidiva eram também diabéticos. Outro ponto a ser ressaltado é que, neuropatia de curso crônico e progressivo, pode ser encontrada tanto na hanseníase quanto no diabetes (ANTHONY & CRAIN, 1996). Portanto, em um país onde a hanseníase é endêmica, a presença de uma condição patológica que acometa o nervo periférico não deve excluir a possibilidade de hanseníase quando há suspeita clínica.

Na série de casos estudada, no momento do diagnóstico observou-se que 40% dos pacientes já exibiam incapacidades graves indicando diagnóstico tardio. Esta avaliação mostra que há ainda um número de doentes que, ou não têm acesso ao Sistema de Saúde ou só adquirem consciência da enfermidade numa fase já avançada. O diagnóstico tardio representa o maior ônus para o Sistema de Saúde e para o paciente que passa a conviver com o medo da rejeição.

Um dos casos merece comentário à parte por ilustrar a concomitância de hanseníase e tuberculose pulmonar. A natureza da relação entre estas duas micobacterioses tem sido fonte de debate na literatura e, mesmo nos países onde ambas as doenças são endêmicas, esta associação não é tão freqüente (LEE et al., 2003). Ao mesmo tempo em que exibem aspectos em comum, alguns autores apontam para um antagonismo entre elas em bases imunológicas, clínicas e epidemiológicas (KUMAR et al., 1982; LIETMAN et al., 1997). No caso da série estudada que apresentou associação dessas duas doenças, o aspecto histopatológico do nervo periférico foi consistente com forma borderline lepromatosa com características histológicas de reação neural (vide descrição microscópica do caso 9 em anexo). Acreditamos que a pequena quantidade de bacilos observada no nervo, porém formando globias, deveu-se provavelmente ao alto poder bactericida da rifampicina utilizada pelo paciente para tratamento de sua tuberculose. É ainda provável que a medicação antituberculose tenha precipitado quadro de reação neural uma vez que o paciente refere piora de neuropatia já existente após iniciar tratamento para tuberculose. Neste caso, a tuberculose parece ter retardado e mascarado a presença de hanseníase.

A outra particularidade envolvendo o mesmo paciente diz respeito ao fato de que, ao exame clínico, o paciente sendo reconhecido com forma BL, apresentava lesão cutânea única. Com o intuito de simplificar e facilitar o tratamento em locais onde o exame bacteriológico é impraticável, a OMS houve por bem categorizar os pacientes em 2 grupos, segundo critério essencialmente clínico: pacientes com até 5 lesões cutâneas seriam paucibacilares e, multibacilares com mais de 5 lesões cutâneas (WHO, 1998; LOCKWOOD & KUMAR, 2004). Têm havido entretanto na literatura, críticas por parte de alguns autores abrindo discussão sobre a validade da

classificação simplificada que não leva em conta o exame neurológico e ignora a carga bacilar (KAR et al., 2004; KUMARASINGHE & KUMARASINGHE, 2004; NORMAN et al, 2004; SCOLLARD, 2004). Considerando que o Brasil vem progressivamente implementando o controle sobre a doença e, tendo em vista que a composição de drogas bem como a duração do tratamento são diretamente dependentes de classificação correta, a preocupação em bem classificar os pacientes é plenamente justificada. O caso em questão põe em discussão a validade da classificação simplificada e mostra que um número de pacientes multibacilares pode, equivocadamente, receber tratamento para pacientes paucibacilares aumentando o risco de recidivas e reações.

Quatro casos da série estudada foram classificados como forma neurítica primária, entidade clínica bem reconhecida e pouco freqüente em que o acometimento do nervo periférico ocorre sem lesão cutânea aparente. Um dos maiores problemas neste grupo de pacientes tem sido a dificuldade de sua classificação visto que dela depende o planejamento terapêutico adequado. Seu enquadramento na escala espectral de Ridley e Jopling (1966) é problemático uma vez que esta se baseia em parâmetros cutâneos muitas vezes sem correspondente no nervo. Ridley e Jopling (1966) fazem referência à forma neurítica primária, destacando o número de nervos espessados como parâmetro importante para sua classificação. Segundo os autores, havendo um ou dois nervos espessados “é provável que se trate de forma TT-BT. Com mais de dois nervos espessados, o paciente deve ser considerado borderline”. Enfatizaram ainda que para a correta classificação destes casos, a biopsia do nervo é necessária.

Pacientes com a forma neurítica primária têm sido incluídos historicamente no grupo TT-BT em virtude da baciloscopia cutânea ser negativa e o teste de Mitsuda, quando realizado, ser em geral, positivo (GIRDHAR, 1996). Entretanto, a literatura tem mostrado que este grupo de doentes pode se posicionar em todo o espectro da classificação podendo exibir características virchowianas na histologia do nervo (PANNIKAR et al., 1983; JACOB & MATHAI, 1988; KAUR et al., 1991). Para classificar estes casos sem a biopsia do nervo, outros indicadores como o número de troncos afetados têm sido utilizados, mas com resultados conflitantes e ineficazes para informar a gravidade da doença (KAUR et al, 1991; SUNEETHA et al, 1998, 2000-2001; KUMAR et al, 2004). Revendo a literatura observamos não haver, até o presente momento, consenso sobre como classificar e conseqüentemente tratar estes casos (HANDA & DOGRA, 2003). Alguns autores sugerem que todos os casos da forma neurítica primária sejam posicionados no grupo LL-BL (GIRDHAR, 1996). As normas nacionais recomendam a classificação operacional em grupo multibacilar (MB)/paucibacilar (PB), utilizando parâmetros clínicos e baciloscópicos.

Os pacientes da série em estudo com a forma neurítica primária foram classificados baseando-se no aspecto do infiltrado celular e na carga bacilar presentes no nervo biopsiado, associado ao número de troncos nervosos afetados. Em um destes casos, a presença de raros bacilos foi observada com lesões mínimas do nervo e os achados, embora permitindo o diagnóstico, não foram suficientes para classificar a doença com segurança em bases histológicas. Considerando que a paciente em questão exibia mãos em garra e pé caído, talvez no nervo escolhido para biopsia, a doença estivesse em fase muito precoce. Neste caso, as opções alternativas de biopsia já comentadas, talvez tivessem contribuído mais para a classificação da doença.

Da série estudada, dois dos casos classificados como forma neurítica primária desenvolveram lesões cutâneas durante o tratamento.

Considerando que a mucosa nasal é a principal porta de entrada e de disseminação do *M. leprae*, a biopsia e/ou esfregaço da cavidade nasal têm sido empregados para investigar este grupo de pacientes com resultados satisfatórios em cerca de metade deles (SUNEETHA et al, 1998). Outros autores biopsiando áreas cutâneas anestésicas em pacientes com a forma neurítica primária encontraram alterações características de hanseníase em cerca de 30% dos casos (SUNEETHA et al., 1998a; MENICUCCI et al., 2005). Estes dados sugerem que a forma neurítica primária não está confinada apenas ao nervo periférico. Mostram que a maior parte dos pacientes classificados com esta forma, passam por uma fase neurítica primária e que só um número restrito de pacientes mantém acometimento isolado dos nervos periféricos.

Consultando os prontuários dos pacientes da casuística e cujos nervos foram estudados, observamos que posicionar um paciente dentro da classificação espectral de Ridley e Jopling amplamente utilizada, nem sempre é tarefa simples e fácil. Mesmo os profissionais mais experientes, tendo à mão dados clínicos e laboratoriais, encontram dificuldades em alguns casos. A idéia de classificação precisa e imediata, sem chances de erro, é vã. Ordenar em grupos uma determinada doença é uma necessidade de comunicação,faada ímriaada oguns ada

constante das lesões, um doente examinado com diferença de alguns dias, pode provocar dúvidas e discordâncias quanto ao posicionamento em uma classificação.

6.3 ASPECTOS QUALITATIVOS E QUANTITATIVOS

Considerando a relação estreita entre ambos, os comentários sobre os aspectos qualitativos e quantitativos serão feitos em conjunto.

6.3.1 Aspectos morfológicos gerais

Na série de casos estudada os achados morfológicos foram semelhantes aos já descritos na literatura e por este motivo serão alvo de comentário breve.

As lesões observadas nos casos de neuropatia hansênica foram de grande diversidade exibindo padrões variados de resposta tecidual. Os diversos feixes que compõem o nervo foram acometidos homogeneamente nas formas LL – BL ou, ao contrário, de modo fascicular nas formas TT-BT, coexistindo com outros vizinhos com estrutura preservada. No caso sem celularidade inflamatória, porém contendo raros bacilos, o sucesso da detecção bacilar deveu-se ao exame de cortes histológicos sucessivos seriados com objetiva de imersão em óleo x100.

A população de fibras mielínicas de grande e pequeno calibre mostrou-se comprometida em todos os casos, sendo em um deles a única alteração patológica associada à presença de bacilos. Vale ressaltar que, em cinco pacientes virgens de tratamento e com história clínica de 6 a 10 meses de duração, os nervos já exibiam perda de 80 a 100% das fibras. Isto reforça a noção de que a neurite é silenciosa na

maior parte do tempo. No capítulo referente aos resultados, o gráfico 4 B mostra que o tratamento não contribuiu para a recuperação da densidade de fibras, provavelmente pela fibrose que, uma vez instalada, impede a regeneração do nervo.

Dois casos virgens de tratamento exibiram sinais de degeneração axonal e, a ausência deste achado nos casos tratados, foi uma evidência de eficácia do tratamento que impediu a progressão da destruição de fibras.

A presença de remielinização e de regeneração axonal observados podem também ser interpretados como indicativos de eficácia do tratamento insuficientes entretanto, para restaurar as funções do nervo. Apesar de tratamento regular com diminuição da inflamação, há uma tentativa de regeneração que é escassa, insuficiente e funcionalmente ineficaz.

Alguns aspectos morfológicos relevantes dentro do contexto dos objetivos deste estudo serão abordados em separado e a seguir.

6.3.2 Aspectos morfológicos observados nos pacientes portadores de dor crônica

Estudo realizado no Brasil, em centro de referência para tratamento de hanseníase, revelou que 57% dos pacientes tratados queixa-se de dor crônica intensa que interfere em sua qualidade de vida (STUMP et al., 2004). Segasothy e colaboradores (1986) observaram que a quantidade de analgésicos consumida por pacientes com hanseníase era alta o suficiente para causar necrose das papilas renais. Apesar de a hanseníase cursar com perda sensitiva, a dor crônica tem se

manifestado como problema importante não havendo ainda na literatura estudo histopatológico dos nervos periféricos nestes pacientes (CROFT, 2004; HAANPAA et al., 2004).

Em quinze dos vinte e quatro casos da série estudada, a biópsia do nervo foi motivada por dor crônica e persistente em pacientes que haviam completado a PQT, sem boa resposta ao uso de corticosteróides. Esta fração do material proporcionou oportunidade ímpar de observar as alterações morfológicas prevalentes nestes casos que pudessem contribuir para a compreensão dos mecanismos envolvidos nos episódios dolorosos. As alterações morfológicas prevalentes observadas nestes casos e enumeradas na tabela 2 serão abordadas em seguida.

6.3.2.1 Fibrose

O colágeno, um dos principais componentes do nervo periférico humano e contribuindo com 49% de seu conteúdo protéico, é essencial à sua integridade estrutural (SEYER et al., 1977). Ao contrário de vários estudos investigativos enfocando alterações dos axônios, da mielina e o componente inflamatório que acompanham a hanseníase, a fibrose do nervo, que tem papel crucial no dano neural, tem recebido pouca atenção. O achado histopatológico comum a praticamente todos os casos da série estudada foi representado por fibrose global do nervo. A fibrose epineural nos pareceu de surgimento mais precoce. Observou-se que mesmo os casos cujos nervos exibiam alterações inflamatórias leves já apresentavam algum grau de fibrose neste compartimento do nervo.

Em relação à fibrose endoneural, constatamos que, no momento da biópsia, 80% dos casos já se apresentavam total e definitivamente danificados com perda de 90 a 100% de suas fibras.

Analisando o gráfico de quantificação do volume de fibrose por mm^2 , observamos que o grau de fibrose endoneural ocorreu até um limite médio máximo de 50% por mm^2 . Isto pode ser explicado pela pressão que o cinturão perineural exerce sobre o endoneuro, contendo-o e delimitando-o. Ao contrário, a quantidade de fibrose no epineuro parece ilimitada visto que este não possui nenhuma delimitação anatômica. A fibrose epineural progressiva sem limites na hanseníase, transforma o epineuro em revestimento denso, rígido e inelástico que acaba por aprisionar o nervo facilitando sua aderência às estruturas adjacentes, em especial nos túneis fibro-ósseos. Nenhuma outra neuropatia é capaz de produzir tamanha quantidade de fibrose. Esta fibrose excessiva parece beneficiar mais o bacilo que o hospedeiro visto que dificulta a difusão de medicamentos e contribui para aumentar a aderência do nervo às estruturas vizinhas.

No grupo estudado, ao comparar o volume de fibrose por mm^2 entre as formas clínicas LL-BL e TT-BT, não obtivemos resultado significativo ($p > 0,05$). Entretanto, a comparação da densidade de volume de fibrose entre os casos tratados e virgens de tratamento foi significativa entre os grupos ($p < 0,05$), mostrando sua relação com o tempo de evolução da doença. Nestes casos tratados com história clínica de longa duração, observou-se que, nem o tratamento adequado, nem os diversos ciclos de corticoterapia ministrados a estes pacientes, impediram a progressão da fibrose.

Nervos totalmente substituídos por fibrose e definitivamente inutilizados sob o ponto de vista funcional, podem ser sede de dor intensa. Na verdade, o tratamento preconizado pela OMS visa o bacilo. Ele não impede a fibrose crescente nem a dor crônica que acomete alguns pacientes. O espessamento global do nervo e a crescente pressão intraneural acabam comprometendo sua irrigação acrescentando mais um fator contribuinte para a piora e perpetuação da dor que aflige alguns pacientes por muito tempo após o tratamento. Não encontramos, na literatura sobre hanseníase nenhum estudo quantitativo semelhante.

6.3.2.2 Alterações perineurais

O primeiro a notar a participação do perineuro na patogenia da disfunção nervosa da hanseníase foi Virchow que, em 1864 deu o nome de “perineurite” à proliferação das camadas perineurais (apud PEARSON & WEDDELL, 1975b). Tendo o perineuro função de barreira, qualquer alteração em sua cito arquitetura deixa vulnerável o conteúdo endoneural. Vale ressaltar que uma das vias sugeridas para a entrada do bacilo no nervo é a via perineural. Alguns estudos com lesões cutâneas precoces mostraram que, em todas as formas de hanseníase, o tecido epineural é rico em macrófagos contendo *M. leprae* e que as fendas perineurais, alargadas pela multilaminação e inflamação, permitem a migração destes macrófagos para o endoneuro (CHANDI & CHACKO, 1986). Scollard (1999) demonstrou muito claramente o papel dos vasos epi e perineurais para a penetração dos bacilos no endoneuro na fase inicial da doença.

Na literatura sobre hanseníase, a despeito do grande número de trabalhos com nervos periféricos, descrições sobre as alterações do perineuro são raramente encontradas (PEARSON & WEDDELL, 1975b; VALLAT et al., 1991; CHIMELLI et al., 1997). Na série de casos estudada o perineuro, identificado pela orientação circular de suas fibras, esteve alterado em vinte deles de forma e intensidade variadas. A multilaminação, representada pela separação das camadas perineurais com fibrose entre elas, foi um dos achados mais prevalentes. Foi observada com frequência nos casos BL e LL estando ausente nos casos BT e TT. Em alguns casos virgens de tratamento observamos também multilaminação com permeação das diversas camadas perineurais por células inflamatórias mononucleares e por bacilos íntegros. A perda da propriedade de semi permeabilidade e elasticidade do perineuro, tem reflexos no endoneuro podendo interferir na penetração de medicamentos, contribuindo para maior incidência de viabilidade dos bacilos no nervo.

Em 25% dos casos estudados, todos eles formas LL-BL tratadas e com mais de 8 anos de história clínica, observamos aspecto peculiar das células perineurais que invadem e subdividem o endoneuro em múltiplos microfibras, circundando-os completamente. Este não é um achado comum tendo sido raramente observado na neuropatia por hanseníase (PEARSON & WEDDELL, 1975b; VALLAT et al., 1991; CHIMELLI et al., 1997). Consideramos que a microfasciculação observada na hanseníase deve ser muito mais freqüente que o relatado, porém, pode passar despercebida em colorações rotineiras, tornando-se mais nítida em cortes semifinos. Enquanto Pearson e Weddel (1975b) não especificaram sua incidência, Vallat e colaboradores (1991) relataram este aspecto em 20% de seus casos. Esta alteração não parece ser específica da hanseníase visto que foi também observada em outras neuropatias (NESBITT & ACLAND, 1980).

A forma como o endoneuro é reestruturado em vários minifeixes não está completamente esclarecida. A opinião prevalente baseada em estudos experimentais sugere que lesão do perineuro com conseqüente aumento de sua permeabilidade é fator desencadeante para a proliferação minifascicular no endoneuro (NESBITT & ACLAND, 1980; JOHNSON & KLINE, 1989). Outros autores destacam o papel dos axônios em regeneração como um fator estimulante para a diferenciação de fibroblastos endoneurais em células perineurais (POPOVIC et al., 1994).

6.3.2.3 Alterações vasculares

Em 70% dos casos foram observadas alterações vasculares epineurais, representadas por dilatação e proliferação de vasos sanguíneos, na maior parte das vezes circundando os diversos feixes nervosos. Embora esta alteração seja descrita na literatura associada a vasculopatias e à neuropatia diabética (SCHÜTZ & SCHRODER, 1997; MAWRIN et al., 2001) ela se mostrou exuberante nos casos estudados de neuropatia hansênica. O aumento do número de vasos no epineuro foi observado nos nervos de pacientes tratados, com história clínica de longa duração e com acentuado grau de fibrose neste compartimento. Esta observação está de acordo com outra única descrição na literatura em relação à hanseníase (JACOBS et al., 1993).

A angiogênese é um processo complexo que envolve várias etapas algumas das quais mediadas por MCs (DINES et al., 1997). Diversos estudos clínicos e experimentais demonstraram evidências de interações importantes entre MCs e células endoteliais. Os MCs interferem no crescimento das células endoteliais

participando assim da neoformação vascular. Em contrapartida, as células endoteliais liberam nucleotídeos que provocam desgranulação mastocitária (THARP, 1989). Na série estudada, o predomínio de vasos neoformados no epineuro nos pareceu coincidente com a maior densidade numérica dos MCs neste compartimento.

Consideramos que a identificação de um aumento numérico dos vasos epineurais na neuropatia por hanseníase, até o presente momento observada em apenas um estudo (JACOBS et al., 1993), é um dado que se soma a outras alterações já descritas, merecendo estudo qualitativo e quantitativo mais aprofundado não somente em relação à hanseníase mas também por sua provável relação com a atividade mastocitária.

Embora exista relação anatômica entre os vasos epineurais e endoneurais, no material estudado, a neovascularização endoneural foi observada em apenas seis casos.

6.3.2.4 Carga bacilar residual e reação neural

Estudos histopatológicos demonstraram que, em um mesmo paciente, a concentração de bacilos no nervo pode ser maior que na pele (ANTIA & PANDIA, 1976; SRINIVASAN et al., 1982a; SHETTY et al., 1997). Isto se deve não só à afinidade especial entre o *M. leprae* e a célula de Schwann, mas também às peculiares características anatômicas do nervo periférico que, orientadas de modo a preservar sua integridade interna acabam por proteger o bacilo, favorecendo sua sobrevivência e multiplicação (ANTIA & PANDIA, 1976). Nas lesões LL-BL tratadas, a

grande quantidade de restos bacterianos acolhidos dentro do nervo pode levar muito tempo para ser eliminada mesmo com tratamento adequado (SHETTY et al., 1992). Este retardo do chamado "*clearance*" de bacilos mortos, identificados pela falta de uniformidade na coloração sem preservação de sua morfologia ou afinidade tintorial, gera uma contínua liberação de antígenos, podendo provocar dor, reações ou mesmo danificar outro nervo clinicamente não acometido pela doença. Isto explica o súbito acometimento de um tronco nervoso mesmo alguns anos após a cura clínica da doença (JOB, 1989).

Os pacientes tratados da série estudada, portadores de carga bacilar residual no nervo, cumpriram integralmente o tratamento e a biopsia, realizada até três anos pós o término do mesmo mostrou que a eliminação destes restos bacilares antigênicos é mesmo muito lenta podendo durar anos sem que isto signifique recidiva. Entretanto, alimentam a manutenção de episódios reacionais perpetuando a inflamação e a contínua destruição do nervo manifestando-se clinicamente com dor.

Episódios recidivantes de reação são clinicamente importantes, pois causam dano neural contínuo, e contribuem para o desenvolvimento de incapacidades (NAAFS, 2000b). Embora a maior parte ocorra nos 6 primeiros meses de tratamento, existe uma expectativa de que 40% dos pacientes venham a exibi-los depois do fim do tratamento (BERNINK & VOSKENS, 1997; LOCKWOOD & SCOLLARD, 1998; LOCKWOOD, 2000), sejam eles LL-BL ou TT-BT (SAXENA et al., 1991). Entretanto sua incidência no período pós tratamento não é tão bem documentada, talvez pela dificuldade de acompanhamento dos pacientes por períodos mais longos.

et al, 1996b; SHETTY et al., 1997) e, a despeito da comprovada eficácia do tratamento poliquimioterápico, casos de recidiva continuam a ocorrer com índices variando entre zero e 20% (JAMET & JI, 1995; CHEN et al., 1999; SHAW et al., 2003). Esta discrepância deve-se, principalmente, à falta de critérios uniformes no diagnóstico de recidiva, com ocasional inclusão de casos que de fato não representam recidiva.

Considerando-se que a carga bacilar no nervo é mais alta que em todos os outros tecidos, (ANTIA & PANDYA, 1976), não surpreende o fato de muitas recidivas começarem no nervo. Tendo em vista as já mencionadas peculiares características do nervo periférico e sua relação com o *M. leprae*, acredita-se que, após tratamento adequado, alguns bacilos “dormentes” persistem nos nervos podendo reativar a doença (SHETTY et al., 1992; JOB et al, 1996b). A importância disso é que desde 1982, os índices de recidiva vêm sendo usados como parâmetro crucial para estabelecer a eficácia do tratamento poliquimioterápico (JOB et al., 1996b; BAOHONG, 2001). Portanto, rotular um paciente como sendo um caso de recidiva é atitude de extrema importância e responsabilidade.

De nossa casuística, dos quinze casos biopsiados após o fim do tratamento, dois foram diagnosticados como recidiva sendo um deles, recidiva neural. Nestes casos foram vistos bacilos sólidos e uniformemente corados na pele e/ou no nervo periférico. Entretanto, não é papel do patologista assegurar sua viabilidade microbiológica. Pode-se apenas descrevê-los como formas bacilares aparentemente íntegras. O diagnóstico definitivo de recidiva inclui um braço clínico, um histopatológico e outro microbiológico, pois nem sempre as formas íntegras observadas são capazes de causar doença quando inoculadas em animal (JOB et

al., 1996b; SHETTY et al., 1997) podendo estar em estado fisiologicamente adormecido.

Nos dois casos de recidiva da série estudada tentou-se detectar algum fator subjacente favorecedor da recidiva. Observamos que ocorreram 16 e 20 anos após tratamento realizado em período pré MDT e os pacientes eram diabéticos, condição sabidamente facilitadora de infecção. Não encontramos na literatura sobre recidiva, nenhuma referência a esta associação.

Os casos de recidiva podem ser conseqüência não só de bacilos dormentes como também resistência a drogas, tratamento irregular ou mesmo classificação equivocada da doença com conseqüente tratamento inadequado.

Uma vez curado o paciente, em geral, continua a viver em ambientes endêmicos e nas mesmas condições sociais. Nestes casos de recidiva após tempo tão prolongado, torna-se difícil distinguir entre recidiva e reinfecção.

6.3.2.6 Abscessos frios (clinicamente)

Em alguns casos de neuropatia hansênica, a lesão granulomatosa progride com acúmulo volumoso de necrose caseosa no nervo formando os clinicamente chamados “abscessos frios”. O *M. leprae* parece ser o único agente infeccioso capaz de causar este tipo de lesão no nervo periférico (KUMAR et al., 1997). Embora sejam mais comumente associados às formas clínicas tuberculóides também ocorrem nas formas lepromatosas (CHAUAN et al., 1996; KUMAR et al., 1996, 1997; SIDDALINGASWAMY & RAO, 1993). Podem acometer qualquer tronco nervoso sendo o nervo ulnar o mais freqüentemente envolvido (SALAFIA & CHAUHAN,

1996). Em geral este aspecto, mais comumente denominado de abscesso neural, associa-se a doença ativa. Entretanto, há estudos relatando sua detecção alguns anos após a cura sem sinais clínicos de recidiva (SIDDALINGASWAMY & RAO, 1993; DESIKAN & DESIKAN, 1995; SELVASEKAR et al., 1997; PORICHHA et al., 2004).

No caso da série estudada, a quantidade de material caseoso acumulada no endoneuro contribuiu para dor crônica por até quatro anos após o tratamento, em paciente sem sinais clínicos de recidiva. Neste caso, a presença de inúmeros depósitos de cálcio em meio ao material caseoso (calcificação distrófica), associada ao escasso infiltrado inflamatório adjacente, sem células epitelióides ou células gigantes, reforça a idéia de processo de longa duração não devendo ser interpretado como recidiva.

O depósito de cálcio em tecidos necróticos é um fenômeno conhecido como calcificação distrófica. Na hanseníase é um evento infreqüente e quando descrito, está, em geral, associado aos chamados abscessos neurais (CHAUHAN et al., 1996; MALAVIYA et al., 1985). Uma vez detectados estes focos dolorosos de necrose caseosa devem ser abordados por incisão epineural longitudinal com exploração do nervo e drenagem do material caseoso. Caso contrário podem expandir ou mesmo fistulizar (KUMAR et al., 1997) danificando ainda mais o nervo.

Alguns autores, alertando que a PQT não contribuiu para a diminuição desta e de outras complicações ocorridas nos nervos periféricos, observaram mesmo um aumento significativo destes “abscessos neurais” nos últimos 15 anos (SIDDALINGASWAMY & RAO, 1993; SALAFIA & CHAUHAN, 1996).

Todos os dados morfológicos descritos e comentado no sub item 6.3.2, associados a quadro clínico de dor crônica, sugerem que a fibrose, impedindo a expansão do nervo, durante eventuais episódios de reação neural e favorecendo sua aderência aos túneis fibro-ósseos parece contribuir para a piora da dor nestes pacientes. Entretanto, a despeito dos aspectos observados estamos cientes de que os mecanismos neurofisiológicos envolvidos no processo de dor crônica são múltiplos e complexos merecendo investigação aprofundada e multidisciplinar.

6.4 RELAÇÃO FUNCIONAL DOS MASTÓCITOS COM A FIBROSE DO NERVO PERIFÉRICO NA HANSENÍASE

No presente estudo, MCs imuno-histoquimicamente marcados foram quantificados no epineuro e no peri-endoneuro. No grupo controle e de acordo com os resultados de Olsson (1968), foram observados em todos os compartimentos do nervo mas com maior densidade no epineuro. Este aspecto se manteve nos nervos com hanseníase onde a densidade mastocitária epineural por mm^2 , excedeu em muito a endoneural.

Foi ainda observada intensa desgranulação mastocitária no epineuro dos casos com neuropatia hansênica o que não ocorreu no endoneuro. Considerando que as substâncias estocadas no citoplasma dos MCs precisam ser lançadas no ambiente extracelular para se tornarem funcionalmente ativas, o processo de desgranulação é uma manifestação de atividade dos MCs neste compartimento específico do nervo. Nos perguntamos qual seria o fator determinante para a preferencial localização e desgranulação mastocitária no epineuro dos nervos com hanseníase. Uma hipótese é a de que esta preferência seja influenciada por algum

componente distinto da matriz extracelular neste compartimento do nervo, ausente ou presente em menor quantidade no endoneuro.

Para que o mastócito se estabeleça em um determinado tecido, são necessárias interações específicas com os diversos componentes da matriz. Ela desempenha um papel ativo e complexo na regulação e função das células com as quais mantém contato. O mastócito expressa em sua superfície diferentes grupos de receptores. Um deles é formado por receptores que regulam seu trânsito e distribuição nos diversos tecidos. Neste grupo, as integrinas se destacam promovendo um elo entre os componentes da matriz e os MCs (COLUMBO et al., 1995). Todavia, embora este elo tenha relevância na interação mastócito - matriz, os mecanismos utilizados pelos MCs para migrar, se diferenciar e finalmente se estabelecer, ainda não estão completamente esclarecidos. (METCALFE, 1995).

O papel dos MCs nas diversas neuropatias periféricas humanas tem sido raramente focado na literatura (OLSSON, 1971; KONORR-HELD & MEIER, 1990). Olsson (1971) observou que nervos com alterações agudas mielino-axonais não continham grande quantidade de MCs. Neste mesmo estudo de natureza semiquantitativa, a maior densidade de MCs foi obtida em casos com neurofibromas. Brosman e colaboradores (1985) estudando a densidade de MCs na neurite alérgica experimental em roedores, constataram sua maior densidade na fase crônica da doença. Outro estudo enfocando MCs e neuropatias periféricas humanas observou sua maior densidade no grupo das neuropatias inflamatórias, mas com resultados pouco consistentes, especulativos e sem amparo estatístico (KNORR-HELD & MEIER, 1990). Nenhum dos estudos citados incluía casos de neuropatia hansênica. Entretanto, todos têm em comum a idéia de maior atuação mastocitária na fase crônica das doenças do nervo periférico. Um estudo quantitativo

com outras polineuropatias humanas e utilizando a mesma metodologia, seria de interesse para comparar os dados obtidos em relação à hanseníase.

Na série de casos estudada de neuropatia hasênica, o gráfico de regressão linear que compara a densidade de MCs no epineuro e o volume de fibrose por mm^2 neste mesmo compartimento do nervo, mostra uma correlação positiva e estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as duas variáveis o que não ocorreu no endoneuro. Houve portanto, nos casos de neuropatia hansênica, uma relação direta entre a fibrose epineural e a densidade de MCs neste compartimento.

Comparando a densidade de MCs entre as formas clínicas LL-BL e TT-BT, observou-se não haver diferença significativa entre elas ($p > 0,05$) indicando que a carga bacilar e o estado imunológico dos pacientes não parecem ter relação com a densidade de mastócitos. A comparação da densidade de MCs por mm^2 entre os casos tratados e virgens de tratamento também não foi significativa ($p = 0,08$). A princípio este dado pode parecer discordante visto que o volume de fibrose por mm^2 foi significativamente maior nos casos tratados. Entretanto, o fato do coeficiente de correlação (de Pearson) ser $R = 0,7$ (ver gráfico 3), pode explicar o fato de haver diferença na percentagem de fibrose entre os grupos tratados e virgens de tratamento e esta diferença não ter sido detectada para o número de MCs. Entretanto, o valor de “p” encontrado para os MCs nesta situação (0,07), nos autoriza a considerar haver uma tendência dos MCs a serem mais numerosos nos casos tratados. Talvez com uma amostra um pouco maior o valor de p atingisse níveis estatisticamente significantes.

A literatura tem mostrado que os mecanismos pelos quais os MCs interagem com a matriz extracelular são variados. Diversas substâncias bioativas secretadas e estocadas pelos MCs são capazes de ativar células do tecido conjuntivo. Alguns

estudos apontam para uma interação especial entre MCs e fibroblastos (RUBINCHICK & LEVI-SCHAFFER, 1994; LEVI-SCHAFFER & PILIPONSKY, 2003; GARBUZENKO et al., 2002) e o mecanismo de intercomunicação entre estas duas células parece ocorrer através de um processo peculiar e específico de liberação de grânulos chamado de transgranulação (GREENBERG & BURNSTOCK, 1983). Experimentos *in vitro* demonstraram que os MCs interferem nas propriedades bioquímicas dos fibroblastos induzindo fibrose. Estes por sua vez parecem regular a sobrevivência e diferenciação mastocitária (RUBINCHICK & LEVI-SCHAFFER, 1994). Foi ainda demonstrado que os MCs aumentam a proliferação de fibroblastos e a síntese do colágeno, tendo um papel direto na remodelação tecidual e fibrose (GARBUZENKO et al., 2002).

Sabe-se que as metaloproteinases têm um papel fundamental na degradação da matriz extracelular em diversos processos patológicos e a triptase, protease predominante no citoplasma dos MCs é uma gelatinase o que indica sua potencial contribuição na degradação da matriz extracelular (FAJARDO & PEJLER, 2003).

A triptase tem sido envolvida na ativação de certas metaloproteinases e da pró colagenase (MAURER, 2003; WELLE, 1997; METCALFE, 1997). Alguns autores demonstraram a participação da triptase na proliferação do colágeno tipo I (ABE et al., 2000; CAIRNS & WALLS, 1997). A triptase tem ainda se mostrado mitogênica para fibroblastos (RUOSS et al., 1991). À luz destas informações os MCs parecem acelerar o remodelamento da matriz extracelular de maneira bi direcional. Enquanto ativam enzimas de degradação, também participam da regeneração tecidual produzindo e liberando citocinas pró fibróticas.

No nervo periférico normal, sabe-se que no epineuro predomina o colágeno tipo I enquanto o colágeno tipo III predomina no endoneuro (MIDRONI & BILBAO,

1995). Na neuropatia por hanseníase, sabidamente geradora de fibrose, a distribuição dos colágenos tipo I e III nos diferentes compartimentos do nervo permanece a mesma que no nervo normal (JUNQUEIRA et al, 1980). Sem perder de vista a preferencial afinidade dos MCs pelo epineuro na hanseníase, estas informações correlacionadas com nossos achados, sustentam a idéia de que os MCs ricos em triptase estão envolvidos na colagenização epineural na hanseníase, possivelmente através do estímulo da síntese do colágeno tipo I. Portanto o mecanismo de colagenização epineural na hanseníase seria mediado por MCs.

A última década tem testemunhado uma sucessão de estudos e pesquisas em torno dos MCs em parte dificultados por sua heterogeneidade. Avanços recentes na área de inibidores de triptase e quimase certamente devem acelerar o desenvolvimento de diferentes abordagens terapêuticas capazes de controlar a ação mastocitária.

7 CONCLUSÕES

Do presente estudo e a partir dos resultados obtidos, destacamos algumas conclusões relevantes.

- As alterações morfológicas classicamente descritas nos nervos de pacientes com hanseníase foram também observadas nos casos da presente série.
- Nos pacientes tratados e portadores de dor crônica os achados morfológicos prevalentes foram: fibrose global extensa, neoformação vascular epineural e a presença de restos bacilares em quantidades variáveis no endoneuro.
- O emprego de técnicas estereológicas associado à imuno-histoquímica, deu precisão e reprodutibilidade à quantificação dos mastócitos e da fibrose mostrando a significativa e preferencial localização de ambos no epineuro.
- Na neuropatia hansênica a densidade mastocitária é significativamente maior no compartimento epineural.
- Na neuropatia hansênica, a densidade de mastócitos e o volume de fibrose por mm^2 não guardam relação com as formas clínicas TT-BT e LL-BL ($p>0,05$).

- Na neuropatia hansênica a densidade de mastócitos por mm^2 não parece ter relação com a fase do tratamento.
- Na neuropatia hansênica o volume de fibrose global por mm^2 foi significativamente maior nos casos tratados ($p < 0,008$) mostrando que o tratamento não impede a progressão da fibrose do nervo.
- Existe uma relação direta, proporcional e estatisticamente significativa entre a densidade de mastócitos e o volume de fibrose por mm^2 no epineuro dos casos com neuropatia hansênica sugerindo que os mastócitos participam do processo de fibrose epineural nesta neuropatia.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, M; KUROSAWA, M; ISHIKAWA, ON et al. Effect of mast cell-related neutral proteases on human dermal fibroblast proliferation and type I collagen production. **J Allergy Clin Immunol.** v.106; n.1, part 2, p.S78-S84, 2000.

ANTHONY, DC & CRAIN, BJ. Peripheral nerve biopsies. **Arch Pathol Lab Med** v.120; n.1, p.26-34, 1996.

ANTIA, NH; DIVEKAR, SC; DASTUR, DK. The facial nerve in leprosy. I: clinical and operative aspects. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.34; n.2, p.103-117, 1966.

ANTIA, NH; PANDYA, SS; DASTUR, DK. Nerve in the arm in leprosy. I: clinical, electro diagnostic and operative aspects. **Int J Lepr Other Mycobact Dis** v.38; n.1, p.12-29, 1970.

ANTIA, NH & PANDYA, NJ. Qualitative histology and quantitative bacteriology in various tissues of 50 leprosy patients. **Lepr Rev.** v.47; n.3, p.175-183, 1976.

ANTIA, NH; SHETTY, VP; MEHTA, LN. Study of evolution of nerve damage in leprosy. Part IV – An Assessment. **Lepr India.** v. 52; n.1, p.48-52, 1980.

ANTIA, NH. Leprosy - a disease of the Schwann cell. **Lepr India.** v.54; n.4, p.599-604, 1982.

ANTIA, NH & SHETTY, VP. **The peripheral nerve in leprosy and other neuropathies.** Oxford university press , NY, 281p., 1997.

ANTUNES, SLG; LIANG, Y; NERI, JAC et al. Mast cell subsets and neuropeptides in leprosy reactions. **Arq Neuropsiquiatr.** v.61 (2-A); p.208-219, 2003.

BAINSON, KA & VAN DEN BORNE, B. Dimensions and process of stigmatization in leprosy. **Lepr Rev.** v.69; n.4, p.341-350, 1998.

BAOHONG, JI. Editorial. Does there exist a subgroup of MB patients at greater risk of relapse after MDT? **Lepr Rev.** v.72; n.1, p.3-7, 2001.

BARREIRA, AA & MARQUES Jr, W. Estudo das neuropatias periféricas no Estado de São Paulo de 1939 a 1985. **Arq Neuropsiquiatr.** v.55; n.1, p.149-157, 1997.

BEFUS, D; FUJIMAKI, H; SWIETER, M. Mast Cell Polymorphisms – Present Concepts, Future Directions. **Dig Dis and Sci.** v.33; n.3 suppl, p.16S-24S, 1988.

BERNINK, EHM & VOSKENS, JEJ. Study on the detection of leprosy reactions and the effect of prednisone on various nerves, Indonesia. **Lepr Rev.** v.68; n.3, p. 225-232, 1997.

BISWAS, S & MONDAL, KK. Multidrug therapy in leprosy can prevent relapse-a retrospective study. **Indian J Lepr.** v. 74; n.4, p.313-318, 2002.

BODDINGIUS, J. Ultrastructural and histopathological studies on the blood nerve barrier in leprosy neuropathy. **Acta Neuropathol (Berl).** 64; n.4, p.282-296, 1984.

BOGGILD, AK; KEYSTONE, JS; KAIN, KC. Leprosy: a primer for Canadian physicians. **CMAJ.** v.170; n.1, p.71-78, 2004.

BRAND, PW. Temperature variation and leprosy deformity. **Int J Lepr.** v.27; n.1, p.1-7, 1959.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAUDE, GUIA DE CONTROLE DA HANSENÍASE Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação Nacional de Dermatologia Sanitária. 2ª edição, Brasília, p.156, 1994

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE POLÍTICAS DE SAUDE. DEPARTAMENTO DE GESTÃO DE POLÍTICAS ESTRATÉGICAS. ÁREA TÉCNICA DE DERMATOLOGIA SANITÁRIA. Guia para implantar / implementar as atividades de controle da hanseníase nos planos estaduais e municipais de saúde. 1999, Brasília.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. ÁREA TÉCNICA DE DERMATOLOGIA SANITÁRIA. Disponível em <<http://dtr2001.saude.gov.br/svs.epi/hanseníase>>. Acessado em 28 de julho de 2005.

BRITTON, WJ & LOCKWOOD, DNJ. Leprosy. **Lancet.** v. 363; n.9416, p.1209-1219, 2004.

BROSMAN, CF; LYMAN, WD; TANSEY, FA et al. Quantitation of mast cells in experimental allergic neuritis. **J Neuropatol Exp Neurol.** v.44; n.2, p.196-203, 1985.

BRYCESON, A & PFALTZGRAFF, RE. Leprosy. In: **Medicine in the Tropic_Series**. Third Edition. Churchill Livingstone Inc., New York, 240 pp, 1990.

BURNET, FM. The probable relationship of some or all mast cells to the T-cell system. **Cell Immunol**. v.30; n.2, p.358-360, 1977.

CAIRNS, JA & WALLS, A. Mast cell tryptase stimulates the synthesis of type I collagen in human lung fibroblasts. **J Clin Invest**. v.9; n.6, p.1313-1321, 1997.

CAPRARA, A. Cultural interpretations of contagion. **Trop Med Int Health**, v.3; n.12, p.996-1001, 1998.

CARTEL, JL; BOUTIN, JP; SPIEGEL, A et al. Longitudinal study on relapses of leprosy in Polynesian multibacillary patients on dapsone monotherapy between 1946 and 1970. **Lepr Rev**. v. 62; n.2, p.186-192, 1991.

CHANDI, SM & CHACKO, CJ. An ultrastructural study on the response of traumatized rabbit tibial nerve to epineurial infection with Mycobacterium leprae. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.54; n.1, p.79-83, 1986.

CHAUHAN, SL; GIRDHAR, A; MISHRA, B et al. Calcification of peripheral nerves in leprosy. **Acta Leprol**. v.10; n.1, p.51-56, 1996.

CHEN, XS; LI, WZ; JIANG, C et al. Studies on risk of leprosy relapses in China: relapses after treatment with multidrug therapy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.67; n.4, p.379-387, 1999.

CHIMELLI, L; FREITAS, M; NASCIMENTO, O. Value of nerve biopsy in the diagnosis and follow-up of leprosy: the role of vascular lesions and usefulness of nerve studies in the detection of persistent bacilli. **J Neurol**. v.244; n.5, p.318-323, 1997.

COLE, ST; EIGLMEIER K; PARKHILL, J et al. Massive gene decay in the leprosy bacillus. **Nature**. v.409; n.6823, p.1007-1011, 2001.

COLUMBO, M; BOCHNER, B; MARONE, G. Human mast cells adhere to extracellular matrix through their selective expression of $\beta 1$ integrins. **Int Arch Allergy Immunol**. v.107; p.336-337, 1995.

CROFT, RP. Neuropathic pain in leprosy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. 72; n.2, p.171-172, 2004.

CZARNETZKI, BM; STERRY, W; BAZIN, H et al. Evidence that tissue mast cells derive from mononuclear phagocytes. **Int Arch Allergy Apply Immunol**. v.67; n.1, p.44-48, 1982.

D`ACRI, AM. Quantificação estereológica dos mastócitos no tumor glômico. **Tese** (Tese de Doutorado em Dermatologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro), 134p. 2002.

DASTUR, DK. Cutaneous nerves in leprosy: the relationship between histopathology and cutaneous sensibility. **Brain**. 78; n.4, p. 615-633, 1955.

DASTUR, DK; ANTIA, NH; DIVEKAR, SC. The facial nerve in leprosy. II: Pathology, pathogenesis, electromyography and clinical correlation. **Int J Lepr Other mycobact. Dis**. v.34; n.2, p.118-138, 1966.

DASTUR, DK, PANDYIA, SS; ANTIA, NH. Nerves in the arm in leprosy. II: Pathology, pathogenesis and clinical correlations. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. 38;n.1, p.30-48, 1970.

DASTUR , DK & RAZZAK, ZA. Degeneration and regeneration in teased nerve fibres. **Acta Neuropathol**.(Berl). 18; n.4, p.286-298, 1971.

DASTUR, DK; RAMAMOHAN, Y; SHAH, JS. Ultrastructure of lepromatous nerves. Neural pathogenesis in leprosy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.41; n.1, p.47-80, 1973.

DASTUR, DK & PORWAL, GL. Lepromatous leprosy as a model of schwann cell pathology and lysosomal activity. **Clin Exp Neurol**. V.16; p.277-293, 1979.

DASTUR, DK; MANGHANI, DK; ELAVIA, JF. Therapeutic implications of morphological study of nerves from treated or untreated tuberculoid or lepromatous leprosy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.59; n.1, p.122-124, 1991.

DAVISON, AR; KOOIJ, R; WAINWRIGHT, J. Classification of leprosy. 1. Application of the Madrid classification of various forms of leprosy. **Int J Lepr**. v.28; p.113-125, 1960.

DESIKAN, P & DESIKAN, KV. Persistence of lepromatous granuloma in clinically cured cases of leprosy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.63; n.3,p.417-421, 1995.

DINES, KC & POWELL, HC. Mast Cells Interactions with the Nervous System: Relationship to Mechanisms of Disease. **J Neuropathol Exp Neurol**. v.56; n.6, p.627-640, 1997.

DONGRE, VV; GANAPATI R; CHULAWALA RG. A study of mono-neuritic lesions in a leprosy clinic. **Lepr India**. V.48; n.2, p.132-137, 1976.

DYCK, PJ & TOFGREN, EP. Nerve biopsy: Choice of nerve, method, symptoms and usefulness. **Med Clin North Am**. v.52; n.4, p.885-893, 1968.

FAJARDO, I & PEJLER, G. Human mast cell β -tryptase is a gelatinase. **J Immunol**. v.171; p.1493-1499, 2003.

FERNANDEZ, JMM. The Pan-American classification of the forms of leprosy. **Int J Lepr**. v.21; n.2, p.133-149, 1953.

FITE, GL. The pathology and pathogenesis of leprosy. **Am NY Acad Sci**. v.54; n.1, p.28-33, 1951.

FORSYTHE, P & ENNIS, M. Clinical consequences of mast cell heterogeneity. **Inflamm Res**. v.49; n.4, p.147-154, 2000.

FREEDMAN, VH.; WEINSTEIN DE; KAPLAN, G. How Mycobacterium leprae infects peripheral nerves. **Lepr Rev**. v.70; n.2, p.136-139, 1999.

FREITAS, MRG; NASCIMENTO, OJM; DRAGO, MJ et al. Paralisia do nervo ulnar na lepra sem alterações cutâneas. Biopsia do ramo superficial do nervo ulnar na mão. **Arq. Neuropsiquiatr**. v.56 (3-B), p.585-594, 1998.

FRIEDMAN, P; WEDDELL, G; PALMER, E et al. Schwann cell changes in leprosy. **J Anat**. v.104; n.1, p.186, 1969.

GALLI, SJ. New concepts about the mast cell. **New Engl J Med**. v.328; n.4, p.257-265, 1993.

GAMBLE, HJ & GOLDBY, S. Mast cells in peripheral nerve trunks. **Nature**. v.4; n.189; p.766-767, 1961.

GARBINO, JA; URA, S; BELONE, AF et al. Aspectos clínicos e diagnósticos da hanseníase primariamente neural. **Hansen Int**. v.29; n.2, p.124-129, 2004.

GARBUZENKO, E; NAGLER, A; PICKHOLTZ, D et al. Human mast cells stimulate fibroblast proliferation, collagen synthesis and lattice contraction: a direct role for mast cells in skin fibrosis. **Clin Exp Allergy**. v.32; n.2, p.237-246, 2002.

GIBBELS, E.; HENKE, U; KLINGMULLER, G et al. Myelinated and unmyelinated fibers in sural nerve biopsy of a case with lepromatous leprosy - a quantitative approach. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.55; n.2, p.333-337, 1987.

GIRDHAR, BK. Neuritic leprosy. **Indian J Lepr**. v.68; n.1, p.35-42, 1996.

GREENBERG, G & BURNSTOCK, G. Novel cell-to-cell interaction between mast cells and other cell types. **Exp Cell Res**. v.147; n.1, p.1-13, 1983.

GRIFFIN, JW & HOFFMAN, DN. Degeneration and regeneration in the peripheral nervous system. In: **Peripheral neuropathy**. 3rd ed. Dyck pj, Thomas PK, Low Pa, Poduslo JF (Eds). W.B. Saunders, Phyladelphia, pp.361-376, 1993.

GRIMAUD, J & VALLAT, JM. Manifestations neurologiques de la lèpre. **Rev Neurol**. v.159; n.11, p.979-995, 2003.

GUESDON, JL; TERNINCK, T; AVRAMEAS, S. The use of avidin-biotin interaction in immunoenzymatic techniques. **J Histochem Cytochem**. v.27; n.8, p.1131-1139, 1979.

GUNDERSEN, HJ. Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary profiles: the edge effect. **J Microsc**. v.111; p.219-227, 1977.

GUPTA, UD & KATOCH, VM. Understanding the phenomenon of persistence in mycobacterial infections. **Indian J Lepr**. v.69; n.4, p.385-393, 1997.

GUPTE, MD. Dapsone treatment and deformities - a retrospective study. **Lepr India**. v.51; n.2, p.218-235. 1979.

HAANPAA, M; LOCKWOOD, DN; HIETAHARJU, A. neuropathic pain in leprosy. **Lepr Rev**. v.75; n.1, p.7-18, 2004.

HANDA, S & DOGRA, S. Hot topics in leprosy. **Lepr Rev**. v.74; n.1, p.87-88, 2003.

HABIB, AA. The neuropathology of leprosy. **Arch Neurol**. v.59; n.1, p.138-140, 2002.

HAIMANOT, RT; MSHANA, RN; McDOUGALLA, C et al. Sural nerve biopsy in leprosy patients after varying periods of treatment: histopathological and bacteriological findings on light microscopy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.52; n.2, p.163-170, 1984.

HAIMANOT, RT & MELAKU, Z. Leprosy. **Curr Opin Neurol**. v.13; n.3, p.317-322, 2000.

HATANAKA, K; KITAMURA, Y; NISHIMUNE, Y. Local development of mast cells from bone marrow – derived precursors in the skin of mice. **Blood**. v.53; n.1, p.142-147, 1979.

HAUW, JJ; GHERARDI, R; ESCOUROLLE, R. La biopsie nerveuse - Apports et limites des techniques modernes d'examen. **Ann Pathol**. v.2; n.1, p.3-20, 1982.

HIETAHARJU, A; CROFT, R; ALAM, R et al. The existence of chronic neuropathic pain in leprosy. **Lancet**. v.356; n.9235, p.1080-1081, 2000.

HOGAN, AD & SCHWARTZ, LB. markers of mast cell degranulation. **Methods** v.13; n.1, p.43-52, 1997.

IRANI, AA; SCHECHTER, NM; CRAIG, SS et al. Two types of human mast cells that have distinct neutral protease compositions. **Proc Natl Acad Sci USA**. v. 83; n.12, p.4464-4468, 1986.

JACOB, M & MATHAI, R. Diagnostic efficacy of cutaneous nerve biopsy in primary neuritic leprosy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.56; n.1, p.50-60, 1988.

JACOBS, JM; SHETTY, VP; ANTIA, NH. A morphological study of nerve biopsies from cases of multibacillary leprosy given multidrug therapy. **Acta Neuropathol (Berl)**. v.85; n.5, p.533-541, 1993.

JAKEMAN, P. Risk of relapse in multibacillary leprosy. **Lancet**. v.345; n 7, p.4-5, 1995.

JAMET, P & JI, B. Relapse after long term follow up of multibacillary patients treated by WHO multidrug regimen. Marchoux chemotherapy study group. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.63; n.2, p.195-201, 1995.

JARDIM, MR; CHIMELLI, L; FARIA, S et al. Clinical, electroneuromyographic and morphological studies of pure neural leprosy in a Brazilian referral centre. **Lepr Rev**. 75; n.3, p.242-253, 2004.

JOB, CK & DESIKAN, KV. Pathologic changes and their distribution in peripheral nerves in lepromatous leprosy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.36; n.3, p.257-270, 1968.

JOB, CK. Pathology of peripheral nerve lesions in lepromatous leprosy – a light and electronmicroscopy study. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.39; n.2, p.251-268, 1971.

JOB, CK & VARGHESE, R. Schwann cell changes in lepromatous leprosy: an electronmicroscopic study. **Indian J Med Res.** v.63; n.7, p.897-901, 1975.

JOB, CK; VICTOR, DBI; CHACKO, CJG. Progressive nerve lesion in a disease arrested patient: an electron and microscopic study. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.45; n.3, p.255-260, 1977.

JOB, CK. XIII Leprosy Congress State-Of-The-Art Lectures. Nerve damage in Leprosy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v. 57; n.2, 532-539, 1989.

JOB, CK. Nerve in reversal reaction. **Indian J Lepr.** v.68; n.1, p.43-47, 1996a.

JOB, CK; JAYAKUMAR, J; ASCHHOFF, M et al. Viability of Mycobacterium leprae in skin and peripheral nerves and persistence of nerve destruction in multibacillary patients after 2 years of multidrug therapy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.64; n.1, p.44-50, 1996b.

JOB, CK. Pathology and pathogenesis of leprous neuritis; a preventable and treatable complication. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.69; n.2 (Suppl), S19-29, 2001.

JOHNSON, MC & SALMON, JH. Technic for sural nerve biopsy. **Am J Surg.** v.116; n.1, p.142-143, 1968.

JOHNSON, PC & KLINE, DG. Localized hypertrophic neuropathy: possible focal perineurial barrier defect. **Acta Neuropathol (Berl).** v.77; n.5, p.514-518, 1989.

JOPLING, WH & MORGAN-HUGHES JA. Pure neural tuberculoid leprosy. **Br Med J.** v.2; n.5465, p.799-800, 1965.

JUNQUEIRA, LCU; MONTES, GS; ALMEIDA-NETO, E et al. The collagen of permanently damaged nerves in human leprosy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.48; n.3, 291-297, 1980.

KALISCH, PA. An Overview of research on the History of Leprosy. Part 1. From Celsus to Simpson, Circa. 1 A.D. Part 2. From Virchow to Moller-Christensen, 1845-1973. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.43; n.2, p.129-144, 1975.

KAPLAN, DL. Biblical leprosy: An anachronism whose time has come. **J Am Acad Dermatol.** v.28; n.3, p.507-510, 1993.

KAR, BR; BELLIAPA, PR; EBENEZER, G et al. Single lesion borderline lepromatous leprosy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.72; n.1, p.45-47, 2004.

KAUR G; GIRDHAR BK; GIRDHAR A et al. A clinical, immunological and histological study of neuritic leprosy patients. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.59, n.3, p.385-391, 1991.

KITAMURA, Y; MATSUDA, H; HATANAKA, K. Clonal nature of mast cell clusters formed in W/W^v mice after bone marrow transplantation. **Nature.** v. 281; n.5727, p.1541-55, 1979.

KNORR-HELD, S & MEIER, C. Mast cells in Human Polyneuropathies: Their Density and Regional Distribution. **Clin Neuropathol.** v.9; n.3, p.121-124, 1990.

KUMAR, B; KAUR, S; KATARIA, S et al. Concomitant occurrence of leprosy and tuberculosis – a clinical, bacteriological and radiological evaluation. **Lepr India** v.54; n.4, p.671-676, 1982.

KUMAR, GR; RAMANA, PV; VASUNDHARA, N et al. Two unusual nerve abscesses – lepromatous leprosy and pure neural leprosy: case reports. **Lepr Rev.** v.67; n.3, p.217-221, 1996a.

KUMAR, SK; REDDY, BS; RATNAKAR, C. Correlation of skin and nerve histopathology in leprosy. **Lepr Rev.** v.67; n.2, p.119-125, 1996.

KUMAR, P; SAXENA, R; MOHAN, L et al. Peripheral nerve abscess in leprosy: report of twenty cases. **Indian J Lepr.** v.69; n.2, p.143-147, 1997.

KUMAR, B; DOGRA, S; KAUR, I. Epidemiological characteristics of leprosy reactions: 15 years experience from North India. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.72; n.2, p.125-133, 2004.

KUMARASINGHE, SP & KUMARASINGHE, MP. Should large lesions of leprosy be considered as multibacillary for treatment purposes even if the total number of lesions is less than five? **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.72; n.2, p.173-174, 2004.

LEE HN; EMBI CS; VIGELAND KM et al. Concomitant pulmonary tuberculosis and leprosy. **J Acad Dermatol.** v.49; n.4, p.755-757, 2003.

LEVI-SCHAFFER, F & PILIPONSKY, AM. Tryptase, a novel link between allergic inflammation and fibrosis. **Trends Immunol.** v.24; n.4, p.158-161, 2003.

LIETMAN T; PORCO T; BLOWER S. Leprosy and tuberculosis: the epidemiological consequences of cross-immunity. **Am J Pub Health**. v.87; n.12, p.1923-1927, 1997.

LITALIEN, F; HARTER, P; TRINH THI KIM MONG DON et al. Cutaneous determination of Hansen's disease in pure neural leprosy patients under the influence of sulfone treatment. **Bull Soc Pathol Exot Filiales**. v.53; p.943-949, 1960.

LOCKWOOD, D & SCOLLARD D. Report of workshop on nerve damage and reactions. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.66; n.4, p.598-599, 1998.

LOCKWOOD, DNJ. Commentary: Leprosy and poverty. **Int J Epidemiol**. v.33; n.2, p.269-270, 2004.

LOCKWOOD, DN & KUMAR, B. Treatment of leprosy. **BMJ** v.328; n. 7454, p.1447-1448, 2004.

LONG, ER. Macrophages in leprosy. the Schwann cell. **Int J Lepr**. v.33; p.229-30, 1965.

MAEDA, M & NARITA, M. Affinity of M leprae with lewis rat Schwannoma cell line (Lewis TC-98). **Lepr Rev**. v.58; n.1, p.39-51, 1987.

MAHAJAN, PM; JOGAIKAR, DG; MEHTA, JM. A study of pure neuritic leprosy: clinical experience. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.68; n.2, p.137-141, 1996.

MALAVIYA, GN; MISHRA, B; GIRDHAR, BK et al. Calcification of nerves in leprosy – report of three cases. **Indian J Lepr**. v.57; n.3, p.651-655, 1985.

MANDARIM-DE-LACERDA, CA. Stereological tools in biomedical research. **An Acad Bras Ciênc**. v.75; n.4. p.469-486, 2003.

MANGHANI, DK & DASTUR, DK. Peripheral Neuropathology of Leprosy - A Brief Historical Review: 1882-1991. **Indian J Lepr**. v.64; n.1, p.67-80, 1992.

MARSHALL, JS; FORD, GP; BELL, EB. Formalin sensivity and differential staining of mast cells in human dermis. **Br J Dermatol**. v.117; n.1, p.29-36, 1987.

MARTYN, CN & HUGHES, RAC. Epidemiology of peripheral neuropathy. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**. v.62; n.4, p.310-318, 1997.

MAURER, M; THEOHARIDES, T; GRANSTEIN, R et al. What is the physiological function of mast cells? **Exp Dermatol**. v.12; n.6, p.886-910, 2003.

MAWRIN, C; SCHUTZ, G; SCHRODER, JM. Correlation between the number of epineurial and endoneurial blood vessels in diseased human sural nerve. **Acta Neuropathol** (Berl). v.102; n.4, p.364-372, 2001.

McNEIL, HP & GOTIS-GRAHAM, I. Human mast cell subset – distinct functions in inflammation. **Inflamm Res**. v.49; n.1, p.3-7, 2000.

MENICUCCI, LA; MIRANDA, A; ANTUNES, SLG et al. Microscopic leprosy skin lesions in primary neuritic leprosy. **J Am Acad Dermatol**. v.52, n.4, p.648-652, 2005.

METCALFE, DD. Interaction of mast cells with extracellular matrix proteins. **Int Arch Allergy Immunol**. v.107; p.60-62, 1995.

METCALFE, DD; BARAM, D; MEKORI, Y. Mast cells. **Physiol Rev**. v.77; n.4, p.1033-1079, 1997.

MIDRONI, G & BILBAO, J. Normal anatomy of peripheral (sural) nerve. In: **Biopsy diagnosis of peripheral neuropathy**. Boston, Butterworth-Heinemann, p.13-33, 1995.

MILLER, JS & SCHWARTZ, LB. Human mast cell proteases and mast cell heterogeneity. **Curr Opin Immunol**. v. 1; n.4, p.637-642, 1989.

MISHIRA, B; MUKHERJEE, A; GIRDHAR, A et al. Neuritic leprosy: Further progression and significance. **Acta Leprol**. v.9; n.4, p.187-194, 1995.

MONTEL, M.L. Pure dermatologically asymptomatic neural leprosy; minimal leprosy; neural lesions preceding cutaneous symptoms. **Bull Soc Pathol Exot Filiales**. v.45; n.6, p.749-757, 1952.

MOTA, I. The Mast Cell Revisited. **Braz J Med Biol Res**. v.28; n.8, p.895-901, 1995.

NAAFS, B. Current views on reactions in leprosy. **Indian J Lepr**. v.72; n.1, p.97-122, 2000a.

NAAFS, B. Viewpoint: Leprosy after the year 2000. **Trop Med Int Health**. v.5; n.6, p.400-403, 2000b.

NAAFS, B; PEARSON, JMH; WHEATE, HW. Reversal reaction: the prevention of permanent nerve damage. Comparison of short and long-term steroid treatment. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v. 47; n.1, p.7-12, 1979.

NATIONS, SP; KATZ, JS; LYDE, CB; BAROHN, RJ. Leprous neuropathy: an american perspective. **Semin Neurol.** v.18; n.1, p.113-124, 1998.

NESBITT, JA & ACLAND, RD. Histopathological changes following removal of the perineurium. **J Neurosurg.** v.52; n.2, p.233-238, 1980.

NIGAN, P; DAYAL, SG; SRIVASTAVA, P et al. Diabetic status in leprosy. **Hansenol Int.** v.4; n.1, p.7-14, 1979.

NILSEN, R; MENGISTU, G; REDDY, BB. The role of nerve biopsies in the diagnosis and management of leprosy. **Lepr Rev.** v.60; n.1, p.28-32, 1989.

NISHIURA, M; HARADA, N; IMAEDA, T. Eletronmicroscopy of ultrathin sections of lepromatous peripheral nerves. **Int J Lepr.** v.25; n.(4, Part 1), p.323-328, 1957.

NOORDEEN, SK & SRINIVASAN, H. Epidemiology of of disability in leprosy: I. A general study of disability among male leprosy patients above 15 years of age. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.34; n.2, p.159-169, 1966.

NORMAN, G; JOSEPH G; RICHARD J. Relapses in multibacillary patients treated with multi-drug therapy until smear negativity: findings after twenty years. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** 72 (1); p.1-7, 2004.

NORRBY, K. Mast cells and angiogenesis. **APMIS.** v.110; n.5, p.355-71, 2002.

OLSSON, Y. Degranulation of Mast Cells in Peripheral Nerve Injuries. **Acta Neurol. Scand.** v.43; n.3, p.365-374, 1967.

OLSSON, Y. mast cells in the nervous system. **Int Rev Cytol.** v.24; p.27-70, 1968.

OLSSON, Y & SJOSTRAND. Proliferation of mast cells in peripheral nerves during wallerian degeneration. A radioautographic study. **Acta Neuropathol.** v.13; n.1, p.111-121, 1969.

OLSSON, Y. Mast Cells in Human Peripheral Nerve. **Acta Neurol Scandinav.** v.47; n.3, p.357-368, 1971.

OLSSON, Y. Microenvironment of the peripheral nervous system under normal and pathological conditions. **Crit Rev Neurobiol.** v.5; n.3, p.265-311, 1990.

PANNIKAR, VK; ARUNTHATHI, S; CHACKO, CJ et al. Clinico-pathological study of primary neuritic leprosy. **Lepr India**. v.55; n.2, p.212-221, 1983.

PEARSON, JMH & ROSS, WF. Nerve involvement in Leprosy – Pathology, differential diagnosis and principles of management. **Lepr Rev**. v.46; n.3, p.199-212, 1975a.

PEARSON, JMH & WEDDELL, AGM. Perineurial changes in untreated leprosy. **Lepr Rev**. 46, 51-67, 1975b.

PEDLEY, JC; HARMAN, DJ; WAUDBY, H et al. Leprosy in peripheral nerves: histopathological findings in 119 untreated patients in Nepal. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**. v.43; n.3, p.198-204, 1980.

PEREIRA, JH; PALANDE, DD; GSCHMEISSNER SE. Mycobacteria in nerve trunks of long-term treated leprosy patients. **Lepr Rev**. v.62; n.2, 134-142, 1991.

PIMENTEL, MIF; ANDRADE, M; PAIVA E VALE, C et al. Descentralização do diagnóstico e tratamento da hanseníase no Estado do Rio de Janeiro: avanços e problemas. **Hansen Int**. v.29; n.2, p.87-93, 2004.

PONNIGHAUS, IM; BOERRINGER, G; FINE, PE et al. Disabilities in leprosy patients ascertained in a total population survey in Karonga district, Northern Malawi. **Lepr Rev**. v.61; n.4, p.366-374, 1990.

POPOVIC, M; BRESJANAC, M; SKETELJ, J. Regenerating axons enhance differentiation of perineurial-like cells involved in minifascicle formation in the injured peripheral nerve. **J Neuropathol Exp Neurol**. v.53; n.6, p.590-597, 1994.

PORICHHA, D; MUKHERJEE, A; RAMU, G. Neural pathology in leprosy during treatment and surveillance. **Lepr Rev**. v.75; n.3, p.233-241, 2004.

RAMBUKKANA, A; SALZER, JL; YURCHENCO, PD et al. Neural targeting of Mycobacterium leprae mediated by the G domain of the laminin- α 2 chain. **Cell**. v.88; n.6, p.811-821, 1997.

RAMBUKKANA, A; YAMADA, H; ZANAZZI, G et al. A. The role of dystroglycan as a Schwann cell receptor for Mycobacterium leprae. **Science**. v.282; n.5396, p.2076-2079, 1998.

RAMBUKKANA, A. How does Mycobacterium leprae target the peripheral nervous system? **Trends Microbiol**. v.8; n.1, p.23-28, 2000.

RAMU, G. Clinical features and diagnosis of relapses in leprosy. **Indian J Lepr.** v.67; n.1, p.86-90, 2004.

RAPOSO. MAF. Hanseníase indeterminada: Investigação de nervos dérmicos empregando cortes semifinos e histomorfometria. **Dissertação.** (Dissertação de mestrado em Anatomia Patológica, Universidade Federal do Rio de Janeiro), 2005.

REA, TH. Reversal reaction occurring 16 years after beginning antibacterial treatment. **Lepr Rev.** v.75; n.1, p.86-90, 2004.

REES, RJ; WATERS, MFR; WEDDEL, AGM et al. Experimental lepromatous leprosy. **Nature.** v.215; n.101, p.599-602, 1967.

REES, RJ & MEADE, TW. Comparison of the modes of spread and the incidence of tuberculosis and leprosy. **Lancet.** v. 1; n.7846, p. 47-48, 1974.

RIDLEY, DS & JOPLING, WH. Classification of Leprosy according to immunity. A five-group system. **Int J Lepr.** v.34; n.3, p.255-272, 1966.

RIDLEY, DS & RADIA, KB. The histological course of reactions in borderline leprosy and their outcome. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.49; n.4, p.383-392, 1981.

RIDLEY, DS. **La biopsia del piel in la lepra.** CIBA-GEIGY. SA, 2ª ed., 63 p, 1987.

RILEY, JF. Histamine in tissue mast cells. **Science.** v.118; n.3064, p.332-341, 1953.

ROY, CHOUDHURY, SB & SRINIVASAN, H. Nerve abscess in lepromatous leprosy. **Lepr India.** v.49; n.3, p.330-338, 1977.

RUBINCHICK, E & LEVI-SCHAFFER, F. Mast cells and fibroblasts: two interacting cells. **Int J Clin Lab Res.** v.24; n.3, p.139-142, 1994.

RUOSS, SJ; HARTMANN, T; CAUGHEY, GH; Mast cell tryptase is a mitogenic for cultured fibroblasts. **J Clin Invest.** v.88; n.2, p.493-499, 1991.

SALAFIA, A & CHAUHAN, G. Nerve abscess in children and adults leprosy patients: Analysis of 145 cases and review of the literature. **Acta Leprol.** v.10; n.1, p.45-50, 1996.

SAUNDERSON, P; GEBRE, S; BYASS, P. Reversal reactions in the skin lesions of AMFES patients: incidence and risk factors. **Lepr Rev.** v.71; n.3, p.309-317, 2000.

SAVIN, JA. Bacterial infections in diabetes mellitus. **Br J Dermatol.** v.91; n.4, p.481-484, 1974.

SAXENA, U; RAMESH, V; MISRA, R et al., Persistent reaction in paucibacillary leprosy. case report. **Lepr Rev.** n.62; p.206-211, 1991.

SCHÜTZ, G & SCHRÖDER, M. Number and size of epineurial blood vessels in normal and diseased human suarl nerve. **Cell Tissue Res.** v.290; n.1, p.31-37, 1997.

SCOLLARD, DM; MCCORMICK, G; ALLEN, JL. Localization of *Mycobacterium leprae* to Endothelial Cells of Epineurial and Perineurial Blood Vessels and Lymphatics. **Am J Pathol.** v.154; n.5, p.1611-1620, 1999.

SCOLLARD, DM. Endothelial cells and the pathogenesis of lepromatous neuritis: insights from the armadillo model. **Microbes Infect.** v.2; n.15, p.1835-1843, 2000.

SCOLLARD, DM. Classification of leprosy: a full color spectrum, or black and white? **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.72; n.2, p.167-168, 2004.

SEGASOTHY, M; MUHAYA, HM; MUSA, A et al., Analgesic use by leprosy patients. **Int J Lepr other Mycobact Dis.** v.54; n.3, p.399-402, 1986.

SELVASEKAR, A; VIJAYAKUMARAN, P ; JESUDASAN, K. Ulnar nerve abscess in a multibacillary patient during post-multidrug therapy surveillance. **Lepr Rev.** n.68; p.333-335, 1997.

SEYER, JM; KANG, AH; WHITAKER, JN. The characterization of type I and type III collagens from human peripheral nerve. **Biochim Biophys Acta.** v.492; n.2, p.415-425, 1977.

SHANTHAVEERAPPA, TR & BOURNE, GH. Perineurial epithelium: a new concept of its role in the integrity of the peripheral nervous system. **Science.** V.154; n.755, p.1464-1467, 1966.

SHAW, IN; CHRISTIAN, M; JESUDASAN, K et al. Effectiveness of multidrug therapy in multibacillary leprosy: a long term follow-up of 34 multibacillary patients treated with multidrug regimens till smear negativity. **Lepr Rev.** v.74; n.2, p.141-147, 2003.

SHETTY, V; MEHTA, L; ANTIA, NH et al. A teased fiber study of early nerve lesions in leprosy and in contacts of leprosy with electrophysiological correlates. **J Neurol Neurosurg Psychiatry.** v.40; n.7, p. 708-711, 1977.

SHETTY, V; MEHTA, L.; IRANI, PF et al. Study of the evolution of nerve damage in leprosy. Part I – Lesions of the index branch of the radial cutaneous nerve in early leprosy. **Lepr India**. v.52; n.1, p.5-18, 1980.

SHETTY, V & ANTIA, NH. Multiple axonal myelination in the experimental mouse leprosy model. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.52; n.2, p.249-252, 1984.

SHETTY, VP; ANTIA, NH; JACOBS, JM. The pathology of early leprosy neuropathy. **J Neurol Sci**. 88; n.1-3, p.115-131, 1988.

SHETTY, V & ANTIA, NH. Nerve damage in leprosy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.56; n.4, p.619-621, 1989.

SHETTY, VP; SUCHITRA, K; UPLEKAR, MW et al. Persistence of *Mycobacterium leprae* in the peripheral nerve as compared to the skin of multidrug-treated patients. **Lepr Rev**. v.63; n.4, p.329-336, 1992.

SHETTY, VP; UPLEKAR, MW; ANTIA, NH. Immunohistological localization of mycobacterium antigens within the peripheral nerves treated leprosy patients and their significance to nerve damage in leprosy. **Acta Neuropathol (Berl)**. v.88; n.4, p.300-306, 1994.

SHETTY, VP; SUCHITRA, K; UPLEKAR, MW et al. Higher incidence of viable *Mycobacterium leprae* within the nerve as compared to skin among multibacillary leprosy patients released from multidrug therapy. **Lepr Rev**. v.68; n.2, p.131-138, 1997.

SHETTY, VP; MYSTRY, N. F; ANTIA, NH. Current understanding of leprosy as a peripheral nerve disorder: significance of involvement of peripheral nerve in leprosy. **Indian J Lepr**. v.72; n.3, p.339-350, 2000.

SIDDALINGASWAMY, MK & RAO, RS. Nerve abscess in leprosy: a retrospective study. **Lepr Rev**. v.64; n.4, p.357-61, 1993.

SKACEL, M; ANTUNES, SLG; RODRIGUES, MMJ et al. The diagnosis of leprosy among patients with symptoms of peripheral neuropathy without cutaneous lesions. **Arq Neuropsiquiatr**. v.58; n.3-B, p.800-807, 2000.

SKINSNES, OK. Leprosy and the New English Bible. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**. v.38; n.3, p.310-312, 1970.

SKINSNES, OK. Notes from the history of leprosy. I. Interpretative chronology of leprosy concept and practice. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.41; n.2, p.220-233, 1973.

SMITH, TH. A monument to Lazarus: the leprosy hospital of Rio de Janeiro. **Hist Cienc Saude Manguinhos.** v.10; n.1 (suppl), p.143-160, 2003.

SOUZA ARAUJO, HC. História da Lepra no Brasil: Período Colonial e Monárquico (500-1889). **Imprensa Nacional.** v.1, 1946.

SOUZA ARAUJO, HC. História da Lepra no Brasil: Período Republicano (890-1952). **Imprensa Nacional.** v. 2, 1956.

SRINIVASAN, H & NOORDEEN, SK. Epidemiology of disability in leprosy. 1- A general study of disability among male leprosy patients above fifteen years of age. **Int J Lepr.** v.34; n.2, p.159-169, 1966a.

SRINIVASAN, H & NOORDEEN, SK. Epidemiology of disability in leprosy. 2-Factors associated with low disability. **Int J Lepr.** v.34; n.2, p.170-174, 1966b.

SRINIVASAN, H; RAO, KS; IYER, CGS. Discrepancy in histopathological features of leprosy lesions in the skin and peripheral nerve. **Lepr India.** v.54; n.2, p. 275-282, 1982a.

SRINIVASAN, H; RAO, KS; SHANMUGAM, N. Steroid therapy in recent "Quiet nerve paralysis". **Lepr India.** v.54; n.3, p.412-419, 1982b.

STROBEL, S; MILLER, HR; FERGUSON, A. Human intestinal mucosal mast cells: evaluation of fixation and staining techniques. **J Clin Pathol.** v.34; n.8, p.851-858, 1981.

STUMP, PRN; BACCARELLI, R; MARCIANO, LH et al., Neuropathic pain in leprosy patients. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.72: n.2, p.134-138, 2004.

SUNEETHA, S; ARUNTHATHI, S; JOB, A et al. Histological studies in primary neuritic leprosy: changes in the nasal mucosa. **Lepr Rev.** v.69; n.4, p.358-366, 1998.

SUNEETHA, S; ARUNTHAI, S; CHANDI, S et al. Histological studies in primary neuritic leprosy: changes in the apparently normal skin. **Lepr Rev.** v.69; n.4, p.351-357, 1998a.

SUNEETHA S; ARUNTHATHI S; KURIAN N et al. Aspectos histológicos de los nervios, de la piel y de la mucosa nasal durante la lepra neurológica pura. **Acta Leprol.** v 12; n.1, 11-18, 2000-2001.

SUNEETHA, S; SIGAMONI, A; KURIAN, N et al. The development of cutaneous lesions during follow-up of patients with primary neuritic leprosy. **Int J Dermatol.** v.44; n.3, p.224-229, 2005.

TALWAR, S; JHA, PK; TIWARI, VD. Neuritic leprosy: epidemiology and therapeutic responsiveness. **Lepr Rev.** v.63; n.3, p.263-268, 1992.

THARP, MD. The interaction between mast cells and endothelial cells. **J Invest Dermatol.**v. 93; n.2 (suppl), p.107S-112S, 1989.

TURK, JL; CURTIS, J.; DE BLAQUIERE, G. Immunopathology of nerve involvement in leprosy. **Indian J Lepr.** v.63; n.3-4, p.483-491, 1991.

TURKEL, SB; VAN HALE HM; REA, TH. Ultrastructure of the dermal microvasculature in leprosy. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.50; n.2, p.164-171, 1982.

UPLEKAR, MW & ANTIA, NH. Clinical and histopathological observations on pure neuritic leprosy. **Indian J Lepr.** v.58; n.4, p.513-521, 1986.

VALLAT, JM; LEBOUTET, MJ; HENRY, P et al. Endoneurial proliferation of perineurial cells in leprosy. **Acta Neuropathol (Berl).**v.81; n.3, p.336-338, 1991.

VAN BRAKEL, WH & KHAWAS, IB. Silent neuropathy in leprosy: an epidemiological description. **Lepr Rev.** v.65; n.4, p.350-360, 1994.

VAN BRAKEL, WH & ANDERSON AM. Impairment and disability in leprosy: in search of the missing link. **Ind J Lepr.** v.69; n.4, p. 361-376, 1997.

VAN BRAKEL, WH. Measuring leprosy stigma—a preliminary review of the leprosy literature. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.** v.71; n.3,p.190-197, 2003.

WADE, HW. The classification of leprosy: a proposed synthesis based primarily on the Rio de Janeiro-Havana System. **Int J Lepr.** v.20; n.(4:1), p.429-462, 1952.

WALLS, AF; BENNETT, AR; McBRIDE, HM et al. Production and characterization of monoclonal antibodies specific for human mast cell tryptase. **Clin Exp Allergy.** v.20; n.5, p.581-589, 1990a.

WALLS, AF; JONES, DB; WILLIAMS, JH. Immunohistochemical identification of mast cells in formaldehyde-fixed tissue using monoclonal antibodies specific for tryptase. **J Pathol.** v.162; n.2, p.119-126, 1990b.

WEDDELL, G; PALMER, E. The pathogenesis of leprosy. An experimental approach. **Lepr Rev.** v.34; p.57-61, 1963.

WEIBEL, ER. **Stereological Methods. Practical methods for biological morphometry.** Vol 1. London, Academic \press, 1979.

WELLE, M. Development, significance and heterogeneity of mast cells with particular regard to the mast cell-specific Proteases chymase and tryptase. **J Leuk Biol.** v.61; n.3, p.233-245, 1997.

WHO Study group: Chemotherapy of Leprosy for control programmes. WHO Technical Report Series 675, World Health Organization, Geneva, 1982.

WHO Leprosy Unit. Relapse following fixed duration treatment for multibacillary leprosy. WHO weekly epidemiol Rec. 69: p.301-302, 1994.

WHO EXPERT COMMITTEE ON LEPROSY, Seventh Report. Technical Report Series (number 874), Geneve, p.43, 1998.

WHO. REPORT ON THE SIXTH MEETING OF THE WHO TECHNICAL ADVISORY GROUP ON THE ELIMINATION OF LEPROSY, 2004. Disponível em < <http://www.WHO.int.lep> >. Acessado em 27/6/2005.

WHO, THE FINAL PUSH TOWARDS ELIMINATION OF LEPROSY: STRATEGIC PLAN, 2000-2005 Geneve, 2000a.

WHO, Weekly Epidemiological Record. n.28, 14 july 2000b.

WHO, Weekly Epidemiological Record n.76: p.173-180, 2001.

YONG, LCJ. The mast cell: origin, morphology, distribution and function. **Exp Toxicol Pathol.** v.49; n.6, p.409-424, 1997.

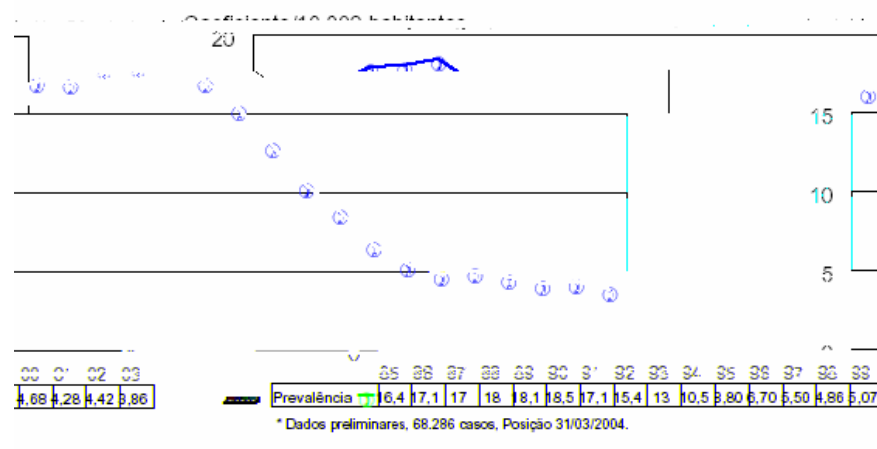
YOUNG, D. Leprosy and the genome – not yet a burnt -out case. **Lancet**. v.357; n.9269, p.1639-640, 2001.

ZAR, JH. **Biostatistical analysis**. Prentice-hall, Inc. Upper Saddle River, NJ, 931p, 1999.

ANEXO I

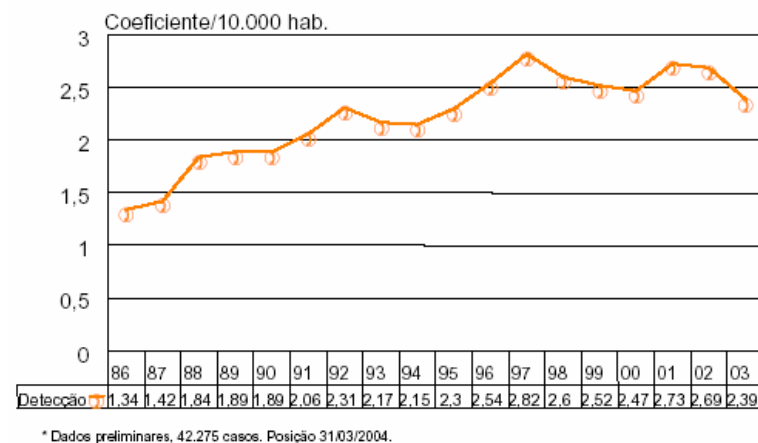
(A)

Situação da prevalência da hanseníase no Brasil no período de 1985 a 2003*



(B)

Hanseníase – taxas anuais de detecção BRASIL, 1986 a 2003*

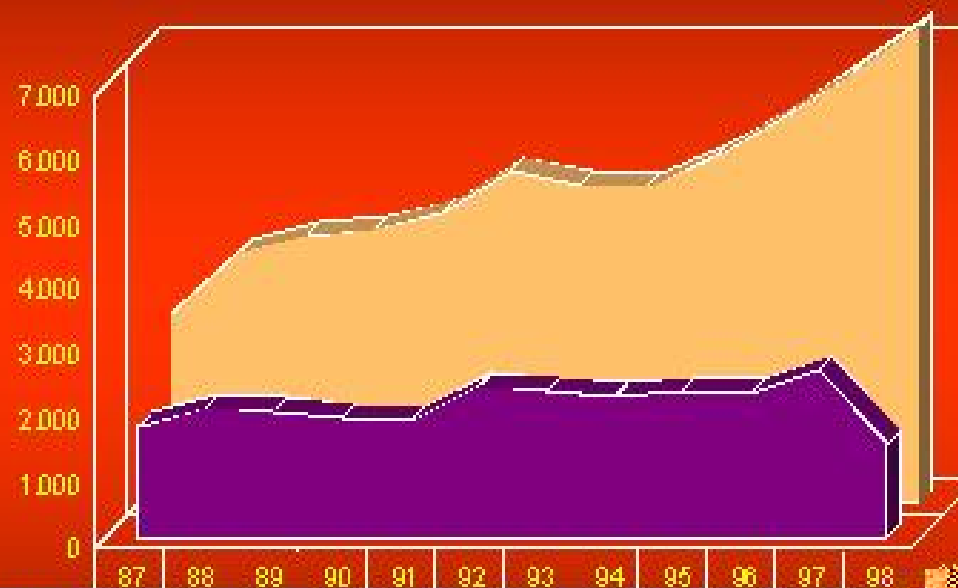


FONTES : ATDS/CGDEN/DEVEP/SVS/MS; SES; IBGE

ANEXO II

IMPACTO NA REDUÇÃO DE INCAPACIDADES FÍSICAS GRAUS II E III NO BRASIL, 1987 - 1998

Nº absoluto de pacientes com graus II e III de incapacidades



	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98
Deformidade encontrada	1.741	2.033	1.976	1.862	1.824	2.203	2.285	2.248	2.603	2.248	2.603	1.447
Deformidade estimada sem intervenção	2.052	2.905	3.175	3.273	3.510	3.463	4.948	4.917	5.388	5.989	6.665	7.391

FONTE: ATOS/DGP/ESP/SMS; SES; IBGE

Deformidade encontrada Deformidade estimada sem intervenção

ANEXO III – DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA DOS CASOS VIRGENS DE TRATAMENTO

CASO	FORMA CLÍNICA	MICROSCOPIA
1	BT	Acentuado aumento da espessura do nervo. Acometimento heterogêneo dos feixes estando alguns preservados na periferia do fragmento ao lado de outros totalmente destruídos por necrose caseosa circundada por denso anel fibrótico com fusão do epineuro e do perineuro. Nas margens da área necrótica presença de infiltrado inflamatório crônico granulomatoso rico em linfócitos, células epitelióides e ocasionais células gigantes. Pesquisa de bacilos álcool ácido resistentes (BAAR) foi negativa. Nos cortes semifinos perda quase total de fibras.
9	BL	Fibrose epineural e perineural com multilaminação do perineuro. Feixes agigantados às custas de edema e reação inflamatória granulomatosa endoneural composta por linfócitos, plasmócitos e numerosas células epitelióides sem células gigantes ou necrose. O infiltrado linfocitário estende-se aos demais compartimentos do nervo formando densos agregados. Presença de BAAR íntegros e granulares isolados ou formando globias. Nos cortes semifinos, perda total de fibras. Quadro histopatológico é compatível com reação neural.
10	BL/NP	Feixes agigantados, porém preservando a arquitetura fascicular, às custas de edema e infiltrado inflamatório crônico rico em linfócitos, nos três compartimentos do nervo. No endoneuro, granulomas epitelióides sem necrose ou células gigantes. Presença de BAAR íntegros e granulares ora isolados ora formando globias. Nos cortes semifinos perda quase total de fibras e as remanescentes exibem sinais de remielinização. Quadro histopatológico com características de reação neural.
12	LL/NP	Fibrose epineural e perineural moderadas com vasos neoformados no epineuro. Resposta inflamatória escassa representada por ocasionais focos linfo plasmocitários peri vasculares endoneurais. Grande quantidade de bacilos íntegros formando numerosas globias. Nos cortes semifinos, densidade de fibras levemente diminuída em alguns feixes, com sinais de degeneração e atrofia axonal e de remielinização.
14	BL	Fibrose moderada epi e perineural. Perineuro multilaminado e difusamente permeado por células inflamatórias mononucleares circundando os feixes. Edema endoneural associado a denso infiltrado inflamatório linfo plasmocitário nos três compartimentos do nervo. No endoneuro raros histiócitos epitelióides. Nos cortes corados pelo Wade, grande quantidade de bacilos íntegros e granulares formando diversas globias predominantes no endoneuro, mas também presentes no perineuro e epineuro. Nos cortes semifinos, perda quase total de fibras.

CONTINUAÇÃO DO ANEXO III

CASO	FORMA CLÍNICA	MICROSCOPIA
16	BL	Fibrose acentuada global com perda total de fibras. Perineuro multilaminado permeado por células inflamatórias mononucleares. Feixes agigantados às custas de edema associado a moderado infiltrado inflamatório linfoplasmocitário endoneural que se estende aos demais compartimentos do nervo, ora formando densos agrupados perivasculares ora difusamente distribuídos. Neoformação vascular epineural e endoneural. Numerosos bacilos íntegros e granulares formando globias nos três compartimentos do nervo.
18	?/NP	Discreta fibrose epineural. Não observamos alterações histológicas significativas no exame pela hematoxilina-eosina. Em cortes sucessivos e seriados corados pelo Wade, presença de raros bacilos endoneurais. Nos cortes semifinos perda leve de fibras de grande e de pequeno calibre acometendo heterogeneamente os feixes.
19	BT/NP	Fibrose epineural moderada acompanhada de neoformação vascular epineural. Perineuro focalmente multilaminado.

ANEXO IV – ASPECTOS MORFOLÓGICOS DOS CASOS TRATADOS

CASO	FORMA CLÍNICA	MICROSCOPIA
2	LL	Acentuada fibrose nos três compartimentos do nervo com fusão do epi e do perineuro associada a neoformação vascular epineural e endoneural. Em alguns feixes o epineuro penetra no endoneuro formando micro compartimentos. No perineuro e endoneuro, raros vacúolos contendo restos bacilares fracamente corados por vezes associados a infiltrado linfo plasmocitário residual focal. Nos cortes semifinos, perda total de fibras.
3	LL	Densa fibrose nos três compartimentos do nervo associada a neoformação vascular epineural. Endoneuro edemaciado e congesto. Infiltrado inflamatório linfo plasmocitário moderado acumulado em torno de vasos epi e endoneurais. Em cortes corados pelo Wade, não observamos bacilos íntegros mas numerosos vacúolos contendo grande quantidade de restos bacilos fragmentados e fracamente corados em torno de vasos endoneurais e em menor quantidade, no perineuro e epineuro. Nos cortes semifinos, perda acentuada de fibras, com evidências de remielinização, atrofia e regeneração, axonais.
4	L	Acentuada fibrose nos três compartimentos do nervo formando denso manto colágeno, associado a neoformação vascular epineural e endoneural. Perineuro multilaminado. Pequena quantidade de vacúolos contendo restos bacilares fracamente corados. Infiltrado linfocitário residual focal no endoneuro. Nos cortes semifinos, acentuada perda de fibras com sinais de remielinização e regeneração axonal.
5	BL	Acentuada fibrose nos três compartimentos do nervo formando denso mantofibrótico, associado a neoformação vascular epineural e endoneural. Perineuro multilaminado. Pequena quantidade de vacúolos contendo restos bacilares fracamente corados no endoneuro associados a infiltrado linfocitário residual focal. Nos cortes semifinos, acentuada perda de fibras com sinais de remielinização e regeneração axonal.
6	LL	Fibrose acentuada nos três compartimentos do nervo associada a neoformação vascular epineural e endoneural. Perineuro espessado, multilaminado, por vezes permeado por células inflamatórias. Grande quantidade de vacúolos perineurais e endoneurais contendo bacilos granulares e fracamente corados. Não observamos bacilos íntegros. Nos cortes semifinos acentuada perda de fibras com sinais de remielinização e regeneração axonal.

CONTINUAÇÃO DO ANEXO IV

CASO	FORMA CLÍNICA	MICROSCOPIA
7	BL	Fibrose acentuada nos três compartimentos do nervo com neovascularização epineural. Perineuro multilaminado penetra pelo endoneuro formando microfexes. Ocasionais acúmulos linfocitários perivasculares. No endoneuro, ocasionais vacúolos perivasculares alguns contendo raros bacilos granulares e pouco corados pelo Wade. Não observamos bacilos íntegros. Nos cortes semifinos acentuada perda de fibras e as remanescentes exibem sinais de remielinização e regeneração axonal.
8	BL	Fibrose acentuada nos três compartimentos do nervo com ocasional fusão do epi e perineuro além de neofomação vascular epineural. No peri e endoneuro, presença de numerosos vacúolos perivasculares contendo grande quantidade de bacilos granulares e fracamente corados pelo Wade. Não identificamos bacilos íntegros. Ocasionais linfócitos perivasculares endoneurais. Nos cortes semifinos moderada perda de fibras com sinais de remielinização.
11	LL	Fibrose moderada nos três compartimentos do nervo. Feixes agigantados e uniformemente acometidos às custas de edema e de processo inflamatório crônico rico em linfócitos com formação de granulomas com células epitelióides e células gigantes sem necrose. Ocasionais vacúolos endoneurais contendo bacilos granulares e fracamente corados pelo Wade. Não observamos bacilos íntegros. Presença de micro fasciculação endoneural por células perineurais. Nos cortes semifinos perda total de fibras. O conjunto de achados é compatível com reação neural.
13	BL	Fibrose nos três compartimentos do nervo com fusão do epineuro e do perineuro. Endoneuro compartimentalizado em micro feixes. Neofomação vascular epineural. Moderada quantidade de vacúolos subperineurais contendo bacilos fragmentados e fracamente corados pelo Wade. Nos cortes semifinos, acentuada perda de fibras com as raras fibras remanescentes exibindo sinais de remielinização. Obs: A ausência de bacilos íntegros neste caso pode dever-se ao fato da biopsia do nervo ter sido realizada cinco meses após o início do tratamento da recidiva.
15	TT	Destrução quase completa do tecido nervoso às custas de área de necrose caseosa circundada por escassa celularidade inflamatória composta de ocasionais linfócitos e raros histiócitos epitelióides. Em meio ao material necrótico, presença de freqüentes depósitos de cálcio. Tecido fibrótico circunda a área necrótica com fusão do epineuro e do perineuro. Na periferia da lesão, alguns feixes inteiramente preservados. Não observamos bacilos íntegros. Nos cortes semifinos, perda total de fibras.

CONTINUAÇÃO DO ANEXO IV

CASO	FORMA CLÍNICA	DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA
17	BL	Fibrose acentuada nos três compartimentos do nervo com micro compartimentalização endoneural pelo perineuro além de fusão epi e perineural. Neoformação vascular epi e endoneural. Moderada quantidade de vacúolos peri e endoneurais contendo bacilos íntegros e granulares. Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário acumulam-se em torno destes vacúolos. Nos cortes semifinos perda total de fibras.
20	BT	Epineuro, perineuro e endoneuro não exibem alterações significativas. Não foram identificados bacilos pelo Wade. Nos cortes semifinos densidade de fibras diminuída em alguns feixes.
21	LL	Fibrose acentuada nos três compartimentos do nervo com fusão epineural-perineural e neoformação vascular epineural. Diversos vacúolos perivasculares endoneurais contendo restos bacilares facilmente corados, circundados por infiltrado mononuclear residual e focal. Nos cortes semifinos perda acentuada de fibras e as remanescentes exibem sinais de remielinização
2	BL	Fibrose acentuada nos três compartimentos do nervo com neoformação vascular epineural além de infiltrado linfoplasmocitário perivascular. Em coloração pelo Wade, grande quantidade de bacilos granulares no endoneuro. Não foram observados bacilos íntegros. Nos cortes semifinos, perda acentuada de fibras com sinais de regeneração axonal e sinais de remielinização.
23	LL	Fibrose intensa nos três compartimentos do nervo associada a neoformação vascular epineural e endoneural. Perineuro multilaminado e permeado por células inflamatórias, funde-se com epineuro formando denso manto fibroso. Em alguns feixes o epineuro penetra no endoneuro formando micro compartimentos. Moderada quantidade de vacúolos contendo restos bacilares. Nos cortes semifinos, perda total de fibras.

ANEXO IV. TT = tuberculóide; BT= borderline tuberculóide; BL = borderline lepromatosa; LL = lepromatosa; NP = neurítica primária.

ANEXO V



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
Faculdade de Medicina
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

- Coordenador:
 Luiz Carlos Duarte de Miranda
Médico - Prof. Adjunto
Secretário:
 Mário Taracim Antonio
Farmacológico - Especialista
Membros Titulares:
 Alice Helena Dutra Vianna
Médico - Prof. Adjunto
 Antonio de Magalhães
Membro
Enfermagem - Mestre
 Beatriz Mariz Trupe
Médico - Doutoranda
 Beatriz Rocha Miranda
Vetária
Odontólogo - Prof. Substituto
 Fernando Jorge Bastos
Cirurgião
Médico - Prof. Assistente
 Eliza Regina Ambrósio
Assistente Social - Mestre
 Gláucia Russi
Nutricionista - Prof. Adjunto
 Luiz Bonfim Pereira da
Cruz

CEP - MEMO - n.º 649/04

Rio de Janeiro, 25 de outubro de 2004.

Do: Coordenador do CEP

A (o): Sr. (a) Pesquisador (a): Prof.ª Nadia Aparecida de Arantes Montagna

Assunto: Parecer sobre projeto de pesquisa

Sr. (a) Pesquisador (a),

Informo a V. Sa que o CEP constituído nos Termos da Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e, devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre a documentação referente ao Protocolo de Pesquisa e seu respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme abaixo discriminado:

Protocolo de Pesquisa: 157/04 - CEP

Título: "Papel funcional dos mastócitos na neurite hansênica"

Pesquisador (a) responsável: Prof.ª Nadia Aparecida de Arantes Montagna

Data de apreciação do parecer: 21/10/04

Parecer: "APROVADO"

Informo ainda, que V. Sa. deverá apresentar relatório semestral (previsto para 21/04/05), anual e/ou relatório final para este Comitê acompanhar o desenvolvimento do projeto. (item VII. 13.d., da Resolução n.º 196/96 – CNS/MS).

Atenciosamente,

Prof. Luiz Carlos Duarte de Miranda

Coordenador do CEP

- Médico - Especialista
 Maria de Fátima Custódio
Lopes
Representante dos Estudantes:
 Paulo Feijó Barros
Médico - Prof. Adjunto
Médico - Especialista em Saúde
Aluno de Graduação - FM
Membros Suplentes:
 Alberto Krayrom Alves
Médico - Doutorando
 Daniel Navegante Marinho
Farmacológico - Especialista
 Helena Wozniak
Representante dos Servidores:
 Izilda Conceição de
Araújo Marques
Enfermagem - Mestre
 Maria Adelaide Miranda
dos Santos
Nutricionista - Mestre
 Roberto Cury Palosa
Médico - Doutor
 Vanda Dias de Oliveira
Assistente Social
 Wagner Sales Alvares
Odontólogo - Mestre

ANEXO VI

8th European Congress of Neuropathology: Poster sessions

Programme and Abstracts**8th European Congress of Neuropathology
NEUROPATHOLOGY 2005
25-28 June 2005, Amsterdam, The Netherlands**

Organised by the
Dutch Neuropathological Society
and the
European Confederation of Neuropathological Societies

ISBN nr. 90-809752-2-2

(P K-08) Contribution of tryptase-rich mast cells to collagen proliferation in leprous neuropathy

Nadia Montagna¹, Maria Leide Oliveira², Carlos Alberto Mandarin-de-Lacerda³, Leila Chimell⁴

¹Department of Pathology, School of Medicine, State University of Rio de Janeiro, Brazil,

²Division of Dermatology, Federal University of Rio de Janeiro, Brazil,

³Laboratory of Morphometry, Institute of Biology, State University of Rio de Janeiro, Brazil,

⁴Department of Pathology, School of Medicine, Federal University of Rio de Janeiro, Brazil

Leprosy, a disease caused by *Mycobacterium leprae*, is an important health problem worldwide. It is responsible for an irreversible nerve damage in which fibrosis plays an important role. No other neuropathy, but leprosy, is able to produce such an amount of fibrosis. The existence of an interaction between mast cells and collagen has long been observed. It has been proposed that they play a role in different fibrotic conditions. Tryptase is the most abundant protein product of human mast cells and has been shown to be mitogenic for fibroblasts and to increase type I collagen production. The possible relationship between tryptase-rich mast cells and nerve fibrosis in leprosy has not been previously investigated. In order to explore this interaction we studied 24 sural nerve biopsies of patients with leprous neuropathy. Five normal nerve biopsies were used as controls. Tryptase-rich mast cells stained with mouse antihuman mast cell antitryptase clone AA1, as well as the epi and the endoneurial fibroses were quantitatively estimated. There was a remarkable association between the epineurial collagen increase and the tryptase-rich mast cells density in the epineurial, but not in the endoneurial space of nerves with leprous neuropathy. Since the epineurium in leprosy is type I collagen rich, present findings support a role for mast cells in promoting fibrosis in leprous neuropathy through their tryptase secretion.

ANEXO VII

SBP.G/440-2005
São Paulo, 12 de agosto de 2005

Dr(a). Nadia Aparecida De Arantes Montagna Montagna
Universidade Do Estado Do Rio De Janeiro
Patologia E Laboratório
Av. 28 Setembro 87, Fds
Rio De Janeiro - RJ
20551-030

Ref: Resumo Nº 114 - **Óftalmopatologia -**
Autores: Montagna; NADAM -Oliveira; MLWO -Campos; CFFC -Chimelli; LC -

Caro(a) Colega,

Em nome da Comissão Científica do XXV Congresso Brasileiro de Patologia, temos o prazer de comunicar-lhe que seu trabalho intitulado "ALTERAÇÕES PERINEURAIS NA NEUROPATIA HANSÊNICA" foi selecionado para apresentação na forma de PÔSTER.

O pôster deverá estar dentro do tamanho **0,90 x 1,20** e poderá ser fixado a partir de **uma margem de 2,5 cm**.

Gostaríamos de agradecer a todos os participantes pela contribuição e motivação para enriquecer o nosso Congresso.

Apresentador: **Nadia Aparecida De Arantes Montagna Montagna**
Data da apresentação: **14 de outubro de 2005**
Horário da apresentação: **17:30**

Atenciosamente,

Luiz Antônio Rodrigues de Freitas
Luiz Antônio Rodrigues de Freitas
Presidente da Comissão Científica
XXV Congresso Brasileiro
de Patologia


Alexandre de Oliveira Sales
Alexandre de Oliveira Sales
Presidente
XXV Congresso Brasileiro
de Patologia

PROMOÇÃO E REALIZAÇÃO

 SBP

Ases Associados Av. Hermes da Fonseca, 384 1º andar Petrópolis Natal/RN - CEP: 59020-000
Telefax: (84) 202.5693 Telefones: (84) 202.5424 - E-mail: ases@digi.com.br

ANEXO VIII



SBP.G/440-2005
São Paulo, 12 de agosto de 2005

Dr(a). Nadia Aparecida De Arantes Montagna Montagna
Universidade Do Estado Do Rio De Janeiro
Patologia E Laboratório
Av. 28 Setembro 87, Fds
Rio De Janeiro - RJ
20551-030

Ref: Resumo Nº 112 - Scientific Communications - Neuropatologia e Oftalmopatologia -
Autores: Montagna; NADAM -Oliveira; MLWO -Mandarim-de-lacerda; CAML - Chimelli; LMC -

Caro(a) Colega,

Em nome da Comissão Científica do XXV Congresso Brasileiro de Patologia, temos o prazer de comunicar-lhe que seu trabalho intitulado "CONTRIBUIÇÃO DOS MASTÓCITOS NA COLAGENIZAÇÃO DO NERVO NA HANSENIASE" foi selecionado para apresentação na forma de PÔSTER.

O pôster deverá estar dentro do tamanho **0,90 x 1,20** e poderá ser fixado a partir de 8h da manhã e retirado às 19h.


CONGRESSO BRASILEIRO DE PATOLOGIA

XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE PATOLOGIA

Luiz Antônio Rodrigues de Freitas
Luiz Antônio Rodrigues de Freitas
Presidente da Comissão Científica
XXV Congresso Brasileiro
de Patologia

Alexandre de Oliveira Sales
Alexandre de Oliveira Sales
Presidente
XXV Congresso Brasileiro
de Patologia

PROMOÇÃO E REALIZAÇÃO



Ases Associados Av. Hermes da Fonseca, 384 1º andar Petrópolis Natal/RN - CEP: 59020-000
Telefax: (84) 202.5693 Telefones: (84) 202.5424 - E-mail: ases@digi.com.br

ANEXO IX

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)