

LUCIANA NASSER DORNELLES

**CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA LECTINA LIGANTE DE MANOSE (MBL) EM PACIENTES
PORTADORES DE HANSENÍASE.**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Iara José Messias-Reason

Co-orientadora: Prof^a Dr^a. Lilian Pereira-Ferrari

CURITIBA

2006

A DEUS, PAI MAIOR, a quem agradeço a oportunidade desta vida.

AOS MEUS PAIS, Ivan e Edith, pelo exemplo de vida, amor e dedicação aos filhos.

A MINHA FILHA, Luiza, minha amada companheirinha nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

Registro aqui meus sinceros agradecimentos a todos os familiares e amigos que incentivaram e colaboraram para a realização deste trabalho, e em especial à:

- PROF^a. DR^a. Iara José Messias Reason, pela orientação, confiança, paciência e atenção, fundamentais em todos os momentos deste estudo.
- PROF^a. DR^a. Lílian Pereira-Ferrari, co-orientadora deste estudo, por todo carinho, dedicação, conhecimento e estímulo, realmente imprescindíveis para o desenvolvimento e a conclusão deste estudo.
- Elisandra Grangeiro de Carvalho, amiga e companheira de trabalho, por toda amizade e incentivo nos momentos de tristezas e felicidades.
- Aos amigos e companheiros de estudo, grandes incentivadores, PROF^a.DR^a. Shirley Ramos da Rosa Utiyama, Renato Nisihara, Angélica Boldt, Altair Ambrósio, Cláudia Zen e João Ribas.
- Ana Carolina Braga, pela ajuda preciosa prestada neste estudo.
- Dr^a. Noemi Farah Pereira e a todos os queridos amigos e companheiros de trabalho do Laboratório de Imunogenética do HC-UFPR, pelo apoio, estímulo e compreensão.
- Aos funcionários do Laboratório de Imunopatologia do Departamento de Patologia Médica do HC-UFPR, pela ajuda nas mais variadas etapas deste estudo.
- Aos funcionários do Laboratório de Imunohistoquímica do Departamento de Patologia Médica do HC-UFPR, pelo grande apoio e ajuda no projeto anterior a este estudo.
- Aos funcionários do Laboratório de Sorologia do HC-UFPR, pelo auxílio nas determinações séricas da PCR.
- Aos funcionários do Laboratório de Hemoterapia do HC-UFPR, pela colaboração nas determinações séricas da MBL.
- À estatística Márcia Orlandoski pela orientação e competência na análise dos dados.
- Aos Coordenadores e Professores do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPR, sem os quais este estudo não seria possível.

- Aos colegas de mestrado, com os quais foram compartilhados muito estudo e dedicação.
- Aos pacientes, razão de tudo, e aos controles saudáveis, peça fundamental.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE GRÁFICOS	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xi
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 OBJETIVO GERAL	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3 REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1 O SISTEMA COMPLEMENTO	4
3.1.1 Vias de Ativação	5
3.1.2 Principais Funções Biológicas do Sistema Complemento	8
3.2 A LECTINA LIGANTE DE MANOSE (MBL)	9
3.2.1 Considerações Gerais	9
3.2.2 Estrutura Protéica e Função Biológica	10
3.2.3 Genética Molecular e Concentração Sérica de MBL	14
3.2.4 MBL e Doenças	17
3.3 PROTEÍNA C-REATIVA (PCR)	19
3.3.1 Considerações Gerais	19
3.3.2 Estrutura Molecular e Função Biológica	19
3.3.3 Utilização Clínica da PCR e hs-PCR	21
3.4 HANSENÍASE	22
3.4.1 Histórico	22
3.4.2 Epidemiologia	24
3.4.3 Etiologia	25
3.4.4 Diagnóstico e Formas Clínicas da Doença	29
3.4.5 Imunopatogênese	33
3.4.6 O Sistema Complemento e a MBL na Hanseníase	36
4 MATERIAIS E MÉTODOS	39

4.1 CASUÍSTICA	39
4.1.1 Pacientes	39
4.1.2 Controles	42
4.2 METODOLOGIA	42
4.2.1 Quantificação Sérica de MBL	42
4.2.2 Quantificação Sérica de PCR	45
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
5 RESULTADOS	47
5.1 CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR ENTRE PACIENTES E CONTROLES	47
5.2 CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR NOS PACIENTES COM FORMA LEPROMATOSA EM RELAÇÃO À PRESENÇA DE REAÇÃO TIPO 2	51
5.3 DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES SÉRICOS BAIXOS, MÉDIOS E ALTOS DE MBL NOS PACIENTES E CONTROLES	52
5.4 CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR NOS PACIENTES E CONTROLES EM RELAÇÃO AO SEXO	56
5.5 CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR NOS PACIENTES E CONTROLES EM RELAÇÃO AO GRUPO ETÁRIO.....	58
5.6 CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR NOS PACIENTES E CONTROLES EM RELAÇÃO À ETNIA DOS INDIVÍDUOS.....	61
5.7 DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES SÉRICOS BAIXOS, MÉDIOS E ALTOS DE MBL, DE ACORDO COM SEXO, IDADE E ETNIA DOS PACIENTES E CONTROLES	62
5.8 CORRELAÇÃO ENTRE OS VALORES SÉRICOS DE MBL E PCR NOS PACIENTES E CONTROLES	65
6 DISCUSSÃO	67
6.1 CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA MBL.....	68
6.2 CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA PCR	72
6.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
7 CONCLUSÕES	75
REFERÊNCIAS	77
APÊNDICES	86
ANEXOS	103

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - VIAS DE ATIVAÇÃO DO SISTEMA COMPLEMENTO.....	5
FIGURA 2 - REPRESENTAÇÃO DAS VIAS CLÁSSICAS E DAS LECTINAS DE ATIVAÇÃO DO COMPLEMENTO.....	7
FIGURA 3 - ESTRUTURA DA MOLÉCULA DE MBL	11
FIGURA 4 - FUNÇÕES DA MBL	12
FIGURA 5 - ESTRUTURA DA MOLÉCULA DA PCR	20
FIGURA 6 - <i>Mycobacterium leprae</i> - AGENTE ETIOLÓGICO DA HANSENÍASE..	26
FIGURA 7 - VIAS DE ELIMINAÇÃO E PENETRAÇÃO DO <i>M. leprae</i>	28
FIGURA 8 - HANSENÍASE INDETERMINADA	32
FIGURA 9 - HANSENÍASE TUBERCULÓIDE	32
FIGURA 10 - HANSENÍASE VIRCHOWIANA	32
FIGURA 11 - MICRO PLACA DE REAÇÃO ENZIMÁTICA ANTES DA ADIÇÃO DA SOLUÇÃO DE BLOQUEIO.....	44
FIGURA 12 - MICRO PLACA DE REAÇÃO ENZIMÁTICA DEPOIS DA ADIÇÃO DA SOLUÇÃO DE BLOQUEIO.....	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR ENTRE OS PACIENTES HANSENICOS E OS CONTROLES	47
TABELA 2 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS DOS PACIENTES E OS CONTROLES.....	48
TABELA 3 - COMPARAÇÃO DOS VALORES SÉRICOS DE MBL E DE PCR ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E OS CONTROLES NORMAIS.....	49
TABELA 4 - COMPARAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR NA FORMA LEPROMATOSA, RELACIONADA COM A REAÇÃO TIPO 2.....	52
TABELA 5 - VALORES SÉRICOS BAIXOS, MÉDIOS E ALTOS DE MBL ENTRE OS PACIENTES TOTAIS E OS CONTROLES.....	54
TABELA 6 - VALORES SÉRICOS BAIXOS, MÉDIOS E ALTOS DE MBL ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS E OS CONTROLES.....	55
TABELA 7 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO AO SEXO.....	57
TABELA 8 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PCR NAS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO AO SEXO.....	58
TABELA 9 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO AO GRUPO ETÁRIO	59
TABELA 10 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PCR NAS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO AO GRUPO ETÁRIO	60
TABELA 11 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO À ETNIA DOS INDIVÍDUOS	61

TABELA 12 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PCR NAS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO À ETNIA.....	62
TABELA 13 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL NOS PACIENTES TOTAIS DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA	63
TABELA 14 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL NA FORMA CLÍNICA LEPROMATOSA DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA DOS PACIENTES.....	64
TABELA 15 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS TUBERCULÓIDE, DIMORFA E INDETERMINADA (TDI) DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA DOS PACIENTES.....	64
TABELA 16 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL NOS CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA.....	65
TABELA 17 - CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL E PCR NOS PACIENTES E CONTROLES.....	66

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM HANSENÍASE DE ACORDO COM O SEXO.....	40
GRÁFICO 2 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM HANSENÍASE DE ACORDO COM O GRUPO ÉTNICO	40
GRÁFICO 3 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM HANSENÍASE DE ACORDO COM A FORMA CLÍNICA DA DOENÇA.....	41
GRÁFICO 4 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM HANSENÍASE DE ACORDO COM A FAIXA DE IDADE	41
GRÁFICO 5 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E NOS CONTROLES NORMAIS.....	50
GRÁFICO 6 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PCR NAS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA E NOS CONTROLES NORMAIS	51
GRÁFICO 7 - NÍVEIS DE MBL ENTRE PACIENTES TOTAIS E CONTROLES	53
GRÁFICO 8 - NÍVEIS DE MBL ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA, os PACIENTES TOTAIS E OS CONTROLES.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BAAR	- Bacilo Álcool Ácido Resistente
C5b-9	- Complexo Lítico de Membrana de C5b a C9
CN	- Controles Normais
CR	- Receptor do Complemento
CRD	- Domínio de Reconhecimento de Carboidratos
DD	- Dimorfa Dimorfa
DNA	- Ácido Desoxirribonucléico
DT	- Dimorfa Tuberculóide
DV	-Dimorfa Virchowiana
Fc	- Fragmento Cristalizável da Imunoglobulina
GPL-1	- Glicolípido Fenólico 1
HC	- Hospital de Clínicas
HD	- Hanseníase Dimorfa
HI	- Hanseníase Indeterminada
HIV-1	- Vírus da Imunodeficiência Humana
HL	- Hanseníase Lepromatosa
HLA	- Antígeno Leucocitário Humano
hs – PCR	- Proteína C Reativa Ultra-Sensível
HT	- Hanseníase Tuberculóide
HV	- Hanseníase Virchowiana
IFN- γ	- Interferon gama
Ig	- Imunoglobulina
IL	- Interleucina
KDa	- Quilodaltos
LAM	- Lipoarabinomanana
MAC	- Complexo de Ataque à Membrana
MASP	- Serina Protease Associada à MBL
MB	- Multibacilares
MBL	- Lectina Ligante de Manose

MHC	- Complexo Principal de Histocompatibilidade
n	- Número de Indivíduos em Estudo
NK	- <i>Natural Killer</i>
OMS	- Organização Mundial da Saúde
PB	- Paucibacilares
PCh	- Fosfatidilcolina
PCR	- Proteína C Reativa
PMN	- Polimorfonucleares
PQT	- Poliquimioterapia
PT	- Pacientes Totais
RNI	- Reativos Intermediários do Nitrogênio
ROI	- Reativos Intermediários do Oxigênio
SnRNP	- Ribonucleoproteína
TGB- β	- Fator Transformador do Crescimento beta
TNF- α	- Fator de Necrose Tumoral alfa

RESUMO

A lectina ligante de manose (MBL) é uma proteína com importante papel na primeira linha de defesa do sistema imune inato, cujos valores séricos são determinados geneticamente. A MBL ativa a via da lectina do complemento, além de mediar a opsonização e fagocitose de microorganismos. A hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae*, bactéria intracelular obrigatória, que infecta fagócitos mononucleares do hospedeiro. A gravidade da doença varia de acordo com as formas clínicas, decorrentes da resposta imune do hospedeiro ao patógeno. Estudos relatam que a deficiência de MBL, diminuindo a fagocitose e internalização dos patógenos intracelulares, possa proteger o organismo contra infecções intracelulares como a hanseníase. Neste estudo determinou-se a concentração sérica de MBL através de imunoensaio enzimático em 175 pacientes (PT) com hanseníase, apresentando as formas clínicas lepromatosa (HL / n = 118), tuberculóide (HT / n = 15), dimorfa (HD / n = 30) e indeterminada (HI / n = 12), além de 110 controles normais (CN) pareados em relação a sexo, idade e etnia. A concentração sérica da proteína C-reativa (PCR), proteína de fase aguda, foi determinada por nefelometria em 100 PT e em 50 CN, como marcador inflamatório. Os resultados obtidos não mostraram diferença significativa nas concentrações séricas de MBL entre PT e CN, e nem entre as várias formas clínicas da doença e os CN, embora aumento significativo nos indivíduos do sexo masculino em relação ao feminino, tenha sido observado nos PT ($p = 0,026$) e nos HL ($p = 0,030$). Agrupando os pacientes por idade, grupo étnico e níveis séricos (baixos, médios e altos) de MBL, não foram observadas diferenças significativas entre pacientes e controles. Uma diminuição significativa de indivíduos com valores baixos de MBL (<100 ng/ml) foi observada nos PT ($p = 0,0280$) e nos HL ($p = 0,0156$) em relação aos CN. O número de pacientes deficientes para MBL foi mais freqüente entre os pacientes HT em relação aos HL ($p = 0,0536$), sugerindo provável ação da MBL na evolução da doença para diferentes formas clínicas. A concentração sérica da PCR foi significativamente aumentada nos PT ($p = 0,0001$) e nos HL ($p = 0,0001$) quando comparada aos CN. Observou-se fraca, porém significativa correlação positiva nas concentrações de MBL e PCR entre os PT ($p = 0,0105$ e $R = 0,2549$) e pacientes com a forma tuberculóide, dimorfa e indeterminada reunidos (TDI) ($p = 0,0108$ e $R = 0,4036$). Ambas as proteínas são de fase aguda, porém o aumento sérico de MBL é moderado em comparação ao da PCR. Concluindo, os dados obtidos neste estudo não mostram relação significativa entre a concentração sérica da MBL e a hanseníase, porém a deficiência de MBL parece exercer caráter protetor contra o desenvolvimento da hanseníase e da evolução à forma clínica lepromatosa. Esses resultados corroboram a hipótese de que valores séricos baixos de MBL apresentam vantagem nas infecções por microorganismos intracelulares, como o *M leprae*.

ABSTRACT

The mannan-binding lectin (MBL) is a protein with important role in the first line of the innate immune system, whose serum levels are determined genetically. MBL activates the lectin pathway of complement and mediates the opsonisation and phagocytosis of microorganisms. Leprosy is a chronic infectious disease caused by the *Mycobacterium leprae*, an obligate intracellular bacteria that infects host's mononuclear phagocytic cells. The severity of the disease is related to the clinical forms which correspond with the type of the immune response to the pathogen. Some studies report that MBL deficiency, reducing phagocytosis and internalization of intracellular pathogens, might protect the host against intracellular infections, such as leprosy. In this study, MBL serum levels were determined by enzyme immuno assay in 175 patients (PT) with leprosy, presenting the following clinical forms: lepromatous (HL / N = 118), tuberculoid (HT / N = 15), dimorph (HD / N = 30) and indetermined (HI / N = 12), and in 110 healthy controls (HC) matched with the PT according to sex, age and ethnic background. The serum concentration of C-Reactive Protein (CRP), an acute phase protein, was determined by Nephelometry in 100 PT and 50 CN, as inflammatory marker. The results did not show significant differences in the MBL serum concentration between PT and HC, neither among the clinical forms and the HC. However, a significant increase of MBL levels was observed in male individuals in relation to female in PT ($p = 0,026$) and in HL ($p = 0,030$). No significant differences were observed according to age, ethnic group and low, medium and high MBL levels among patients and controls. A significant decrease of individuals with low MBL values (< 100 ng/ml) was observed in the PT ($p = 0,0280$) and in the HL ($p = 0,0156$) in relation to the HC. The number of patients MBL deficient was more frequent between patients HT when compared to the HL ($p = 0,0536$), suggesting a role for MBL in the evolution to different clinical forms of the disease. The serum concentration of the CRP was significantly increased in the PT ($p = 0.0001$) and in the HL ($p = 0.0001$) when compared with the HC. A weak positive correlation in the concentration of MBL and CRP was observed in PT ($p = 0,0105$ and $r = 0,2549$) and patients with indetermined, tuberculoid and dimorph forms (TDI) ($p = 0,0108$ and $r = 0,4036$). Both are acute phase proteins, although MBL serum increase is moderate in comparison to the CRP. Concluding, these data do not show significant association between MBL serum concentration and leprosy, however MBL deficiency might exert a protective role against the development of leprosy and the evolution to the lepromatous clinical form. These results corroborate the hypothesis that low MBL plasma values may present advantage against infections with intracellular microorganisms, such as the *M. leprae*.

1 INTRODUÇÃO

O Sistema complemento tem fundamental importância na homeostasia e defesa imune do organismo, e interações entre diversas proteínas podem ativá-lo pelas vias clássica, alternativa e das lectinas.

A MBL (lectina ligante de manose) representa a proteína central de ativação da via das lectinas. Essa é produzida principalmente no fígado e desempenha importante função na imunidade inata pelo fato de aparecer antes dos anticorpos na resposta às infecções. A MBL liga-se a carboidratos na superfície de microorganismos, opsonizando-os e levando à sua eliminação por fagocitose. Baixas concentrações de MBL, determinadas pelo seu genótipo, têm como consequência diminuição ou ausência da ativação da via da lectina do complemento, e estão associadas a uma maior suscetibilidade a infecções por vírus, bactérias, fungos e protozoários. Por outro lado, postula-se que a deficiência de MBL possa proteger o organismo contra infecções por parasitas intracelulares, que usam a opsonização por componentes do complemento e seus respectivos receptores nos fagócitos para infectar o hospedeiro (TURNER, 2003).

O *Mycobacterium leprae* é um patógeno intracelular obrigatório, responsável pela doença infecciosa crônica denominada Hanseníase. Este microorganismo infecta principalmente os fagócitos mononucleares do hospedeiro, lesionando preferencialmente os nervos periféricos e a pele. A resistência imunológica do indivíduo infectado determina a extensão das reações inflamatórias e das lesões resultantes nos tecidos afetados, direcionando a evolução da doença para as diferentes formas clínicas, como lepromatosa, tuberculóide, indeterminada e as dimorfas (ARAUJO, 2003).

A deficiência ou o bloqueio da ação da MBL poderia representar uma possível proteção contra patógenos intracelulares como o *Mycobacterium leprae*. Embora numerosos estudos tenham demonstrado o envolvimento de proteínas do sistema complemento na fisiopatogenia da Hanseníase, a participação da MBL no desenvolvimento da doença e nas suas diferentes formas clínicas ainda requer investigações mais apuradas.

O único estudo relatado, entre MBL e hanseníase, encontrado, envolveu número limitado de pacientes, pertencentes apenas a um grupo étnico. Os pesquisadores demonstraram que a MBL liga-se fortemente ao *M. leprae*, sugerindo uma possível participação desta proteína na invasão dos fagócitos pela micobactéria. Verificou-se ainda que pacientes com hanseníase lepromatosa e dimorfa-lepromatosa apresentavam significante aumento nas concentrações de MBL em relação aos indivíduos saudáveis da população, o que sugere que a opsonização por MBL possa estar favorecendo a entrada destes patógenos nas células fagocíticas (GARRED *et al*, 1994).

Em doenças onde se tem uma infecção intracelular obrigatória, como na hanseníase, é de interesse o estudo de moléculas (proteínas) que possivelmente participem na opsonização e internalização celular do microorganismo patogênico, como é o caso da MBL.

A proteína C reativa (PCR) representa um componente participante das reações inflamatórias agudas, e tem sido estudada há longa data no soro dos pacientes hansenícos, principalmente naqueles com episódios reacionais característicos das formas mais graves da doença. A análise da concentração de PCR paralela a outras proteínas inflamatórias de fase aguda é de interesse como um controle para possíveis níveis de inflamação no momento da coleta de amostras de pacientes.

O Brasil detém o segundo lugar no mundo em número de casos de hanseníase, sendo considerado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um país endêmico para a doença. Considerando-se a ausência de relatos de associação da hanseníase com MBL no Brasil, o presente trabalho visa contribuir com o avanço das investigações nessa área em nosso país, avaliando as concentrações séricas de MBL e PCR em pacientes hansenícos e correlacionando-as com as diferentes formas clínicas da doença.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as concentrações séricas de MBL em pacientes portadores de Hanseníase, e em um grupo de controles saudáveis.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Comparar as concentrações séricas de MBL e de PCR entre pacientes e controles saudáveis pareados de acordo com a idade, sexo e origem étnica.
- b) Comparar as concentrações séricas de MBL e de PCR entre os pacientes com Hanseníase lepromatosa e as demais formas clínicas da doença.
- c) Comparar as concentrações séricas de MBL e de PCR entre os pacientes com Hanseníase lepromatosa com e sem Reação tipo 2 (ou eritema nodoso).
- d) Correlacionar as concentrações séricas de MBL com as da Proteína-C-Reativa nos pacientes e controles.

3 REVISÃO DA LITERATURA

O sistema imunológico é constituído por uma organização de células e moléculas com funções especializadas e direcionadas na defesa do organismo contra a infecção.

Nesta defesa, têm-se duas respostas distintas e fundamentais; a resposta imune inata (natural) e a resposta imune adquirida (adaptativa). Na resposta imune inata, que ocorre de forma semelhante cada vez que um agente infeccioso é encontrado, temos a participação de componentes celulares como células fagocíticas (neutrófilos, monócitos e macrófagos), células secretoras de mediadores inflamatórios (basófilos e eosinófilos), células “*Natural Killer*”; e componentes moleculares como o complemento, proteínas de fase aguda e citocinas. Já na resposta imune adquirida, células T e B específicas para o antígeno e altamente especializadas proliferam, levando à formação de células T efectoras, de anticorpos e de células de memória imunológica (DELVES, 2000).

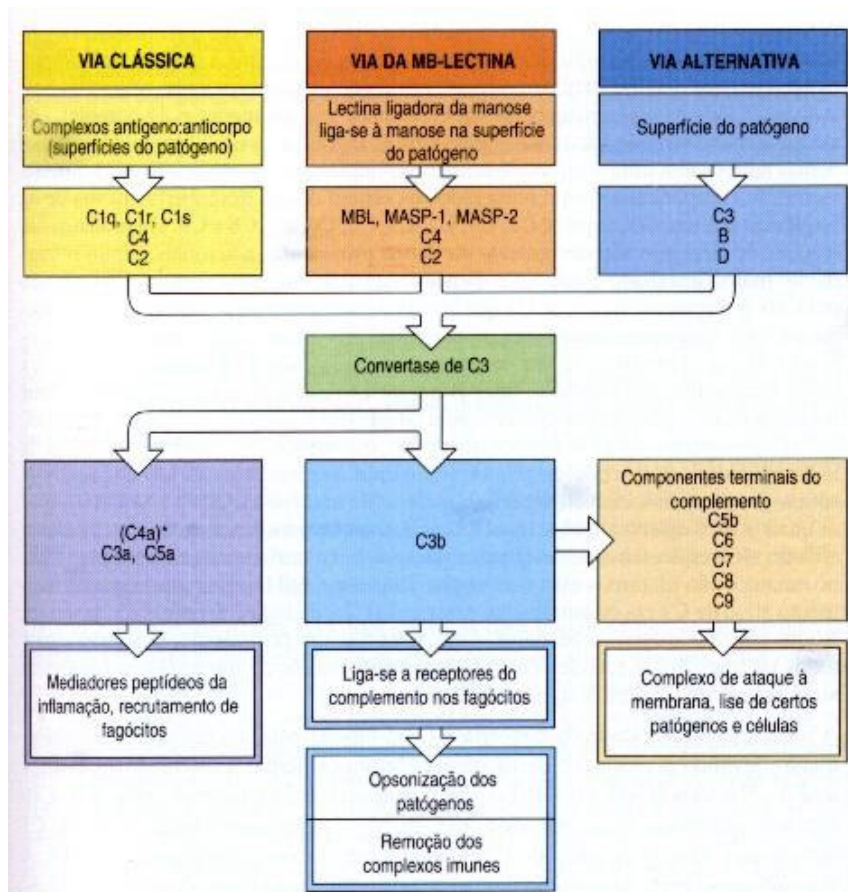
3.1 O SISTEMA COMPLEMENTO

O sistema complemento foi descoberto, por Charles Bordet, há mais de 100 anos como um constituinte termo-lábil do plasma normal, que aumentava a opsonização de bactérias por anticorpos e complementava a sua ação lítica sobre as mesmas (PRODINGER *et al.* 1999). Tal atividade foi dita complementar a atividade do anticorpo, originando-se o termo complemento em 1899 por Paul Ehrlich. Esse faz parte do sistema imune inato e proporciona um dos mais eficientes mecanismos imunes mediados por anticorpos. É composto por um grande número (mais de 30) de proteínas encontradas na circulação, nos tecidos (expressas nas superfícies celulares) e em outros fluídos do organismo na forma de pró-enzimas. Essas proteínas interagem entre si e com outras moléculas do sistema imunológico, proporcionando funções efectoras da imunidade humoral e celular, e da inflamação. O sistema complemento é o maior constituinte do sistema imune inato e está envolvido no início da imunidade adaptativa (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 1997; WALPORT, 2001a; SEELEN; ROOS; DAHA, 2005).

3.1.1 Vias de Ativação

Até o momento foram descritas três vias de ativação do sistema complemento: a via clássica, a via alternativa e a via da lectina (FIGURA 1). A reação de ativação envolve uma cascata enzimática com proteólises sucessivas, que resultam na destruição da membrana do patógeno ou da célula alvo envolvida. Nas fases iniciais da infecção, a cascata do complemento pode ser ativada na superfície do patógeno (ou da célula alvo) através de uma ou mais, das três vias. Estas vias apresentam diferentes moléculas iniciadoras, com eventos precoces que convergem em moléculas com a mesma função, determinando que os eventos tardios da ativação do sistema complemento sejam os mesmos (WALPORT, 2001a; JANEWAY; TRAVERS, 2002).

FIGURA 1 – VIAS DE ATIVAÇÃO DO SISTEMA COMPLEMENTO



FONTE: Adaptado de JANEWAY JR e TRAVERS (2002)

A via clássica, que promove a interação entre a imunidade inata e adaptativa, é ativada quando moléculas de C1q ligam-se a imunoglobulinas IgG ou IgM, a proteínas de fase aguda, a moléculas modificadas ou a células apoptóticas ou necróticas. Ocorre uma mudança na conformação da molécula de C1q, quando esta se liga ao substrato, resultando na ativação das serinas proteases C1r e C1s associadas à estrutura colagenosa da molécula C1q. A proteína C1s ativa C4 e C2 formando o complexo C4b2a, denominado de C3 convertase.

A via alternativa inicia-se quando o C3 é ativado por hidrólises espontâneas e contínuas. O C3 ativado liga-se ao fator B, que sofre ativação e clivagem pelo fator D, e forma-se o complexo C3bBb, funcionalmente idêntico a C3 convertase da via clássica.

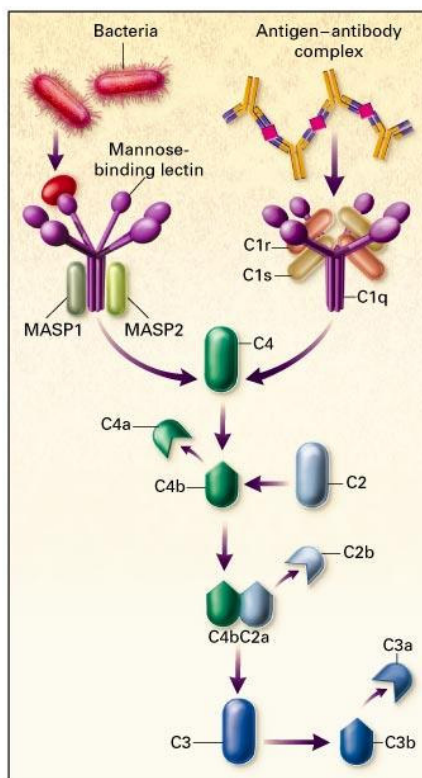
A ativação da via da lectina ocorre em resposta ao reconhecimento por parte da MBL e das ficolinas (L-ficolinas e H-ficolinas) a vários carboidratos ligantes. Ocorre a formação da mesma C3 convertase da via clássica, mas a proteína MASP-2 parece ser responsável pela ativação de C4 e C2, formando a C4b2b (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 1997; JANEWAY; TRAVERS, 2002; FUJITA, 2002; SEELEN; ROOS; DAHA, 2005).

Conforme descrito acima, reações específicas nos eventos precoces da ativação do complemento são seguidas em cada via de ativação para gerar a protease denominada C3 convertase. Nas vias clássica e da lectina, a C3 convertase é formada a partir do C4b ligado a membrana e complexado com C2a. Na via alternativa uma C3 convertase homóloga é formada a partir do C3b ligado à membrana alvo e complexado com Bb. As convertases de C3 formadas e unidas à superfície do patógeno, clivam C3 e geram grandes quantidades de C3b, molécula efetora principal na opsonização, e C3a, peptídeo mediador da inflamação. Essas reações enzimáticas onde as proteínas inativas do complemento são clivadas, geralmente produzem um fragmento maior, uma serina-protease ativa que é retida na superfície do patógeno assegurando a ativação da próxima proteína também nesta superfície, e um pequeno fragmento peptídico que é liberado do sítio da reação e atua como mediador solúvel (JANEWAY; TRAVERS, 2002).

A via da lectina é homóloga à via clássica (FIGURA 2) e inicia-se pela ligação da MBL, principal componente de ativação desta via, aos resíduos de manose e outros açúcares, acessíveis e organizados em um padrão específico,

permitindo a ligação da MBL a muitos patógenos. A presença de outros açúcares, especialmente ácido siálico, recobrando a superfície de células de vertebrados, parece inibir a ligação da MBL às células próprias do organismo em situações de homeostase. A molécula de MBL forma um complexo com proteases zimogênicas, a MASP-1 e MASP-2 (serinas proteases associadas à MBL) que são similares a C1r e C1s, e quando o complexo MBL liga-se à superfície do patógeno, as MASP-1 e 2 são ativadas e clivam C4 e C2. A via da lectina, então, inicia a ativação do complemento similarmente à via clássica (FIGURA 2), formando a C3 convertase e clivando o C3 em C3b e C3a (PRODINGER *et al.* 1999).

FIGURA 2 - REPRESENTAÇÃO DAS VIAS CLÁSSICAS E DAS LECTINAS DE ATIVAÇÃO DO COMPLEMENTO



FONTE: MEDZHITHOY e JANEWAY, 2000

As moléculas de C3b atuam como opsoninas, unindo-se covalentemente ao patógeno e sinalizando-o para a destruição pelos fagócitos portadores de receptores

específicos. Moléculas de C3b também se ligam a C3 convertase para formar a C5 convertase, que catalisa a clivagem proteolítica de C5, produzindo o pequeno peptídeo C5a, importante mediador da inflamação, bem como o fragmento maior, C5b. Nas vias clássica e da MBL, a C5 convertase é formada pela ligação de C3b a C4b-2a, produzindo C4b-2a-3b; e na via alternativa, pela ligação de C3b a C3b-Bb produzindo C3b-Bb-3b. O C5 liga-se ao sítio de C3b da C5 convertase e é clivado pela atividade da serina protease C2a ou Bb, gerando então, C5b e C5a. Esta reação é mais limitada que a clivagem de C3, já que C5 só pode ser clivado quando se liga a C3b no complexo C5 convertase (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 1997)

O fragmento C5b inicia os eventos tardios de ativação do complemento, onde os componentes terminais, que formam o complexo de ataque à membrana C5b-9 (MAC - *membrane attack complex*), levam à formação de um poro na bicamada lipídica destruindo a integridade da membrana e o gradiente eletrolítico da célula, levando à sua lise. A formação do complexo se dá quando C5 é clivado, liberando C5b que se liga ao C6. O complexo C5b6 se liga a uma molécula de C7, as conformações alteram-se decorrendo na exposição de um sítio hidrofóbico em C7 que se insere na bicamada lipídica. O C8 se liga ao C5b do complexo C5b67 associado à membrana, inserindo-se na bicamada lipídica, seguindo-se a polimerização de 10 a 16 moléculas de C9 que formam um poro de 10nm (JANEWAY; TRAVERS, 2002; JAMAL; JOLLES, 2005).

3.1.2 Principais Funções Biológicas do Sistema Complemento

- 1) Defesa contra infecções: opsonização, fagocitose, citólise e ativação do processo inflamatório.
- 2) Remoção de produtos: solubilização e remoção de complexos imunes e remoção de células apoptóticas.
- 3) Interface entre a imunidade inata e adaptativa: promove a resposta imune humoral, quando C3b ou outros fragmentos do complemento, ligam-se em receptores de células dendríticas foliculares e de linfócitos B, atuando na apresentação de antígenos, na ativação de células B e na manutenção da memória imunológica (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 1997; WALPORT, 2001b).

As diferentes funções efetoras são mediadas por diferentes proteínas produzidas durante a ativação do complemento. A citólise é mediada pelo MAC e a opsonização deve-se em grande parte ao fragmento C3b, para o qual são expressos receptores específicos em muitos leucócitos e em outras células. A inflamação, envolvendo o recrutamento e a ativação dos leucócitos, é mediada por produtos de clivagem de C3, C4 e C5 denominados respectivamente de C3a, C4a e C5a. Os complexos imunes são solubilizados pela ligação dos fragmentos da via clássica às regiões Fc das moléculas dos anticorpos (JANEWAY; TRAVERS, 2002).

Em condições fisiológicas normais a ativação do sistema complemento é efetivamente controlada pela ação de proteínas regulatórias solúveis ou associadas às membranas. Têm-se evidências clínicas e experimentais do envolvimento da ação desordenada do sistema complemento em imunodeficiências e na patogênese de numerosas patologias inflamatórias, seja na exacerbação da sua ação ou na deficiência de algum dos seus componentes (KIRSCHFINK; MOLLNES, 2003).

3.2 A LECTINA LIGANTE DE MANOSE (MBL)

3.2.1 Considerações Gerais

A MBL (*mannose binding lectin*, *mannan binding lectin* ou *mannose binding protein*) é um importante constituinte do sistema imune inato (JACK; KLEIN; TURNER, 2001; TURNER, 2003). Desempenha um importante papel na primeira linha de defesa imunológica, podendo ser funcionalmente denominado de ante-anticorpo (SUPER *et al.*, 1992; FUJITA, 2002).

A MBL é uma lectina do tipo C (dependente de cálcio), sintetizada principalmente no fígado e secretada na corrente sanguínea (EZEKOWITZ *et al.*, 1988). Pertence a uma família de proteínas denominadas colectinas, cujos membros possuem domínios de lectina para reconhecimento de carboidratos e regiões de colágeno (TURNER, 1996; JACK; KLEIN; TURNER, 2001; FUJITA, 2002; TURNER, 2003). Apresenta uma estrutura como um “bouquêt” muito similar ao C1q e é considerada uma proteína de fase aguda, apesar do seu moderado aumento (entre 1,5 a 3 vezes o valor normal para cada indivíduo) quando comparado à proteína C-

reativa (aumento de até 1000 vezes o valor normal) (TURNER, 1996; VOLANAKIS, 2001; JACK; KLEIN; TURNER, 2001; TURNER, 2003).

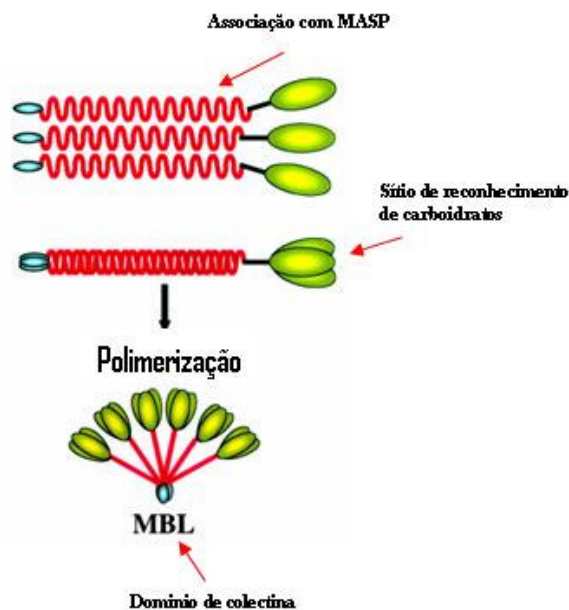
3.2.2 Estrutura Protéica e Função Biológica

A MBL humana é composta por polímeros de até seis subunidades, tendo sido relatada a presença de dímeros, trímeros, tetrâmeros, pentâmeros e hexâmeros (TURNER, 1996; JACK; KLEIN; TURNER, 2001; TURNER, 2003).

A forma oligomérica circulante dominante parece ser a hexâmera, apresentando 18 cadeias polipeptídicas, (PRESANIS; KOJIMA; SIM, 2003). Para uma completa atividade funcional da MBL, é necessário que esta se apresente, no mínimo, na forma oligomérica tetrâmera (JACK; KLEIN; TURNER, 2001).

Cada monômero é formado por três cadeias polipeptídicas semelhantes de 32KDa, que originarão três domínios de reconhecimento de carboidratos (CRD), através dos quais a MBL liga-se aos carboidratos de diferentes patógenos. Cada subunidade de cadeia polipeptídica que compõe o monômero é composta por: CRD, região hidrofóbica (pescoço), região de colágeno e região N-terminal rica em cisteína (FIGURA 3) (TURNER, 1996; JACK; KLEIN; TURNER, 2001; TURNER, 2003).

FIGURA 3 - ESTRUTURA DA MOLÉCULA DE MBL



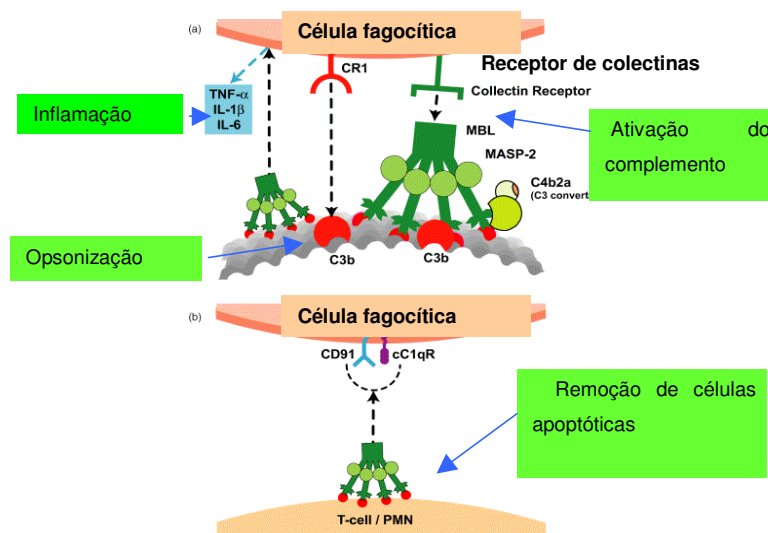
FONTE: Adaptado de FUJITA (2002)

A região N-terminal rica em cisteína corresponde ao sítio de ligação aos receptores de colectina presentes nos fagócitos, onde as cadeias se ligam por pontes dissulfeto. Na região de colágeno, as três cadeias polipeptídicas interagem para formar uma tripla hélice clássica, e na região do pescoço as cadeias convergem numa única estrutura carboxi-terminal, formando os domínios da lectina. Cada domínio de lectina se liga a um íon cálcio por meio do qual é capaz de fazer ligações com os grupos 3 e 4 hidroxil de determinados açúcares da membrana celular dos microorganismos, como: N-acetil-D-glucosamina, manose, N-acetil-manosamina, fucose e glucose (TURNER, 1996; JACK; KLEIN; TURNER, 2001; FUJITA, 2002; TURNER, 2003). Já em contraste, o açúcar D-galactose não se liga significativamente a MBL (JACK; KLEIN; TURNER, 2001; FUJITA, 2002). Para a completa atividade funcional da MBL humana, faz-se necessário que os três domínios de ligação de lectina obedeçam a distâncias constantes de separação entre eles de 45 Å (JACK; KLEIN; TURNER, 2001; TURNER; 2003). WEIS e colaboradores (1992) demonstraram que os grupos 3 e 4-OH dos carboidratos ligantes devem estar num plano equatorial adequado estruturalmente, para possibilitar a ligação a MBL. Tais carboidratos com estrutura apropriada, geralmente

não se encontram nas superfícies celulares dos mamíferos (PRESANIS; KOJIMA; SIM, 2003).

Há evidências de pelo menos quatro funções para a MBL: ativação do sistema complemento, promoção (independente de complemento) da opsonização e da fagocitose, modulação da inflamação e remoção de células apoptóticas (FIGURA 4) (JACK; KLEIN; TURNER, 2001; SUPER *et al.*, 1992; TURNER; 1996).

FIGURA 4 - FUNÇÕES DA MBL



FONTE: TURNER, 2003

A MBL pode agir diretamente como opsonina através da interação dos CRD com carboidratos de microorganismos e receptores protéicos de colectina nos fagócitos. Ou ainda a MBL pode intensificar a atividade de outros mecanismos fagocíticos, como o sistema complemento ou receptores de imunoglobulinas, mediando a fagocitose através de ligação protéica ou interação com receptor celular (TURNER, 1996). Estes possíveis receptores ou proteínas de ligação incluem o cC1qR/calreticulin, C1qRp e CR1 (TURNER, 2003).

No processo de ativação do complemento a MBL associa-se a serinas proteases, chamadas de MASP-1, MASP-2, MASP-3 e MASP-19, pela região colagenosa. Há evidências de que a MASP-2 é mais importante na ativação do

complemento do que a MASP-1, apesar de estar em menor concentração sérica que essa. Os complexos MBL - MASP-2 tornam-se ativos quando se ligam a açúcares apropriados da membrana de patógenos, onde mudam de conformação no momento da interação com o carboidrato. A MASP-2 expressa atividade enzimática idêntica à C1 esterase da via clássica, levando a clivagem seqüencial de C4 e C2. Da clivagem de C4, resultam C4a e C4b; o fragmento de C4b liga-se covalentemente na superfície microbiana, interagindo com o componente C2, que também é ativado pela MASP-2 gerando C2a e C2b, onde C2a liga-se a C4b. O complexo formado C4b2a expressa atividade enzimática de C3 convertase, oriundo da ativação da via da lectina, independentemente de anticorpos e de C1. A MASP-1 pode ativar C3 diretamente e levar à ativação da via alternativa do complemento (TURNER, 1996; JACK; KLEIN; TURNER, 2001).

Há evidências também de que a MBL modula a inflamação, exercendo efeito sobre monócitos, estimulando a liberação de citocinas de uma maneira dose-dependente de MBL (TURNER, 2003).

Em condições normais a MBL não reconhece tecidos próprios do organismo, mas em casos de hipóxia celular, proveniente de um desequilíbrio da homeostase, podem ocorrer glicolisações de superfícies celulares próprias do organismo, desencadeando o depósito de MBL e a ativação de complemento. Isto pode caracterizar uma ação pró-inflamatória da proteína (ENDO *et al.*, 1998).

A remoção de células apoptóticas pela MBL (assim como por C1q) é evidenciada pela ligação da região CRD globular a células apoptóticas, iniciando sua fagocitose pelos macrófagos através do receptor cC1qR que reconhece a porção N-terminal da proteína (FIGURA 4). O cC1qR não tem domínio transmembrana, está associado ao CD91 (receptor para alfa-2 macroglobulina) na superfície do macrófago e inicia a internalização da célula apoptótica por macropinocitose (TURNER, 2003).

A MBL possui também funções importantes e semelhantes ao sistema imune adaptativo. A lectina assemelha-se a IgM por realizar ataque multivalente a célula alvo, sendo assim capaz de intensificar a afinidade intrínseca de ligação. Estando ligada à superfície microbiana, é capaz de ativar o sistema complemento, o que se observa como forte propriedade também da IgM. A hipótese de a MBL interagir diretamente com receptores de membrana celulares e promover a opsonização e a

fagocitose, reflete uma propriedade análoga a IgG (JACK; KLEIN; TURNER, 2001), ressaltando a grande versatilidade funcional da molécula (QUADRO 1).

QUADRO 1 – SEMELHANÇAS FUNCIONAIS DA MBL

Semelhanças a IgM
<ul style="list-style-type: none"> • Liga-se a uma ampla variedade de substratos através dos múltiplos sítios de ligação-CRD • Um único CRD tem ligação fraca • Tem alta afinidade funcional através dos múltiplos sítios CRD
Semelhanças a IgG/IgA
<ul style="list-style-type: none"> • Atua diretamente como uma opsonina, cobrindo as superfícies dos microorganismos ricas em açúcares • Interage com um ou mais receptores de colectinas
Semelhanças ao C1q
<ul style="list-style-type: none"> • Interage com serinas proteases (MASP 1 e 2) • Inicia a ativação do sistema complemento • Os complexos MBL-MASP associam-se a proteases séricas inibitórias

FONTE: TURNER, 1996

3.2.3 Genética Molecular e Concentração Sérica de MBL

O gene humano que codifica a MBL está localizado no braço longo do cromossomo 10 (10q11.2-q21) e compreende 4 éxons (TAYLOR *et al.*, 1989). Cada exon do gene codifica um segmento diferente da cadeia protéica. O exon 1 codifica o domínio *N*-terminal de 21 aminoácidos e parte do domínio de colágeno da cadeia. O exon 2 codifica o restante do domínio de colágeno, responsável pela ativação do complemento através da sua ligação às MASPs (TURNER, 1996). Mutações neste domínio podem afetar esta capacidade e alterar as propriedades opsonizantes da

MBL, embora não perturbem sua biossíntese, secreção e multimerização *in vitro* (KURATA; CHENG; KOZULSUMI, 1993; MATSUSHITA; EZEKOWITZ; FUJITA, 1995). O exon 3 codifica uma região intermediária, formadora de α -hélices trimerizadas numa super-hélice, servindo como sítio de reunião das triplas hélices do colágeno. O exon 4, por sua vez, apresenta as seqüências codificadoras do domínio CRD, onde a MBL liga-se aos grupos 3-OH e 4-OH de açúcares da superfície de microorganismos (KURATA; CHENG; KOZULSUMI, 1993; TURNER, 1996).

A concentração sérica da MBL varia consideravelmente entre os indivíduos e é influenciada por mutações na região promotora e codificadora do gene (MADSEN *et al.*, 1995 e 1998). Mutações nos códons 52, 54 e 57 do exon 1 são os principais determinantes da deficiência de MBL, as quais dão origem as variantes alélicas D, B e C, respectivamente, onde o tipo selvagem, denominado A, refere-se a variante alélica normal. Os alelos mutantes B, C e D são denominados de alelo O. Nestas mutações ocorrem substituições pontuais, onde a troca de uma citosina por uma timina leva a substituição de uma arginina por cisteína no códon 52. Já a troca de uma guanina por uma adenina, leva a substituição de uma glicina por ácido aspártico no códon 54 e de uma glicina por ácido glutâmico no códon 57. Estas substituições de aminoácidos prejudicam a formação da tripla hélice da região colagenosa da MBL, levando à deficiência na polimerização e causando degradação enzimática e deficiência funcional da proteína. Estas mutações são fatores importantes e geralmente responsáveis pelos baixos níveis séricos da MBL, e diminuição ou até ausência de ativação da via das lectinas do complemento (SUMIYA; SUMMERFIELD 1996; GRAUDAL *et al.*, 2000; PRESANIS; KOJIMA; SIM, 2003; TURNER, 2003). A mutação no códon 54 (variante B) foi evidenciada com freqüência elevada em esquimós e caucasóides, e muito baixa em africanos. Já a mutação do códon 57 (variante C) apresenta-se com freqüência aumentada em africanos, baixa em caucasóides e ausente em esquimós. Para a mutação do códon 52 (variante D), alta freqüência foi encontrada em caucasóides, baixa em africanos e ausente em Esquimós (MADSEN *et al.*, 1998). Na região promotora do gene, substituições de nucleotídeos nas posições -550, -221 e +4, à partir do sítio de transcrição, correspondem às variantes alélicas H/L, X/Y e P/Q, respectivamente (TURNER, 1996; TURNER, 2003; PRESANIS; KOJIMA; SIM, 2003).

Comumente os haplótipos HY, LY e LX estão associados com alta, intermediária e baixa expressão da proteína sérica, respectivamente. Estudos de desequilíbrio de ligação descrevem os seguintes haplótipos até o momento: HYPA, LYQA, LYPA, LXPA, LYPB, LYQC, LYPD e HYPD (TURNER, 1996; BOLDT; PETZLERLER, 2002; TURNER, 2003; PRESANIS; KOJIMA; SIM, 2003).

Os variantes alélicos são freqüentes nas populações saudáveis de africanos, caucasóides, asiáticos e esquimós, variando na freqüência de 20 a 50% nestes indivíduos estudados (MADSEN *et al.*, 1998). A concentração sérica média normal de MBL em caucasóides saudáveis varia de 800-1000 ng/ml, porém, estes valores podem variar amplamente devido às mutações já mencionadas. Os indivíduos homocigotos para o alelo A (A/A) possuem concentrações 6 a 8 vezes maiores de MBL circulante que indivíduos heterocigotos para o mesmo alelo (A/O) (TURNER, 1996). Foi observada uma variação da concentração de MBL sérica em populações étnicas diferentes, mesmo para os indivíduos com o mesmo genótipo homocigoto A/A. Observa-se portanto, que outros variantes além destas mutações já identificadas, poderiam influenciar na concentração da MBL sérica (MADSEN *et al.*, 1994; THIEL; FREDERIKSON; JENSENIUS, 2006).

No Brasil, as freqüências alélicas das variantes de *MBL* foram determinadas nas populações paranaenses de caucasóides, afro-brasileiros, mestiços e indígenas. Na população caucasóide as freqüências para as variantes B, C e D foram de 11%, 0,3% e 7%, na população de afro-brasileiros de 3%, 20% e 2% e na população mestiça de 16%, 7% e 4%, respectivamente. As populações indígenas das tribos guarani e kaingang apresentaram as freqüências de 43% e 29% para a mutação B, respectivamente. Os guaranis apresentaram uma freqüência de 0,4% para a variante C e nenhum dos dois grupos apresentou a variante D (BOLDT; PETZLERLER, 2002).

O conceito exato dos níveis séricos de MBL considerados como deficientes ainda é incerto, podendo variar de acordo com o tipo de patologia relacionada. Estudos funcionais com deficiência de opsonização evidenciaram níveis séricos de MBL inferiores a 100 ng/ml nas populações estudadas e consideradas como deficientes. Sabe-se que os genótipos O/O e XA/O são responsáveis por níveis de MBL deficientes, correspondendo a níveis inferiores a 100 ng/ml, usualmente

definidos como o “cut-off” para a deficiência da proteína (KILPATRICK, 2002; EISEN; MINCHINTON, 2003; FIANE et al. 2005).

3.2.4 MBL e Doenças

Inicialmente, a deficiência de MBL foi relacionada com defeitos de opsonização em crianças que apresentavam infecções recorrentes (SUPER *et al.*, 1989). Com o avanço dos estudos, tem-se evidenciado uma complexa função da MBL nas mais variadas doenças (TURNER, 2003). A deficiência de MBL tem sido associada ao aumento do risco de infecções em crianças e adultos, notadamente infecções extracelulares (TURNER, 1991; SUMMERFIELD *et al.* 1995 e 1997), bem como o envolvimento da mesma nos processos de opsonização e fagocitose de muitos patógenos. Vários estudos experimentais mostram que a MBL liga-se a microorganismos clinicamente relevantes, incluindo o HIV-1 (Vírus da Imunodeficiência Humana), vírus influenza, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria meningitidis*, *Cândida albicans*, *Leishmania major* e *Leishmania braziliensis* (PRESANIS, KOJIMA, SIM, 2003; EZEKOWITZ, *et al.*, 1989; SUMMERFIELD *et al.*, 1995 e 1997; AMBRÓSIO, MESSIAS-REASON, 2005), *Mycobacterium leprae* e *Mycobacterium tuberculosis* (GARRED *et al.*, 1994).

O provável envolvimento da MBL na facilitação de infecções patogênicas intracelulares baseia-se na suposição de que variantes alélicas responsáveis por baixa concentração sérica da proteína podem conferir relativa proteção frente a uma infecção intracelular, provavelmente pela diminuição da internalização celular dos patógenos (MADSEN *et al.*, 1998).

A presença de variantes alélicas de deficiência de MBL tem sido associada a maior predisposição a várias doenças auto-imunes, como lúpus eritematoso sistêmico e artrite reumatóide. Por outro lado, em situações patológicas onde as ações deletérias de uma reação inflamatória são mediadas pelo complemento e pelo provável envolvimento da MBL, as variantes alélicas conferindo níveis séricos mais baixos de MBL podem diminuir a gravidade das lesões (MADSEN *et al.*, 1998). Estudos sugerem que níveis séricos altos de MBL podem corroborar com a gravidade de uma doença infecciosa ou auto-imune, e as mutações genéticas derivando baixos níveis séricos de MBL, teriam uma conseqüente diminuição da

ação pró-inflamatória da proteína (GRAUDAL *et al.*, 2000; TURNER, 2003). Relatos demonstram o depósito da MBL em tecidos lesionados, revelando sua ação pró-inflamatória e seu envolvimento na patogenia de várias doenças inflamatórias em decorrência da ativação inapropriada do complemento pela via da lectina (ENDO *et al.*, 1998; LHOTTA, WÜRZNER, KONIG, 1999; TURNER, 2003; BONIOTTO *et al.*, 2005).

Valores séricos aumentados de MBL foram evidenciados em pacientes com diabetes tipo 1, sugerindo uma possível função da MBL na patogênese das complicações vasculares e renais da afecção (HANSEN *et al.*, 2003 e 2004). Níveis séricos aumentados da proteína também foram detectados em pacientes com doença reumática cardíaca, corroborando uma possível ação pró-inflamatória da MBL nesta doença (SHAFRANSKI *et al.*, 2004).

A deficiência de MBL foi associada com abortos recorrentes em população sadia (CHRISTIANSEN *et al.*, 1999). Variantes alélicas determinando baixas concentrações da MBL, foram associadas com mau prognóstico e morte prematura de pacientes com fibrose cística (GARRED *et al.*, 1999 a); com o desenvolvimento da Doença de Crohn (SEIBOLD *et al.*, 2004) e da Doença Celíaca (BONIOTTO *et al.*, 2002 e 2005).

GARRED e colaboradores (1994) associaram níveis aumentados de MBL sérica em pacientes da Etiópia, com as formas clínicas mais graves da Hanseníase, sugerindo que níveis deficientes da MBL poderiam conferir proteção frente a esta doença.

A administração da MBL purificada pode ser usada como um potencial tratamento em doenças nas quais a deficiência da proteína tem função relevante na fisiopatologia da mesma (VALDIMARSSON *et al.*, 1998; GARRED *et al.*, 2002). Técnicas de inibição da MBL, como estratégia terapêutica opcional, têm sido cogitadas em situações patológicas onde a ativação da via da lectina é prejudicial (HANSEN *et al.*, 2004), como no caso das lesões de reperfusão após infarto agudo do miocárdio (JORDAN, MONTALTO, STAHL, 2001; WALSH *et al.* 2005).

3.3 PROTEÍNA C-REATIVA (PCR)

3.3.1 Considerações Gerais

A proteína C-reativa (PCR) foi descoberta em 1930 na Universidade de Rockefeller, e a denominação “C-reativa” deve-se ao fato desta proteína reagir com o polissacarídeo C da parede celular do pneumococo (DU CLOS, 2000).

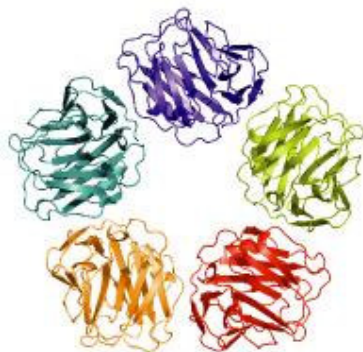
A PCR é sintetizada pelos hepatócitos e liberada no sistema circulatório em resposta a estímulos pró-inflamatórios, principalmente ao estímulo da IL-6. É denominada de proteína de fase aguda por ser liberada rapidamente, num período de 24 – 48 horas, após o estímulo desencadeado por condições inflamatórias adversas em diferentes doenças (JANEWAY; TRAVERS, 2002).

Em pessoas saudáveis os valores circulantes de PCR estão abaixo de 0,5 mg/dl, já em numerosos estados de injúria tecidual, infecção ou inflamação aguda, esses valores podem chegar de 2,0 a 50,0 mg/dl, entre 4-8 horas após um processo inflamatório agudo. A concentração da PCR pode aumentar até 1000 vezes na circulação sanguínea frente a uma resposta inflamatória, trauma ou infecções, decrescendo rapidamente assim que o organismo retorna às condições fisiológicas (VOLANAKIS, 2001).

3.3.2 Estrutura Molecular e Função Biológica

A PCR possui uma estrutura pentamérica, fazendo parte da família das pentraxinas, com peso molecular aproximado de 118 kDa, onde cada subunidade compõe-se de 206 aminoácidos e estão simetricamente arranjadas (FIGURA 5). (VOLANAKIS, 2001).

FIGURA 5 – ESTRUTURA DA MOLÉCULA DA PCR



FONTE: www.rndsystems.com/DAM_public/5727.jpg

Esta proteína apresenta diversas propriedades biológicas, entre as quais se incluem a defesa contra patógenos e a eliminação de células necróticas e apoptóticas, exercendo portanto, importante papel na imunidade inata do hospedeiro. A PCR tem a habilidade de reconhecer patógenos e células danificadas no organismo, desencadeando a sua opsonização e fagocitose. Desempenha suas funções através do recrutamento dos diversos sistemas de defesa, como ativação do sistema complemento e estimulação de sinais inflamatórios para a resposta imune celular e humoral (DU CLOS, 2000; JANEWAY; TRAVERS, 2002).

A PCR reconhece patógenos através de ligação cálcio dependente com ligantes específicos, inicialmente demonstrados pelo polissacarídeo C do pneumococo. A fosfatidilcolina (Phc), presente em diversas bactérias, fungos e membranas celulares danificadas, bem como a cromatina nuclear quando exposta ou desnaturada na apoptose ou na necrose celular, tornam-se ligantes para a PCR. A PCR liga-se também a pequenas partículas nucleares como a ribonucleoproteína (snRNP), importante autoantígeno envolvido no lúpus eritematoso sistêmico. A interação da PCR com receptores para Fc das células leva a um aumento da secreção de citocinas próinflamatórias, intensificando a resposta inflamatória (DU CLOS, 2000; VOLANAKIS, 2001).

A PCR ativa a via clássica do complemento ligando-se ao C1q, mas de maneira mais limitada que os componentes iniciais clássicos da cascata de complemento, ocorrendo assim, menor formação do MAC. Além disso, a PCR estimula a fagocitose, induz a expressão de moléculas de adesão e aumenta a

destruição de células endoteliais (VOLANAKIS, 2001). A PCR também interage com antígenos próprios, por reconhecimento padrão de ligantes específicos, onde é ativamente transportada para o núcleo da célula danificada, ligando-se avidamente a antígenos nucleares, e exercendo a eliminação dos antígenos nucleares e membranas danificadas (DU CLOS, 2000). As principais funções biológicas da PCR parecem estar envolvidas com a defesa do hospedeiro contra patógenos e no “clearance” de células apoptóticas e necróticas (VOLANAKIS, 2001).

Até o presente momento não se tem relatado na literatura, casos de deficiência desta proteína “*in vivo*” (DU CLOS, 2000), provavelmente tal deficiência poderia ser incompatível com a vida.

3.3.3 Utilização Clínica da PCR e hs-PCR

A quantificação da PCR circulante constitui-se em uma das avaliações rotineiras e consagradas no monitoramento de processos inflamatórios. A determinação sérica da PCR é, portanto, usada para monitorar a inflamação em doenças e para monitorar o sucesso do tratamento (DU CLOS, 2000).

Na quantificação ultra-sensível da PCR (hs-PCR) medem-se concentrações mínimas circulantes da PCR através de técnicas como a nefelometria, introduzida na Alemanha em 1996 (LUHR; MODI, 2003).

A determinação da hs-PCR é utilizada em vários estudos na predição de doença cardíaca coronariana, já que os valores de hs-PCR podem ser considerados como fatores de risco para doenças cardiovasculares (RIDKER *et al.*, 2001 e 2002). Demonstrou-se em diversos estudos que valores de PCR abaixo de 0,1 mg/dl, estão associados a um baixo risco de doenças cardiovasculares; valores de 0,1 a 0,3 mg/dl a um risco moderado e valores superiores a 0,3 mg/dl, a um risco elevado para complicações cardíacas. A concentração desta proteína também pode prever os pacientes com maior risco de recorrência de eventos, a curto e longo prazo, pós-procedimento de angioplastia coronariana percutânea (CHUNG *et al.*, 2001; RIDKER *et al.*, 2002).

O uso clínico da quantificação da PCR tem auxiliado no diagnóstico mais preciso de processos incipientes de inflamação (usando-se hs-PCR), bem como no acompanhamento dos pacientes que cursam estados inflamatórios persistentes.

Na hanseníase os relatos de associação com PCR são muito freqüentes, principalmente os estudos envolvendo pacientes com o eritema nodoso (SRIVASTAVA *et al.*,1975; MEDINA *et al.*, 1998; LEAL *et al.*, 2003; FOOS; OLIVEIRA; SILVA, 1993; HUSSAIN *et al.*, 1995).

3.4 HANSENÍASE

A Hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae*, patógeno intracelular obrigatório, que infecta macrófagos e células de Schwann. Danos na pele e nervos periféricos resultam nas deformidades e incapacidades características da doença (ALCAIS *et al.*, 2005). O *M. leprae* foi identificado em 1873 pelo médico norueguês Gerhard Henrik Amauer Hansen, dando origem ao nome da doença.

3.4.1 Histórico

A Hanseníase tem sido documentada desde a antigüidade e ainda continua sendo endêmica em muitos países em desenvolvimento, muitos deles localizados em zonas tropicais e subtropicais (SASAKI *et al.*, 2001).

Historicamente, a discriminação diabólica ou divina como causa das doenças na medicina, foram mencionadas por Hipócrates e seus seguidores, nos períodos de 500 a 400 a. C, na Grécia (MATSUO, 2005). A Hanseníase foi inicialmente então, considerada como uma punição divina para o pecado no Velho Testamento. O termo “lepra” origina-se do Latim “lepros”, que significa mancha, sujeira (SASAKI *et al.*, 2001; ISHII, 2003).

O fato de a doença ser considerada incurável e levar às deformidades graves resultou em um estigma social onde as vítimas sofriam dolorosas discriminações públicas (SASAKI *et al.*, 2001; ISHII, 2003). Na Idade Média (século XII), a alta prevalência de hanseníase no Oriente Médio e na Europa, levou a igreja católica a criar os leprosários para o isolamento dos doentes e profilaxia da doença. Nas Idades Moderna (1453-1789) e Contemporânea (a partir de 1789), ocorreu um declínio na endemia européia, ocasionado principalmente pela melhoria das

condições sócio-econômicas (MEYERS; MARTY, 1991). Neste período surgem focos endêmicos da doença na Ásia e na África, e durante o período de colonização, a América Latina torna-se uma nova área endêmica mundial. Os primeiros casos no Brasil foram notificados em torno de 1600 (BRASIL/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

Os fatos científicos de maior importância na história da hanseníase ocorreram na seguinte cronologia, de acordo com BALIÑA, 1994 e BRASIL/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001.

1873 – A era científica da hanseníase inicia-se quando o médico Gerhard Amauer Hansen identifica o *M. leprae* em amostras dos seus pacientes com a doença. Essa continua sendo considerada hereditária.

1897 – Cria-se uma Sociedade Internacional contra a hanseníase em Berlim. A doença passa a ser vislumbrada como uma enfermidade que poderia ser prevenida, já que era causada por um microorganismo e não mais considerada como hereditária.

1926 – A Sociedade Internacional de Leprologia é fundada em Paris.

1948 – Descoberta das sulfonas pelo grupo do pesquisador Guy Henry Faget; a hanseníase entra na era das quimioterapias.

1953 – Surge o segundo agente quimioterápico, a thiosemicarbazona. Os leprosários têm seu fim e os pacientes passam a ser tratados em regime ambulatorial. A utilização da dapsona e seus derivados causam uma revolução no tratamento da hanseníase. O estigmatizante isolamento dos pacientes não é mais necessário.

1963 – No VIII Congresso Internacional de Hanseníase no Rio de Janeiro, o termo “lepra” é eliminado. A hanseníase é considerada como qualquer outra doença, onde a reabilitação social do paciente ganha enfoque para os clínicos. O quadro social da hanseníase começa a modificar-se e a doença passa a ser encarada como um problema de saúde pública e a ser tratada em serviços gerais de saúde.

1966 – Dennis S. Ridley e William H. Jopling classificam a doença em várias formas clínicas. Tal classificação é usada até hoje, de maneira espectral, subdividindo-se a doença em dois pólos distintos, os quais expressam a imunidade do paciente e constando entre eles formas interpolares (RIDLEY; JOPLING, 1966).

1973 – Após 100 anos da descoberta do *M. leprae* têm-se a introdução de rifampicina e clofazmina como terapia de multidrogas, aumentando a eficácia do

tratamento. Os bacilos começam a desenvolver resistência ao medicamento dapsona, o que leva, em 1982, a Organização Mundial da Saúde (OMS) a recomendar um novo tratamento quimioterápico para a hanseníase, constituído pela combinação de medicamentos, a poliquimioterapia (PQT).

3.4.2 Epidemiologia

Com a eficiência da PQT, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou em 1991 que a hanseníase seria eliminada no ano 2000, com uma prevalência de menos de 1 caso por 10.000 indivíduos. Dos 122 países com a hanseníase em condições endêmicas em 1985, 112 tinham eliminado a doença em 2003 e mais de 13 milhões de pacientes tinham sido curados pela PQT. Nota-se, no entanto, um declínio na prevalência, mas a incidência de novos casos continua alta, com 700.000 novos casos por ano (LOCKWOOD; SUNEETHA, 2004; ALCAIS *et al.*, 2005). A concentração de 83% dos novos casos registrados encontra-se na Índia, Brasil, Burma, Indonésia, Madagascar e Nepal, com a Índia sendo responsável por 64% dos casos de hanseníase do mundo. O Brasil continua sendo o segundo país em número de casos no mundo, apesar de todo o esforço para sua eliminação (BRITTON; LOCKWOOD, 2004; ARAUJO, 2003).

A doença persiste apesar da melhoria no controle da hanseníase através da detecção dos países endêmicos, do uso da PQT limitando a transmissão do *M. leprae* e do fato do homem ser considerado o único reservatório natural do bacilo. (ALCAIS *et al.*, 2005). Além do homem, tem-se relatos de animais selvagens naturalmente infectados, como tatus e macacos (ARAUJO, 2003).

Epidemiologistas declaram que há muitos conceitos remanescentes que devem ser resgatados para explicar o grande número de novos pacientes que surgem por ano apesar da quimioterapia (LOCKWOOD; SUNEETHA, 2004). Descreveu-se a possibilidade de a infecção originar-se além da transmissão pelo paciente humano. O maior enfoque se dá às incapacidades resultantes da doença e ao fato de que o número de casos reportados pode não ser reflexo das reais condições mundiais (MATSUO, 2005). Um aspecto preocupante é a prevalência oculta de novos casos esperados, que não estão sendo diagnosticados ou o são tardiamente. O diagnóstico precoce da doença e o reconhecimento imediato dos

quadros reacionais garantem a interrupção da cadeia de transmissão e a prevenção das incapacidades físicas (ARAUJO, 2003).

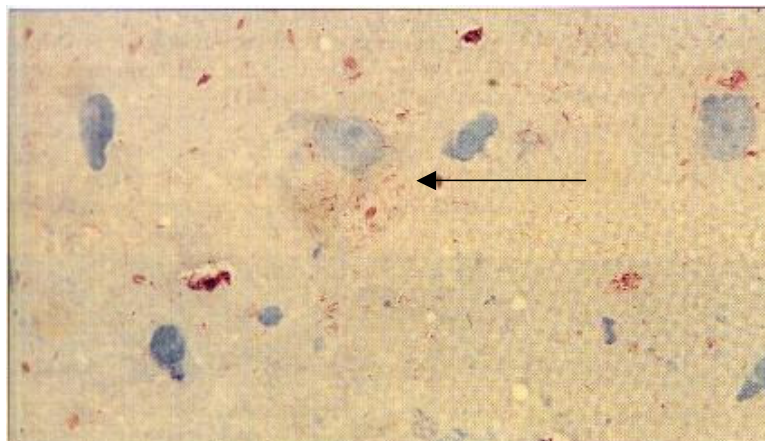
Apesar de a hanseníase predominar em países mais pobres e na população menos favorecida, não se tem explicações, até o momento, para interferentes como moradia, estado nutricional, infecções concomitantes e infecções prévias por outras micobactérias. A participação de fatores genéticos há tempos tem sido avaliada, e a distribuição da doença em conglomerados, famílias ou comunidades com antecedentes genéticos comuns, reforçam esta possibilidade (ARAUJO, 2003).

Faz-se necessário um maior estudo sobre a doença, levando em consideração uma pesquisa histórica da hanseníase, para entender a epidemiologia presente e as prevenções necessárias para o futuro (MATSUO, 2005).

3.4.3 Etiologia

O *M. leprae*, agente etiológico da hanseníase (FIGURA 6), é um bacilo álcool-ácido resistente (BAAR); bactéria intracelular obrigatória com tropismo pelas células de Schwann e pelos macrófagos (ARAÚJO, 2003; BRITTON; LOCKWOOD, 2004). É um bastonete reto ou ligeiramente encurvado, de 1,5 a 8 micra de comprimento por 0,2 a 0,5 micra de largura (GOULART; PENNA; CUNHA, 2002). Multiplica-se muito lentamente, podendo levar de 12 a 14 dias, e prefere desenvolver-se nas extremidades do corpo humano, onde as temperaturas são mais baixas. Não pode ser cultivado “*in vitro*”, mas modelos animais são utilizados no seu estudo e reprodução, como os tatus e os camundongos timentomizados e irradiados (SASAKI *et al.*, 2001; ARAUJO, 2003; BRITTON; LOCKWOOD, 2004).

FIGURA 6 – *MYCOBACTERIUM LEPRAE* - AGENTE ETIOLÓGICO DA HANSENÍASE



FONTE: HART e SHEARS, (1996)

NOTA: Coloração de Ziehl-Nielsen

A parede celular do bacilo é altamente complexa, contendo proteínas, glicolípídeos fenólicos, arabinoglicanas, peptideoglicanas e ácidos mucólicos. Anticorpos contra o glicolípídeo fenólico - 1 (PGL-1) do *M. leprae* podem ser detectados entre os pacientes e indivíduos saudáveis de uma área endêmica, sugerindo que os níveis desses anticorpos poderiam refletir a carga bacteriana. Quantificações desses anticorpos podem ser usadas no monitoramento de pacientes e grupos de risco para a hanseníase, e na definição de parâmetros para o monitoramento de pacientes tratados com a quimioterapia. Apesar do uso dos anticorpos com o propósito de diagnóstico, ainda não foi reportada a atividade de neutralização dos mesmos contra os bacilos da hanseníase (SASAKI *et al.*, 2001).

O período de incubação entre a infecção e o aparecimento da doença varia de meses a 30 anos, e é estimado em 4 anos para a forma tuberculóide e 10 anos para a forma lepromatosa, permitindo baixas taxas, mas contínuas, de transmissão da hanseníase por muitas décadas, apesar dos programas de controle da infecção (BRITTON; LOCKWOOD, 2004).

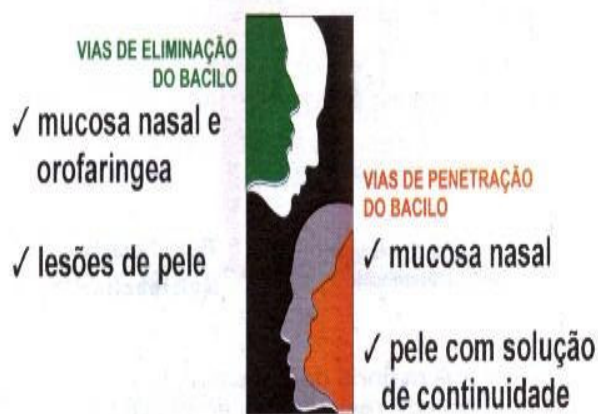
Com o completo seqüenciamento do genoma do *M. leprae*, observou-se menor número de vias metabólicas no *M. leprae* quando comparado ao *M. tuberculosis*. Isto poderia explicar a intensa dependência do *M. leprae* pelos produtos metabólicos do hospedeiro, bem como sua inabilidade de crescer em

culturas e seu longo período de latência (ALCAIS *et al.*, 2005; COLE *et al.*, 2001; SASAKI *et al.*, 2001).

Não há evidências de que a variação genética influencie a virulência do *M. leprae* (BRITTON; LOCKWOOD, 2004). Do ponto de vista filogenético, o *M. leprae* é distinto das outras espécies de micobactérias, necessitando de infecção em modelos animais “*in vivo*” e estudos com linhagens celulares humanas “*in vitro*”, realizados com a própria espécie em questão, para tentar elucidar a imunologia básica da hanseníase (ALCAIS *et al.*, 2005).

A possível sobrevivência do bacilo em musgos e no solo já foi reportada intrigando os pesquisadores sobre possíveis condições de sobrevivência “*in natura*” distintas da “*in vitro*” e a possibilidade de infecções também em animais além de humanos. Possibilidades da ocorrência de mais de um agente etiológico na hanseníase também tem sido especulado por alguns estudiosos, onde referências a uma infecção dupla entre um outro organismo e o *M. leprae*, poderia ajudar a elucidar a sobrevivência do *M. leprae* “*in natura*” e no próprio paciente (MATSUO, 2005).

O principal meio de transmissão do *M. leprae* é provavelmente por aerossóis oriundos de secreção nasal de vias aéreas superiores do doente, que adentrariam pela mucosa respiratória nasal de um indivíduo saudável, disseminando a doença (BRITTON; LOCKWOOD, 2004). As vias aéreas superiores constituem então, a principal porta de entrada e via de eliminação do bacilo (ARAUJO, 2003) (FIGURA 7). O bacilo não penetra na pele intacta (BRITTON; LOCKWOOD, 2004), ocorrendo também a possibilidade da eliminação do bacilo através de lesões da pele e da penetração destes através de pele com solução de continuidade (BRASIL/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001). As secreções orgânicas como leite, esperma, suor e secreção vaginal, podem eliminar bacilos, mas não possuem importância na disseminação da infecção (ARAUJO, 2003).

FIGURA 7 – VIAS DE ELIMINAÇÃO E PENETRAÇÃO DO *M. leprae*

FONTE: BRASIL/MINISTÉRIO DA SAÚDE (2001)

Os doentes diferem quanto ao grau de resistência ao bacilo. Os doentes com maior resistência ao bacilo são os casos paucibacilares (casos PB), que abrigam pequena carga bacilar no organismo, e não são considerados fontes potenciais de transmissão da doença, apesar de já ter sido demonstrado o papel dos paucibacilares na cadeia de transmissão. Já os doentes que não apresentam resistência suficiente ao bacilo são os casos multibacilares (casos MB) e abrigam um grande número de bacilos, podendo infectar outras pessoas. A existência de portadores sadios tem sido comprovada utilizando-se a técnica de reação em cadeia da polimerase na detecção de DNA do bacilo, entretanto, o papel desses na transmissão e o seu risco de adoecimento não está bem definido (BRASIL/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001; ARAUJO, 2003).

Quando o doente inicia o tratamento quimioterápico, deixa de transmitir a doença porque já nas primeiras doses da medicação, os bacilos tornam-se inviáveis. Apesar de o bacilo viável ter a capacidade de infectar um grande número de pessoas (alto poder infectante), apenas cerca de 5 a 10% das pessoas infectadas adoecem (baixo poder patogênico), mesmo quando vivem em regiões de alta prevalência da doença. O aparecimento da doença e suas diferentes manifestações clínicas, dependem da resposta imune do organismo atingido, dos níveis de endemia na região e das condições sócio-econômicas do indivíduo (BRASIL/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

3.4.4 Diagnóstico e Formas Clínicas da Doença

As manifestações da hanseníase ocorrem na forma de determinados sinais e sintomas dermatoneurológicos, que podem levar a suspeita e ao diagnóstico clínico da doença (BRASIL/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001). A predileção do *M. leprae* pela pele e nervos periféricos confere características peculiares a esta moléstia, e o dano neurológico é responsável pelas seqüelas posteriores (ARAUJO, 2003).

Não ocorrendo a destruição do *M. leprae* depois da sua entrada no organismo, este irá localizar-se nas células de Schwann e na pele. A disseminação para outros tecidos como linfonodos, olhos, testículos e fígado, ocorre nas formas mais graves da doença, quando o bacilo não encontra resistência contra a sua multiplicação (ARAUJO, 2003).

O diagnóstico da hanseníase baseia-se em sinais clínicos e nos sintomas característicos da doença através do exame físico do paciente. O Ministério da Saúde define como caso de hanseníase para tratamento, a presença de um ou mais destes achados: lesão de pele com alteração de sensibilidade, espessamento de tronco nervoso ou baciloscopia positiva da pele. O exame baciloscópico, ou baciloscopia é um exame laboratorial que fornece informações sobre a presença do bacilo *M. leprae* nas lesões suspeitas. Pode-se realizar o exame histopatológico da pele nos casos de dúvidas diagnósticas ou na classificação, utilizando-se a biópsia do nervo para diagnóstico diferencial com outras neuropatias. A reação de Mitsuda, reação padrão da imunidade mediada por células, é um teste de aplicação intradérmica e leitura tardia (28 dias), utilizado na classificação da doença e na definição do prognóstico. Já a pesquisa do anticorpo anti-PGL-1 é utilizado para relacionar a presença do mesmo com a forma clínica e a evolução da doença (BRASIL/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001; ARAUJO, 2003).

A capacidade de resposta imunológica celular, avaliada através da reação de Mitsuda, em associação à carga bacilar, podem assinalar a potencialidade da resposta imune do paciente. Assim, os indivíduos suscetíveis à doença apresentam quantidade elevada de bacilos (medida pelo índice baciloscópico) e ausência de resposta imune celular (Mitsuda negativo); enquanto os resistentes têm hiper-

reatividade imunológica celular (Mitsuda positivo) e ausência de bacilos na lesão. Nas formas dimorfas pode ocorrer um equilíbrio entre estes dois fatores (TALHARI; NEVES, 1997; FOSS, 1999).

As classificações das formas clínicas da doença, mais usadas no Brasil, são as de Madri (Congresso Internacional de 1953) e a de Ridley e Jopling (proposta em 1966). A de Madri considera dois pólos estáveis e opostos (virchowiano e tuberculóide) e dois grupos instáveis (indeterminado e dimorfo) que evoluíram para um dos pólos, na evolução natural da doença. A classificação proposta por Ridley e Jopling é utilizada em pesquisas e classifica a doença de maneira espectral, subdividindo-a em dois pólos distintos (virchowiana e tuberculóide) constando entre elas formas interpolares baseadas num espectro de resistência do hospedeiro (ARAUJO, 2003). As formas polares tuberculóide e virchowiana são bem caracterizadas e estáveis, com diferenças evolutivas, clínicas e imunológicas marcantes (FOSS, 1999).

Geralmente, a doença inicia-se pela hanseníase indeterminada (HI) (FOSS, 1999), e dependendo do sistema imunológico do indivíduo, a HI pode evoluir para a cura espontânea na maior parte dos casos, ou em cerca de 25% dos casos para as demais formas (BRASIL/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001). A HI caracteriza-se por um longo período de incubação (2 a 5 anos) com presença de manchas hipocrômicas únicas ou múltiplas na pele, de limites imprecisos, com alteração de sensibilidade térmica e com sensibilidade dolorosa e tátil variável (FIGURA 8). A baciloscopia é negativa, classificada para fins de tratamento como paucibacilar (PB) e não há evidência de lesão nervosa troncular (BRASIL/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001; ARAUJO, 2003).

A hanseníase tuberculóide (HT) representa um dos pólos da doença, sendo considerada a forma benigna e não contagiosa da doença pela alta resistência do hospedeiro à infecção pelo *M. leprae* (FOSS, 1999). A HT caracteriza-se por um número reduzido de lesões em placa na pele, com bordas delimitadas, eritematosas, ou por manchas hipocrômicas nítidas e bem definidas (FIGURA 9). Apresenta queda de pêlos e alteração das sensibilidades térmica, dolorosa e tátil. A baciloscopia é negativa, classificada para fins de tratamento como paucibacilar (PB) e o comprometimento de troncos nervosos ocorre geralmente de forma assimétrica. Pode ocorrer a cura espontânea assim como na HI (BRASIL/MINISTÉRIO DA

SAÚDE, 2001). A imunidade humoral é normal ou diminuída e a imunidade celular está exacerbada (BRITTON, 1993).

No outro pólo espectral, encontra-se a hanseníase virchowiana (HV), também denominada hanseníase lepromatosa (HL), caracterizada por profunda depressão da imunidade celular. Representa a forma mais grave e altamente contagiosa da doença pela intensa multiplicação bacilar. Caracteriza-se pela disseminação de lesões de pele eritematosas, infiltrativas, brilhantes, de limites imprecisos e distribuição simétrica (FIGURA 10). Pode haver infiltração difusa da face e de pavilhões auriculares com perda de cílios e supercílios. É uma forma de manifestação sistêmica, podendo disseminar a doença por todo o organismo, atingindo olhos, nervos, testículos, rins, vias aéreas superiores, linfonodos, baço e fígado. Existem alterações de sensibilidade nas lesões de pele, acometimento dos troncos nervosos, baciloscopia positiva e classificação da forma clínica como multibacilar (MB) para fins de tratamento (BRASIL/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001; ARAUJO, 2003).

FIGURA 8 - HANSENÍASE INDETERMINADA

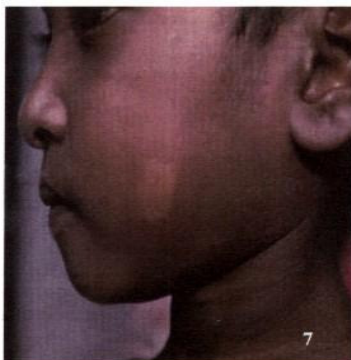


FIGURA 9 – HANSENÍASE TUBERCULÓIDE



FIGURA 10 – HANSENÍASE VIRCHOWIANA



FONTE: BRASIL/MINISTÉRIO DA SAÚDE (2001).

Entre os pólos da HV e HT estão os casos intermediários ou “borderline” denominados de dimorfos, sendo eles: dimorfa virchowiana (DV), dimorfa dimorfa (DD) e dimorfa tuberculóide (DT) (FOSS, 1999). A instabilidade imunológica do indivíduo é refletida na grande variação de manifestações clínicas na pele, nos nervos e a nível sistêmico, com oscilações clínicas bacterioscópicas, histopatológicas e imunológicas que se aproximam ora do pólo tuberculóide, ora do virchowiano (MEYERS; MARTY, 1991; ARAUJO, 2003). Estas formas apresentam baciloscopia positiva ou negativa, e são classificadas como multibacilar (MB) para fins de tratamento (BRASIL/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

O tratamento integral da hanseníase envolve a quimioterapia, a prevenção das incapacidades físicas e reabilitação física e psicossocial do paciente, com o efeito de controlar a doença e interromper sua transmissão, e também recuperar os pacientes na sua totalidade (BRASIL/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001; ARAUJO, 2003).

3.4.5 Imunopatogênese

A evolução e a fisiopatologia da hanseníase estão relacionadas às alterações imunológicas decorrentes da relação patógeno-hospedeiro, sendo que aspectos imunológicos característicos e sua relação com as formas clínicas tornam-se fundamentais para o entendimento da doença (FOSS, 1999).

A defesa contra o *M. leprae* é constituída essencialmente pela resposta imune mediada por células, especialmente macrófagos e linfócitos T, que por meio de efetiva integração de suas atividades podem ou não destruir e eliminar os bacilos. A destruição ou a multiplicação do bacilo dentro do macrófago pode ser determinada por mecanismos imunológicos que envolvem a apresentação de antígeno pelo Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC), geneticamente determinado. Na forma tuberculóide predomina o fenótipo HLA-DR2 e HLA-DR3, padrão de resistência à doença; na hanseníase virchowiana e dimorfo-virchowiana predomina o fenótipo HLA-DQ1, relacionado à suscetibilidade (FOSS, 1999; ARAUJO, 2003).

O microorganismo é internalizado na célula fagocítica principalmente através de receptores de complemento na superfície dos fagócitos (SCHLESINGER;

HORWITZ, 1990). Os antígenos micobacterianos internalizados, são então processados, associados às moléculas HLA de classe II do MHC e apresentados na superfície da célula fagocítica aos linfócitos T (TALHARI; NEVES, 1997; BRITTON, 1993). Dependendo da subpopulação de célula T envolvida e da atividade macrófaga, haverá predominância de mecanismos de defesa ou de disseminação da doença, expressos clinicamente pelas formas tuberculóide e virchowiana, respectivamente (FOSS, 1999).

Nas lesões tuberculóides, há predomínio de células T auxiliares CD4+ e citocinas Th1, como IL-2 e IFN- γ . A exacerbação da imunidade celular e a produção das citocinas inflamatórias (IL-1 e TNF- α) impedem a proliferação bacilar, mas pode se tornar lesiva ao organismo, causando lesões cutâneas e neurais pela ausência de fatores regulatórios. Já nas lesões virchowianas, o predomínio é de células T supressoras CD8+ e citocinas Th2, como IL-4, IL-5 e IL-10. A produção de antígenos PGL-1 e LAM (lipoarabinomanana) pelo bacilo no interior do macrófago, suprimem a atividade macrófaga, favorece o escape do bacilo à oxidação intramacrófaga e aumenta sua disseminação (ARAUJO, 2003).

O antígeno de membrana PGL-1, específico do *M. leprae*, leva à formação de anticorpos de classe IgG e IgM, onde os títulos de IgM relacionam-se com a forma clínica e a atividade da doença. Ativação da resposta humoral, com níveis aumentados de anticorpos específicos anti-PGL-1 e de antígenos-PGL-1 têm sido descritos na HV e DV, e tendem a decrescer com o tratamento específico, já na HT não se observa esta resposta (FOSS, 1999; ARAUJO, 2003). A determinação dos níveis séricos do anticorpo anti-PGL-1 tem sido utilizada para monitorar recidivas da doença, observando-se a correlação positiva entre os níveis de anti-PGL-1 e índice baciloscópico (GOULART, PENNA, CUNHA, 2002).

Apesar da produção de anticorpos específicos contra o *M. leprae* em grandes quantidades nas formas multibacilares, esses são funcionalmente ineficazes na eliminação dos bacilos (ARAUJO, 2003).

Além da presença das diferentes citocinas interferindo na defesa ou resistência à infecção, a produção de mediadores de oxidação, como reativos intermediários do oxigênio (ROI) e do nitrogênio (RNI), são elementos fundamentais para a destruição bacilar no interior de macrófagos. Entretanto, o *M. leprae* pode apresentar mecanismos de escape à oxidação intramacrófaga, pela produção dos

antígenos PGL-1 e LAM que possuem função supressora da atividade macrofágica. A presença do bacilo e/ou de seus componentes está associada a uma depressão da resposta macrofágica e supressão da imunidade celular (TALHARI; NEVES, 1997; FOSS, 1999).

A citocina TGF- β 1 (fator transformador do crescimento-beta 1), um dos mais potentes imunossuppressores endógenos e supressor da atividade macrofágica, está presente em quantidades acentuadas nas lesões infiltrativas de HV, em níveis decrescentes nas formas interpolares e ausentes nas formas granulomatosas de HT.

Postula-se que a indução precoce do TGF- β seria essencial para estabelecer o curso da infecção hansênica, determinando a proliferação bacilar descontrolada dentro do macrófago, promovendo o desenvolvimento do padrão de resposta Th2 observado na forma HV, com inibição da resposta Th1. Além disso, uma subclasse de células T CD4+ supressoras (Th3), poderia ser ativada na presença de grandes quantidades de IL-4, como na forma HV, induzindo a produção de TGF- β por essas células nas lesões HV. Observou-se também que o PGL-1, em grande quantidade nos casos multibacilares HV estimula a produção de TGF- β (GOULART, PENNA, CUNHA, 2002).

Os quadros de depressão imunológica dos casos de HV podem ser interrompidos por episódios abruptos de alteração da resposta imune, como na reação do tipo 2 ou eritema nodoso (EN), onde se tem uma hiperatividade imunológica caracterizada por produção acentuada de citocinas inflamatórias e redução de citocinas reguladoras da atividade macrofágica (IL-4 e TGF- β). Observam-se altos níveis de PCR, TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-6, ROI e anti-PGL-1, envolvidos na sintomatologia do EN e no favorecimento da destruição bacilar (TALHARI, NEVES, 1997; FOSS, 1999; GOULART, PENNA, CUNHA, 2002).

Os estados reacionais de alterações no balanço imunológico entre o hospedeiro e o *M. leprae*, podem ocorrer durante o curso natural da doença, durante o tratamento e mesmo após o tratamento quando o paciente é considerado curado bacteriologicamente. Estes episódios agudos afetam principalmente pele e nervos, sendo a principal causa de morbidade e incapacidade da função do nervo periférico. São classificados em reação tipo 1 ou reação reversa (RR), que ocorre freqüentemente em paucibacilares e associa-se a um aumento abrupto da resposta imune mediada por células contra os antígenos do *M. leprae*, e em reação tipo 2 ou

EN, já mencionada, que ocorre em pacientes multibacilares e caracteriza uma reação inflamatória sistêmica com imunocomplexos circulantes. No EN, além da pele e nervos, pode-se ter envolvimento de outros órgãos como linfonodos, baço, peritônio, testículos, olhos, articulações, tendões, músculos e ossos. Pode haver febre, leucocitose, estimulação policlonal de anticorpos, ativação do sistema complemento e presença de imunocomplexos nos tecidos lepromatosos (GOULART, PENNA, CUNHA, 2002).

O destino da infecção pelo *M. leprae* depende de determinadas citocinas, onde se insere a predisposição genética do indivíduo na suscetibilidade ou resistência à infecção pelo bacilo. Genes do complexo HLA (Antígeno Leucocitário Humano) não conferem suscetibilidade à hanseníase, mas, ao padrão clínico da doença. Novas evidências sugerem o envolvimento de outros genes não HLA, como o *NRAMP1* (gene da proteína 1 do macrófago associado à resistência natural) localizado no cromossomo 2 e o VDR (gene receptor de vitamina D) no cromossomo 12, na patogênese da Hanseníase (GOULART, PENNA, CUNHA, 2002). Polimorfismos e mutações em diversos genes têm sido associados com a hanseníase, como: genes do *TNF*, da *IL-10*, de receptores Toll-like (*TLR*), da *MBL-2*, da laminina $\alpha 2$ (*LAMA2*) e genes envolvidos na doença de Parkinson (*PARK2* e *PACRG*) (REMUS; ALCAIS; ABEL, 2003; MIRA *et al.*, 2004; BRITTON; LOCKWOOD, 2004; ALCAIS *et al.*, 2005). Os fatores genéticos do hospedeiro têm efeito tanto no desenvolvimento da hanseníase, quanto no padrão da doença (ALCAIS *et al.*, 2005).

3.4.6 O Sistema Complemento e a MBL na Hanseníase

A participação do complemento na fisiopatologia da hanseníase foi demonstrada por vários autores em estudos clínicos e experimentais (SAHA *et al.*, 1983; RAMANATHAN, 1991; RAMANATHAN, *et al.*, 1998) com ativação da via alternativa (SAHA *et al.*, 1983; SCHELESINGER e HORWITZ, 1990; RAMANATHAN, 1991), e da via clássica (SCHLESINGER e HORWITZ, 1991a; 1994).

Foi demonstrado que o *M. leprae* é fagocitado por células mononucleares, através dos receptores de complemento CR1 e CR3, e que a aderência do *M. leprae* aos receptores das células fagocíticas é dependente da fixação de fragmentos de C3 (C3b) na superfície bacteriana. Neste mesmo estudo, um experimento usando soro deficiente de fator B confirmou a importância da via alternativa de ativação do complemento, mediando a fixação de C3 ao *M. leprae*, a aderência da bactéria aos receptores dos monócitos e a consequente fagocitose do microorganismo (SCHLESINGER; HORWITZ, 1990). Outro experimento, do mesmo grupo, demonstrou que os receptores CR1 e CR3 dos monócitos e os CR1, CR3 e CR4 dos macrófagos derivados dos monócitos, estão envolvidos na fagocitose no *M. leprae* (SCHLESINGER; HORWITZ, 1991a). Alguns autores observaram que certas moléculas de membrana do bacilo, como PGL-1, servem de ligantes para os produtos de ativação do C3 e para C1q, mediando a fagocitose do *M. leprae*. Foi evidenciada, também, a ávida ligação do C1q ao PGL-1 do *M. leprae*, ativando a via clássica do complemento (SCHLESINGER; HORWITZ, 1991b).

Alguns autores levantam a hipótese da participação de anticorpos naturais de um soro não imune, mediando a ligação do C1q ao PGL-1, o que desencadearia a ativação do sistema complemento pela via clássica, a fixação de fragmentos do C3 no microorganismo e a consequente fagocitose do microorganismo pela interação aos receptores dos fagócitos. Tais anticorpos naturais estariam desempenhando importante função na patogênese da hanseníase, podendo até influenciar na evolução para as diferentes formas clínicas da hanseníase (SCHLESINGER; HORWITZ, 1994).

O real mecanismo na falência da indução da explosão oxidativa do fagócito, impossibilitando a destruição do *M. leprae*, poderia ter um provável envolvimento do sistema complemento. A interação entre proteínas do complemento na membrana da bactéria e receptores de complemento do fagócito poderia estar contribuindo de alguma forma para ajudar na paralisação do fagócito, proporcionando a sobrevivência do *M. leprae* e o estabelecimento da infecção intracelular (SCHLESINGER; HORWITZ, 1991b; PARKASH; SENGUPTA, 1991).

RAMANATHAN e colaboradores observaram que o número de receptores CR1 presentes nas hemácias de pacientes com HL apresenta-se reduzido quando comparados aos casos de HT. A redução do número de CR1 acarreta no aumento

de imunocomplexos circulantes, predispondo aos estados reacionais, em especial o EN nas formas clínicas mais graves da doença. Altos índices de complexos imunes circulantes e de enzimas lisossomais, considerados como potenciais ativadores do sistema complemento, foram detectados em pacientes hansênicos (RAMANATHAN, 1991).

Outros autores também sugerem que a deficiência de C4B tem um papel imunogenético importante na hanseníase, influenciando na forma clínica da doença e na imunopatogenia do eritema nodoso (MESSIAS *et al.*, 1993).

GARRED e colaboradores (1994) demonstraram em estudos funcionais que a MBL liga-se fortemente ao *M. leprae*, sugerindo a participação desta proteína na invasão dos fagócitos pela micobactéria. Os autores demonstraram, em um estudo com 36 pacientes com hanseníase lepromatosa e dimorfa-lepromatosa, que esses apresentavam níveis significativamente elevados de MBL sérica em relação a 26 controles saudáveis. Ainda nesse estudo, sugeriu-se que a opsonização pela MBL sérica poderia estar favorecendo a entrada do patógeno nas células e que uma baixa concentração sérica de MBL poderia conferir resistência à infecção pela micobactéria.

Não foram encontrados estudos de associação com MBL sérica e hanseníase envolvendo pacientes brasileiros.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (ANEXO 1) e da Secretaria Estadual de Saúde do Paraná; e envolveu um total de 285 indivíduos residentes no sul do Brasil, entre pacientes e grupo controle sadio. Todos os pacientes foram informados dos objetivos da pesquisa e preencheram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

4.1 CASUÍSTICA

4.1.1 Pacientes

Foram selecionadas consecutivamente amostras de soros de 175 pacientes com diagnóstico confirmado de hanseníase, apresentando diferentes formas clínicas da doença, com ou sem tratamento, curados ou não, no período de agosto de 2002 a agosto de 2003. Todos os pacientes passaram por acompanhamento nos ambulatórios de hanseníase do Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR) ou do Centro Regional de Especialidades-Barão (CRE-Barão) da Secretaria do Estado do Paraná, além dos que estavam internados no Hospital de Dermatologia Sanitária do Paraná (HDSPR).

Dentre os 175 pacientes, 107 (61,14%) eram do sexo masculino e 68 (38,86%) eram do sexo feminino (GRAFICO 1), com faixa etária variando de 19 e 94 anos (mediana = 52 anos) no momento da análise. A classificação étnica dos pacientes foi feita de acordo com a cor da pele, traços fisionômicos e ascendência. A amostra em estudo foi caracterizada da seguinte forma: 137 (78,29%) pacientes caucasóides, 13 (7,43%) pacientes mulatos, 23 (13,14%) pacientes negros e 2 (1,14%) pacientes índios (GRÁFICO 2).

GRÁFICO 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM HANSENÍASE DE ACORDO COM O SEXO

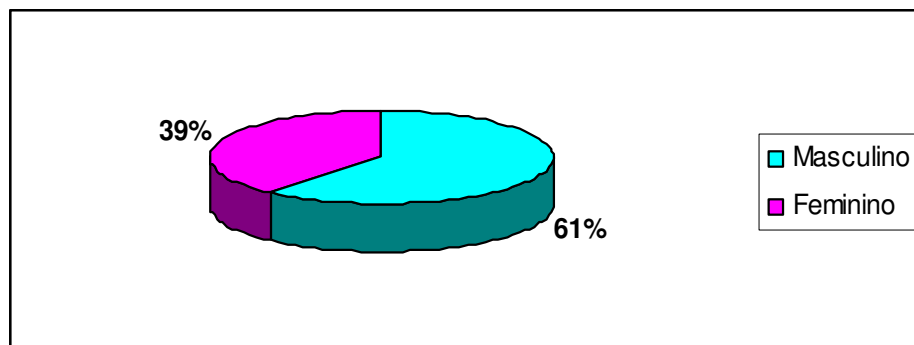
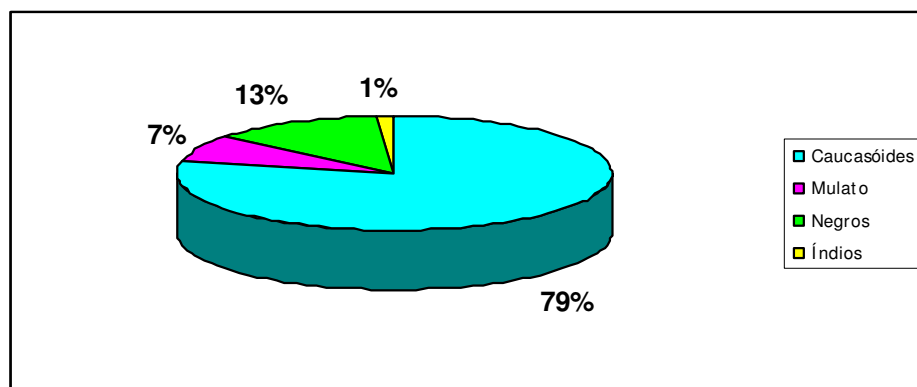


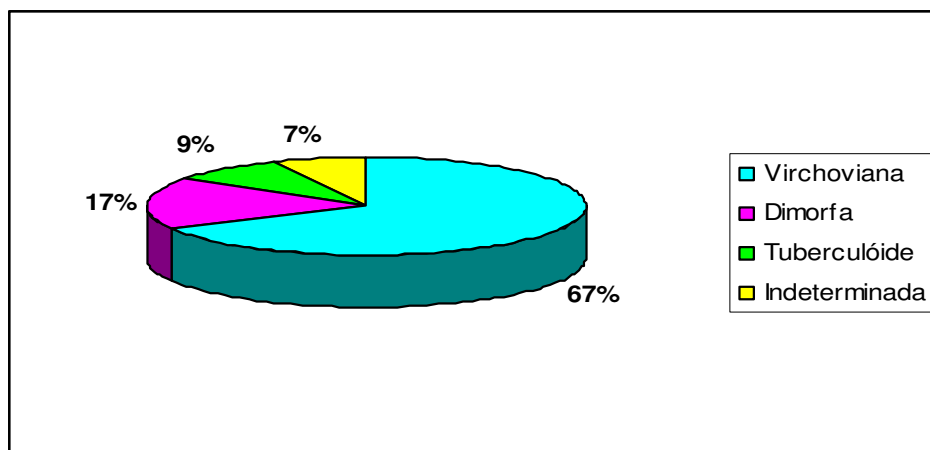
GRÁFICO 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM HANSENÍASE DE ACORDO COM O GRUPO ÉTNICO



A classificação da forma clínica da doença de cada paciente foi obtida da ficha do SINAN (Ficha do Sistema de Informações de Agravos de Notificação) e do prontuário médico. Para a avaliação das formas clínicas da doença, foi utilizada a classificação de Ridley e Jopling (1966). Dos 175 pacientes, 118 (67,4%) apresentavam a forma virchowiana (lepromatosa), 15 (8,6%) a forma tuberculóide, 30 (17,1%) as formas dimorfas e 12 (6,9%) a forma indeterminada (GRÁFICO 3).

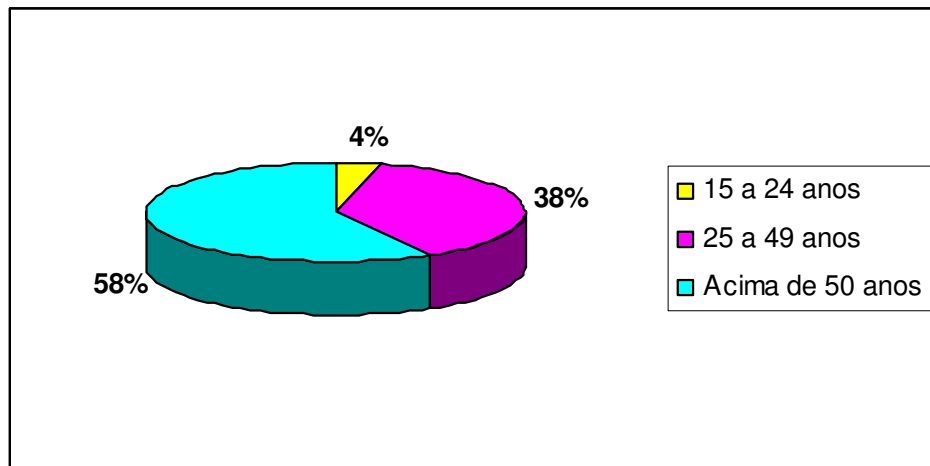
Foram excluídos do estudo, os pacientes portadores de hanseníase que não apresentavam forma clínica especificada. Em algumas análises, os pacientes com as formas clínicas tuberculóide, dimorfa e indeterminada foram reunidos em um único grupo denominado de TDI.

GRÁFICO 3 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM HANSENÍASE DE ACORDO COM A FORMA CLÍNICA DA DOENÇA



Os pacientes e controles foram divididos em 3 grupos por faixa etária: 19 a 24 anos, 25 a 49 anos e acima de 50 anos. As faixas etárias foram escolhidas para facilitarem o pareamento entre pacientes e controles. Dos 175 pacientes analisados, 7 (4%) estavam no grupo etário de 19 – 24 anos, 66 (37,7%) no grupo etário de 25 – 49 anos e 102 (58,3%) no grupo etário ≥ 50 anos (GRÁFICO 4).

GRÁFICO 4 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM HANSENÍASE DE ACORDO COM A FAIXA DE IDADE



As informações dos pacientes relativas à idade, sexo, etnia, forma clínica da doença, concentração de MBL, concentração de PCR e dados clínicos, encontram-se no apêndice 1.

4.1.2 Controles

Foram estudadas amostras de soro de 110 indivíduos voluntários e saudáveis, selecionados principalmente entre os profissionais da área de saúde do HC da UFPR e entre doadores do Banco de Sangue do HC da UFPR. Estas amostras foram pareadas com as amostras dos pacientes em relação ao sexo, idade e grupo étnico. Entre os indivíduos do grupo controle, 67 (60,91%) eram do sexo masculino e 43 (39,09%) eram do sexo feminino, com faixa etária variando de 19 e 78 anos (mediana = 51 anos). Dos 110 controles analisados, 5 (4,5%) estavam no grupo etário de 19 – 24 anos, 41 (37,3%) no grupo etário de 25 – 49 anos e 64 (58,2%) no grupo etário ≥ 50 anos. Referente ao grupo étnico, 87 (79,09%) controles foram classificados como caucasóides, 8 (7,27%) como mulatos, 14 (12,73%) como negros e 1 (0,91%) como índio (APÊNDICES 3 a 5).

As informações do grupo controle relativas à idade, sexo, etnia, concentração de MBL e concentração de PCR, encontram-se no apêndice 2.

4.2 METODOLOGIA

4.2.1 Quantificação Sérica de MBL

A avaliação da concentração sérica da MBL foi realizada através de ensaio imunoenzimático (ELISA - *enzyme-linked immunosorbent assay*), utilizando-se kits comerciais (*Staten Serum Institute*, Dinamarca). Foram considerados como valores altos aqueles acima de 1000 ng/ml. Valores entre 100 e 1000 ng/ml foram considerados como médios. Os indivíduos com valores de MBL sérica abaixo de 100 ng/ml foram considerados como baixos ou deficientes.

O ensaio de ELISA foi realizado em microplacas adsorvidas com anticorpo monoclonal dirigido contra o domínio de carboidrato da MBL. Todos os reagentes foram fornecidos pelo fabricante.

As amostras de soro dos pacientes, dos controles sadios e dos soros de controle interno da técnica foram previamente diluídas a 1/100 com tampão de diluição. Adicionou-se em cada cavidade de reação da microplaca, 100 µl dos 8 calibradores com diferentes concentrações de MBL humana (0 a 40 ng/ml) em duplicata na placa, 100 µl do branco (tampão de diluição sem amostra), 100 µl dos 3 soros controles internos da técnica (MBL abaixo de 100 ng/ml, entre 100 e 1000 ng/ml e acima de 1000 ng/ml) e 100 µl das diluições dos soros dos pacientes e dos controles sadios.

Foi realizada incubação por 1 hora à temperatura ambiente, onde a MBL presente na amostra liga-se aos anticorpos monoclonais anti-MBL adsorvidos na placa. Foram realizadas 4 lavagens da placa, com o tampão de lavagem específico, para a retirada do material em excesso. Adicionou-se à reação 100µl do anticorpo monoclonal biotilado anti-MBL e incubou-se novamente por 1 hora à temperatura ambiente. Esse anticorpo de detecção liga-se aos oligômeros de MBL através de sítio de ligação com carboidratos que não estão sendo utilizados na ligação com o anticorpo primário.

Realizou-se 4 novas lavagens da placa, para a retirada dos anticorpos não ligados a MBL, e adicionou-se à reação 100µl de streptavidina conjugada com HRP (*horseradish peroxidase*). Ocorreu então a formação de um complexo com o anticorpo biotilado (ligado a MBL). Esta reação ocorre em 1 hora à temperatura ambiente. O conjugado que não se ligou foi removido por 4 lavagens com tampão específico. Na seqüência, acrescentou-se o cromógeno tetrametilbenzidina (TMB) fornecedor de hidrogênio para a reação do substrato peróxido de hidrogênio (H₂O₂) com a peroxidase, o qual gera um produto colorido (azul) (FIGURA 11). Esta reação foi realizada em exatos 15 minutos e protegidos da luz. Adicionou-se então 50µl de uma solução de bloqueio de reação, a qual pela alteração da coloração (para amarelo) das soluções, indicou que a reação enzimática foi bloqueada (FIGURA 12).

A intensidade de cor foi aferida em um leitor de ELISA a 450nm (HEWLETT PACKARD, DESKJET 420, GERMANY). A densidade óptica (D.O.) obtida é proporcional à concentração de formas oligoméricas de MBL presentes nas

amostras. A partir das leituras da densidade óptica dos calibradores, determinou-se um fator multiplicador para o cálculo dos valores séricos de MBL.

$$\text{Fator} = \frac{\text{Concentração de MBL dos calibradores em ng/ml}}{\text{D.O. dos calibradores}}$$

$$\text{MBL (ng/ml)} = \text{Fator} \times \text{D.O. da amostra} \times \text{Diluição da amostra}$$

FIGURA 11 – MICRO PLACA DE REAÇÃO ENZIMÁTICA ANTES DA ADIÇÃO DA SOLUÇÃO DE BLOQUEIO

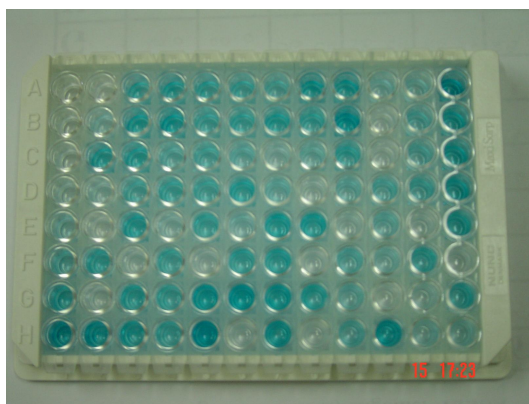
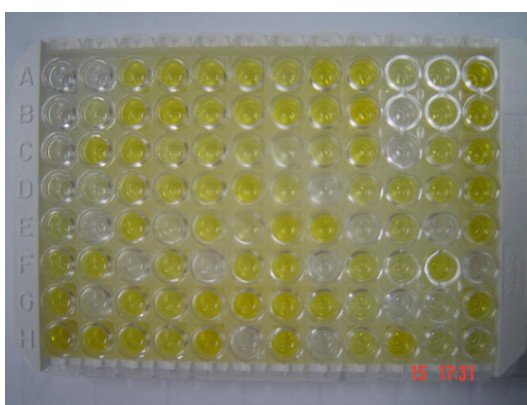


FIGURA 12 - MICRO PLACA DE REAÇÃO ENZIMÁTICA DEPOIS DA ADIÇÃO DA SOLUÇÃO DE BLOQUEIO



4.2.2 Quantificação Sérica de PCR

A concentração sérica da PCR foi determinada através da técnica de nefelometria padrão de acordo com RIFAI e colaboradores (1999), utilizando-se kits comerciais (*Behring Dade, Marburg, Germany*). Determinou-se a PCR por imunonefelometria, em intervalo de medição altamente sensível (hs-PCR), usando-se o sistema de automação Sistema BN II (Behring).

A quantificação de PCR pelo método de nefelometria fundamenta-se na determinação do movimento das partículas numa solução (turbidez), formadas pelos complexos antígeno-anticorpo (PCR ligada ao anticorpo monoclonal anti-PCR). Nesta técnica, partículas de poliestireno revestidas com anticorpo monoclonal de camundongo contra a PCR humana, formam aglutinados quando colocadas frente a uma amostra que contenha PCR. Um feixe de luz incidente passa pela cuveta onde está ocorrendo a reação antígeno-anticorpo com conseqüente formação de aglutinados, e sofre então uma dispersão proporcional à concentração dos aglutinados no tubo. O feixe de luz que sofre a dispersão é detectado por sensores que o transformam em um sinal. Este sinal, plotado na curva de calibração, determinará a concentração de PCR da amostra na unidade desejada. A concentração de PCR na amostra é diretamente proporcional ao feixe de luz disperso e conseqüentemente ao sinal detectado pelos sensores (LUHR e MODI, 2003).

As concentrações de PCR foram determinadas através de comparação com uma curva de referência com sensibilidade para processos inflamatórios, obtida por calibração de pontos múltiplos, utilizando-se calibradores de concentração conhecida fornecidos pelo fabricante. Todos os controles internos de qualidade foram fornecidos pelo fabricante, e a sensibilidade da reação permite detectar níveis séricos da PCR a partir de 0,300 mg/dl.

Foram seguidas todas as recomendações solicitadas pelo fabricante referentes ao preparo das amostras de soro e dos reagentes antes do processo analítico. Os protocolos do ensaio estão contidos no manual de utilização e no software do respectivo instrumento.

Foram considerados como valores normais os níveis inferiores a 0,5 mg/dl e como valores aumentados, os níveis acima de 0,5 mg/dl.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na análise estatística deste trabalho foi utilizado o programa “Microsoft - Statistica versão 5.5”. Para a comparação de dois grupos em relação à concentração de MBL e de PCR adotou-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Quando a comparação envolveu mais de dois grupos utilizou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, e para a comparação de dois grupos em relação a variáveis dicotômicas, adotou-se o teste exato de Fisher ou Qui-quadrado. A correlação entre as concentrações de MBL e de PCR foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Spearman. O nível de significância adotado foi de 5%. Nas comparações múltiplas foi aplicada a correção de Bonferroni para se manter o nível de significância global de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR ENTRE PACIENTES E CONTROLES

Na tabela 1 são apresentados os valores das concentrações de MBL e de PCR observados nos pacientes com hanseníase e nos controles normais. Para a MBL, foram detectados valores de 15,20 a 8030,40 ng/ml para os pacientes, e de 2,00 a 8076,50 ng/ml para os controles. Já para a PCR, valores de 0,32 a 33,50 mg/dl foram detectados nos pacientes e valores de 0,32 a 1,29 mg/dl nos controles.

A análise dos valores séricos de MBL dos pacientes não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação aos valores observados nos controles normais ($p = 0,9717$). Já para a concentração sérica de PCR foi observado um aumento estatisticamente significativo nos pacientes em relação aos controles ($p = 0,0002$).

TABELA 1 – COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR ENTRE OS PACIENTES HANSÊNICOS E OS CONTROLES

Grupo	MBL (ng/ml)		PCR (mg/dl)	
	n	Mediana (min - max)	n	Mediana (min - max)
Pacientes	175	1377,50 (15,20 – 8030,40)	100	0,40 (0,32 – 33,50)
Controles	110	1508,60 (2,00 – 8076,50)	50	0,32 (0,32 – 1,29)
Valor de p^*		0,9717		0,0002

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney

Na tabela 2 são apresentados os valores de medianas das concentrações de MBL e de PCR observados nos pacientes com as formas clínicas lepromatosa, tuberculóide, dimorfa e indeterminada, e nos controles normais.

A análise dos valores séricos de MBL entre as diferentes formas clínicas e os controles normais não indicou diferença estatisticamente significativa ($p =$

0,6802). Na análise da concentração da PCR, foi observada uma diferença estatisticamente significativa entre as medianas dos valores séricos de PCR, entre as formas clínicas e os controles ($p = 0,0001$), pelo teste de Kruskal-Wallis (TABELA 2).

TABELA 2 – COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS DOS PACIENTES E OS CONTROLES

Grupo	MBL (ng/ml)		PCR (mg/dl)	
	n	Mediana (min – max)	n	Mediana (min – max)
Lepromatosos	118	1400,30 (19,10 – 8030,40)	61	0,51 (0,32 – 12,90)
Dimorfos	30	1449,55 (15,20 – 6997,90)	18	0,66 (0,32 – 8,06)
Tuberculóides	15	699,20 (19,00 – 2783,50)	9	0,32 (0,32 – 0,81)
Indeterminados	12	1475,00 (20,90 – 2697,30)	12	0,32 (0,32 – 33,50)
Controles	110	1508,60 (2,00 – 8076,50)	50	0,32 (0,32 – 1,29)
Valor de p^*		0,6802		0,0001

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

Os grupos foram analisados dois a dois pelo teste de Mann-Whitney e o nível de significância devidamente corrigido pelo método de Bonferroni, com o objetivo de evidenciar qual a forma clínica responsável pela diferença significativa encontrada para a PCR (TABELA 3). Através destes testes, observou-se que as concentrações séricas aumentadas de PCR eram significativas somente nos pacientes lepromatosos quando comparados aos controles normais ($p = 0,0001$). Realizando-se a mesma análise para os valores séricos de MBL, entre as diferentes formas clínicas e os controles normais, não se observou diferenças estatisticamente significativas, confirmando os resultados obtidos na tabela 2 (TABELA 3).

Outras análises comparativas entre os níveis séricos de MBL e de PCR, nas várias formas clínicas da hanseníase e nos controles normais, foram realizadas e confirmam os resultados já obtidos (APÊNDICES 7, 8 e 9).

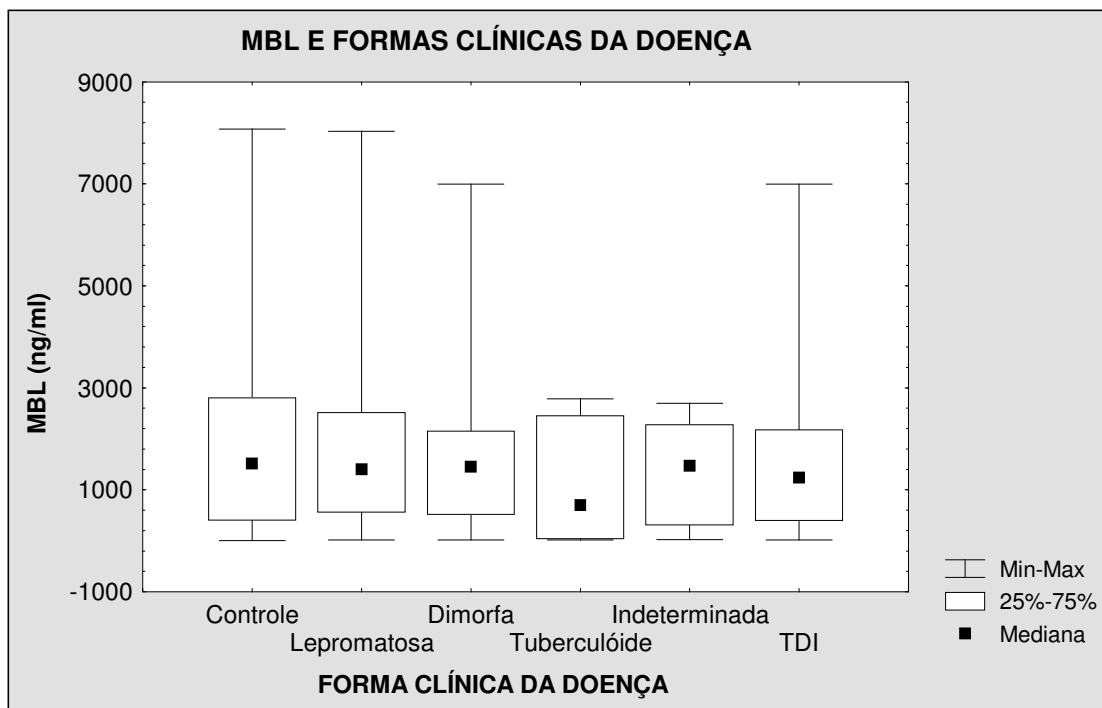
TABELA 3 – COMPARAÇÃO DOS VALORES SÉRICOS DE MBL E DE PCR ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E OS CONTROLES NORMAIS

Grupos sob comparação	MBL (ng/ml)	PCR (mg/dl)
	Valor de p^*	Valor de p^*
Lepromatosos x dimorfos	0,7595	0,9677
Lepromatosos x tuberculóides	0,0956	0,0122
Lepromatosos x indeterminados	0,6534	0,1852
Lepromatosos x controles	0,4932	<0,0001
Dimorfos x tuberculóides	0,2768	0,0462
Dimorfos x indeterminados	0,8800	0,3913
Dimorfos x controles	0,8855	0,0107
Tuberculóides x indeterminados	0,5164	0,2773
Tuberculóides x controles	0,3635	0,5130
Indeterminados x controles	0,8685	0,4224

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Valores de $p < 0,0050$ indicam significância estatística (correção de Bonferroni)

O gráfico 5 demonstra os valores das medianas da concentração de MBL nos pacientes com as formas lepromatosa, tuberculóide, dimorfa, indeterminada e TDI, e nos controles. As medianas da concentração de MBL entre os pacientes lepromatosos, dimorfos, indeterminados e TDI foram similares à mediana dos controles normais. Contudo, observou-se, que a mediana da forma clínica tuberculóide (699,20 ng/ml) está consideravelmente diminuída em relação a dos controles normais (1508,60 ng/ml) e a dos pacientes com a forma lepromatosa (1400,30 ng/ml) (APÊNDICE 10). Esta diferença, no entanto, não atingiu nível de significância na análise estatística (TABELA 3).

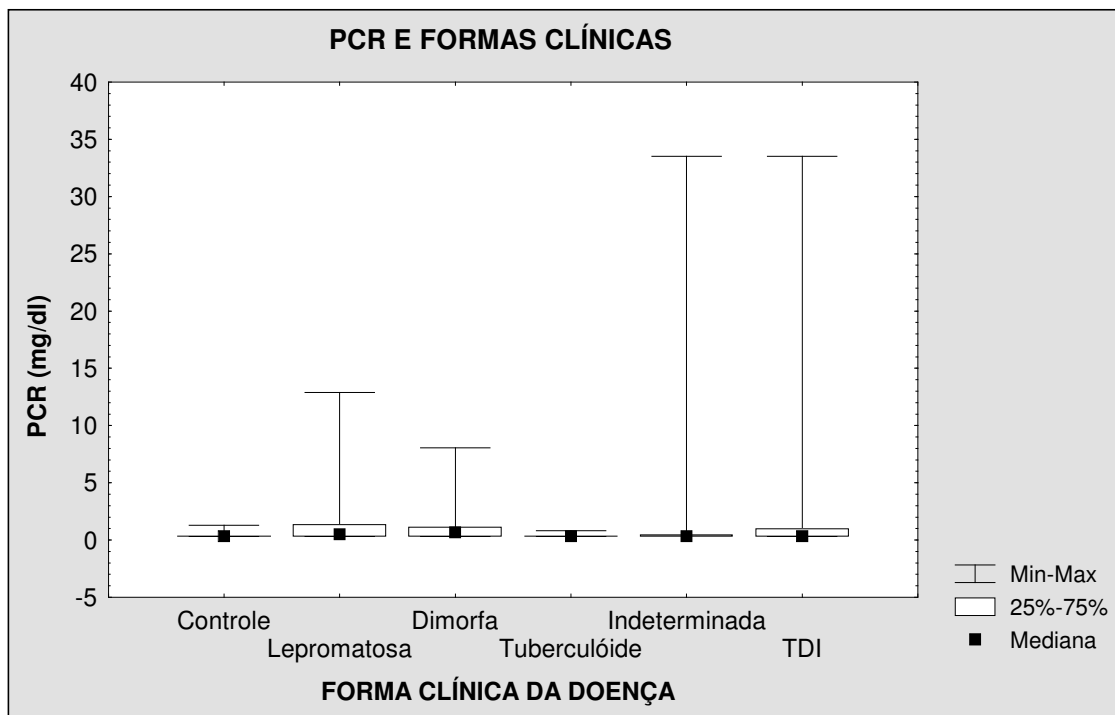
GRÁFICO 5 – CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E NOS CONTROLES NORMAIS



O gráfico 6 apresenta os valores das medianas da concentração de PCR nos pacientes com as formas lepromatosa, tuberculóide, dimorfa, indeterminada e TDI, e nos controles (APÊNDICE 11).

Dentre os 100 pacientes avaliados para PCR sérica, 55 (55%) apresentaram níveis abaixo de 0,5 mg/dl (nível considerado normal) e 45 (45%) apresentaram níveis superiores a 0,5 mg/dl. Analisando-se os 50 controles, 42 (84%) indivíduos apresentaram níveis inferiores a 0,5 mg/dl e 8 (16%) controles apresentaram níveis de PCR acima de 0,5 mg/dl. Observou-se um percentual de indivíduos com níveis de PCR sérica acima de 0,5 mg/dl significativamente maior no grupo de pacientes ($p = 0,0003$) em relação aos controles.

GRÁFICO 6 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PCR NAS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA E NOS CONTROLES NORMAIS



5.2 CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR NOS PACIENTES COM FORMA LEPROMATOSA EM RELAÇÃO À PRESENÇA DE REAÇÃO TIPO 2

Dos 118 pacientes que apresentavam a forma lepromatosa, 33% (39/118) apresentaram reação tipo 2 ou EN e 67% (79/118) não apresentaram essa reação.

Na tabela 4 são apresentados os valores das medianas das concentrações de MBL e PCR, observados nos pacientes com a forma lepromatosa relacionada com a reação tipo 2. Não houve diferença estatisticamente significativa nas concentrações de MBL e PCR, em relação à presença da reação tipo 2 na forma clínica lepromatosa da doença ($p = 0,5270$ e $p = 0,4779$, respectivamente).

Observou-se que 10 (8,47%) dos 118 pacientes lepromatosos apresentaram deficiência de MBL (<100ng/ml). Destes, 3 apresentavam o EN e 7 não o apresentavam. Portanto, 3 dos 39 pacientes com EN e 7 dos 79 pacientes sem EN

são deficientes para a MBL; não sendo observada significância estatística ($p = 0,5673$).

TABELA 4 – COMPARAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR NA FORMA LEPROMATOSA, RELACIONADA COM A REAÇÃO TIPO 2

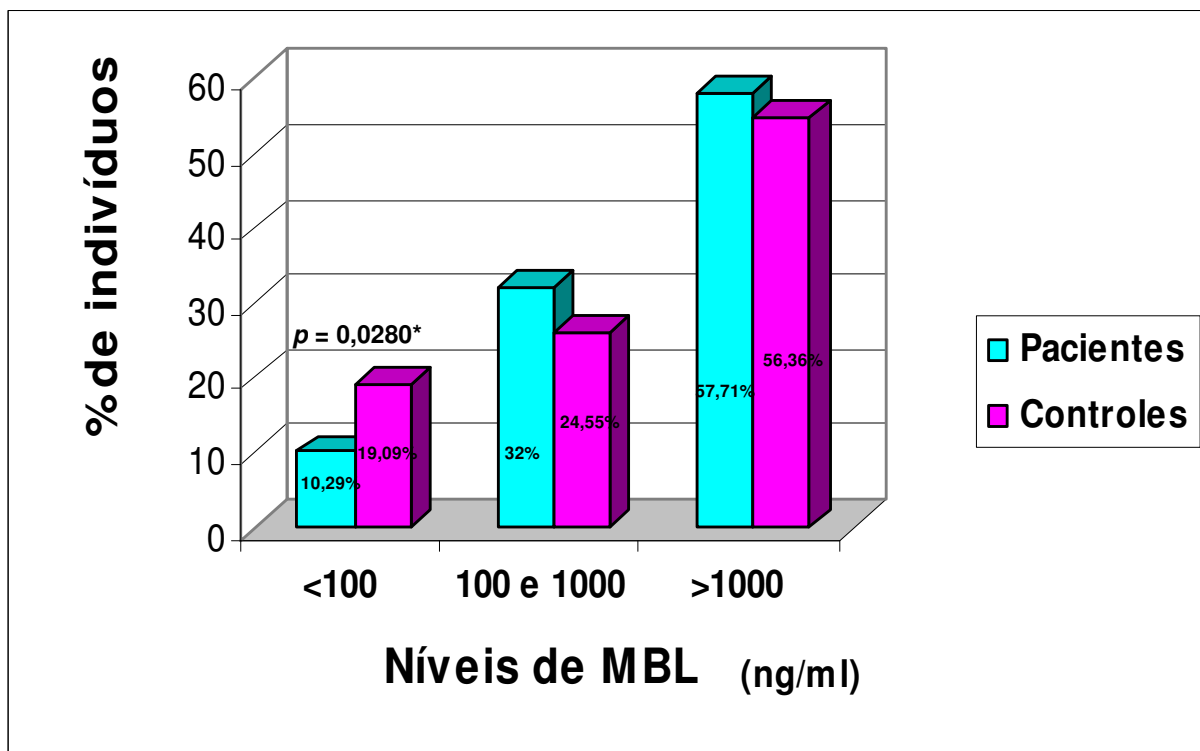
Reação do tipo 2 (EN)	MBL (ng/ml)		PCR (mg/dl)	
	n	Mediana (min – max)	N	Mediana (min – max)
Sim	39	1377,50 (19,10 – 8030,40)	30	0,52 (0,32 – 8,58)
Não	79	1423,10 (24,10 – 7973,00)	31	0,46 (0,32 – 12,90)
Valor de p^*		0,5270		0,4779

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney

5.3 DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES SÉRICOS BAIXOS, MÉDIOS E ALTOS DE MBL NOS PACIENTES E CONTROLES

Dentre os 175 pacientes estudados, 57,71% (101/175) apresentaram níveis altos de MBL sérica (>1000 ng/ml), 32% (56/175) níveis médios de MBL sérica (100 - 1000ng/ml) e 10,29% (18/175) níveis baixos de MBL sérica (< 100 ng/ml). Quanto aos controles normais, dos 110 indivíduos estudados, 56,36% (62/110) apresentaram níveis altos de MBL sérica (>1000 ng/ml), 24,55% (27/110) níveis médios de MBL sérica (100 - 1000ng/ml) e 19,09% (21/110) níveis baixos de MBL sérica (< 100 ng/ml) (GRÁFICO 7).

GRÁFICO 7 – NÍVEIS DE MBL ENTRE PACIENTES TOTAIS E CONTROLES



NOTA: *Pacientes Totais x Controles (<100 ng/ml): $p = 0,0280$

Na tabela 5 são apresentadas as distribuições das concentrações de MBL (baixa, média e alta) entre o número de pacientes totais e controles, e conforme a análise estatística, não foi evidenciada diferença significativa para os valores médios ($p = 0,1118$) e para os valores altos ($p = 0,4591$). Observou-se, no entanto, uma diferença significativa na distribuição de indivíduos com baixos níveis de MBL apontando para menores percentuais entre os pacientes (10,29%) em relação aos controles (19,09%) ($p = 0,0280$) (GRÁFICO 7).

TABELA 5 - VALORES SÉRICOS BAIXOS, MÉDIOS E ALTOS DE MBL ENTRE OS PACIENTES TOTAIS E OS CONTROLES

Concentração de MBL (ng/ml)	Pacientes Totais n (%)	Controles n (%)	Valor de p^*
<100	18 (10,29%)	21 (19,09%)	0,0280
De 100 a 1000	56 (32%)	27 (24,55%)	0,1118
> 1000	101 (57,71%)	62 (56,36%)	0,4591
Total	175	110	

NOTA: (*) Teste de Fisher

Na tabela 6 é apresentada a distribuição dos pacientes segundo as várias formas clínicas da doença e os controles, agrupados de acordo com os níveis séricos de MBL (baixos, médios e altos). Comparando-se pacientes lepromatosos e controles, observou-se uma diminuição estatisticamente significativa no número de indivíduos com baixos níveis de MBL nos pacientes lepromatosos ($p = 0,0156$). Entre os pacientes lepromatosos e tuberculóides, a frequência de pacientes com baixos níveis de MBL está aumentada na forma tuberculóide em relação à forma lepromatosa, apesar da análise estatística apresentar-se no limite de significância ($p = 0,0536$). As demais análises entre os grupos de acordo com as distribuições das concentrações de MBL, não demonstraram diferenças significativas.

TABELA 6 - VALORES SÉRICOS BAIXOS, MÉDIOS E ALTOS DE MBL ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS E OS CONTROLES

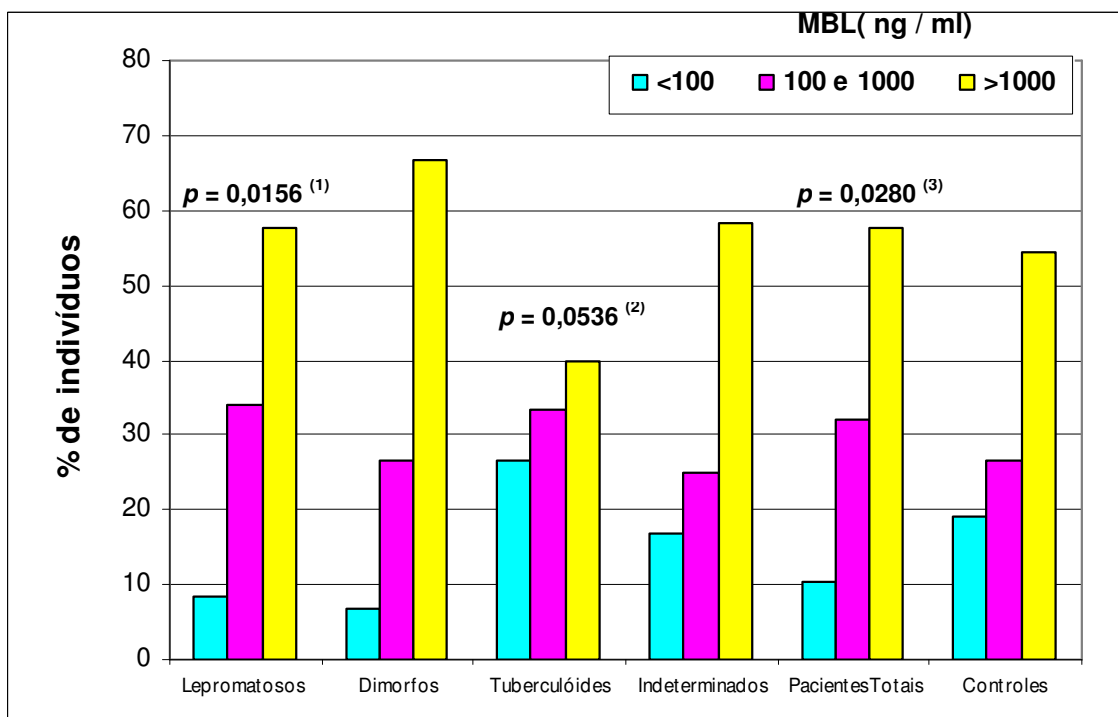
Concentração de MBL (ng/ml)	Pacientes				Controles n (%)
	Lepromatosos n (%)	Dimorfos n (%)	Tuberculóides n (%)	Indeterminados n (%)	
<100	10 * (8,47%)	2 (6,67%)	4 ** (26,67%)	2 (16,67%)	21 * (19,09%)
De 100 a 1000	40 (33,90%)	8 (26,67%)	5 (33,33%)	3 (25,00%)	27 (24,55%)
> 1000	68 (57,63%)	20 (66,67%)	6 (40,00%)	7 (58,33%)	62 (56,36%)
Total	118	30	15	12	110

NOTA: * Pacientes Lepromatosos x Controles: $p = 0,0156$

**Pacientes Lepromatosos x Pacientes Tuberculóides: $p = 0,0536$

O gráfico 8 ilustra os dados da tabela 6.

GRÁFICO 8 – NÍVEIS DE MBL ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA, OS PACIENTES TOTAIS E OS CONTROLES



NOTA: (1) Pacientes Lepromatosos x Controles (<100 ng/ml) $p = 0,0156$

(2) Pacientes Lepromatosos x Pacientes Tuberculóides (<100 ng/ml) $p = 0,0536$

(3) Pacientes Totais x Controles (<100 ng/ml) $p = 0,0280$

5.4 CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR NOS PACIENTES E CONTROLES EM RELAÇÃO AO SEXO

Nas tabelas 7 e 8 são apresentados os valores de medianas das concentrações séricas de MBL e de PCR observados entre os pacientes com hanseníase e controles normais, de acordo com o sexo.

Observou-se que os valores de MBL estão mais elevados no sexo masculino quando comparados com o sexo feminino nos pacientes totais e na forma clínica lepromatosa e, esta diferença é estatisticamente significativa ($p = 0,026$ e $p = 0,0301$, respectivamente). Nos demais pacientes e controles não se observou

diferença significativa na concentração de MBL sérica entre os sexos masculino e feminino (TABELA 7).

TABELA 7 – COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO AO SEXO

		Sexo		Valor de p*
		Masculino (n) (mediana)	Feminino (n) (mediana)	
MBL (ng/ml)	Pacientes Totais	107 1592,20	68 876,45	0,026
	Lepromatosa	80 1800,85	38 802,75	0,0301
	Tuberculóide	5 699,20	10 692,75	1
	Dimorfa	21 1592,20	9 1234,10	0,8590
	Indeterminada	1 2608,70	11 1405,30	---
	TDI	27 1454,00	30 510,49	0,6285
	Controles	67 1400,00	43 1700,00	0,9611

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney
 TDI = Tuberculóide + Dimorfa + Indeterminada
 --- = Teste não aplicável

Com relação aos valores de PCR, observaram-se níveis mais elevados no sexo masculino quando comparados com o sexo feminino nas 3 formas clínicas reunidas - TDI ($p = 0,0019$). Observando-se os dados das 3 formas isoladamente, verifica-se diferença significativa somente na forma clínica dimorfa ($p = 0,0460$) da doença. Nos pacientes totais, nas formas clínicas lepromatosa e tuberculóide, e nos controles, não se observou diferença significativa na concentração da PCR sérica em relação ao sexo dos indivíduos (TABELA 8).

TABELA 8 – COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PCR NAS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO AO SEXO

		<i>Sexo</i>		<i>Valor de p*</i>
		<i>Masculino (n) (mediana)</i>	<i>Feminino (n) (mediana)</i>	
PCR (mg/dl)	Pacientes Totais	60 0,66	40 0,32	0,0667
	Lepromatosa	44 0,40	17 0,54	0,3584
	Tuberculóide	2 0,56	7 0,32	0,3333
	Dimorfa	13 1,02	5 0,32	0,0460
	Indeterminada	1 33,5	11 0,32	---
	TDI	16 1,00	23 0,32	0,0019
	Controles	35 0,32	15 0,32	0,1082

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney
 TDI = Tuberculóide + Dimorfa + Indeterminada
 --- = Teste não aplicável

5.5 CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR NOS PACIENTES E CONTROLES EM RELAÇÃO AO GRUPO ETÁRIO

Nas tabelas 9 e 10 são apresentados os valores de medianas das concentrações séricas de MBL e PCR observados entre os pacientes com hanseníase e entre os controles normais, de acordo com o grupo etário.

Não foi evidenciada diferença estatisticamente significativa, quando foram analisados os níveis séricos de MBL e PCR, nas várias formas clínicas da doença e nos controles normais, levando-se em consideração as faixas etárias usadas neste estudo.

Nas situações onde o número amostral foi muito pequeno, foram reunidas, para fins de análise, as faixas etárias entre 19 a 24 anos e 25 a 49 anos, e aplicados os testes estatísticos adequados.

TABELA 9 – COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO AO GRUPO ETÁRIO

<i>Grupo Etário</i>		<i>19 – 24 anos</i>	<i>25 – 49 anos</i>	<i>≥ 50 anos</i>	<i>Valor de p</i>
		<i>(n)</i> <i>(mediana)</i>	<i>(n)</i> <i>(mediana)</i>	<i>(n)</i> <i>(mediana)</i>	
MBL (ng/ml)	Pacientes Totais	7 1962,4	66 1434,1	102 1240,45	0,5525**
	Lepromatosa	4 1946,30	40 1388,35	74 1317,65	0,6318**
	Tuberculóide	1 2522,90	6 392,05	8 721,35	0,9551*
	Dimorfa	1 2937,40	14 1449,55	15 1234,10	0,9025*
	Indeterminada	1 63,10	6 2158,65	5 896,00	0,5303*
	TDI	3 2522,90	26 1449,55	28 1056,15	0,5942**
	Controles	5 550,00	41 2000,00	64 1109,25	0,7264**

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney (até 49 anos x 50 anos ou mais)

(**) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

TDI = Tuberculóide + Dimorfa + Indeterminada

TABELA 10 – COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PCR NAS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO AO GRUPO ETÁRIO

Grupo Etário		19 – 24 anos	25 – 49 anos	≥ 50 anos	Valor de <i>p</i>
		(n) (mediana)	(n) (mediana)	(n) (mediana)	
PCR (mg/dl)	Pacientes Totais	5 0,54	43 0,32	52 0,49	0,4318**
	Lepromatosa	3 0,78	25 0,40	33 0,75	0,2979**
	Tuberculóide	1 0,32	4 0,32	4 0,32	0,5556*
	Dimorfa	0 ---	8 0,65	10 0,66	0,9654*
	Indeterminada	1 0,32	6 0,33	5 0,32	0,8763*
	TDI	2 0,32	18 0,32	19 0,32	0,4644**
	Controles	4 0,32	6 0,32	40 0,32	0,7608**

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney (até 49 anos x 50 anos ou mais)

(**) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

TDI = Tuberculóide + Dimorfa + Indeterminada

5.6 CONCENTRAÇÃO DE MBL E PCR NOS PACIENTES E CONTROLES EM RELAÇÃO À ETNIA DOS INDIVÍDUOS.

Cada um dos grupos definidos pela forma da doença e o grupo controle, tanto para os valores de MBL como de PCR, foram avaliados quanto à etnia dos indivíduos. Não foi evidenciada diferença estatisticamente significativa nas concentrações séricas da MBL e da PCR nas formas clínicas da doença e nos controles, quando comparados com o grupo étnico dos indivíduos (TABELA 11). O mesmo tipo de análise foi utilizado para comparar as concentrações séricas da PCR nas diversas formas clínicas da doença e nos controles em relação ao grupo étnico dos indivíduos, não sendo observada diferença estatisticamente significativa (TABELA 12).

TABELA 11– COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO À ETNIA DOS INDIVÍDUOS

Grupo Étnico		Caucasóide	Não-Caucasóide	Valor de p^*	
		(n) (mediana)	(n) (mediana)		
MBL (ng/ml)	Formas Clínicas				
		Pacientes Totais	137 1405,3	38 1322,8	0,7405
		Lepromatosa	93 1377,50	25 1521,90	0,4551
		Tuberculóide	12 721,35	3 391,40	0,8396
		Dimorfa	22 1653,50	8 780,90	0,2371
		Indeterminada	10 1150,65	2 2489,55	0,3636
		TDI	44 1425,20	13 1014,60	0,6183
		Controles	87 1700,00	23 600,00	0,1614

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney
TDI = Tuberculóide + Dimorfa + Indeterminada

TABELA 12 – COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PCR NAS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO À ETNIA

Grupo Étnico		Caucasóide	Não-Caucasóide	Valor de p^*
		(n) (mediana)	(n) (mediana)	
PCR (mg/dl)	Pacientes Totais	79 0,34	21 0,46	0,7871
	Lepromatosa	47 0,71	14 0,36	0,2720
	Tuberculóide	8 0,32	1 0,32	---
	Dimorfa	14 0,42	4 0,95	0,5052
	Indeterminada	10 0,32	2 17,67	0,0606
	TDI	32 0,32	7 1,10	0,0756
	Controles	38 0,32	12 0,32	0,9732

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney
 TDI = Tuberculóide + Dimorfa + Indeterminada
 --- = Teste não aplicável

5.7 DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES SÉRICOS BAIXOS, MÉDIOS E ALTOS DE MBL, DE ACORDO COM SEXO, IDADE E ETNIA DOS PACIENTES E CONTROLES

Nas tabelas 13 a 16 são apresentadas as freqüências das distribuições das concentrações da MBL (baixa, média e alta) nos pacientes totais, nas formas clínicas lepromatosa e TDI, e nos controles, comparando-se sexo, idade e etnia dos indivíduos. Conforme a análise estatística, não foram observadas diferenças significativas entre essas concentrações, e as formas clínicas da doença e os controles. Nota-se, no entanto, uma tendência de maior freqüência de pacientes

totais e lepromatosos do sexo masculino com níveis altos de MBL sérica (TABELAS 13 e 14) corroborando com a diferença estatisticamente significativa já observada na tabela 7.

TABELA 13 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL NOS PACIENTES TOTAIS DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA

Variável	Classificação	MBL (ng/ml)			Valor de p^*
		< 100	De 100 a 1000	> 1000	
Sexo	Masculino (n =107)	9 (8,41%)	29 (27,10%)	69 (64,49%)	0,0746
	Feminino (n =68)	9 (13,24%)	27 (39,71)	32 (47,06%)	
Idade	Até 49 anos (n =73)	10 (13,70%)	19 (26,03%)	44 (60,27%)	0,2280
	50 anos ou mais (n = 102)	8 (7,84%)	37 (36,27%)	57 (55,88%)	
Etnia	Caucasóide (n =137)	14 (10,22%)	45 (32,85%)	78 (56,93%)	0,9001
	Não caucasóide (n =38)	4 (10,53%)	11 (28,95%)	23 (60,53%)	

NOTA: (*) Teste de Qui-quadrado

TABELA 14 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL NA FORMA CLÍNICA LEPROMATOSA DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA DOS PACIENTES

Variável	Classificação	MBL (ng/ml)			Valor de p^*
		< 100	De 100 a 1000	> 1000	
Sexo	Masculino (n = 80)	5 (6,25%)	23 (28,75%)	52 (65,00%)	0,0568
	Feminino (n = 38)	5 (13,16%)	17 (44,70%)	16 (42,11%)	
Idade	Até 49 anos (n = 44)	6 (13,64%)	13 (29,55%)	25 (56,82%)	0,2717
	50 anos ou mais (n = 74)	4 (5,41%)	27 (36,49%)	43 (58,11%)	
Etnia	Caucasóide (n = 93)	9 (9,68%)	32 (34,41%)	52 (55,91%)	0,6045
	Não caucasóide (n = 25)	1 (4,00%)	8 (32,00%)	16 (64,00%)	

NOTA: (*) Teste de Qui-quadrado

TABELA 15 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS TUBERCULÓIDE, DIMORFA E INDETERMINADA (TDI) DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA DOS PACIENTES

Variável	Classificação	MBL (ng/ml)			Valor de p^*
		< 100	De 100 a 1000	> 1000	
Sexo	Masculino (n = 27)	4 (14,81%)	6 (22,22%)	17 (62,96%)	0,6457
	Feminino (n = 30)	4 (13,33%)	10 (33,33%)	16 (53,33%)	
Idade	Até 49 anos (n = 29)	4 (13,79%)	6 (20,69%)	19 (65,52%)	0,4188
	50 anos ou mais (n = 28)	4 (14,29%)	10 (35,71%)	14 (50,00%)	
Etnia	Caucasóide (n = 44)	5 (11,36%)	13 (29,55%)	26 (59,09%)	0,5548
	Não caucasóide (n = 13)	3 (23,08%)	3 (23,08%)	7 (53,85%)	

NOTA: (*) Teste de Qui-quadrado

TABELA 16 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL NOS CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA

Variável	Classificação	MBL (ng/ml)			Valor de p^*
		< 100	De 100 a 1000	> 1000	
Sexo	Masculino (n = 67)	12 (17,91%)	17 (25,37%)	38 (56,72%)	0,9154
	Feminino (n = 43)	9 (20,93%)	10 (23,26%)	24 (55,81%)	
Idade	Até 49 anos (n = 46)	12 (26,09%)	7 (15,22%)	27 (58,70%)	0,0860
	50 anos ou mais (n = 64)	9 (14,06%)	20 (31,25%)	35 (54,69%)	
Etnia	Caucasóide (n = 87)	16 (18,39%)	18 (20,69%)	53 (60,92%)	0,1250
	Não caucasóide (n = 23)	5 (21,74%)	9 (39,13%)	9 (39,13%)	

NOTA: (*) Teste de Qui-quadrado

5.8 CORRELAÇÃO ENTRE OS VALORES SÉRICOS DE MBL E PCR NOS PACIENTES E CONTROLES

Para os grupos definidos de acordo com a forma clínica da doença e para o grupo controle, estimou-se o coeficiente de correlação entre as concentrações séricas de MBL e de PCR. Testou-se a hipótese nula de inexistência de correlação entre estas variáveis, *versus* a hipótese alternativa de existência de correlação. Uma correlação fraca, não significativa, foi observada entre as concentrações de MBL e PCR nos pacientes com as formas clínicas dimorfa e indeterminada (dimorfa – $R = 0,4039$, $p = 0,0965$; indeterminada – $R = 0,5381$, $p = 0,0711$). Quando os pacientes foram analisados na sua totalidade e reunidos nas formas tuberculóide, dimorfa e indeterminada (TDI), foram observadas correlações estatisticamente significativas (pacientes totais: $R = 0,2549$, $p = 0,0105$; TDI: $R = 0,4036$, $p = 0,0108$). Nos demais grupos (lepromatosos e tuberculóides) analisados em separado e nos controles, não foram observadas correlações estatisticamente significativas entre os valores séricos de MBL e PCR (TABELA 17).

TABELA 17 - CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL E PCR NOS PACIENTES E CONTROLES

Pacientes e Controles	n	(*) Valor de R	Valor de p^*
Lepromatosos	61	0,1575	0,2253
Dimorfos	18	0,4039	0,0965
Tuberculóides	9	0,1369	0,7254
Indeterminados	12	0,5381	0,0711
TDI	39	0,4036	0,0108
Controles	50	0,1701	0,2377
Pacientes Totais	100	0,2549	0,0105

NOTA: (*) Coeficiente de correlação de Spearman

6 DISCUSSÃO

A Hanseníase apresenta-se como uma patogênese multifatorial, onde diferentes fatores genéticos e ambientais podem influenciar na infecção propriamente dita e na evolução da doença. A predisposição às diferentes respostas do indivíduo frente ao bacilo pode ser modulada por diversos fatores, determinando heterogeneidades reacionais no processo de opsonização e fagocitose do microorganismo, na destruição ou não do mesmo no interior do fagócito, na interação do fagócito apresentador de antígeno e na resposta dos linfócitos do sistema imune adaptativo. Tem-se como exemplo, as diferenças fundamentais referentes ao predomínio de citocinas no indivíduo, direcionando à forma clínica da doença a ser desenvolvida. A importância de fatores genéticos do hospedeiro na patogenia da Hanseníase tem sido destacada por muitos autores (REMUS, 2003).

O papel do sistema complemento na fisiopatologia da hanseníase, evidenciado por diversos autores, envolve a ativação pelas vias clássica e alternativa, e a interação entre moléculas de superfície do *M. leprae* com proteínas do complemento, e estas aos receptores de complemento dos fagócitos (SCHLESINGER; HORWITZ, 1990; 1991 a e b; 1994).

O envolvimento da MBL na fagocitose e ativação do complemento por outros patógenos intracelulares como *Mycobacterium tuberculosis* e *Leishmania braziliensis*, evidenciam o papel opsonizante e ativador do complemento da MBL, diretamente na superfície de patógenos (AMBRÓSIO; MESSIAS-REASON, 2005).

BONAR e colaboradores (2005) evidenciaram “*in vitro*” que a fagocitose do *Mycobacterium tuberculosis* é intensificada pela presença de MBL humana, sugerindo que “*in vivo*” a MBL facilitaria a entrada da bactéria no fagócito, estabelecendo a infecção (BONAR *et al*, 2005).

A tuberculose é uma doença utilizada para comparações com a hanseníase, uma vez que ambas são ocasionadas por agentes etiológicos do mesmo gênero “*Mycobacterium*”. Não se deve, no entanto, esquecer das peculiaridades referentes ao *M. leprae* em comparação ao *M. tuberculosis*, no que se referem às diversidades

nas vias metabólicas de ambos (SASAKI *et al.*, 2001; COLE *et al.*, 2001; ALCAIS *et al.*, 2005).

Um trabalho analisando indivíduos africanos observou-se que a suscetibilidade a tuberculose parece estar aumentada nos indivíduos que apresentam o genótipo homozigoto para as mutações do gene da MBL (SUMIYA; SUMMERFIELD, 1996). Outro estudo levanta a hipótese de que variantes alélicas heterozigóticas do gene da MBL, que codificam baixas concentrações séricas da proteína, estão associados com proteção contra a tuberculose, enquanto genótipos que codificam altas concentrações séricas de MBL e aqueles que conferem deficiência da proteína, não estão associados à proteção contra a doença (SOBORG *et al.*, 2003). Níveis séricos elevados de MBL foram relacionados com a patogênese da tuberculose e com uma relativa desvantagem em infecções micobacterianas por outros pesquisadores (BONAR; CHMIELA; ROZALSKA, 2004).

Relacionando-se o polimorfismo da MBL e a suscetibilidade ao lúpus eritematoso sistêmico, demonstrou-se que baixos níveis séricos de MBL têm maior importância em indivíduos chineses do que em caucasóides na contribuição para a evolução desta doença. Evidencia-se, portanto, diversidades na associação entre MBL e doenças, nos diferentes grupos étnicos (GARRED *et al.*, 1999b).

6.1 CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA MBL

O trabalho de GARRED e colaboradores (1994) é a única publicação que investiga os níveis séricos de MBL na hanseníase. O grupo de Garred demonstrou que a MBL se liga tão fortemente ao *M. leprae*, como à manose pura, sugerindo a participação desta proteína na invasão dos fagócitos pela micobactéria. Esses autores ainda demonstraram que pacientes com hanseníase lepromatosa e dimorfa-lepromatosa, apresentavam significativo aumento nas concentrações de MBL em relação aos indivíduos saudáveis da população, sugerindo que a opsonização por MBL possa estar favorecendo a entrada destes patógenos nas células. Os autores sugerem que os alelos mutantes, causando baixas concentrações de MBL, estariam protegendo os indivíduos contra a infecção pelo *M. leprae*. Esse estudo analisou somente pacientes etíopes, os quais se apresentavam isolados e homogêneos em relação ao perfil étnico, e além disso, o número amostral analisado foi bastante

pequeno (36 pacientes *versus* 26 controles). O nível sérico de MBL significativamente aumentado nesses pacientes pode refletir a realidade dessa população em especial, com características próprias e provavelmente padrão genético particular.

No presente estudo, não foi observado diferença estatisticamente significativa entre as concentrações séricas de MBL dos pacientes e dos controles comparando-se o grupo total de pacientes (TABELA 1), e dividindo-se em sub-grupos compostos pelas diferentes formas clínicas da doença (TABELAS 2 e 3). Entretanto, observou-se que a mediana da concentração de MBL na forma tuberculóide é inferior (mediana 699,20 ng/ml) às medianas das formas lepromatosa (mediana 1400,30 ng/ml), indeterminada (mediana 1475,00 ng/ml) e dimorfa (mediana 1449,55 ng/ml), e também a dos controles normais (mediana 1508,60 ng/ml) (GRÁFICO 5 e APÊNDICE 10). Apesar de não observarmos diferença estatisticamente significativa nas concentrações séricas de MBL entre as formas clínicas e os controles, verifica-se uma forte tendência à diminuição dos níveis séricos de MBL nos pacientes com a forma tuberculóide. No entanto, o número de pacientes analisados nesta forma clínica é relativamente pequeno (n = 15), e provavelmente, com um aumento desta amostragem, poder-se-ia detectar uma possível associação dos indivíduos com níveis séricos mais baixos de MBL e o desenvolvimento da forma benigna da hanseníase.

Estudo da década de 90 demonstra que a expressão do gene MBL é regulada via mediadores da resposta hepática de fase aguda, sendo aumentada por IL-6 e dexametasona, e reduzida por IL-1 (ARAI; TABONA; SUMMERFIELD, 1993). A IL-1 predomina na forma tuberculóide da doença, o que poderia estar influenciando nos níveis séricos mais baixos da MBL nesta forma clínica.

Nossos resultados sugerem que os valores séricos de MBL não estão relacionados ao desenvolvimento da hanseníase "*per se*", mas poderiam estar associados à evolução das diferentes formas clínicas da doença, sendo que concentrações aumentadas, ou pelo menos "suficientes", da proteína estariam associadas à forma mais grave e concentrações protéicas diminuídas à forma benigna da doença.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa nas concentrações séricas de MBL com relação à presença de reação tipo 2 na forma clínica

lepromatosa da doença, sugerindo que a concentração sérica de MBL possa não estar influenciando no desenvolvimento do EN nesta população estudada (TABELA 4). Vários estudos têm detectado o envolvimento da ativação do sistema complemento principalmente durante os estados reacionais da hanseníase (RAMANATHAN, 1991), porém a associação de MBL *versus* reação tipo 2 não foi publicada em nenhum estudo até o momento, não nos permitindo a comparação dos resultados obtidos.

Níveis séricos de MBL inferiores a 100 ng/ml foram considerados deficientes para esta proteína. No presente estudo, a percentagem de controles normais com níveis de MBL abaixo de 100 ng/ml (19,09%), não diferiu das encontradas em estudos de associação de MBL com outras doenças, realizados na mesma área geográfica. SCHAFRANSKI e colaboradores (2004), detectaram 17,1% de indivíduos sadios deficientes para MBL e outro estudo recente em doença celíaca, detectou 13,33% de indivíduos sadios com níveis baixos da proteína (CARVALHO, 2006). Estudos em outras áreas geográficas têm observado variações que vão de 10,0% a 16% de deficiência de MBL em indivíduos sadios nestas outras populações (CHRISTIANSEN *et al.*, 1999; KILPATRICK *et al.*, 2003; INANC *et al.*, 2005).

Observou-se uma diminuição significativa no número de indivíduos deficientes para MBL no grupo dos pacientes totais em relação aos controles normais, corroborando os estudos envolvendo níveis de MBL e infecções intracelulares, que predizem que esta proteína poderia facilitar a entrada do microorganismo nas células do hospedeiro. Essa diminuição também foi observada nos pacientes com a forma lepromatosa, em relação aos controles e em relação à forma tuberculóide. Estes resultados levantam a hipótese de um provável envolvimento da deficiência de MBL, contribuindo na evolução da doença para as diferentes formas clínicas. A deficiência de MBL parece estar relacionada à proteção contra o desenvolvimento da hanseníase e contra a evolução à forma clínica lepromatosa nesta população em estudo.

Foi detectado um aumento significativo na concentração de MBL em indivíduos do sexo masculino, nos pacientes totais e na forma clínica lepromatosa, quando comparados ao sexo feminino. Considerando-se que a hanseníase da forma lepromatosa é mais freqüente no sexo masculino, assim como o EN, explicável pelo fator de risco que esta forma clínica representa ao desenvolvimento do EN

(GUERRA, *et al.* 2004), os dados encontrados poderiam sugerir que concentrações mais elevadas de MBL, predominantes no sexo masculino nesta população em estudo, poderiam estar associadas a uma maior suscetibilidade à forma clínica mais grave da hanseníase no sexo masculino em comparação ao feminino. Uma pesquisa recente envolvendo pacientes com doença celíaca está em acordo com os achados deste estudo, apresentando níveis séricos de MBL mais elevados nos pacientes masculinos quando comparados aos pacientes femininos (CARVALHO, 2006). Já, INANC e colaboradores (2005), demonstraram maior frequência da doença de Behcet em indivíduos do sexo masculino com níveis séricos de MBL bastante reduzidos, sugerindo uma possível contribuição da deficiência da MBL para a patogenia da doença.

Avaliando-se os pacientes em grupos etários distintos, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos níveis séricos de MBL entre pacientes e controles, corroborando com dados do grupo de THIEL, que afirmam que o nível circulante de MBL após o nascimento é cerca de 2/3 do nível de adultos, e em aproximadamente 1 mês de vida estes níveis igualam-se aos dos adultos, apresentando um declínio mínimo com o passar da idade (THIEL; FREDERIKSEN; JENSENIUS, 2006).

Com relação à etnia dos indivíduos, não houve diferença significativa na concentração de MBL entre os grupos étnicos caucasóides e não caucasóides, na população estudada. MADSEN e colaboradores (1998) estudando populações étnicas distintas, não observaram diferenças nos níveis séricos da MBL, porém a análise genética identificou diferentes genótipos, indicando a possibilidade da existência de outros variantes regulatórios envolvidos na expressão sérica da proteína, os quais são característicos de cada população. Os autores ressaltam que o sistema genético da MBL é muito mais complexo do que se imagina, podendo interferir diretamente na expressão da MBL sérica e ainda sofrer influências de muitos interferentes possivelmente ainda não descritos.

Os vários tipos de mutações no gene da MBL podem influenciar as concentrações séricas desta proteína (MINCHINTON *et al.* 2002), aliados ao fato de que, indivíduos com o mesmo genótipo podem apresentar variações consideráveis nos níveis séricos da proteína (THIEL; FREDERIKSON; JENSENIUS, 2006). O grupo de Madsen resalta a importância do estudo das concentrações séricas e do

genótipo da MBL, em relação às várias doenças, pois a frequência dos genótipos de MBL apresenta diferenças marcantes entre distintos grupos étnicos (MADSEN *et al.*, 1995).

O Brasil é um país com alto contingente de descendentes de europeus (euro-brasileiros) e com altas taxas de miscigenação entre estes e os descendentes de africanos (afro-brasileiros) (IBGE, 2006). Alguns trabalhos avaliando a composição gênica de brasileiros quanto a outros genes, detectaram alta prevalência de euro-brasileiros, semelhante à média européia, e uma menor prevalência, porém importante, também entre os afro-brasileiros (PEREIRA *et al.*, 1999; RASKIN *et al.*, 2003). A realidade nos mostra que não dispomos de dados epidemiológicos precisos no Brasil, porém podemos afirmar que a população é altamente heterogênea em relação à etnia, havendo grande taxa de miscigenação entre caucasóides e não-caucasóides. Sendo assim, pode-se utilizar uma amostragem heterogênea desde que pareada etnicamente com controles saudáveis oriundos da mesma população em estudo.

6.2 CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA PCR

A determinação sérica da PCR foi avaliada como um marcador de processo inflamatório, no sentido de corroborar com aumentos séricos de MBL decorrentes de reações inflamatórias, permitindo assim, analisar o comportamento de outra proteína de fase aguda além da MBL em pacientes hansênicos.

Neste estudo, observou-se que a PCR circulante encontra-se significativamente aumentada nos pacientes em relação aos controles, e especificamente na forma lepromatosa em comparação aos controles, podendo-se inferir que o aumento nos níveis séricos de PCR esteja relacionado ao processo inflamatório lesivo característico desta forma clínica da doença.

Estudos relacionados à concentração sérica de PCR em pacientes hansênicos são de longa data. Na Etiópia, foi observada concentração de PCR aumentada em 60% dos pacientes com a forma lepromatosa e tuberculóide, em comparação com apenas 20% para os controles normais (SRIVASTAVA *et al.*, 1975). MEDINA e colaboradores (1998) em seu estudo compararam as várias

formas clínicas da doença, e observaram concentração aumentada de PCR em 47% dos pacientes lepromatosos, em 66% dos pacientes dimorfos, em 10% dos pacientes tuberculóides e em 4% dos controles normais (MEDINA *et al.*, 1998). Estudos recentes detectaram níveis significativamente elevados de PCR em pacientes com a forma lepromatosa e dimorfa-lepromatosa quando comparados com controles normais (LEAL *et al.*, 2003).

Sintomas complexos são observados em pacientes com a forma lepromatosa acompanhados de episódios reacionais e estão associados a componentes diferentes do plasma participantes das reações inflamatórias agudas. Dentre os quais, destaca-se a PCR, que em muitos trabalhos é mencionada como significativamente elevada no plasma de pacientes com EN, quando comparados com pacientes lepromatosos sem EN, com pacientes tuberculóides ou com controles normais (FOSS; OLIVEIRA; SILVA, 1993). No presente estudo não foi observado aumento dos níveis de PCR em pacientes lepromatosos com EN em relação aos pacientes lepromatosos sem o EN, corroborando com o observado por MEMON e colaboradores (1996). HUSSAIN e colaboradores (1995), no entanto, observaram aumento significativo das concentrações séricas de PCR em pacientes com a forma clínica lepromatosa com EN em relação aos pacientes lepromatosos sem EN. Justificativa, hipotética, para os níveis de PCR não significativamente aumentados nos pacientes lepromatosos com EN, aqui avaliados, poderia ser o tratamento freqüente com o uso de corticosteróides nestes episódios, o que poderia interferir nos níveis séricos da PCR (GUERRA *et al.* 2004).

Neste estudo observou-se ainda que os valores de PCR estão significativamente elevados no sexo masculino quando comparados com o sexo feminino na forma clínica dimorfa da doença. Em parte, este dado concorda com o trabalho do grupo de MEDINA (1998), que também detectou maiores níveis de PCR na forma clínica dimorfa da doença. Esta forma clínica é altamente instável imunologicamente, apresentando processos inflamatórios e processos lesivos muito freqüentes, o que leva a esperar altos níveis de uma proteína de fase aguda como a PCR.

A interdependência entre as concentrações séricas de MBL e de PCR foi observada neste estudo com tendência de uma correlação positiva nas formas dimorfa ($R = 0,4039$) e indeterminada ($R = 0,5381$), apesar dos valores de p não se

apresentarem estatisticamente significativos. Analisando-se os pacientes totais e os da forma TDI (tuberculóide, dimorfa e indeterminada), os valores de p foram significativos ($p = 0,0105$ e $p = 0,0108$, respectivamente), mas com fraca correlação positiva ($R = 0,2549$ e $R = 0,4036$, respectivamente). A correlação positiva e significativa, obtida entre as dosagens séricas de MBL e PCR, pode ser explicada pela característica de proteínas de fase aguda de ambas. A PCR apresenta aumentos extremados e significativos, enquanto a MBL apresenta aumentos discretos, no entanto, a correlação positiva mesmo que discreta, revelou o padrão de aumento relacionado entre as duas proteínas.

6.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Muitas evidências sugerem que a variabilidade na resposta a infecção ao *M. leprae* pelo hospedeiro é decorrente de fatores genéticos próprios de cada indivíduo e que a suscetibilidade a hanseníase tem um componente genético altamente significativo (ALCAIS *et al.*, 2005). Acredita-se também, que muitos genes além do gene da MBL possam estar influenciando tanto na susceptibilidade como na expressão clínica da doença.

Os dados obtidos neste estudo não mostram relação significativa entre a concentração sérica da MBL e a patogenia da hanseníase, mas revelam uma diminuição significativa no número de pacientes totais deficientes para MBL em comparação aos controles, e esta mesma afirmação é válida em relação aos pacientes com a forma lepromatosa quando comparadas aos controles. Diferentemente, observa-se nos pacientes com a forma tuberculóide, um maior número de pacientes deficientes para MBL em relação aos pacientes da forma lepromatosa. A deficiência de MBL parece ter caráter protetor contra o desenvolvimento da hanseníase e contra a evolução à forma clínica lepromatosa.

7 CONCLUSÕES

Através do presente estudo envolvendo pacientes hansênicos brasileiros e controles saudáveis pareados, conclui-se que:

- Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nas concentrações séricas da MBL entre pacientes portadores de hanseníase quando comparados com controles saudáveis.
- Os valores das concentrações séricas de MBL nos pacientes portadores da forma clínica lepromatosa foram similares aos das formas clínicas dimorfa e indeterminada, e dos controles normais. Nos pacientes com a forma clínica tuberculóide foi observada uma tendência a menores concentrações de MBL sérica em comparação às demais formas clínicas e aos controles.
- Não houve relação entre os níveis de MBL e PCR séricos observados com a presença de reação tipo 2 na forma clínica lepromatosa.
- As concentrações séricas de MBL nos pacientes totais e na forma clínica lepromatosa, encontram-se significativamente elevadas nos pacientes do sexo masculino em relação aos pacientes do sexo feminino ($p = 0,026$ e $p = 0,0301$).
- As concentrações séricas da PCR estão significativamente elevadas nos pacientes totais e nos portadores da forma clínica lepromatosa, quando comparados aos controles normais ($p = 0,0001$).
- Os níveis séricos de MBL e PCR se correlacionaram positivamente nos pacientes totais ($p = 0,0105$ e $R = 0,2549$) e nos pacientes TDI ($p = 0,0108$ e $R = 0,4036$).

- A prevalência no número de indivíduos deficientes de MBL está significativamente diminuída nos pacientes totais ($p = 0,0280$) e nos pacientes lepromatosos ($p = 0,0156$), em relação aos controles normais.
- A prevalência no número de indivíduos deficientes de MBL está aumentada nos pacientes tuberculóides em relação aos pacientes lepromatosos.
- Os resultados sugerem que a deficiência da MBL possa conferir proteção ao desenvolvimento da hanseníase e à evolução para formas mais graves da doença, contribuindo para a evolução clínica polimórfica da hanseníase.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J.S. **Cellular and Molecular Immunology**. USA: W. B. Saunders Company, 1997.

ALCAÍS, A.; MIRA, M.; CASANOVA, J. L. *et al.* Genetic dissection of immunity in leprosy. **Current Opinion in Immunology**, v. 17, p. 44-48, 2005.

AMBROSIO, A.R.; DE MESSIAS-REASON, I. J. Leishmania (Viannia) braziliensis: interaction of mannose-binding lectin with surface glycoconjugates and complement activation. An antibody-independent defense mechanism. **Parasite Immunology**, v. 27(9), p. 333-340, 2005.

ARAI, T.; TABONA, P.; SUMMERFIELD, J. A. Human mannose-binding protein gene is regulated by interleukins, dexamethasone and heat shock. **The Quartely Journal of Medicine**, v. 1(86), p. 575-582, 1993.

ARAÚJO. M. G. Hanseníase no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36(3), p. 373-382, 2003.

BALIÑA, L. M. Reflections on the International Leprosy Congresses and Other Events in Research Epidemiology, and Elimination of Leprosy. **International Journal of Leprosy**, v. 62 (3), p. 412-427, 1994.

BOLDT, A. B. W.; PETZL-ERLER, M. L. A new strategy for mannose-binding lectin gene haplotyping. **Human Mutation**, v. 19, p. 296-306, 2002.

BONAR, A.; CHMIELA, M.; ROZALSKA, B. Level of mannose-binding lectin (MBL) in patients with tuberculosis. **Pneumonol Alergol Pol (Pneumologia Polska)**, v.72(5-6), p.201-205, 2004.

BONAR, A.; CHMIELA, M.; RUDNICKA, W. *et al.* Mannose-binding lectin enhances the attachment and phagocytosis of mycobacteria in vitro. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 53(5), p. 437-441, 2005.

BONIOTTO, M.; BRAIDA, L.; SPANO, A. *et al.* Variant mannose-binding lectin alleles are associated with celiac disease. **Immunogenetics**, v. 54(8), p. 596-598, 2002.

BONIOTTO, M.; BRAIDA, L.; BALDAS, V. *et al.* Evidence of a correlation between mannose binding lectin and celiac disease: a model for other autoimmune diseases. **Journal of Molecular Medicine**, v. 83(4), p. 308-315, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Hanseníase: Atividades de Controle e Manual de Procedimentos**. Brasília, 2001.

BRITTON W. J. Immunology of Leprosy. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, p. 508-514, 1993.

BRITTON, W. J.; LOCKWOOD, D. N. J. Leprosy. **Lancet**, v. 363, p. 1209-1219, 2004.

CARVALHO, E. G. **Investigação da Lectina Ligante de Mannose em pacientes com Doença Celíaca**. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde da UFPR, Curitiba, 2006.

CHRISTIANSEN, O. B.; KILPATRICK, D. C.; SOUTER, V. *et al.* Mannan-Binding Lectin Deficiency is Associated with Unexplained Recurrent Miscarriage. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 49, p. 193-196, 1999.

CHUNG, M. K.; MARTIN, D. O.; SPRECHER, D. *et al.* C-Reactive Protein Elevation in Patients With Atrial Arrhythmias: Inflammatory Mechanisms and Persistence of Atrial Fibrillation. **Circulation**, v. 104, p. 2886-2891, 2001.

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

DELVES, P. J.; ROITT, I. M. The Immune System. **New England Journal of Medicine**, v. 343 (1), p. 37-49, 2000.

DU CLOS, T. W. Function of C-reactive Protein. **Annals of Medicine**, v. 32 (4), p. 274-278, 2000.

EISEN, D. P.; MINCHINTON, R. M. Impact of Mannose-Binding Lectin on Susceptibility to Infectious Diseases. **Clinical Infectious Diseases**, v.37, p. 1496-1505, 2003.

ENDO, M.; OHI, H.; OHSAWA, I. *et al.* Glomerular deposition of mannose-binding lectin (MBL) indicates a novel mechanism of complement activation in IgA nephropathy. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 13, p. 1984 -1990, 1998.

EZEKOWITZ, R. A. B.; DAY, L. E.; HERMAN, G. A. A Human Mannose-Binding Protein Is An Acute-Phase Reactant That Shares Sequence Homology With Other Vertebrate Lectins. **Journal of Experimental Medicine**, v. 167, p. 1034-1046, 1988.

EZEKOWITZ, R. A. B.; KUHLMAN, M.; GROOPMAN, J. E. *et al.* A Human Serum Mannose-Binding Protein Inhibits In Vitro Infection By The Human Immunodeficiency Virus. **Journal of Experimental Medicine**, v. 169, p. 185-196, 1989.

FIANE, A. E.; UELAND, T.; SIMONSEN, S. *et al.* Low mannose-binding and increased complement activation correlate to allograft vasculopathy, ischaemia, and rejection after human heart transplantation. **European Heart Journal**, v. 26 (16), p. 1660-1665, 2005.

FOSS, N.T.; de OLIVEIRA, E. B.; SILVA, C. L. Correlation between TNF production, increase of plasma C-reactive protein level and suppression of T lymphocyte response to concanavalin A during erythema nodosum leprosum. **International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Disease**, v. 61(2), p. 218-226, 1993.

FOSS, N.T. Hanseníase: aspectos clínicos, imunológicos e terapêuticos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 74 (2), p. 113-119, 1999.

FUJITA T. Evolution of the lectin-complement pathway and its role in innate immunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 2(5), p. 346-353, 2002.

GARRED, P.; HARBOE, M.; OETTINGER, T. *et al.* Dual role of mannan-binding protein in infections: another case of heterosis? **European Journal of Immunogenetics**, v. 21, p. 125-131, 1994.

GARRED, P.; PRESSLER, T.; MADSEN, H. O. *et al.* Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 104(4), p. 431-437, 1999 a.

GARRED, P.; MADSEN, H. O.; HALBERG, P. *et al.* Mannose-Binding Lectin Polymorphisms and Susceptibility to Infection in Systemic Lupus Erythematosus. **Arthritis & Rheumatism**, v. 42(10), p. 2145-2152, 1999 b.

GARRED, P.; PRESSLER, T.; LANNG, S. *et al.* Mannose-binding lectin (MBL) therapy in an MBL-deficient patient with severe cystic fibrosis lung disease. **Pediatric Pulmonology**, v. 33(3), p. 201-207, 2002.

GOULART, I.M.B.; PENNA, G.O.; CUNHA, G. Imunopatologia da hanseníase: a complexidade dos mecanismos da resposta imune do hospedeiro ao *Mycobacterium leprae*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35(4), p. 365-375, 2002.

GRAUDAL, N. A.; MADSEN, H. O.; TARP, U. *et al.* The association of variant mannose-binding lectin genotypes with radiographic outcome in rheumatoid arthritis. **Arthritis & Rheumatism**, v. 43 (3), p. 515-521, 2000.

GUERRA, J. G.; PENNA, G. O.; CASTRO, L. C. M. *et al.* Avaliação de série de casos de eritema nodoso hansênico: perfil clínico, base imunológica e tratamento instituído nos serviços de saúde. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37(5), p. 384-390, 2004.

HANSEN, T. K.; THIEL, S.; KNUDSEN, S. T. *et al.* Elevated Levels of Mannan-Binding Lectin in Patients with Type 1 Diabetes. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88(10), p. 4857-4861, 2003.

HANSEN, T. K.; TARNOW, L.; THIEL, S. *et al.* Association Between Mannose-Binding Lectin and Vascular Complications in Type 1 Diabetes. **DIABETES**, v. 53, p. 1570-1576, 2004.

HART, T.; SHEARS, P. **Color Atlas of Medical Microbiology**, Spain, Mosby-Wolf, 1996.

HUSSAIN, R.; LUCAS, S. B.; KIFAYET, A. *et al.* Clinical and histological discrepancies in diagnosis of ENL reactions classified by assessment of acute phase proteins SAA and CRP. **International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Disease**, v. 63(2), p. 222-230, 1995.

IBGE, 2006. Disponível em: <[http:// www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br) > Acesso em

INANC, N.; MUMCU, G.; BIRTAS, E. *et al.* Serum mannose-binding lectin levels are decreased in Behcet's disease and associated with disease severity. **Journal of Rheumatology**, v. 32(2), p. 287-291, 2005.

ISHII, N. Recent advances in the treatment of leprosy. **Dermatology Online Journal**, v. 9 (2):5, 2003.

JACK, D. L.; KLEIN, N. J.; TURNER, M. W. Mannose-binding lectin: targeting the microbial world for complement attack and opsonophagocytosis. **Immunological Reviews**, v.180, p. 86-99, 2001.

JAMAL, S.; JOLLES, S. The role of complement testing in dermatology. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 30, p321-328, 2005.

JANEWAY JR, C.; TRAVERS, P. **Imunobiologia**. O sistema imunológico na saúde e na doença. 2. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 2002.

JORDAN, J. E.; MONTALTO, M. C.; STAHL, G. L. Inhibition of Mannose-Binding Lectin Reduces Postischemic Myocardial Reperfusion Injury. **Circulation**, v. 104, p. 1413-1418, 2001.

KILPATRICK, D. C. Mannan-binding lectin: clinical significance and applications. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1572, p. 104-413, 2002.

KILPATRICK, D. C.; DELAHOODE, T. E. S.; KOCH, C. *et al.* Mannan-binding lectin and hepatitis C infection. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 132, p. 92-95, 2003.

KIRSCHFINK, M.; MOLLNES, T. E. Modern Complement Analysis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 10(6), p. 982-989, 2003.

KURATA, H.; CHENG, H. M.; KOZULSUMI, Y. *et al.* Role of the collagen-like domain of the human serum mannan-binding protein in the activation of complement and the secretion of this lectin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 191 (3), p. 1204-1210, 1993.

LEAL, A. M.; MAGALHÃES, P. K.; SOUZA, C. S. *et al.* Adrenocortical hormones and interleukin patterns in leprosy. **Parasite Immunology**, v. 25(8-9), p. 457-461, 2003.

LHOTTA, K.; WÜRZNER, R.; KÖNIG, P. Glomerular deposition of mannose-binding lectin in human glomerulonephritis. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 14, p. 881-886, 1999.

LOCKWOOD, D. N. J.; SUNEETHA, S. Leprosy: too complex a disease for a simple elimination paradigm. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 83 (3), p. 230-235, 2004.

LUHR, T.; MODI, J. **Development of a high-sensitivity C-reactive protein assay**. Disponível em: <http://www.devicelink.com/ivdt/archive/00/03/003/html>

MADSEN, H. O.; GARRED, P.; KURTZHALS, J. A. L. *et al.* A new frequent allele is the missing link in the structural polymorphism of the human mannan-binding protein. **Immunogenetics**, v. 40, p. 37-44, 1994.

MADSEN, H. O., GARRED, P., THIEL, S. *et al.* Interplay Between Promoter and Structural Gene Variants Control Basal Serum Level of Mannan-Binding Protein. **The Journal of Immunology**, v. 155, p. 3013-3020, 1995.

MADSEN, H. O.; SATZ, M. L.; HOGH, B. *et al.* Different Molecular Events Result in Low Protein Levels of Mannan-Binding Lectin in Populations from Southeast Africa and South America. **The Journal of Immunology**, v. 161, p. 3169-3175, 1998.

MATSUO, E. Leprosy as a Challenge to Science on the Ability to Decode Its Enigma. A Hypothesis on How to Respond. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, v. 58, p. 59-64, 2005.

MATSUSHITA, M.; EZEKOWITZ, R. A. B.; FUJITA, T. The Gly→Asp allelic form of human mannose-binding protein (MBP) fails to bind MBP-associated serine protease. **Biochemical Journal**, v. 311, p. 1021-1023, 1995.

MEDZHITHOY, R.; JANEWAY, C. Advances in Immunology: Innate Immunity. **New England Journal of Medicine**, v. 343, p. 338-344, 2000.

MEDINA, F.; CAMARGO, A.; MORENO, J. *et al.* Anti-Neutrophil Cytoplasmic Autoantibodies in Leprosy. **British Journal of Rheumatology**, v. 37, p. 270-273, 1998.

MEMON, R. A.; HUSSAIN, R.; RAYNES, J. G. *et al.* Alterations in serum lipids in lepromatous leprosy patients with and without ENL reactions and their relationship to acute phase proteins. **International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases**, v. 64 (2), p. 115-122, 1996.

MESSIAS, I. J. T.; SANTAMARIA, J.; BRENDEN, M. *et al.* Association of C4B deficiency (C4B*Q0) with erythema nodosum in leprosy. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 92, p. 284-287, 1993.

MEYERS, W.M.; MARTY, A. M. Current Concepts in the Pathogenesis of Leprosy. Clinical, Pathological, Immunological and Chemotherapeutic Aspects. **Drugs**, v. 41(6), p. 832-856, 1991.

MINCHINTON, R. M.; DEAN, M. M.; CLARK, T. R. *et al.* Analysis of the Relationship Between Mannose-Binding Lectin (MBL) Genotype, MBL Levels and Function in an Australian Blood Donor Population. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 56, p. 630-641, 2002.

MIRA, M. T.; ALCAIS, A.; THUC, N. V. *et al.* Susceptibility to leprosy is associated with PARK2 and PACRG. **Nature**, v. 427, p. 636-640, 2004.

PARKASH, O.; SENGUPTA, U. Survival of *Mycobacterium leprae* in Mononuclear Phagocytes: A Possible Role of Complement System. **Acta Leprologica**, v. 7(5), p. 375-377, 1991.

PEREIRA, L.; RASKIN, S.; FREUND, A. A. *et al.* Cystic fibrosis mutations R1162X and 2183AA->G in two southern Brazilian states. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22(3), p. 291-294, 1999.

PRESANIS, J.S.; KOJIMA, M.; SIM, R.B. Biochemistry and genetics of mannan-binding lectin (MBL). **Biochemical Society Transactions**, v. 31, p. 748-752, 2003.

PRODINGER, W.H.; WÜRZNER, R.; ERDEI, A. *et al.* Complement. **Fundamental Immunology**. 4ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, p.967-995, 1999.

RAMANATHAN V.D. The Pathophysiology of the Complement System in Leprosy. **Indian Journal of Leprosy**, v. 63(3, 4), p. 418-434, 1991.

RAMANATHAN V.D.; THYAGI, P.; RAMANATHAN, U. *et al.* A sequential study of circulating immune complexes, complement and immunoglobulins in borderline tuberculoid leprosy patients with and without reactions. **Indian Journal of Leprosy**, v. 70, p. 153-160, 1998.

RASKIN, S.; PEREIRA, L.; REIS, F. *et al.* High allelic heterogeneity between Afro-Brazilians and Euro-Brazilians impacts cystic fibrosis genetic testing. **Genet Test**, v. 7(3), p. 213-218, 2003.

REMUS, N.; ALCAÏS, A.; ABEL, L. Human Genetics of Common Mycobacterium Infections. **Imunologic Research**, v. 28(2), p. 109-129, 2003.

RIDKER, P. M.; STAMPFER, M. J.; RIFAI, N. Novel Risk Factors for Systemic Atherosclerosis : A Comparison of C-Reactive Protein, Fibrinogen, Homocysteine, Lipoprotein (a), and Standard Cholesterol Screening as Predictors of Peripheral Arterial Disease. **The Journal of the American Medical Association**, v. 285 (19), p. 2481-2485, 2001.

RIDKER, P. M.; RIFAI, N.; ROSE, L. *et al.* Comparison of C-Reactive Protein and Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in the Prediction of First Cardiovascular Events. **The New England Journal of Medicine**, v. 347 (20), p. 1557-1565, 2002.

RIDLEY, D. S.; JOPLING, W. H. Classification of leprosy according to immunity: A five group system. **International Journal of Leprosy** , v. 34, p. 255-273, 1966.

RIFAI, N.; TRACY, R. P.; RIDKER, P. M. Clinical Efficacy of an Automated High-Sensitivity C-Reactive Protein Assay. **Clinical Chemistry**, v. 45, p. 2136-2141, 1999.

SAHA, K.; SHARMA, V.; CHAKRABARTY, A. K. *et al.* Breakdown Product of Factor B as an Index of Complement Activation in Lepromatous Leprosy and Its Relation with Bacillary Load. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 17, p. 37-43, 1983.

SAMUELSON J.; VON LICHTENBERG F. **Infectious Diseases**. In Pathologic Basis of Disease (Eds. RS Cotran, V Kumar and SL Robbins) 5th. Edition, WB Saunders Company, Philadelphia, USA. p. 305-378, 1994.

SASAKI, S.; TAKESHITA, F.; OKUDA, K. *et al.* *Mycobacterium leprae* and Leprosy: A Compendium. **Microbiology and Immunology**, v. 45(11), p. 729-736, 2001.

SCHAFRANSKI, M.D.; MESSIAS, I.J.T.; NISHIHARA, R. *et al.* Significantly increased levels of mannose-binding lectin (MBL) in rheumatic heart disease: a beneficial role for MBL deficiency. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 138(3), p. 521-525, 2004.

SCHLESINGER, L. S.; HORWITZ, M. A. Phagocytosis of Leprosy Bacilli is Mediated by Complement Receptors CR1 and CR3 on Human Monocytes and Complement Component C3 in Serum. **Journal Clinical of Investigation**, v. 85, p. 1304-1314, 1990.

SCHLESINGER, L. S.; HORWITZ, M. A. Phagocytosis of *Mycobacterium leprae* by human monocyte-derived macrophages is mediated by complement receptors CR1 (CD35), CR3 (CD11b/CD18), and CR4 (CD11c/CD18) and IFN-gamma activation inhibits complement receptor function and phagocytosis of this bacterium. **Journal of Immunology**, v. 147(6), p. 1983-1994, 1991a.

SCHLESINGER, L. S.; HORWITZ, M. A. Phenolic Glycolipid-1 of *Mycobacterium leprae* Binds Complement Component C3 in Serum and Mediates Phagocytosis by Human Monocytes. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 174, p. 1031-1038, 1991b.

SCHLESINGER, L. S.; HORWITZ, M. A. A Role for Natural Antibody in the Pathogenesis of Leprosy: Antibody in Nonimmune Serum Mediates C3 Fixation to the *Mycobacterium leprae* Surface and Hence Phagocytosis by Human Mononuclear Phagocytes. **Infection and Immunity**, v. 62 (1), p. 280-289, 1994.

SEELLEN, M. A.; ROOS, A.; DAHA, M. R. Role of complement in innate and autoimmunity. **Journal of Nephrology**, v. 18 (6), p. 642-653, 2005.

SEIBOLD, F.; KONRAD, A.; FLOGERZI, B. *et al.* Genetic Variants of the Mannan-Binding Lectin Are Associated With Immune Reactivity to Mannans in Crohn's Disease. **Gastroenterology**, v. 127, p. 1076-1084, 2004.

SOBORG, C.; MADSEN, H. O.; ANDERSEN, A. B. *et al.* Mannose-binding lectin polymorphisms in clinical tuberculosis. **The Journal of Infectious and Diseases**, v. 188(5), p. 777-782, 2003.

SRIVASTAVA, L. M.; AGARWAL, D. P.; GOEDDE, H. W. *et al.* Biochemical, immunological and genetics studies in leprosy. Profile of immunoglobulins, complement components and C-reactive protein in sera of leprosy patients and healthy controls. **Tropenmedizin Und Parasitologie**, v. 26(2), p. 212-218, 1975.

SUMIYA, M.; SUMMERFIELD, J. A. Mannose-binding protein, genetic variants and the risk of infection. **The Quarterly Journal of Medicine**, v. 89, p. 723-726, 1996.

SUMMERFIELD, J. A.; RYDER, S.; SUMIYA, M. *et al.* Mannose binding protein gene mutations associated with unusual and severe infections in adults. **The Lancet**, v. 345, p. 886-889, 1995.

SUMMERFIELD, J. A.; SUMIYA, M.; LEVIN, M. *et al.* Association of mutations in mannose binding protein gene with childhood infection in consecutive hospital series. **British Medical Journal**, v. 314, p. 1229-1232, 1997.

SUPER, M.; THIEL, S.; LU, J.; *et al.* Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect of opsonization. **The Lancet**, v. 2 (8674), p. 1236-1239, 1989.

SUPER, M.; GILLIES, S.D.; FOLEY, S. *et al.* Distinct and overlapping functions of allelic forms of human mannose binding protein. **Nature Genetics**, v. 2, p. 50-55, 1992.

TALHARI, S.; NEVES, R.G. **Hanseníase**. Gráfica Tropical: Manaus, 1997.

TAYLOR, M.; BRICKELL, P. M.; CRAIG, R. K. *et al.* Structure and evolutionary origin of the gene encoding a human serum mannose-binding protein. **Biochemical Journal**, v. 262, p. 736-771, 1989.

THIEL, S.; FREDERIKSEN, P. D.; JENSENIUS, J. C. Clinical manifestations of mannan-binding lectin deficiency. **Molecular Immunology**, v. 43, p. 86-96, 2006.

TURNER, M. W. Deficiency of Mannan Binding Protein – A New Complement Deficiency Syndrome. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 86(1), p. 53-56, 1991.

TURNER, M. W. Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. **Immunology Today**, v. 17(11), p. 532-540, 1996.

TURNER, M. W. The Role of Mannose-binding Lectin in Health and Disease. **Molecular Immunology**, v. 40, p. 423-429, 2003.

VALDIMARSSON, H.; STEFANSSON, M.; VIKINGSDDOTTIR, T. *et al.* Reconstitution of Opsonizing Activity by Infusion of Mannan-Binding Lectin (MBL) to MBL-Deficient Humans. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 48, p. 116-123, 1998.

VOLANAKIS, J.E. Human C-reactive protein: expression, structure and function. **Molecular Immunology**, v. 38, p. 189-197, 2001.

WALPORT. M. J. Complement. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 344(14), p. 1058-1066, 2001 (a).

WALPORT. M. J. Complement. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 344(14), p. 1140-1144, 2001 (b).

WALSH, M. C.; BOURCIER, T.; TAKAHASHI, K. *et al.* Mannose-binding lectin is a regulator of inflammation that accompanies myocardial ischemia and reperfusion injury. **Journal of Immunology**, v. 175(1), p. 541-546, 2005.

WEIS, W. I.; DRICKAMER, K.; HENDRICKSON, W. A. Structure of a C-type mannose-binding protein complexed with an oligosaccharide. **Nature**, v. 360 (6400), p. 127-134, 1992.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 – PLANILHA DE DADOS DE PACIENTES	89
APÊNDICE 2 – PLANILHA DE DADOS DE CONTROLES	94
APÊNDICE 3 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM HANSENÍASE E CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM O SEXO	98
APÊNDICE 4 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM HANSENÍASE E CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM O GRUPO ÉTNICO	98
APÊNDICE 5 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES HANSENIANOS DE ACORDO COM A FORMA CLÍNICA DA DOENÇA	98
APÊNDICE 6 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM HANSENÍASE E CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM A FAIXA DE IDADE	98
APÊNDICE 7 – COMPARAÇÕES DAS CONCENTRAÇÕES DE MBL E PCR ENTRE OS PACIENTES COM AS FORMAS CLÍNICAS LEPROMATOSA, TDI E OS CONTROLES	99
APÊNDICE 8 – COMPARAÇÕES DAS CONCENTRAÇÕES DE MBL E PCR ENTRE OS PACIENTES COM AS FORMAS CLÍNICAS IEPROMATOSA, TUBERCULÓIDE, DI E OS CONTROLES	99
APÊNDICE 9 – COMPARAÇÃO DOS VALORES SÉRICOS DE MBL E DE PCR ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS LEPROMATOSA, TDI E OS CONTROLES NORMAIS	99
APÊNDICE 10 – CONCENTRAÇÃO DE MBL ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E OS CONTROLES	100
APÊNDICE 11 – CONCENTRAÇÃO DE PCR ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E OS CONTROLES	100
APÊNDICE 12 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL NA FORMA CLÍNICA DIMORFA DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA	100
APÊNDICE 13 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL NA FORMA CLÍNICA TUBERCULÓIDE DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA	101

APÊNDICE 14 -CONCENTRAÇÃO SÉRICA BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL NA FORMA CLÍNICA INDETERMINADA DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA	101
--	-----

CODIFICAÇÕES:

Para "SEXO": 1 = masculino
 2 = feminino

Para "ETNIA": 1 = caucasóide
 2 = mulato
 3 = negro
 4 = índio

Para "DOENÇA" 1 = lepromatosa (virchowiana)
 2 = dimorfa
 3 = tuberculóide
 4 = indeterminada

Para "REAÇÕES" S = sim (presente)
 N = não (ausente)

APÊNDICE 1 – PLANILHA DE DADOS DE PACIENTES

N	CÓDIGO	IDADE	SEXO	ETNIA	DOENÇA	REAÇÃO TIPO II	MBL (ng/ml)	PCR (mg/dl)
1	002 A	68	1	1	2		3420,0	-
2	003 A	34	2	1	1	N	34,2	-
3	004 A	41	2	3	2		1014,6	-
4	005 A	26	2	1	1	S	1787,9	-
5	006 A	40	2	3	1	S	393,3	0,398
6	007 A	52	1	1	3		22,8	-
7	008 A	41	1	3	2		547,2	-
8	009 A	58	1	1	1	S	2810,1	0,320
9	010 A	28	2	4	3		19,0	-
10	011 A	50	2	1	3		2447,2	-
11	012 A	47	1	1	2		1592,2	-
12	013 A	30	2	2	1	S	1679,6	0,539
13	014 A	31	1	1	2		2500,4	-
14	015 A	51	2	1	2		2519,4	-
15	016 A	54	1	1	1	N	708,7	-
16	018 A	22	1	1	2		2937,4	-
17	019 A	45	1	2	2		36,1	-
18	020 A	65	1	2	1	S	144,4	0,320
19	021 A	27	1	1	1	S	2905,1	0,713
20	022 A	34	2	1	1	S	818,9	-
21	023 A	36	1	1	2		6997,9	0,981
22	024 A	69	1	3	1	N	805,6	-
23	026 A	56	1	1	1	S	604,2	0,860
24	027 A	36	1	2	1	N	2688,5	-
25	028 A	60	1	1	1	N	114,0	-
26	029 A	40	1	2	1	N	2509,9	-
27	030 A	66	1	1	1	N	1254,0	-
28	032 A	47	1	1	1	N	733,4	-
29	033 A	69	1	1	1	S	2207,8	-
30	035 A	62	1	1	1	N	2299,0	-
31	036 A	56	1	1	1	N	682,1	-
32	037 A	60	1	1	1	N	1189,4	-
33	038 A	72	1	3	1	N	2213,5	-
34	039 A	73	1	1	1	S	212,8	-
35	041 A	94	2	1	1	N	47,5	-
36	042 A	68	2	1	1	N	26,6	-

N	CÓDIGO	IDADE	SEXO	ETNIA	DOENÇA	REAÇÃO TIPO II	MBL (ng/ml)	PCR (mg/dl)
37	043 A	67	2	1	4		1544,7	0,54
38	044 A	61	2	1	1	N	184,3	-
39	045 A	60	2	1	1	N	1343,3	-
40	046 A	69	2	1	1	N	3085,6	-
41	047 A	68	2	1	1	N	948,1	-
42	048 A	52	2	1	1	N	469,3	-
43	049 A	65	2	1	1	N	2707,5	-
44	050 A	65	2	1	1	N	786,6	-
45	051 A	73	2	1	1	N	378,1	-
46	052 A	87	2	1	1	N	856,9	-
47	053 A	51	2	1	1	N	3072,3	-
48	054 A	63	1	1	1	S	870,2	8,580
49	056 A	80	1	1	1	N	2727,4	0,409
50	057 A	74	1	1	1	N	7213,0	-
51	058 A	81	2	1	1	S	1377,5	1,360
52	059 A	74	2	1	1	N	376,2	-
53	060 A	61	2	1	4		20,9	0,320
54	063 A	52	2	1	1	N	7256,0	-
55	064 A	70	1	1	3		699,2	-
56	066 A	67	1	3	2		15,2	-
57	067 A	61	1	1	1	N	1970,3	-
58	068 A	71	1	1	1	N	1761,3	-
59	069 A	60	1	1	1	N	3520,7	-
60	070 A	64	1	1	1	N	2964,0	-
61	071 A	90	1	1	1	N	2361,7	-
62	072 A	40	1	1	1	N	1423,1	-
63	073 A	67	1	2	1	N	2046,3	-
64	074 A	45	1	1	1	N	30,4	-
65	075 A	51	1	3	4		2608,7	33,500
66	076 A	74	1	3	1	N	1521,9	-
67	078 A	58	1	1	1	N	2462,4	-
68	079 A	43	1	1	1	N	7973,0	-
69	080 A	86	1	3	1	N	779,0	-
70	081 A	70	2	1	1	N	45,6	-
71	082 A	59	1	3	1	N	554,8	-
72	083 A	73	1	3	1	N	1292,0	-
73	084 A	58	1	1	1	N	266,0	-
74	085 A	81	1	1	1	N	1019,3	-

N	CÓDIGO	IDADE	SEXO	ETNIA	DOENÇA	REAÇÃO TIPO II	MBL (ng/ml)	PCR (mg/dl)
75	086 A	57	2	1	3		2572,5	0,320
76	087 A	62	1	1	3		1158,0	0,809
77	089 A	73	2	4	1	N	2850,8	0,464
78	090 A	48	2	3	4		2370,4	1,830
79	091 A	68	1	1	1	N	3596,9	0,320
80	092 A	59	1	1	1	N	24,1	0,320
81	093 A	58	1	1	1	N	1501,0	4,390
82	094 A	57	1	3	1	N	3004,6	1,630
83	095 A	42	2	2	3		391,4	0,320
84	096 A	45	1	1	1	S	3044,0	1,040
85	097 A	42	1	1	1	N	2946,2	0,320
86	098 A	27	2	1	1	S	571,9	2,320
87	099 A	45	2	1	1	N	2594,1	0,320
88	100 A	42	1	2	1	S	2950,0	0,320
89	101 A	50	1	1	2		1779,4	8,060
90	102 A	68	2	1	1	N	554,1	-
91	103 A	61	2	1	3		642,0	0,320
92	104 A	28	1	1	2		1630,7	4,270
93	105 A	75	1	1	2		971,0	1,130
94	106 A	71	2	1	2		406,7	0,523
95	107 A	62	1	2	2		2151,8	1,100
96	108 A	43	1	3	1	S	1353,6	0,320
97	109 A	57	2	1	2		1234,1	0,320
98	110 A	64	1	2	1	N	6761,3	1,470
99	112 A	61	1	1	1	S	1240,5	0,320
100	113 A	24	1	1	1	S	2125,1	-
101	114 A	42	1	1	2		2097,1	1,560
102	115 A	42	1	3	1	N	5872,2	-
103	116 A	30	1	1	1	S	55,9	-
104	117 A	28	2	1	2		364,8	0,320
105	118 A	63	1	1	1	N	687,6	0,831
106	119 A	42	1	1	2		1213,8	0,320
107	120 A	61	1	1	1	S	2533,1	0,751
108	121 A	50	1	2	1	N	6309,6	6,750
109	122 A	34	2	2	1	S	19,1	-
110	123 A	49	2	1	2		1445,1	0,320
111	124 A	36	1	1	2		244,0	-
112	125 A	43	2	1	1	N	582,1	0,320

N	CÓDIGO	IDADE	SEXO	ETNIA	DOENÇA	REAÇÃO TIPO II	MBL (ng/ml)	PCR (mg/dl)
113	126 A	38	1	1	1	S	2520,4	0,320
114	127 A	63	1	1	1	S	2822,9	0,320
115	128 A	73	1	1	2		2352,6	1,020
116	129 A	41	2	1	1	N	129,6	0,431
117	130 A	58	1	1	1	N	2037,4	0,320
118	131 A	50	2	1	4		316,5	0,320
119	132 A	56	1	1	1	N	1937,0	0,320
120	135 A	32	1	1	1	S	144,9	0,344
121	136 A	66	2	1	2		507,1	-
122	137 A	58	2	1	2		2620,8	-
123	138 A	42	1	3	1	S	218,6	0,614
124	139 A	54	2	1	3		743,5	-
125	140 A	31	1	1	1	N	1840,4	1,030
126	141 A	52	1	3	1	N	967,2	0,320
127	142 A	19	2	1	3		2522,9	0,320
128	144 A	53	1	3	1	N	2864,8	0,320
129	147 A	56	1	1	1	S	2852,1	1,910
130	148 A	35	1	3	2		1454,0	1,300
131	149 A	53	1	1	1	N	191,9	-
132	150 A	57	2	1	1	S	312,7	1,330
133	151 A	77	2	1	1	N	413,1	1,550
134	152 A	20	2	1	1	S	1962,4	0,779
135	154 A	45	1	1	1	N	818,5	-
136	155 A	47	1	2	3		2783,5	-
137	156 A	34	1	1	1	S	968,5	0,320
138	157 A	38	1	3	1	S	460,1	0,320
139	158 A	63	1	3	2		1141,3	0,320
140	159 A	58	1	1	1	N	737,2	0,396
141	160 A	48	1	1	1	S	1457,8	0,508
142	161 A	66	1	1	1	N	279,6	12,900
143	162 A	64	1	3	2		271,9	0,790
144	163 A	35	2	1	4		2139,1	0,394
145	164 A	45	2	1	4		297,4	0,320
146	166 A	33	2	1	1	N	2253,5	3,710
147	167 A	41	2	1	3		392,7	0,320
148	168 A	48	1	1	1	S	2145,4	-
149	170 A	34	2	1	1	S	2112,4	5,630
150	171 A	29	2	1	1	S	8030,4	-

N	CÓDIGO	IDADE	SEXO	ETNIA	DOENÇA	REAÇÃO TIPO II	MBL (ng/ml)	PCR (mg/dl)
151	172 A	51	2	1	3		19,1	0,320
152	174 A	51	2	1	4		896,0	0,320
153	176 A	31	1	1	1	N	29,2	0,320
154	178 A	58	1	1	1	N	2991,9	7,710
155	179 A	30	2	1	1	S	733,4	0,320
156	180 A	50	1	1	1	N	2186,1	0,320
157	181 A	35	2	1	3		2059,2	0,320
158	183 A	55	1	1	2		293,9	0,320
159	184 A	28	1	1	3		32,9	0,320
160	185 A	24	2	1	1	S	1885,7	0,542
161	186 A	40	1	1	1	S	41,6	0,320
162	189 A	41	2	1	4		2697,3	0,320
163	190 A	59	1	1	2		1676,3	0,320
164	191 A	68	1	1	1	N	2184,0	0,844
165	192 A	24	1	1	1	N	1930,2	2,450
166	193 A	71	1	3	1	N	1240,4	0,320
167	194 A	41	2	1	4		2178,2	0,320
168	195 A	24	2	1	4		63,1	0,320
169	196 A	57	1	1	1	N	1922,0	0,807
170	197 A	43	2	1	2		2045,0	0,320
171	198 A	33	2	1	1	S	1947,4	0,983
172	199 A	60	1	1	1	N	2456,4	11,200
173	200 A	40	1	1	1	N	793,0	0,940
174	202 A	27	2	1	4		1405,3	0,343
175	203 A	50	2	1	1	S	255,2	0,320

APÊNDICE 2 – PLANILHA DE DADOS DE CONTROLES

N	CÓDIGO	IDADE	SEXO	ETNIA	MBL (ng/ml)	PCR (mg/dl)
1	1 M	50	1	2	1100,0	0,320
2	4 M	19	2	1	500,0	0,320
3	5 M	29	1	1	3500,0	—
4	6 M	52	1	1	3600,0	—
5	7 M	70	1	1	1400,0	—
6	8 M	51	1	1	480,0	0,320
7	9 M	54	1	3	4500,0	—
8	10 M	26	1	1	250,0	—
9	11 M	20	1	1	550,0	—
10	12 M	75	1	2	350,0	—
11	13 M	41	1	2	4500,0	—
12	14 M	33	1	1	2,0	—
13	15 M	37	1	1	3100,0	—
14	16 M	29	1	1	4000,0	—
15	18 M	31	1	1	2000,0	—
16	19 M	51	1	1	800,0	—
17	20 M	78	2	1	400,0	0,348
18	30 M	57	2	4	2100,0	0,320
19	31 M	45	2	2	2,0	0,320
20	39 M	50	2	1	400,0	0,618
21	42 M	68	2	1	2500,0	0,320
22	45 M	56	2	2	450,0	0,320
23	47 M	56	2	2	1500,0	0,510
24	54 M	52	2	1	3200,0	0,775
25	55 M	51	2	1	400,0	0,320
26	57 M	41	2	3	450,0	—
27	58 M	38	2	3	600,0	0,455
28	59 M	59	2	1	2500,0	0,320
29	60 M	52	2	1	1800,0	0,595
30	62 M	59	2	1	700,0	—
31	63 M	52	2	1	400,0	—
32	64 M	38	2	1	70,0	—
33	65 M	30	2	1	1900,0	—
34	66 M	54	2	1	2600,0	—

N	CÓDIGO	IDADE	SEXO	ETNIA	MBL (ng/ml)	PCR (mg/dl)
35	67 M	35	1	1	2,0	--
36	68 M	54	2	1	5000,0	--
37	69 M	37	1	1	2,0	--
38	70 M	46	2	1	6000,0	--
39	71 M	30	2	1	3000,0	--
40	72 M	47	1	1	5800,0	--
41	73 M	42	1	1	6200,0	--
42	74 M	59	1	1	1600,0	--
43	75 M	42	2	1	1600,0	--
44	76 M	45	2	1	2,0	--
45	77 M	58	2	1	2,0	--
46	78 M	51	2	1	2,0	--
47	79 M	33	1	1	5000,0	--
48	80 M	32	2	1	6200,0	--
49	81 M	43	1	1	4600,0	--
50	82 M	30	2	2	4600,0	--
51	83 M	33	1	1	5000,0	--
52	84 M	69	2	1	6200,0	--
53	85 M	57	2	1	2800,0	--
54	4CN	49	1	3	17,2	--
55	87 M	51	2	1	2,0	--
56	88 M	33	1	1	2,0	--
57	89 M	32	2	1	2100,0	--
58	90 M	41	2	1	250,0	--
59	91 M	42	1	1	4800,0	--
60	92 M	32	2	1	2200,0	--
61	93 M	54	2	1	1700,0	--
62	94 M	41	2	1	4800,0	--
63	95 M	42	1	1	3800,0	--
64	96 M	58	2	1	4100,0	--
65	97 M	51	2	1	4800,0	--
66	98 M	30	2	2	2,0	--
67	99 M	42	1	1	2,0	--
68	100 M	45	2	1	2,0	--
69	101 M	32	2	1	2200,0	--
70	500705A	20	2	1	44,4	0,320

N	CÓDIGO	IDADE	SEXO	ETNIA	MBL (ng/ml)	PCR (mg/dl)
71	500605A	22	2	1	2714,5	1,290
72	508305 A	23	1	1	8076,5	0,320
73	510005 A	41	1	1	1471,3	0,320
74	509905 A	27	1	1	1520,0	0,320
75	509805 A	44	1	1	742,8	0,320
76	509505 A	49	1	1	2035,0	0,320
77	508805 A	51	1	3	408,7	0,320
78	508005 A	50	1	1	1567,4	0,320
79	506005 A	58	1	1	3015,7	0,320
80	494405 A	51	1	1	18,6	0,320
81	492905 A	54	1	1	996,6	—
82	491305 A	53	1	1	2010,5	—
83	480205 A	51	1	1	268,1	0,427
84	473905 A	52	1	1	725,6	0,320
85	473805 A	54	1	1	2251,4	0,320
86	01 CN	69	1	3	689,8	0,320
87	466905 A	57	1	1	1887,1	0,320
88	466005 A	51	1	1	2500,9	0,320
89	462705 A	52	1	1	2488,0	0,464
90	462205 A	51	1	1	1517,2	0,320
91	459505 A	53	1	1	629,5	0,320
92	459205 A	51	1	1	64,5	0,320
93	458905 A	55	1	1	2271,4	0,320
94	457905 A	55	1	1	22,9	0,320
95	456905 A	52	1	1	2012,9	0,320
96	454205 A	54	1	1	20,1	0,383
97	452505 A	56	1	1	2275,7	0,667
98	452305 A	58	1	1	6969,4	0,798
99	448405 A	53	1	1	1649,1	0,320
100	446605 A	50	1	1	717,0	0,320
101	446505 A	57	1	1	113,3	0,320
102	445905 A	52	1	1	1048,2	0,320
103	02 CN	55	1	3	1015,3	0,320
104	03CN	72	1	3	547,7	0,331
105	05 CN	67	1	3	12,9	0,320
106	06 CN	75	1	3	1118,5	0,519

N	CÓDIGO	IDADE	SEXO	ETNIA	MBL (ng/ml)	PCR (mg/dl)
107	07 CN	52	1	3	776,0	—
108	08 CN	67	1	3	532,0	—
109	09 CN	67	1	3	12,9	—
110	10 CN	57	1	3	3005,7	—

APÊNDICE 3 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM HANSENÍASE E
CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM O SEXO

SEXO	PACIENTES		CONTROLES	
	NÚMERO	%	NÚMERO	%
MASCULINO	107	61,14	67	60,91
FEMININO	68	38,86	43	39,09
TOTAL	175	100	110	100

APÊNDICE 4 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM HANSENÍASE E
CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM O GRUPO ÉTNICO

GRUPO ÉTNICO	PACIENTES		CONTROLES	
	NÚMERO	%	NÚMERO	%
CAUCASÓIDE	137	78,29	87	79,09
MULATO	13	7,43	8	7,27
NEGRO	23	13,14	14	12,73
ÍNDIO	2	1,14	1	0,91
TOTAL	175	100	110	100

APÊNDICE 5 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES HANSENIANOS DE ACORDO
COM A FORMA CLÍNICA DA DOENÇA

FORMA CLÍNICA DA DOENÇA	PACIENTES	
	NÚMERO	%
VIRCHOVIANA (LEPROMATOSA)	118	67,4
DIMORFA	30	17,1
TUBERCULÓIDE	15	8,6
INDETERMINADA	12	6,9
TOTAL	175	100

APÊNDICE 6 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM HANSENÍASE E
CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM A FAIXA DE IDADE

FAIXA DE IDADE	PACIENTES		CONTROLES	
	NÚMERO	%	NÚMERO	%
15 A 24 ANOS	7	4	5	4,5
25 A 49 ANOS	66	37,7	41	37,3
ACIMA DE 50 ANOS	102	58,3	64	58,2
TOTAL	175	100	110	100
MÉDIANA	52 (19 a 94 anos)		51 (19 a 78 anos)	

APÊNDICE 7– COMPARAÇÕES DAS CONCENTRAÇÕES DE MBL E PCR ENTRE OS PACIENTES COM AS FORMAS CLÍNICAS LEPROMATOSA, TDI E OS CONTROLES

Grupo	MBL (ng/ml)		PCR (mg/dl)	
	n	Mediana	n	Mediana
Lepromatosos	118	1400,30	61	0,40
TDI	57	1234,10	39	0,32
Controles	110	1508,60	50	0,32
Valor de p^*	0,5368		0,0001	

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis
TDI = Tuberculóide + Dimorfa + Indeterminada

APÊNDICE 8 – COMPARAÇÕES DAS CONCENTRAÇÕES DE MBL E PCR ENTRE OS PACIENTES COM AS FORMAS CLÍNICAS LEPROMATOSA, TUBERCULÓIDE, DI E OS CONTROLES

Grupo	MBL (ng/ml)		PCR (mg/dl)	
	n	Mediana	n	Mediana
Lepromatosos	118	1400,30	61	0,51
Tuberculóides	15	699,20	9	0,32
DI	42	1449,55	30	0,33
Controles	110	1508,60	50	0,32
Valor de p^*	0,4971		0,0001	

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis
DI = Dimorfa + Indeterminada

APÊNDICE 9 –COMPARAÇÃO DOS VALORES SÉRICOS DE MBL E DE PCR ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS LEPROMATOSA, TDI E OS CONTROLES NORMAIS

Grupos sob comparação	MBL (ng/ml)	PCR (mg/dl)
-----------------------	-------------	-------------

	Valor de p^*	Valor de p^*
TDI x lepromatosos	0,2564	0,0983
TDI x controles	0,7054	0,0847

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Valores de $p < 0,025$ indicam significância estatística (correção de Bonferroni)

TDI = Tuberculóide + Dimorfa + Indeterminada

APÊNDICE 10 – CONCENTRAÇÃO DE MBL ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E OS CONTROLES

Grupo	MBL (ng/ml)	
	n	Mediana (min – max)
Lepromatosos	118	1400,30 (19,10 – 8030,40)
Dimorfos	30	1449,55 (15,20 – 6997,90)
Tuberculóides	15	699,20 (19,00 – 2783,50)
Indeterminados	12	1475,00 (20,90 – 2697,30)
TDI	57	1234,10 (15,20 – 6997,90)
Controles	110	1508,60 (2,00 – 8076,50)

NOTA: TDI = Tuberculóide + Dimorfa + Indeterminada

APÊNDICE 11 – CONCENTRAÇÃO DE PCR ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE E OS CONTROLES

Grupo	PCR (mg/dl)	
	n	Mediana
Lepromatosos	61	0,51 (0,32 – 12,90)
Dimorfos	18	0,66 (0,32 – 8,06)
Tuberculóides	9	0,32 (0,32 – 0,81)
Indeterminados	12	0,32 (0,32 – 33,50)
TDI	39	0,32 (0,32 – 33,50)
Controles	50	0,32 (0,32 – 1,29)

NOTA: TDI = Tuberculóide + Dimorfa + Indeterminada

APÊNDICE 12 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL NA FORMA CLÍNICA DIMORFA DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA

Variável	Classificação	MBL (ng/ml)			Valor de p^*
		< 100	De 100 a 1000	> 1000	
Sexo	Masculino (n = 21)	2 (9,52%)	5 (23,81%)	14 (66,67%)	---
	Feminino (n = 9)	0 (0%)	3 (33,33%)	6 (66,67%)	
Idade	Até 49 anos (n = 15)	1 (6,67%)	3 (20,00%)	11 (73,33%)	---
	50 anos ou mais (n = 15)	1 (6,67%)	5 (33,33%)	9 (60,00%)	
Etnia	Caucasóide (n = 22)	0 (0%)	6 (27,27%)	16 (72,73%)	---
	Não caucasóide (n = 8)	2 (25,00%)	2 (25,00%)	4 (50,00%)	

NOTA: (*) Teste não aplicável

APÊNDICE 13 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL NA FORMA CLÍNICA TUBERCULÓIDE DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA

Variável	Classificação	MBL (ng/ml)			Valor de p^*
		< 100	De 100 a 1000	> 1000	
Sexo	Masculino (n = 5)	2 (40,00%)	1 (20,00%)	2 (40,00%)	---
	Feminino (n = 10)	2 (20,00%)	4 (40,00%)	4 (40,00%)	
Idade	Até 49 anos (n = 7)	2 (28,57%)	2 (28,57%)	3 (42,86%)	---
	50 anos ou mais (n = 8)	2 (25,00%)	3 (37,50%)	3 (37,50%)	
Etnia	Caucasóide (n = 12)	3 (25,00%)	4 (33,33%)	5 (41,67%)	---
	Não caucasóide (n = 3)	1 (33,33%)	1 (33,33%)	1 (33,33%)	

NOTA: (*) Teste não aplicável

APÊNDICE 14 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL NA FORMA CLÍNICA INDETERMINADA DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA

Variável	Classificação	MBL (ng/ml)			Valor de p^*
		< 100	De 100 a 1000	> 1000	

Sexo	Masculino (n = 1)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	---
	Feminino (n = 11)	2 (18,18%)	3 (27,27%)	6 (54,55%)	
Idade	Até 49 anos (n = 7)	1 (14,29%)	1 (14,29%)	5 (71,43%)	---
	50 anos ou mais (n = 5)	1 (20,00%)	2 (40,00%)	2 (40,00%)	
Etnia	Caucasóide (n = 10)	2 (20,00%)	3 (30,00%)	5 (50,00%)	---
	Não caucasóide (n = 2)	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)	

NOTA: (*) Teste não aplicável

ANEXOS

ANEXO 1 – CARTA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA DO HOSPITAL
DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ 104

ANEXO 1 – CARTA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA DO HOSPITAL
DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ




Curitiba, 30 de agosto de 2002.

Ilmo (a) Sr. (a)
Anna Carolina de Moraes Braga
Nesta

Prezado(a) Senhor(a):

Comunicamos que o **Adendo I** ao do Projeto de Pesquisa
“**AVALIAÇÃO DE MECANISMO DE RESPOSTA IMUNOLÓGICA NAS FORMAS
TUBERCULÓIDE E LEPROMATOSA DA HANSENIASE**”, foi analisado e aprovado pelo
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em reunião realizada no dia 27
de agosto de 2002, e está de acordo com as normas éticas estabelecidas pela
Resolução nº 196/96 do Ministério da Saúde.
Protocolo CEP-HC 497.079/2002-06

Atenciosamente,



Prof. Dr. Renato Tambara Filho
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa em
Serres Humanos do Hospital de Clínicas – UFPR