



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA - DME

EDUARDO JOSÉ ROCHA DE MORAES

**AVALIAÇÃO DO PAPEL DO TREM-1 SOLÚVEL NA
APRESENTAÇÃO E COMPLICAÇÕES CLÍNICAS DA HANSENÍASE**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

ARACAJU

2019

EDUARDO JOSÉ ROCHA DE MORAES

**AVALIAÇÃO DO PAPEL DO TREM-1 SOLÚVEL NA
APRESENTAÇÃO E COMPLICAÇÕES CLÍNICAS DA HANSENÍASE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial à obtenção do título de
Médico pelo Departamento de Medicina, da
Universidade Federal de Sergipe.

Autor: Eduardo José Rocha de Moraes

Co-orientador: Prof. Dr. Márcio Bezerra Santos

ARACAJU

2019

Dedico este trabalho a todas às
pessoas que sofrem das mazelas da
hanseníase, com suas complicações
biológicas, físicas e sociais. Também
dedico este trabalho à esperança e à luta
contra o preconceito.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, aos Anjos da Guarda e aos Espíritos de Luz pela vida, pelas alegrias e pela força nas horas de luta. Por cada dom dado em forma de benção e de oportunidade de agir pelo meu bem e pelo bem do próximo.

Ao meu Anjo Elenice Rocha de Moraes (in memorian), por ser luz e proteção em cada passo meu. A meu pai, Mário Eduardo Lima de Moraes, por ser tão grande exemplo de respeito, dignidade, honestidade e cuidado nas pequenas coisas. A Annelise Faro Barreto de Oliveira, por ser na minha vida o maior presente de todos. Obrigado por me permitirem sonhar e alcançar!

À Universidade Federal de Sergipe, pelas pessoas e espaços tão fundamentais à minha formação em princípios, teorias e práticas humanas, essenciais ao cuidado médico.

À Professora Dra. Amélia Maria Ribeiro de Jesus e ao Professor Dr. Rodrigo Anselmo Cazzaniga, pelo acolhimento em mais de dois anos de Iniciação Científica e por serem grandes exemplos humanos e profissionais. Agradeço, em especial, ao Professor Dr. Marcio Bezerra Santos pela orientação, consideração e amizade ao encarar o desafio da construção deste trabalho. Cordialmente agradeço a toda a equipe que faz o LBM acontecer.

À Professora Ângela Cristina Gomes Borges Leal, pelo exemplo de dedicação, humanidade e elegância no cuidado com o paciente. Ao Professor Fábio Santos Alves, por fazer perceber a importância da medicina baseada nas evidências e nas necessidades do doente e do cenário, que é possível ser humano do pré-hospitalar à medicina de ponta. À Professora Sara Regina Gabriel, por acreditar em mim antes mesmo que eu o fizesse, por estar ao meu lado, me apoiar e, também, puxar as orelhas quando precisei. Agradeço por serem meus mestres e meus amigos nessa jornada.

Ao amigo Júlio César Correia Cunha Filho (in memorian), pelos mais honestos clichês.

A quem não mencionei, mas esteve junto eu prometo reconhecer essa proximidade, ajuda e incentivo todos os dias da minha vida.

O correr da vida embrulha tudo,
a vida é assim:
esquenta e esfria,
aperta e daí afrouxa,
sossega e depois desinquieta.
O que ela quer da gente é coragem.
O que Deus quer é ver a gente aprendendo
a ser capaz de ficar alegre a mais,
no meio da alegria,
e inda mais alegre ainda
no meio da tristeza!
(ROSA, Guimarães, 1956)

RESUMO

MORAES, Eduardo José Rocha de. **Avaliação do papel do TREM-1 solúvel na apresentação e complicações clínicas da hanseníase**. 2019. 68 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina) - Universidade Federal de Sergipe. Aracaju, 2019.

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica, de evolução lenta, causada pelo *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*). Consiste em importante problema de saúde pública no Brasil e no mundo, não apenas por sua epidemiologia, mas também pelo grau de acometimento do indivíduo e pelo estigma social que carrega. A literatura sugere que menos de 1% dos indivíduos infectados pelo bacilo evolui com a doença e que a susceptibilidade ou resistência à doença depende de fatores genéticos e da resposta imune do paciente. Quando há um desajuste da resposta imunológica e esta se torna extremamente intensa e descontrolada, ocorrem as reações hansênicas (RH). A RH é foco de possível acometimento nervoso, ou de agravamento de áreas já acometidas que contribuem diretamente para o surgimento de incapacidade física. O receptor ativador expresso em células mielóides-1 (TREM-1) é um receptor da superfície celular, expresso principalmente em neutrófilos e monócitos e envolvido na amplificação da resposta inflamatória e estando relacionado à gravidade e prognóstico de doenças inflamatórias. Considerando os potenciais efeitos do TREM-1 nas reações inflamatórias e na infecção intracelular, o objetivo desse estudo foi avaliar o papel do TREM-1 na apresentação e complicações clínicas da hanseníase. Foram incluídos 76 indivíduos: 23 Paucibacilares (PB), 28 Multibacilares (MB) e 25 contatos domiciliares (HHC). Os pacientes foram atendidos no ambulatório de dermatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe (Aracaju, Brasil). O sangue total foi coletado em tubos com heparina (10 UI/ml) e centrifugado para coleta de soro. As amostras de soro foram armazenadas em freezer a -80°C. Os níveis de TREM-1 solúvel (sTREM-1) no soro foram medidos por imunoabsorção enzimática (ELISA). Foi observado que pacientes MB apresentaram níveis mais elevados de sTREM-1, quando comparados aos PB e aos HHC ($p < 0,05$). Níveis mais elevados de sTREM-1 foram também observados na forma clínica Virchowiana (HV) e em pacientes com incapacidade

física e aqueles com episódios reacionais. Nossos resultados relataram, pela primeira vez, que os níveis elevados de sTREM-1 estão associados à forma HV e, principalmente, à RH e ao comprometimento neurológico. Assim, essa molécula pode ser um importante biomarcador para o monitoramento da RH e incapacidade física na infecção por hanseníase.

Palavras-chave: Hanseníase. TREM-1 solúvel. Immunopatogênese. Reação hansênica. Incapacidade física.

ABSTRACT

MORAES, Eduardo José Rocha de. **Evaluation of the role of soluble TREM-1 in the presentation and clinical complications of leprosy**. 2019. 68 pages. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina) - Federal University of Sergipe. Aracaju, 2019.

Leprosy is a chronic, slowly evolving infectious disease caused by *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*). It's an important public health problem in Brazil and in the world, especially regarding to the epidemiology and the physical disability, creating a social stigma for the patients. The literature suggests that less than 1% of bacillus-infected individuals develop with the disease and that the susceptibility or resistance to the disease depends on genetic factors and the patient's immune response. When there is a mismatch of the immune response and it becomes extremely intense and uncontrolled, leprosy reactions (LR) occurs. LR is the focus of possible nervous involvement, or aggravation of already affected areas that contribute directly to the appearance of physical disability. The receptor activator expressed in myeloid-1 cells (TREM-1) is a cell surface receptor, expressed mainly in neutrophils and monocytes, involved in the amplification of the inflammatory response and being related to the severity and prognosis of inflammatory diseases. Considering the potential effects of TREM-1 on inflammatory reactions and intracellular infection, the aim of this study was to evaluate the role of TREM-1 in the presentation and clinical complications of leprosy. We included 76 individuals: 23 Paucibacillary (PB), 28 Multibacillary (MB) and 25 household contacts (HHC). The patients were attended at the dermatology clinic of the University Hospital of the Federal University of Sergipe (Aracaju, Brazil). The whole blood was collected in tubes with heparin (10 IU/ l) and centrifuged for collection of serum. Serum samples were stored in a freezer at -80°C. Soluble TREM-1 (sTREM-1) serum levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). It was observed that MB patients had higher sTREM-1 levels when compared to PB and HHC ($p < 0.05$). Higher levels of sTREM-1 have also been observed in Lepromatous Leprosy (LL) clinical form and in patients with physical disability and those with reactional episodes. Our results reported, for the first time, that high levels of sTREM-1 are associated with the LL form and, mainly, in LR and

neurological disability. Therefore, this molecule can be an important biomarker for the monitoring of LR and physical disability in leprosy infection.

Keywords: Leprosy. SolubleTREM-1. Immunopathogenesis. Leprosy reaction. Physical disability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1– Espectro das formas clínicas da hanseníase.

19

LISTA DE TABELAS

<u>Tabela 1 – Número de novos casos de hanseníase por ano em cada região global, no Brasil e no mundo</u>	16
<u>Tabela 2–Taxa prevalência de hanseníase segundo região residente por ano no Brasil a cada 10.000 habitantes</u>	16
<u>Tabela 3–Epidemiologia da hanseníase em Sergipe ao longo dos anos.</u>	17

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

µm	Micrometro
a.C	Antes de Cristo
APS	Atenção primária em saúde
CD4	do inglês: cluster of differentiation 4
CD8	do inglês: cluster of differentiation 8
d.C	Depois de Cristo
ENH	Eritema nodoso hansênico
HD	Hanseníase Dimorfa
HDD	Hanseníase Dimorfa-dimorfa
HDT	Hanseníase Dimorfa-tuberculóide
HDV	Hanseníase Dimorfa-virchowiana
HHC	Do inglês: household contacts
HI	Hanseníase Indeterminada
HT	Hanseníase Tuberculóide
HV	Hanseníase Virchowiana
IFN-γ	Interferon-γ
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12

IL-13	Interleucina 13
IL-21	Interleucina 21
IL-23	Interleucina 23
<i>M. leprae</i>	<i>Mycobacterium leprae</i>
MB	Multibacilar
MBP	do inglês: Mannose binding protein
MHC	do inglês: Major histocompatibility complex
NK	Células natural killer
NOD2	do inglês: Nucleotide Oligomerization Domain Protein 2
OMS	Organização Mundial da Saúde
PB	Paucibacilar
PGL-1	do inglês: Phenol-glycolipid-1
PQT	Poliquimioterapia
RH	Reação Hansênica
RR	Reação Reversa
RRP	Receptores de reconhecimento de padrões
Th1	do inglês: T helper 1
Th17	do inglês: T helper 17
Th2	do inglês: T helper 2
TLR	do inglês: Toll-like Receptor
TLR-2	do inglês: Toll-like Receptor
TNF- α	do inglês: Tumor Necrosis Factor alfa
Treg	do inglês: T regulatory
TREM-1	do inglês: Triggering receptor expressed on myeloid cells-1

SUMÁRIO

<u>1 REVISÃO DE LITERATURA</u>	13
1.1 <u>CONTEXTO HISTÓRICO E EPIDEMIA DA HANSENÍASE</u>	13
1.2 <u>BIOLOGIA DO <i>MYCOBACTERIUM LEPRAE</i> E ASPECTOS CLÍNICOS DA HANSENÍASE</u>	17
1.3 <u>RESPOSTA IMUNE NA HANSENÍASE</u>	21
1.4 <u>O PAPEL DO TREM-1 NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM DOENÇAS INFECCIOSAS</u>	24
<u>2 NORMAS DA REVISTA (FRONTIERS IN IMMUNOLOGY)</u>	25
2.1 <u>MANUSCRIPT GUIDELINES</u>	25
2.2 <u>EDITORIAL POLICIES AND PUBLICATION ETHICS</u>	38
<u>3 ARTIGO - ASSOCIAÇÃO DE NÍVEIS SÉRICOS DE TREM-1 SOLÚVEL COM A OCORRÊNCIA DE REAÇÃO HANSÊNICA E INCAPACIDADE FÍSICA NA HANSENÍASE.....</u>	<u>43</u>
<u>REFERÊNCIAS.....</u>	<u>43</u>
<u>APÊNDICE A - Questionário de Pesquisa</u>	58
<u>APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre Esclarecido para o Estudo Da Resposta Imune.....</u>	<u>63</u>
<u>APÊNDICE C - Termo de Consentimento Livre Esclarecido para o Estudo Da Resposta Imune para Menores de Dezoito Anos</u>	67

2 REVISÃO DE LITERATURA

A hanseníase (ou doença de Hansen) é uma doença infecciosa crônica, de evolução lenta, causada pelo *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*). O *M. leprae* é um bacilo intracelular, que acomete principalmente células da pele e nervos periféricos (células de Shwann), levando a alteração de sensibilidade e incapacidade física (RIDLEY, 1966; SIMON et al., 2011). Consiste em importante problema de saúde pública no Brasil e no mundo, não apenas por sua epidemiologia, mas também pelo grau de acometimento do indivíduo e pelo estigma social que carrega (EIDT, 2004; RIBEIRO; SILVA; OLIVEIRA, 2018).

2.1 CONTEXTO HISTÓRICO E EPIDEMIA DA HANSENÍASE

Acredita-se que a origem da hanseníase possa ter ocorrido em regiões da Ásia ou da África, tendo registros de sua existência há mais de 4300 a.C. no Egito e há mais de três mil anos na Índia, na China e no Japão. No ano 150 d.C., Aretacus e Galeno se referiam à Hanseníase como “elephas” ou “Elefantíase” uma vez que a pele do doente em seu caráter espessado passara a assemelhar-se à pele do elefante. Também já se referiam à face do paciente como “fácies leonina”, termo atualmente de uso semiológico na descrição do aspecto da face, resultante da infiltração tecidual na resposta imune ao patógeno. Da Grécia, a doença teria se espalhado por toda a Europa sendo o bacilo carregado por soldados e comerciantes daquele tempo, atingido sua maior prevalência entre os séculos X e XV. Foi durante a Idade Média, período de grande poder da Igreja Católica, que esta estabeleceu como medida de profilaxia da doença o rigoroso afastamento entre o doente e as populações sadias, obrigando-os a vestirem-se de forma característica e soarem sinetas ou matracas para avisar de sua aproximação. Os lazarentos – assim chamados pelo martírio que viviam – passaram a ser abrigados nos leprosários ou lazaretos que se somavam em quase 20 mil instituições durante o século XII na Europa, evidenciando a magnitude epidemiológica desta doença. Com a melhora das condições sócio-econômicas vivida pelos europeus nos séculos seguintes, houve uma importante diminuição da prevalência da hanseníase no território,

enquanto os índices se mantinham, em especial, na África e na Ásia (OPROMOLLA, 2000).

A chegada da hanseníase nas Américas ocorreu entre os séculos XVI e XVII, com as grandes navegações, uma vez que não há registros ou evidências que demonstrem a existência da doença entre os povos ameríndios (pré-colombianos). No Brasil, a primeira notificação de hanseníase ocorreu em 1600 no Rio de Janeiro. Apesar de muito se associar a chegada da doença no país com o comércio de escravos de origem africana, a interiorização do bacilo no território ocorreu provavelmente através dos próprios europeus e seus descendentes, uma vez que escravos que apresentassem lesões de pele dificilmente seriam comercializados naquela época, além de não atenderem aos rigorosos critérios para a sua entrada no território (OPROMOLLA, 2000). O preconceito, que arraigava a sociedade, por vezes se oficializava pelas mãos do Estado: Em São Paulo, por volta de 1836 se proibia a chegada de doentes vindos de outros lugares. Já em Minas Gerais se proibia o exercício de determinadas profissões pelo paciente com hanseníase. Com o discurso da profilaxia, se justificava o isolamento e a exclusão do indivíduo em leprosários, o que ressoa em preconceito na contemporaneidade. Atualmente, é recomendado pelo Ministério da Saúde a utilização do termo hanseníase, em detrimento dos termos lepra ou leproso, com o intuito de diminuir o estigma carregado pela doença (EIDT, 2004).

Em 1991, após a implementação do uso da poliquimioterapia (PQT) no tratamento da hanseníase, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estabeleceu como meta a eliminação da hanseníase como problema de saúde pública, até o ano 2000. O que seria alcançado ao atingir uma prevalência de doença conhecida menor que 1/10.000 habitantes. No Brasil foram tomadas medidas de ação dentro do Plano Nacional de Eliminação da Hanseníase promovendo a implantação da poliquimioterapia, diagnóstico precoce e tratamento dentro da atenção primária em saúde (APS). Apesar dos esforços, em 2005, o Brasil figurava entre os nove países do mundo a não atingir a eliminação da hanseníase como problema de saúde pública (Além do Brasil: Angola, Índia, Madagascar, Moçambique, Nepal, República Centro-Africana, República Democrática do Congo e Tanzânia) quando se estabeleceu um novo prazo para o ano 2010. Apesar da importante redução dos índices epidemiológicos nos últimos 12 anos, a hanseníase ainda não deixou de ser

um importante problema de saúde pública no país, tendo-se o prazo estendido até o ano de 2020 (RIBEIRO; SILVA; OLIVEIRA, 2018).

Entre os anos de 2005 e 2015 houve uma redução significativa dos casos novos de hanseníase em número absoluto de, respectivamente, 38.410 para 26.395 casos (**Tabela 1**). Concomitante a esta redução, houve também diminuição na taxa prevalência de 1,48 casos por 10.000 habitantes em 2005 para 1,01, em 2015. Assim, aproximando-se da meta estabelecida pela OMS (**Tabela 2**).

Apesar disso, ao longo dos anos manteve-se constante a distribuição da doença nas regiões geográficas brasileiras, apresentando-se em ordem decrescente nas regiões Centro-Oeste, Norte, Nordeste, Sudeste e Sul. Sendo que nestas duas últimas apresentam índices abaixo dos exigidos pela OMS. As diferentes taxas de doença em cada região estão associadas ao processo histórico de formação populacional e ao desenvolvimento socioeconômico de cada região (RIBEIRO; SILVA; OLIVEIRA, 2018). Em Sergipe, estado brasileiro localizado na região Nordeste, a história epidemiológica da hanseníase segue os padrões regionais e do país como um todo. Houve diminuição da taxa de prevalência entre 2005 e 2015, com elevação entre 2015 e 2017 (**Tabela 3**). Além disso, pode-se observar uma redução inicial dos casos novos em pacientes menores de 15 anos; sendo que no ano de 2015 estes representavam 4,9% dos casos registrados naquele ano, enquanto que em 2017 passou a 5,8% do total. A observação dos números de casos em menores de 15 anos é importante por ser método direto de aferição da existência de focos ativos de transmissão da doença (LANA et al., 2007).

Tabela 1 – Número de novos casos de hanseníase por ano em cada região global, no Brasil e no mundo

	2005	2010	2015	2017
África	42 814	25 345	21 219	20 758
Américas ¹	41 780	37 740	28 806	29 101
Mediterrâneo Oriental	3 133	4 080	2 167	3 551
Europa	0	41	18	24
Sudeste Asiático	201 635	156 254	156 118	153 487
Pacífico Ocidental	7 117	5 028	3 617	4 052
Brasil ¹	38 410	34 894	26 395	26 875
Mundo	296 479	228 488	211 945	210 973

¹Os dados contidos em “Brasil” encontram-se também contabilizados em “Américas”, portanto “Brasil” não deverá ser levado em consideração na contagem de “Mundo”.

Fonte: ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS), 2018.

Tabela 2—Taxa prevalência de hanseníase segundo região residente por ano no Brasil a cada 10.000 habitantes

	2005	2010	2015	2017
Região Norte	4,02	3,47	2,00	3,10
Região Nordeste	2,14	2,46	1,58	2,15
Região Sudeste	0,60	0,62	0,34	0,42
Região Sul	0,53	0,43	0,29	0,29
Região Centro-Oeste	3,29	3,60	2,89	3,59
Brasil	1,48	1,56	1,01	1,35

Fonte: MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL.

Tabela 3–Epidemiologia da hanseníase em Sergipe ao longo dos anos.

	Taxa Prevalência (1/10 000 habitantes)	Número Absoluto de Casos Novos	Casos Novos em <15 anos
2005	1,90	660	63
2010	1,19	381	27
2015	0,95	364	18
2017	1,30	361	21

Fonte: MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL.

2.2 BIOLOGIA DO *MYCOBACTERIUM LEPRAE* E ASPECTOS CLÍNICOS DA HANSENÍASE

O *Mycobacterium leprae* foi identificado, em 1873, pelo médico Gerhard Armauer Hansen, sendo atualmente classificado taxonomicamente como pertencente à classe *Schizomycetes*, à ordem *Actinomycetales*, à família *Mycobacteriaceae* ao gênero *Mycobacterium*. Trata-se de um bacilo que mede de 1 a 8 micrometros de comprimento e entre 0,2 e 0,5µm de diâmetro. São parasitas intracelulares obrigatórios, que majoritariamente ocupam macrófagos e células de Schwann; gram-positivos e álcool-ácido resistentes pela coloração de Ziehl-Nielsen. Sua parede celular é estruturada a partir do entrelaçamento entre peptideoglicanos e cadeias polissacarídeas que ancoram os ácidos micólicos, que garantem caráter hidrofóbico à parede. Externamente à parede celular, existe uma cápsula lipídica que contém o glicolípido fenólico 1 (PGL-1) responsável pela alta especificidade da resposta imune durante a infecção e pela proteção do bacilo contra radicais livres e enzimas lisossomais produzidos pelos macrófagos (LASTÓRIA; ABREU, 2014; OPROMOLLA, 2000).

Há relatos de *M. leprae* encontrados em animais, como tatus e macacos, no solo, na água. Entretanto, os seres humanos são o reservatório do bacilo de maior destaque, sendo considerados a principal fonte de infecção. Acredita-se que os tatus também apresentam importante papel na transmissão do *M. leprae* para humanos. Os tecidos de maior produção e liberação bacilar pelo indivíduo doente são as

secreções nasais e os nódulos hansênicos multibacilares ulcerados. Enquanto que as principais portas de entrada do bacilo no indivíduo saudável são a mucosa nasal e falhas da integridade epitelial, a exemplo de traumas ou procedimentos. Outros meios de transmissão relatados como possíveis na literatura são o sangue, o leite materno, picadas de insetos, além da transmissão vertical. Entretanto a exposição singular ao bacilo não é suficiente para a infecção e nem para que esta resulte em doença, sendo necessárias exposições contínuas, longas e cotidianas para que ela ocorra. O risco de infecção encontra-se aumentado em indivíduos com comprometimento da função imunológica, condições socioeconômicas precárias, ausência de saneamento, comorbidades, ou que vivem em áreas de intensa endemia (BHAT; PRAKASH, 2012; LASTÓRIA; ABREU, 2014).

A hanseníase tem sua patogênese influenciada por inúmeros aspectos relacionados ao hospedeiro, ao ambiente, à exposição e ao próprio patógeno, podendo resultar em diferentes formas clínicas (MENDONÇA et al., 2008). Após o contato com o bacilo, o indivíduo pode não desenvolver a doença, desenvolvê-la e ter a cura espontânea, manifestar uma forma indeterminada ou ainda manifestar a doença plenamente. Para contemplar o espectro clínico da hanseníase, surgiu a classificação de Ridley & Jopling (1962, 1966) que divide a doença em cinco formas: Tuberculóide (HT), Dimorfa-tuberculóide (HDT), Dimorfa-dimorfa (HDD), Dimorfa-virchowiana (HDV) e Virchowiana (HV); há ainda a forma indeterminada (HI) que corresponde à fase inicial da doença. Essa classificação é pouco utilizada na prática clínica, devido sua complexidade; porém é bastante útil em meios acadêmicos e científicos, uma vez que leva em consideração critérios clínicos, imunológicos e histopatológicos (**Figura 1**). Para fins práticos, a OMS revisou em 1988 sua classificação simplificada, inicialmente proposta em 1982, que divide a hanseníase em duas formas, quanto ao número de lesões existentes: em paucibacilar (PB) (≤ 5 lesões) e multibacilar (MB) (> 5 lesões). Sendo que indivíduos que apresentem esfregaço cutâneo positivo serão classificados como MB. A correspondência entre as classificações pode ser feita ao se englobar os grupos HT e HDT como paucibacilares, enquanto os multibacilares englobam os grupos HDD, HDV, HV e alguns HDT (LASTÓRIA; ABREU, 2014).

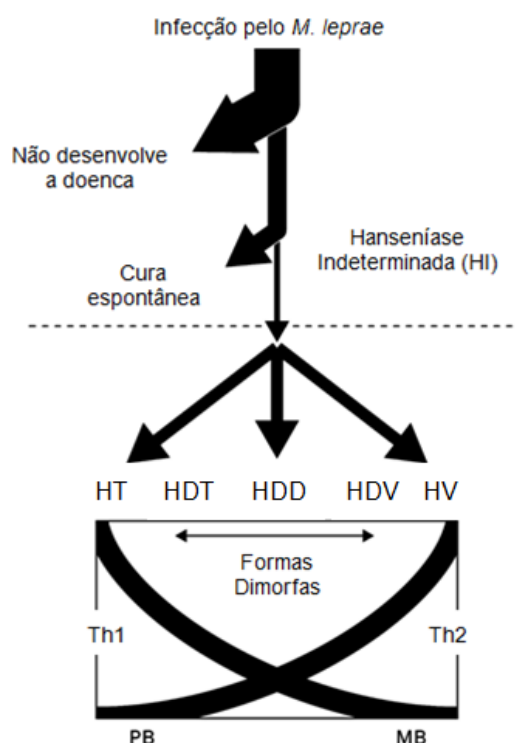


Figura 1– Espectro das formas clínicas da hanseníase. Classificação operacional: PB (Paucibacilar) e MB (Multibacilar). E formas clínicas: HI (Hanseníase Indeterminada), HT (Hanseníase Tuberculoide), HDT (Hanseníase Dimorfa-tuberculóide), HDD (Hanseníase Dimorfa), HDV (Hanseníase Dimorfa-virchoviana) e HV (Hanseníase Virchoviana)

Fonte: JACOBSON; KRAHENBUHL, 1999

A forma HI é a manifestação inicial da doença, caracterizada por máculas ou manchas hipopigmentadas ou áreas circunscritas na pele com alteração da sensibilidade. As lesões podem ser únicas ou múltiplas, não sendo contagiosas. Apresentam infiltrado mononuclear inespecífico à histopatologia e não apresentam bacilos no esfregaço da lesão (BHAT; PRAKASH, 2012).

De um lado o polo HT é paucibacilar, apresenta de uma a cinco lesões hipopigmentadas de tamanhos variados, geralmente com hipoestesia ou anestesia local, além de hipoidrose ou alopecia. O esfregaço é negativo, enquanto a histopatologia mostra infiltrado mononuclear com formação de granulomas. Por outro, o polo HV não apresenta a formação de granuloma o que permite um intenso crescimento da população de bacilos com surgimento de várias lesões de limites imprecisos e aspecto ferruginoso. Devido à alta carga bacilar em todo o corpo, esta é a forma mais contagiosa da doença, sendo que o contágio cessa com o início da

PQT. Seu esfregaço é altamente positivo e a histopatologia se apresenta com extenso infiltrado de macrófagos com bacilos aglomerado e muito poucos linfócitos, sendo os existentes em sua maioria do tipo CD8 (SANTOS, 2017).

Interpostas entre as formas polares da hanseníase, estão as formas dimorfas. A forma HDD apresenta geralmente mais que cinco lesões, opacas ou ligeiramente brilhantes e de tamanhos variados; com moderada diminuição da sensibilidade e do crescimento capilar locais e um esfregaço de 1 a 3+. Entre as formas HT e HDD, temos a forma HDT que apresenta entre cinco e dez lesões secas, escamosas, brilhantes, infiltradas e de tamanhos variados com marcante diminuição da sensibilidade e do crescimento capilar locais e um esfregaço negativo ou de 1+. Enquanto, entre as formas HDD e HV, temos a forma HDV que geralmente apresenta mais que cinco lesões brilhantes e pequenas, podendo apresentar algumas lesões maiores, com ligeira diminuição da sensibilidade e do crescimento capilar locais e um esfregaço de 3 a 5+ (BHAT; PRAKASH, 2012).

Durante a evolução da hanseníase pode ocorrer a infecção e a lesão de nervos periféricos como complicação da doença. O mecanismo de lesão ainda é obscuro, mas sabe-se que o bacilo apresenta tropismo pelas células neuronais e pela bainha de mielina dos nervos periféricos, levando a uma intensa resposta inflamatória à custa de células epitelioides ou macrófagos ricos em bacilos. A intensidade da resposta inflamatória e da lesão neuronal depende fundamentalmente da forma clínica e da fase evolutiva da doença, podendo ocorrer de forma insidiosa ou aguda (SANTOS, 2017). O acometimento agudo ocorre quando há mudança na resposta imune, caracterizando as reações hansênicas (RH). Sabe-se que cerca de 50% dos pacientes apresentam episódios reacionais e que estes podem ocorrer antes, durante ou após o tratamento, sendo mais comuns com o início do tratamento específico quando há morte de bacilos com intensa liberação de antígenos micobacterianos (DE CARVALHO, 2013). Cada nova reação é foco de possível novo acometimento nervoso, ou de agravamento de áreas já acometidas, com perda nas capacidades sensitiva, autônoma ou motora que contribuem diretamente para o surgimento de incapacidade física e sequelas responsáveis pelo forte estigma social atrelado à doença e pela significativa redução na qualidade de vida do paciente.

As RH podem ser classificadas como reação do tipo I, ou reação reversa (RR), e como reação do tipo II, ou eritema nodoso hansênico (ENH). A reação do tipo I (RR) ocorre geralmente nas formas paucibacilares da hanseníase (HT, HDT e HDD), caracterizando-se por induração e eritema nas lesões existentes, além de edemas e neurite progressiva, com evolução gradual e durando semanas. A reação do tipo II (ENH) ocorre nas formas multibacilares (HDV e HV) caracterizando-se por nódulos eritematosos que podem manifestar-se independentemente das lesões pré-existentes, concomitando com sintomas sistêmicos inespecíficos como febre e mal-estar geral, podendo levar a neurite sensitiva e motora. Ambos os tipos de reação nos casos mais graves podem levar a ulceração da lesão, sendo uma porta de entrada para patógenos oportunistas. Além disso, o acometimento neurológico causado por pela RH é progressivo, somatório e não regressivo; a perda da capacidade sensitiva não permite a percepção de estímulos danosos elevando o risco de traumas locais de repetição com infecção local que associada à alteração vascular causada pelo acometimento autonômico levam à amputação de extremidades e importante incapacidade física (SCOLLARD et al., 2006).

2.3 RESPOSTA IMUNE NA HANSENÍASE

Estima-se que menos de 1% dos indivíduos que entram em contato com o *M. leprae* desenvolvem hanseníase. Qualquer doença infecciosa é produto da relação do padrão genético e poder patogênico do patógeno com o padrão genético e resposta imunológica do hospedeiro (SANTOS, 2017). Existem várias barreiras que o bacilo deve ultrapassar antes de colonizar e penetrar o organismo do indivíduo. Uma vez ultrapassadas, permite-se a ativação da resposta imune inata. Que consiste em resposta imunológica inespecífica com a participação de células fagocíticas, células *natural killer* (NK), sistema complemento, proteínas de fase aguda e citocinas. A primeira interação imune ocorre através dos receptores de reconhecimento de padrões (RRP) que identificam padrões e sequências moleculares patogênicas. Importante tipo de RRP são os receptores *Toll-like* (TLRs) responsáveis pela capacidade de reconhecimento dos macrófagos e das células dendríticas. Além dos TLRs, a lectina de ligação a manose (MBP) e NOD2 compõem

os receptores de baixa especificidade no intra ou no extracelular. A ativação destes receptores libera quimiocinas e citocinas indiretamente capazes de ativar fagócitos e o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classes I e II, regulando a inflamação e modificando a capacidade da imunidade adaptativa mediada por células em respostas Th1, Th2, Th17 ou T regulatórias. A ativação do TLR-2 está relacionada com a liberação de IL-12 e IL-23 que atuam na diferenciação de macrófagos e células dendríticas. A secreção de IL-12 também ocorre quando há a apresentação de antígenos pelas células dendríticas, recrutando células T virgens que se diferenciam em Th1 e produzem Interferon- γ (IFN- γ), que ativa a capacidade microbicida de macrófagos para eliminação do bacilo e consequente controle da doença (DE JESUS et al., 2017; MENDONÇA et al., 2008; SANTOS et al., 2017; SIMON et al., 2011).

Cada subtipo de células T tem ação e tipo de microorganismos alvo diferentes. As células Th1 atuam contra microrganismos intracelulares, a exemplo das micobactérias pela produção de fator de necrose tumoral (TNF- α) e IFN- γ , que por sua vez recrutam células T citotóxicas contra células infectadas. Já as células Th2 atuam através de resposta humoral especialmente contra agentes multicelulares extracelulares, a exemplo dos helmintos. Enquanto as células Th17 agem na resposta rápida a bactérias e fungos induzindo a formação de granulomas pela aglomeração de macrófagos, recrutando neutrófilos com a participação de interleucinas como IL-1 β e IL-21 para o combate a bactérias, estando associadas às formas PB da hanseníase. Na prevenção de atividade auto-imune, as células T reguladoras (Treg) inibem a resposta imune a antígenos próprios e a resposta imune no hospedeiro cronicamente colonizado (SANTOS et al., 2017; SIMON et al., 2011).

Quando ocorre o reconhecimento do *M. leprae* pelas células dendríticas e consecutivamente a apresentação de seus antígenos associada à produção de citocinas e quimiocinas pode-se ativar a resposta Th1 (celular) e/ou Th2 (humoral), sendo que a resposta de predomínio se associa com a forma clínica de hanseníase a ser manifestada pelo paciente. Pacientes que exprimem a forma HT apresentam intensa resposta celular, que limita a doença na quantidade de bacilos e nas características das lesões com altos níveis de IFN- γ , IL-2 e Linfotóxina- α e violenta atividade fagocítica de macrófagos. Os granulomas comumente encontrados na histologia tuberculóide são formados por macrófagos infectados e linfócitos, com fibroblastos distribuídos ao redor da lesão. A resposta Th1 é altamente inflamatória,

levando a dano tecidual, em especial, a danos neurológicos, que são mais intensos e precoces nesta apresentação. Na forma HV, houve predomínio de liberação de IL-4 e IL-6 pelas células fagocitárias, alimentando a resposta Th2, que não exprime resposta celular para a contenção dos bacilos. As células Th2 secretam IL-4, IL-5 e IL-13, promovendo a produção de imunoglobulinas pelos plasmócitos ativados. A atividade inibitória da IL-10 e da IL-5 estimula células B que inibem a atividade fagocitária já deficiente ao bacilo. Portanto, a resposta humoral geralmente está associada às formas MB de hanseníase. Nestas formas, o dano neuronal se deve tanto a ocupação bacilar disseminada, quanto à capacidade da célula nervosa atuar enquanto apresentadora de antígenos, ativando resposta inflamatória imunomediada (SIMON et al., 2011).

Quando há um desajuste da resposta imunológica e esta se torna extremamente intensa e descontrolada, ocorrem as reações hansênicas. Como visto anteriormente, as RH podem ser de dois tipos: RR e ENH. O RR é uma reação de hipersensibilidade do tipo IV e ocorre com a exacerbação da resposta Th1 com intensa produção de IL-2, IL-12, IFN- γ e TNF- α que potencializam a inflamação local, levando a eritema e edema das lesões e acometimento neuronal. Já a ENH se caracteriza enquanto reação de hipersensibilidade do tipo III; em que a deposição de imunocomplexos nos capilares ativa o sistema complemento, a quimiotaxia e a ativação imune à custa de altas concentrações de IL-12, com expressão de IL-6, IL-8 e IL-10. Reações mais severas estão associadas à atividade de IFN- γ e TNF- α em uma provável reativação da capacidade microbicida dos macrófagos (SANTOS et al., 2017; SIMON et al., 2011). Embora comprovada a relação entre a resposta Th17 e as formas clínicas de hanseníase, Santos e colaboradores concluíram não haver relação preditiva entre a expressão de células Th17 e o desenvolvimento de RH, apesar da associação existente entre esta resposta e formas PB e mais brandas de hanseníase (SANTOS et al., 2017).

2.4 O PAPEL DO TREM-1 NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM DOENÇAS INFECCIOSAS

O receptor ativador expresso em células mieloides-1 (TREM-1), do inglês *Triggering receptor expressed on myeloid cells-1*, é um receptor da superfície celular, expresso principalmente em neutrófilos e monócitos, que está envolvido na amplificação da resposta inflamatória (BOMFIM et al., 2017; MOLAD et al., 2015). Em certas doenças associadas a inflamação, o TREM-1 também pode ser encontrado como uma forma solúvel (sTREM-1), que pode regular negativamente a sinalização do receptor TREM-1 (CAO; GU; ZHANG, 2017). Embora a fonte celular de sTREM-1 permaneça pouco clara, o papel do sTREM-1 relacionado a algumas doenças infecciosas tem sido amplamente investigado. Em um estudo avaliando a correlação entre sTREM-1 e Leishmaniose Visceral, os autores descobriram que níveis elevados de sTREM-1 circulante foram correlacionados diretamente com a gravidade da doença, e altos níveis de sTREM-1 foram observados em pacientes com LV não sobreviventes (BOMFIM et al., 2017).

Pesquisas relatam o potencial uso do sTREM-1 como biomarcador para infecções por patógenos intracelulares e doenças inflamatórias, como a leishmaniose (BOMFIM et al., 2017), a tuberculose pulmonar (FENG et al., 2018), a artrite reumatoide (MOLAD et al., 2015) e a sepse (GIBOT et al., 2004). Além disso, o sTREM-1 pode ser útil como biomarcador para avaliar a gravidade da doença e o desfecho de pacientes com sepse (OKU et al., 2013). Além desses estudos em algumas doenças bacterianas, não há pesquisas avaliando o papel do TREM-1 na hanseníase. Considerando os potenciais efeitos do TREM-1 nas reações inflamatórias e na infecção intracelular, como relatado na leishmaniose e tuberculose, é provável que o TREM-1 também esteja envolvido na ocorrência de reação hansênica e de incapacidade física na infecção pelo *M. leprae*.

3 NORMAS DA REVISTA (FRONTIERS IN IMMUNOLOGY)

3.1 MANUSCRIPT GUIDELINES

3.1.1 Open access and copyright

All Frontiers articles from July 2012 onwards are published with open access under the CC-BY Creative Commons attribution license (the current version is CC-BY, version 4.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>). This means that the author(s) retain copyright, but the content is free to download, distribute and adapt for commercial or non-commercial purposes, given appropriate attribution to the original article.

Upon submission, author(s) grant Frontiers an exclusive license to publish, including to display, store, copy and reuse the content. The CC-BY Creative Commons attribution license enables anyone to use the publication freely, given appropriate attribution to the author(s) and citing Frontiers as the original publisher. The CC-BY Creative Commons attribution license does not apply to third-party materials that display a copyright notice to prohibit copying. Unless the third-party content is also subject to a CC-BY Creative Commons attribution license, or an equally permissive license, the author(s) must comply with any third-party copyright notices.

3.1.1.1 Preprint Policy

Frontiers' supportive preprint policy encourages full open access at all stages of a research paper, to share and generate the knowledge researchers need to support their work. Authors publishing in Frontiers journals may share their work ahead of submission to a peer-reviewed journal, as well as during the Frontiers review process, on repositories or pre-print servers (such as ArXiv, PeerJ Preprints, OSF and others), provided that the server imposes no restrictions upon the author's full copyright and re-use rights. Also note that any manuscript files shared after submission to Frontiers journals, during the review process, must not contain the Frontiers logo or branding.

Correct attribution of the original source in repositories or pre-print servers must be included on submission, or added at re-submission if the deposition is done during the review process.

If the article is published, authors are then strongly encouraged to link from the preprint server to the Frontiers publication to enable readers to find, access and cite the final peer-reviewed version. Please note that we cannot consider for publication content that has been previously published, or is already under review, within a scientific journal, book or similar entity.

3.1.2 Registration with Frontiers

Please note that the corresponding and all submitting authors MUST register with Frontiers before submitting an article. You must be logged in to your personal Frontiers Account to submit an article.

For any co-author who would like his/her name on the article abstract page and PDF to be linked to a Frontiers profile on the Loop network, please ensure to register before the final publication of the paper.

3.1.3 Manuscript Requirements and Style Guide

3.1.3.1 General standards

Word Files

If working with Word please use Frontiers Word templates.

LaTeX Files

If you wish to submit your article as LaTeX, we recommend our Frontiers LaTeX templates. These templates are meant as a guide, you are of course welcome to use any style or formatting and Frontiers journal style will be applied during typesetting.

3.1.3.1.1 *Article Type*

Frontiers requires authors to carefully select the appropriate article type for their manuscript, and to comply with the article-type descriptions defined in the

journal's "Article Types", which can be seen from the "For Authors" menu on any Frontiers journal page. Please note that not all articles types are available for all journals/specialties. Please contact us if you have any questions. **Please pay close attention to the word count limits.**

Focused Reviews, Frontiers Commentaries and Grand Challenge articles are invited by the chief editor and cannot be part of any Frontiers Research Topic. Unless you were contacted by the chief editor or the editorial office regarding the submission of a paper selected for tier 2 promotion, do not submit a Focused Review or a Frontiers Commentary - instead, submit a Review or a General Commentary.

Please see Additional Requirements for specific article types including Focused Reviews, General Commentaries, Protocols and Data Reports.

3.1.3.1.2 Manuscript Length

Frontiers encourages its authors to closely follow the article word count lengths given in the Summary Table. The manuscript length includes only the main body of the text, footnotes and all citations within it, and excludes abstract, section titles, figure and table captions, funding statements, acknowledgments and references in the bibliography. Please indicate the number of words and the number of figures included in your manuscript on the first page.

3.1.3.1.3 Language Editing

Frontiers requires manuscripts submitted to meet international standards for English language to be considered for publication.

For authors who would like their manuscript to receive language editing or proofing to improve the clarity of the manuscript and help highlight their research, Frontiers recommends the language-editing services provided by the following external partners:

3.1.3.1.3.1. Editage

Frontiers is pleased to recommend language-editing service provided by our external partner Editage to authors who believe their manuscripts would benefit from professional editing. These services may be particularly useful for researchers for

whom English is not the primary language. They can help to improve the grammar, syntax and flow of your manuscripts prior to submission. Frontiers authors will receive a 10% discount by visiting the following link: <http://editage.com/frontiers/>

3.1.3.1.3.2. *The Charlesworth Group*

Frontiers recommends the Charlesworth Group Author Services, who has a long standing track record in language editing and proofing. This is a third-party service for which Frontiers authors will receive a discount by visiting the following link: <http://www.charlesworthauthorservices.com/~Frontiers>.

Note that sending your manuscript for language editing does not imply or guarantee that it will be accepted for publication by a Frontiers journal. Editorial decisions on the scientific content of a manuscript are independent of whether it has received language editing or proofing by the partner services, or other services.

3.1.3.1.4 *Language Style*

The default language style at Frontiers is American English. If you prefer your article to be formatted in British English, please specify this on your manuscript first page. For any questions regarding style Frontiers recommends authors to consult the Chicago Manual of Style.

3.1.3.1.5 *Search Engine Optimization (SEO)*

There are a few simple ways to maximize your article's discoverability. Follow the steps below to improve search results of your article:

- Include a few of your article's keywords in the title of the article;
- Do not use long article titles;
- Pick 5 to 8 keywords using a mix of generic and more specific terms on the article subject(s);
- Use the maximum amount of keywords in the first 2 sentences of the abstract;
- Use some of the keywords in level 1 headings.

3.1.3.1.6 *Title*

The title is written in title case, centred, and in 16 point bold Times New Roman font at the top of page.

The title should be concise, omitting terms that are implicit and, where possible, be a statement of the main result or conclusion presented in the manuscript. Abbreviations should be avoided within the title.

Witty or creative titles are welcome, but only if relevant and within measure. Consider if a title meant to be thought-provoking might be misinterpreted as offensive or alarming. In extreme cases, the editorial office may veto a title and propose an alternative.

Authors should try to avoid, if possible:

- Titles that are a mere question without giving the answer.
- Unambitious titles, for example starting with "Towards", "A description of", "A characterization of", "Preliminary study on".
- Vague titles, for example starting with "Role of...", "Link between...", "Effect of..." that do not specify the role, link, or effect.
- Include terms that are out of place, for example the taxonomic affiliation apart from species name.

For Corrigenda, Book Reviews, General Commentaries and Editorials, the title of your manuscript should have the following format:

- "Corrigendum: Title of original article"
- "Book Review: Title of book"
- General Commentaries
 - "Commentary: Title of original article" (This does not apply to Frontiers Commentaries)
 - "Response: Commentary: Title of original article"
- "Editorial: Title of Research Topic"

For article types requiring it, the running title should be a maximum of 5 words in length. (see Summary Table)

3.1.3.1.7 Authors and Affiliations

All names are listed together and separated by commas. Provide exact and correct author names as these will be indexed in official archives. Affiliations should be keyed to the author's name with superscript numbers and be listed as follows:

Laboratory, Institute, Department, Organization, City, State abbreviation (USA, Canada, Australia), and Country (without detailed address information such as city zip codes or street names).

Example: Max Maximus, Department of Excellence, International University of Science, New York, NY, USA.

The Corresponding Author(s) should be marked with an asterisk. Provide the exact contact email address of the corresponding author(s) in a separate section.

Correspondence:

Dr. Max Maximus

maximus@gmail.com

If any authors wish to include a change of address, list the present address(es) below the correspondence details using a unique superscript symbol keyed to the author(s) in the author list.

3.1.3.1.8 Consortium/Group and Collaborative Authors

Consortium/group authorship should be listed in the manuscript with the other author(s). In cases where authorship is retained by the consortium/group, the consortium/group should be listed as an author separated by “,” or “and”. Consortium/group members can be listed in a separate section at the end of the manuscript.

Example: John Smith, Barbara Smith and The Collaborative Working Group.

In cases where work is presented by the author(s) on behalf of a consortium/group, it should be included in the manuscript author list separated with the wording “for” or “on behalf of”. The consortium/group will not retain authorship.

Example: John Smith and Barbara Smith on behalf of The Collaborative Working Group.

3.1.3.1.9 Headings and Sub-headings

Except for special names (e.g. GABAergic), capitalize only the first letter of headings and subheadings. Headings and subheadings need to be defined in Times New Roman, 12, bold. You may insert up to 5 heading levels into your manuscript

3.1.3.1.10 *Abstract*

As a primary goal, the abstract should render the general significance and conceptual advance of the work clearly accessible to a broad readership. In the abstract, minimize the use of abbreviations and do not cite references. The text of the abstract section should be in 12 point normal Times New Roman. See Summary Table for abstract requirement and length according to article type.

For Clinical Trial article types, please include the Unique Identifier and the URL of the publicly accessible website on which the trial is registered.

3.1.3.1.11 *Keywords*

All article types: you may provide up to 8 keywords; at least 5 are mandatory.

3.1.3.1.12 *Text*

The entire document should be single-spaced and must contain page and line numbers in order to facilitate the review process. Your manuscript should be written using either LaTeX or MS-Word.

Templates are available (see above)

3.1.3.1.13 *Nomenclature*

- The use of abbreviations should be kept to a minimum. Non-standard abbreviations should be avoided unless they appear at least four times, and defined upon first use in the main text. Consider also giving a list of non-standard abbreviations at the end, immediately before the Acknowledgments.
- Equations should be inserted in editable format from the equation editor.
- Italicize Gene symbols and use the approved gene nomenclature where it is available. For human genes, please refer to the HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC). New gene symbols should be submitted here. Common Alternative gene aliases may also be reported, but should not be used alone in place of the HGNC symbol. Nomenclature committees for other species are listed here. Protein products are not italicized.

- We encourage the use of Standard International Units in all manuscripts.
- Chemical compounds and biomolecules should be referred to using systematic nomenclature, preferably using the recommendations by IUPAC.
- Astronomical objects should be referred to using the nomenclature given by the International Astronomical Union provided here.
- Life Science Identifiers (LSIDs) for ZOOBANK registered names or nomenclatural acts should be listed in the manuscript before the keywords. An LSID is represented as a uniform resource name (URN) with the following format:

urn:lsid::[:]

For more information on LSIDs please see Inclusion of Zoological Nomenclature section.

3.1.3.1.14 Sections

Your manuscript is organized by headings and subheadings. For Original Research Articles, Clinical Trial Articles, and Technology Reports the section headings should be those appropriate for your field and the research itself.

For Original Research Articles, it is recommended to organize your manuscript in the following sections or their equivalents for your field:

Introduction

Succinct, with no subheadings.

Materials and Methods

This section may be divided by subheadings. This section should contain sufficient detail so that when read in conjunction with cited references, all procedures can be repeated. For experiments reporting results on animal or human subject research, an ethics approval statement should be included in this section (for further information, see section Materials and Data Policies)

Results

This section may be divided by subheadings. Footnotes should not be used and have to be transferred into the main text.

Discussion

This section may be divided by subheadings. Discussions should cover the key findings of the study: discuss any prior art related to the subject so to place the

novelty of the discovery in the appropriate context; discuss the potential shortcomings and limitations on their interpretations; discuss their integration into the current understanding of the problem and how this advances the current views; speculate on the future direction of the research and freely postulate theories that could be tested in the future.

For further information, please see Additional Requirements for specific article types including Focused Reviews, General Commentaries, Case Reports and Data Reports amongst others or you can check the descriptions defined in the journal's "Article Types", which can be seen from the "For Authors" menu on any Frontiers journal page.

3.1.3.1.15 Acknowledgments

This is a short text to acknowledge the contributions of specific colleagues, institutions, or agencies that aided the efforts of the authors.

3.1.3.1.16 Author Contributions Statement

The Author Contributions Statement is mandatory and should represent all the authors. It can be up to several sentences long and should briefly describe the tasks of individual authors. Please list only 2 initials for each author, without full stops, but separated by commas (e.g. JC, JS). In the case of two authors with the same initials, please use their middle initial to differentiate between them (e.g. REW, RSW). The Author Contributions Statement should be included at the end of the manuscript before the References.

3.1.3.1.17 Conflict of Interest Statement

A Conflict of Interest Statement needs to be included at the end of the manuscript before the references. Here, the authors need to declare whether or not the submitted work was carried out in the presence of any personal, professional or financial relationships that could potentially be construed as a conflict of interest. For more information on conflicts of interest, see our Editorial Policies.

3.1.3.1.18 *Contribution to the Field Statement*

When you submit your manuscript, you will be required to briefly summarize in 200 words your manuscript's contribution to, and position in, the existing literature of your field. This should be written avoiding any technical language or non-standard acronyms. The aim should be to convey the meaning and importance of this research to a non-expert. While Frontiers evaluates articles using objective criteria, rather than impact or novelty, your statement should frame the question(s) you have addressed in your work in the context of the current body of knowledge, providing evidence that the findings - whether positive or negative - contribute to progress in your research discipline. This will assist the Chief Editors to determine whether your manuscript fits within the scope of a specialty as defined in its mission statement; a detailed statement will also facilitate the identification of the Editors and Reviewers most appropriate to evaluate your work, ultimately expediting your manuscript's initial consideration.

3.1.3.2 References

All citations in the text, figures or tables must be in the reference list and vice-versa. The references should only include articles that are published or accepted. Data sets that have been deposited to an online repository should be included in the reference list, include the version and unique identifier when available. For accepted but unpublished works use "in press" instead of page numbers. Unpublished data, submitted manuscripts, or personal communications should be cited within the text only, for the article types that allow such inclusions. Personal communications should be documented by a letter of permission. Website urls should be included as footnotes. Any inclusion of verbatim text must be contained in quotation marks and clearly reference the original source. Preprints can be cited as long as a DOI or archive URL is available, and the citation clearly mentions that the contribution is a preprint. If a peer-reviewed journal publication for the same preprint exists, the official journal publication is the preferred source.

The following formatting styles are meant as a guide, as long as the full citation is complete and clear, Frontiers referencing style will be applied during typesetting.

- **SCIENCE, ENGINEERING, and HUMANITIES:** For articles submitted in the domains of **SCIENCE, ENGINEERING and HUMANITIES** please apply **Author-Year system for in-text citations**.

Reference list: provide the names of the first six authors followed by et al. and doi when available.

In-text citations should be called according to the surname of the first author, followed by the year. For works by 2 authors include both surnames, followed by the year. For works by more than 2 authors include only the surname of the first author, followed by et al., followed by the year. For Humanities and Social Sciences articles please include page numbers in the in-text citations.

3.1.4 Figure and Table Guidelines

3.1.4.1 CC-BY Licence

All figures, tables, and images will be published under a Creative Commons CC-BY licence and permission must be obtained for use of copyrighted material from other sources (including re-published/adapted/modified/partial figures and images from the internet). It is the responsibility of the authors to acquire the licenses, to follow any citation instructions requested by third-party rights holders, and cover any supplementary charges.

3.1.4.2 General Style Guidelines for Figures

The maximum number of figures and tables for all article types are shown in the Summary Table. Frontiers requires figures to be submitted individually, in the same order as they are referred to in the manuscript, the figures will then be automatically embedded at the end of the submitted manuscript. Kindly ensure that each table and figure is mentioned in the text and in numerical order.

For graphs, there must be a self-explanatory label (including units) along each axis. For figures with more than one panel, panels should be clearly indicated using labels (A), (B), (C), (D), etc. However, do not embed the part labels over any part of the image, these labels will be added during typesetting according to Frontiers

journal style. Please note that figures which are not according to the guidelines will cause substantial delay during the production process.

Permissions may be necessary in the following scenarios:

- Republishing
- Modifying/adapting
- Partial Figures

It is the responsibility of the authors to acquire the licenses, to follow any citation instructions requested by third-party rights holders, and cover any supplementary charges.

3.1.4.3 General Style Guidelines for Tables

Tables should be inserted at the end of the manuscript. If you use a word processor, build your table in word. If you use a LaTeX processor, build your table in LaTeX. An empty line should be left before and after the table.

Please note that large tables covering several pages cannot be included in the final PDF for formatting reasons. These tables will be published as supplementary material on the online article abstract page at the time of acceptance. The author will be notified during the typesetting of the final article if this is the case. A link in the final PDF will direct to the online material.

For additional information, please see our Editorial Policies: 3.5 Image Manipulation.

3.1.4.4 Figure and Table Requirements

Legends

Legends should be preceded by the appropriate label, for example "Figure 1" or "Table 4". Figure legends should be placed at the end of the manuscript (for supplementary images you must include the caption with the figure, uploaded as a separate file). Table legends must be placed immediately before the table. Please use only a single paragraph for the legend. Figure panels are referred to by bold capital letters in brackets: (A), (B), (C), (D), etc.

Image Size

Figure images should be prepared with the PDF layout in mind, individual figures should not be longer than one page and with a width that corresponds to 1 column or 2 columns.

- **All articles are prepared using the 2 column layout:** 2 column articles can contain images 85 mm or 180 mm wide.

2.4.5. Format

The following formats are accepted:

TIFF (.tif) TIFF files should be saved using LZW compression or any other non-lossy compression method.

JPEG (.jpg)

EPS (.eps) EPS files can be uploaded upon acceptance

Color Image Mode

Images must be submitted in the color mode RGB.

Resolution Requirements

All images must be uploaded separately in the submission procedure and have a resolution of **300 dpi at final size**. Check the resolution of your figure by enlarging it to 150%. If the resolution is too low, the image will appear blurry, jagged or have a stair-stepped effect.

Please note saving a figure directly as an image file (JPEG, TIF) can greatly affect the resolution of your image. To avoid this, one option is to export the file as PDF, then convert into TIFF or EPS using a graphics software. EPS files can be uploaded upon acceptance.

Chemical Structures

Chemical structures should be prepared using ChemDraw or a similar program. If working with ChemDraw please use Frontiers ChemDraw Template, if working with another program please follow the guidelines given below:

Drawing settings: chain angle, 120° bond spacing, 18% of width; fixed length, 14.4 pt; bold width, 2.0 pt; line width, 0.6 pt; margin width 1.6 pt; hash spacing 2.5 pt. Scale 100% Atom Label settings: font, Arial; size, 8 pt.

Assign all chemical compounds a bold, Arabic numeral in the order in which the compounds are presented in the manuscript text. Figures containing chemical structures should be submitted in a size appropriate for incorporation into the manuscript.

Legibility

Figures must be legible. Check the following:

- The smallest visible text is no less than 8 points in height, when viewed at actual size.
- Solid lines are not broken up.
- Image areas are not pixilated or stair stepped.
- Text is legible and of high quality.
- Any lines in the graphic are no smaller than 2 points width.

3.1.5 Statistics

Frontiers requires that all statements concerning quantitative differences should be based on quantitative data and statistical testing. For example, if a quantitative statement is made regarding the abundance of a certain protein based on a western blot, we request that the blot be scanned and the abundance assessed quantitatively using the correct analytic software (e.g. ImageJ) and statistics in order to support that statement.

Statistics should/must be applied for independent experiments. The number of independent samples and the deviation parameters (e.g. Standard Error of the Mean, Standard Deviation, Confidence Intervals) should be clearly stated in the Methods or the Figure legends. In general, technical replicates within a single experiment are not considered to be independent samples. Where multiple comparisons are employed (e.g. microarray data or Genome-wide association studies), any analysis should correct for false positive results. Descriptions of statistical procedures should include the software and analysis used, and must be sufficiently detailed to be reproduced.

3.2 EDITORIAL POLICIES AND PUBLICATION ETHICS

Frontiers' ethical policies are a fundamental element of our commitment to the scholarly community. These policies apply to all the Frontiers in journal series. Frontiers has been a member of the Committee of Publication Ethics since January 2015 and follows COPE guidelines where applicable.

3.2.1 Authorship and Author Responsibilities

Frontiers follows the International Committee of Medical Journal Editors guidelines which state that, in order to qualify for authorship of a manuscript, the following criteria should be observed:

- Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis or interpretation of data for the work;
- Drafting the work or revising it critically for important intellectual content;
- Provide approval for publication of the content;
- Agree to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Contributors, who do not meet these criteria, but nonetheless provided important contributions to the final manuscript should be included in the acknowledgements section. It is the authors responsibility to get written approval by persons named in the acknowledgement section. In order to provide appropriate credit to all authors, as well as assigning responsibility and accountability for published work, individual contributions should be specified as an Author Contributions statement. This should be included at the end of the manuscript, before the References. The statement should specify the contributions of all authors. You may consult the Frontiers manuscript guidelines for formatting instructions. Please see an example here:

AB, CDE and FG contributed conception and design of the study; AB organized the database; CDE performed the statistical analysis; FG wrote the first draft of the manuscript; HIJ, KL, AB, CDE and FG wrote sections of the manuscript. All authors contributed to manuscript revision, read and approved the submitted version.

The corresponding author takes primary responsibility for communication with the journal and editorial office during the submission process, throughout peer review and during publication. The corresponding author is also responsible for ensuring that the submission adheres to all journal requirements including, but not exclusive to, details of authorship, study ethics and ethics approval, clinical trial registration documents and conflict of interest declaration. The corresponding author should also be available post-publication to respond to any queries or critiques.

Requests to modify the authors list after submission should be made to the editorial office using the authorship changes form.

3.2.2 Research Integrity

Material submitted to Frontiers must comply with the following policies to ensure ethical publication of academic work:

- i. *Original content and duplicate publication*: Frontiers only publishes original content. Authors confirm the submission of original content in the Terms & Conditions upon submission. Manuscripts submitted to Frontiers must not have been previously published or be under consideration for publication elsewhere, either in whole or in part. If an article has been previously submitted for publication elsewhere, Frontiers will only consider publication if the article has been definitively rejected by the other publisher(s) at the point of submission to Frontiers.
- ii. *Redundant publication*: Frontiers considers the submission and publication of very similar articles based on the same experiment or study to be unethical.
- iii. *Fabrication and falsification*: Frontiers opposes both the fabrication of data or images (i.e. fake or made up data) and the falsification of data or images (i.e. the intentional misrepresentation or deceptive manipulation of data).
- iv. *Plagiarism*: Plagiarism occurs when an author attempts to present previously published work as original content. Every manuscript submitted to Frontiers is screened for textual overlap by the software CrossCheck, powered by iThenticate. Manuscripts found to contain textual overlap are not considered for publication by Frontiers. For more details on what constitutes plagiarism, please see [here](#).

We reserve the right to contact the affiliated institutions of authors, who have not acted according to good research and publication practices.

3.2.3 Translations

Frontiers accepts manuscript submissions that are exact translations of previously published work. This should be clearly stated in the manuscript upon submission. Permission from the original publisher and authors needs to be sought and also stated in the manuscript, and the relevant documents should be provided as supplementary data for verification by the Editor and the editorial office. The original work from which the manuscript has been translated should be clearly referenced.

- *"This is a ('language') language translation/reprint of ('insert title here') originally published in ('insert name here'). ('Insert name here') prepared this translation with support from (insert name of funding source, if any). Permission was granted by ('Insert name here')."*

Please note that Frontiers may request copies of related publications if there are any concerns about overlap or possible redundancy.

3.2.3.1 Studies involving human subjects

Research involving human subjects is expected to have been conducted in accordance with the World Medical Association's Declaration of Helsinki. Studies involving human participants must be performed in accordance with relevant institutional and national guidelines, with the appropriate institutional ethics committee's prior approval and informed written consent from all human subjects involved in the study including for publication of the results. Confirmation of this approval is required upon submission of a manuscript to Frontiers; authors must provide a statement identifying the full name of the ethics committee that approved the work and confirm that study subjects (or when appropriate, parent or guardian) have given written informed consent. For most article types, this statement should appear in the Materials and Methods section. An example ethics statement:

*This study was carried out in accordance with the recommendations of [name of guidelines], [name of committee]. The protocol was approved by the [name of committee]. All subjects gave **written informed consent** in accordance with the Declaration of Helsinki.*

Should the study be exempt from ethics approval, authors need to clearly state the reasons in the declaration statement and in the manuscript. In order to protect subject anonymity, identifying information should not be included in the manuscript unless such information is absolutely necessary for scientific purposes AND explicit approval has been granted by the subjects.

Readers who would like to draw the editors' attention to published work that might require retraction should contact the authors of the article and write to the journal, making sure to include copies of all correspondence with authors.

3.2.4 Support and Ethical concerns

In our commitment to continuously improve our website, we welcome your feedback, questions and suggestions. Please visit our Help Center to find guidance on our platform or contact us at support@frontiersin.org.

For any ethical concerns, please contact us at editorial.office@frontiersin.org.

4 ARTIGO

Associação de níveis séricos de TREM-1 solúvel (sTREM-1) com a forma clínica, ocorrência de reação hansênica e incapacidade física na hanseníase

Eduardo José Rocha de Moraes^{1,4}. Márcio Bezerra Santos^{1,2}. Rodrigo Anselmo Cazzaniga¹. Lays G. Bomfim dos Santos¹. Lucas Souza Magalhães¹. Aline Silva Barreto¹. Martha Débora Lira Tenório Teixeira¹. Lucas Menezes Silva⁴. Marcello Augusto Anchieta Santos Filho¹. Malcolm S. Duthie². Roque Pacheco de Almeida^{1,4,5}. Nalu Perez T. de Aguiar^{1,3}. Tatiana Rodrigues de Moura^{1,3}. Amélia Ribeiro de Jesus^{1,4,5}.

¹Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular (UFS), Sergipe, Brasil.

²Infectious Diseases Research Institute (IDRI), Seattle, Washington, USA.

³Departamento de Morfologia (UFS), Sergipe, Brasil.

⁴Departamento de Medicina (UFS), Sergipe, Brasil.

⁵Instituto de Investigação em Imunologia, INCT, CNPq.

Autor Correspondente

Tatiana Rodrigues de Moura

Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular - LIBM

E-mail: tmoura.ufs@gmail.com

RESUMO

A hanseníase é uma doença infecciosa e crônica, causada pelo *Mycobacterium leprae*. A literatura sugere que menos de 1% dos indivíduos infectados evolui com a doença e que a susceptibilidade ou resistência à doença depende de fatores genéticos e da resposta imune do paciente. O receptor ativador expresso em células mieloides-1 (TREM-1) é um receptor da superfície celular, expresso principalmente em neutrófilos e monócitos e envolvido na amplificação da resposta inflamatória e estando relacionado à gravidade e prognóstico de doenças inflamatórias. Considerando os potenciais efeitos do TREM-1 nas reações inflamatórias e na infecção intracelular, o objetivo desse estudo foi avaliar o papel do TREM-1 na apresentação e complicações clínicas da hanseníase. Foram incluídos 76 indivíduos: 23 Paucibacilares (PB), 28 Multibacilares (MB) e 25 contatos domiciliares (HHC). Os pacientes foram atendidos no ambulatório de dermatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe (Aracaju, Brasil). O sangue total foi coletado em tubos com heparina (10 UI/ml) e centrifugado para coleta de soro. As amostras de soro foram armazenadas em freezer a -80°C. Os níveis de TREM-1 solúvel (sTREM-1) no soro foram medidos por imunoabsorção enzimática (ELISA). Foi observado que pacientes MB apresentaram níveis mais elevados de sTREM-1, quando comparados aos PB e aos HHC ($p < 0,05$). Níveis mais elevados de sTREM-1 foram também observados na forma clínica virchowiana (HV) e em pacientes com incapacidade física e aqueles com episódios reacionais. Nossos resultados relataram, pela primeira vez, que os níveis elevados de sTREM-1 estão associados à forma HV e, principalmente, à RH e ao comprometimento neurológico. Assim, essa molécula pode ser um importante biomarcador para o monitoramento da RH e incapacidade física na infecção por hanseníase.

Palavras-chave: Hanseníase; TREM-1 solúvel; Imunopatogênese; Reação hansênica. Incapacidade física.

INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) (1,2). O diagnóstico da hanseníase baseia-se nas características dos sinais clínicos (lesões dérmicas e neurológicas), com pacientes classificados como paucibacilares (PB) ou multibacilares (MB) (3,4). Apesar da significativa redução na prevalência após o uso difundido da poliquimioterapia (PQT) (2), as novas taxas de detecção de casos se estabilizaram nos últimos anos e a hanseníase permanece endêmica em várias regiões localizadas, como Índia e Brasil (2,5 6).

A reação hansênica (RH) e a ocorrência de alguma incapacidade física são as complicações clínicas mais importantes da infecção da lepra (3,6,7). Mesmo durante o curso ou após o

tratamento da doença, 30% a 50% dos pacientes apresentam RH inflamatória prejudicial ao tecido ou podem já ter déficit neurológico permanente (3). A RH pode apresentar uma inflamação neural intensa, dolorosa, e eventualmente resultar em perda permanente das funções sensorial, autonômica e motora (3,6). RH são classificados em dois tipos: reação reversa (RR) ou RH Tipo I, e eritema nodoso hansênico (ENH) ou RH Tipo II. Além disso, a RH requer tratamento prolongado com drogas tóxicas, como corticosteróides e/ou talidomida (3).

Vários estudos afirmaram a influência da resposta imunológica na suscetibilidade ou resistência à infecção por hanseníase (8–12). As respostas celulares T helper 1 (Th1) e T helper 17 (Th17) estão associadas ao controle da multiplicação do *M. leprae* e, portanto, estão envolvidas na apresentação paucibacilar (PB) da hanseníase (7,8,13,14). No entanto, uma resposta exacerbada de Th1 e um elevado número de células T citotóxicas CD8⁺ estão associadas ao aumento da gravidade da doença (7,15). Enquanto, as células T helper 2 (Th2) e T reguladoras (Treg) estão envolvidas com as apresentações multibacilares (MB) com macrófagos em lesões epidérmicas que estão em grande parte infectadas (15-17). Os mediadores de dano tecidual na RH são parcialmente conhecidos, com quantidades aumentadas de citocinas Th1, como TNF- α , IFN- γ , IL-12 e IL-2, claramente demonstradas tanto em RR como em ENH. No entanto, ainda não está claro se o perfil inflamatório observado nas lesões ou no sangue durante as reações é a causa ou consequência dessas reações.

O receptor ativador expresso em células mieloides-1 (do inglês: *triggering receptor expressed on myeloid cells-1* - TREM-1) é um receptor da superfície celular, expresso principalmente em neutrófilos e monócitos e envolvido na amplificação da resposta inflamatória (18,19). Em certas doenças associadas a inflamação, o TREM-1 também pode ser encontrado como uma forma solúvel (sTREM-1), que pode regular negativamente a sinalização do receptor TREM-1 (20). Embora a fonte celular de sTREM-1 permaneça pouco clara, o papel do sTREM-1 relacionado a algumas doenças infecciosas tem sido amplamente investigado (18-20). Em um estudo avaliando a correlação entre sTREM-1 e Leishmaniose Visceral, os autores descobriram que níveis elevados de sTREM-1 circulante foram correlacionados diretamente com a gravidade da doença, e altos níveis de sTREM-1 foram observados em pacientes com LV não sobreviventes (18). Pesquisas relatam o potencial uso do sTREM-1 como biomarcador para infecções por patógenos intracelulares e doenças

inflamatórias, como a leishmaniose (18), a tuberculose pulmonar (21), a artrite reumatoide (19) e a sepse (22). Além disso, o sTREM-1 pode ser útil como biomarcador para avaliar a gravidade da doença e o desfecho de pacientes com sepse (23). Além desses estudos em algumas doenças bacterianas, não há pesquisas avaliando o papel do TREM-1 na hanseníase. Considerando os potenciais efeitos do TREM-1 nas reações inflamatórias e na infecção intracelular, como relatado na leishmaniose e tuberculose, hipotetizamos que o TREM-1 também esteja envolvido na reação à hanseníase e na incapacidade neural na infecção pelo *M. leprae*, além da forma de apresentação clínica da doença.

Os sinais clínicos podem ser escassos na doença inicial, levando a um diagnóstico tardio ou diagnóstico errôneo. Geralmente, os pacientes costumam procurar suporte médico quando começam a apresentar alguma complicação clínica, como a RH. A identificação de algum biomarcador para auxiliar no prognóstico da hanseníase e no diagnóstico precoce da RH é necessária na situação atual da doença. Portanto, este estudo teve como objetivo identificar mediadores inflamatórios na apresentação clínica da hanseníase e sua complicação, como RH e incapacidade física. Nossos resultados relataram, pela primeira vez, que os níveis elevados de sTREM-1 estão associados à hanseníase virchoviana e, principalmente, à RH e ao comprometimento neurológico. Assim, essa molécula pode ser um importante biomarcador para o monitoramento da RH e incapacidade física na infecção por hanseníase.

MATERIAIS E MÉTODOS

Considerações Éticas

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Sergipe (CAAE 0152.0.107.000-07). Todos os sujeitos assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) concordando em participar do estudo.

Participantes do Estudo e Coleta de Dados

Foram incluídos 76 indivíduos: 23 PB, 28 MB e 25 HHC (contatos domiciliares). Considerava-se o HHC qualquer pessoa que vivesse em contato próximo e prolongado com os pacientes com hanseníase, mas que não apresentasse relação genética. Aqueles eram

comumente o cônjuge do paciente. Os pacientes com hanseníase deste estudo foram atendidos no ambulatório de dermatologia do projeto (DES)-MANCHA - Universidade Federal de Sergipe, no Hospital Universitário (cidade de Aracaju, Brasil). Cada sujeito foi completamente examinado para a classificação da forma clínica da hanseníase, reações hansênicas e deficiências neurológicas. Cada paciente foi classificado como portador de uma das formas clínicas caracterizada por Ridley-Jopling antes do tratamento pela poliquimioterapia (PQT) para hanseníase, de acordo com os padrões do Ministério da Saúde e Associação Internacional de Hanseníase (ILA). Como mencionado anteriormente, com base na análise histopatológica, os pacientes foram ainda classificados como: Hanseníase Indeterminada (HI), Tuberculoide (HT), Dimorfa (HD) ou Virchoviana (HV). Os critérios de exclusão foram indivíduos com algumas doenças que afetam a resposta imune, como infecção por HIV e HTLV-I, diabetes e doenças neurológicas.

Dosagens de sTREM-1 por ELISA

O sangue total foi coletado em tubos com heparina (10 UI/ml) e centrifugado para coleta de soro. As amostras de soro foram armazenadas em freezer a -80°C. Os níveis de sTREM-1 no soro foram medidos por kits de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) específicos (DuoSet, R & D Systems, Abingdon, UK). A absorbância a 450nm foi medida usando um leitor de microplacas (Epoch, BioTek, Luzern, Suíça), com uma correção de comprimento de onda ajustada em 570nm para subtrair o fundo. Uma curva padrão foi gerada para cada conjunto de amostras analisadas usando o protocolo recomendado pelo fabricante.

Análise Estatística

As concentrações de sTREM-1 foram comparadas entre os diferentes subgrupos (PB, MB e HHC) e de acordo com as formas clínicas da hanseníase, além da ocorrência de RH e do grau de incapacidade física. Média, mediana e desvio padrão dos grupos foram calculados. Os testes de D'Agostino e Pearson foram aplicados para analisar dados que exibiram distribuição normal. As diferenças estatísticas entre os grupos foram determinadas pelos testes U de Mann-Whitney. As comparações de médias para um dado parâmetro foram feitas por testes t não paramétricos. Todas as análises foram realizadas pelo software GraphPad Prism, versão 7. Os resultados foram considerados estatisticamente diferentes com um valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Características clínicas e demográficas da amostra

Não foram observadas diferenças estatísticas em relação à média de idade dos pacientes MB (Média $\pm$ Desvio Padrão; 43.6 ± 15.9), PB (49.6 ± 18.9) e HHC (46.9 ± 14.5). A proporção de homens com a forma MB (57,1%) foi, no entanto, significativamente maior do que a apresentada com PB [26,1%; p-valor = 0,02; OddsRatio (OR) = 3,77] (**Tabela 1**). Como era esperado, os pacientes com MB apresentaram maior número de lesões ($6,58 \pm 2,85$) do que os PB ($1,91 \pm 1,59$; p-valor <0,0001) e a ocorrência de reação hansênica foi significativamente maior em quem tinha a forma MB (71,4%) que PB (17,4%; p-valor = 0,0001; OR = 11.88). Observamos também que a ocorrência de incapacidade física ocorreu com maior frequência em MB (60,7%) do que os pacientes PB (10,7%, p-valor = 0,03; OR = 3,53).

Tabela 01. Características demográficas e clínicas dos pacientes e contatos domiciliares.

Variáveis	MB (n = 28)	PB (n = 23)	HHC (n = 23)	Valor de p	Odds ratio	IC (95%)
Idade (Variação)	10 - 68	11 - 81	20-72			
Média $\pm$ DP	43.6 ± 15.9^a	49.6 ± 18.9^b	46.9 ± 14.5	*0.22		
Masculino n (%)	16 (57.1%) ^a	06 (26.1%) ^b	09 (39.1%)	**0.02	3.77	1.14 to 12.48
N. de Lesões (Variação)	2 - 14	1 - 5	--			
Média $\pm$ DP	6.58 ± 2.85	1.91 ± 1.59	--	*<0.0001		
Reação Hansênica n (%)	20 (71.4%)	4 (17.4%)	--	**0.0001	11.88	1.53 to 5.16
Grau de IFⁿ (%)						
Degree 0	11 (39.3%)	16 (50%)	--			
				**0.03	3.53	1.09 to 11.36
Degree 1 and 2	17 (60.7%)	7 (10.7%)	--			

MB = Multibacilar; PB = Paucibacilar; HHC = Controle Contactante; IC = Intervalo de Confiança; DP = Desvio Padrão; IF = Intervalo de Confiança; * Unpairedtest; **Fisher exacttest

Os níveis séricos de sTREM-1 estão associados a complicações clínicas na hanseníase

Inicialmente foram avaliados os níveis séricos de sTREM-1 de acordo com a classificação operacional da hanseníase. Foi observado que pacientes MB apresentaram níveis mais elevados de sTREM-1 ($246,2 \pm 162,9 \text{ pg/ml}$), quando comparados aos PB ($166,2 \pm 99,7 \text{ pg/ml}$; $p\text{-valor} = 0,053$) e aos controles contactantes (HHC = $153,9 \pm 110,3 \text{ pg/ml}$; $p\text{-valor} = 0,01$) (Gráfico 1).

Similarmente, foram observados níveis mais elevados de sTREM-1 em pacientes com a forma clínica HV ($296,3 \pm 231,3 \text{ pg/ml}$) em comparação com as demais formas clínicas HI ($164,5 \pm 107,6 \text{ pg/ml}$), HT ($167,3 \pm 98,5 \text{ pg/ml}$), HD ($181 \pm 121,4 \text{ pg/ml}$) e com controles contactantes ($153,9 \pm 110,3 \text{ pg/ml}$; $p\text{-valor} = 0,03$).

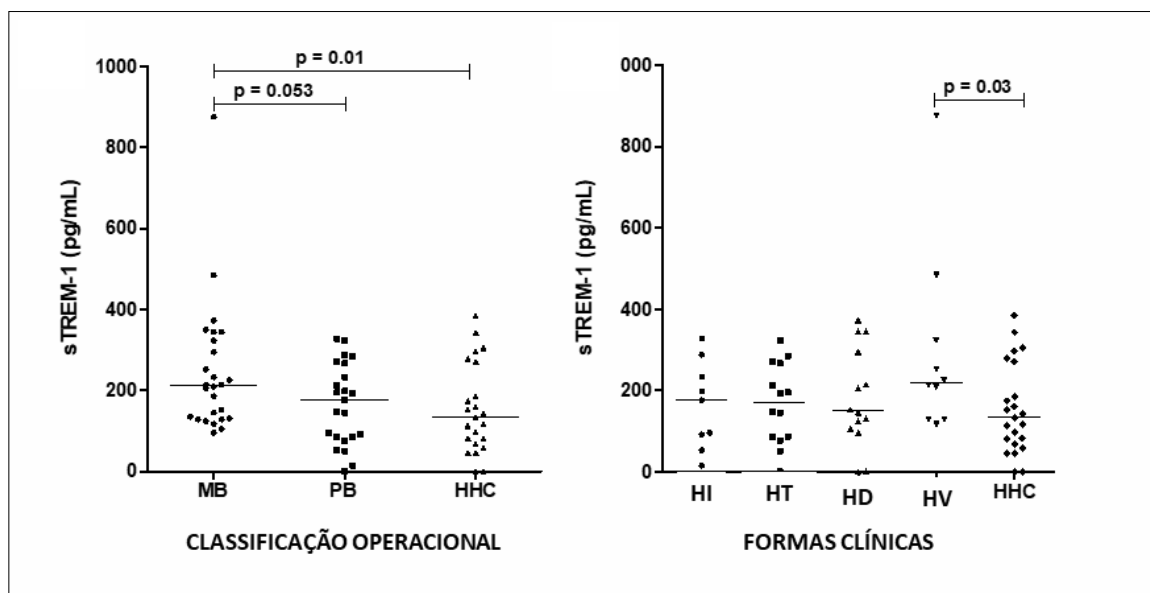


Gráfico 1. Níveis séricos de sTREM-1 em pacientes com hanseníase e controles contactantes (HHC) de acordo com a classificação operacional (A): MB (Multibacilar) e PB (Paucibacilar). E formas clínicas (B): HI (Hanseníase Indeterminada), HT (Hanseníase Tuberculoide), HD (Hanseníase Dimorfa) e HV (Hanseníase Virchowiana).

Uma vez que os pacientes com a forma MB apresentaram os maiores percentuais de ocorrência de reação hansênica (71,4%) e grau de incapacidade física 1 ou 2 (60,7%), e que os

pacientes MB também apresentaram os maiores níveis séricos de sTREM-1, decidiu-se comparar os níveis de sTREM-1 com as complicações clínicas da hanseníase.

Foi observado que pacientes com incapacidade física apresentaram níveis mais elevados de sTREM-1 ($263,7 \pm 169,9\text{pg/ml}$), quando comparados com aqueles sem incapacidade física ($144,3 \pm 87,3\text{pg/ml}$; p-valor = 0,001) (**Gráfico 2**). Além disso, foram comparados também os níveis de sTREM-1 de acordo com o grau de incapacidade física (GIF). Pacientes com GIF 2 apresentaram níveis mais elevados de sTREM-1 ($356,1 \pm 15,1\text{pg/ml}$), quando comparado com paciente com GIF 1 ($260,5 \pm 176,6\text{pg/ml}$; p-valor = 0,03) e GIF 0 ($144,3 \pm 87,3\text{pg/ml}$; p-valor = 0,005). Em relação à ocorrência de reação hansênica, foi observado que pacientes com episódios reacionais apresentaram níveis séricos de sTREM-1 ($256,7 \pm 173,8\text{pg/ml}$) mais elevados do que aqueles sem reação hansênica ($160,1 \pm 92,3\text{pg/ml}$; p-valor = 0,02).

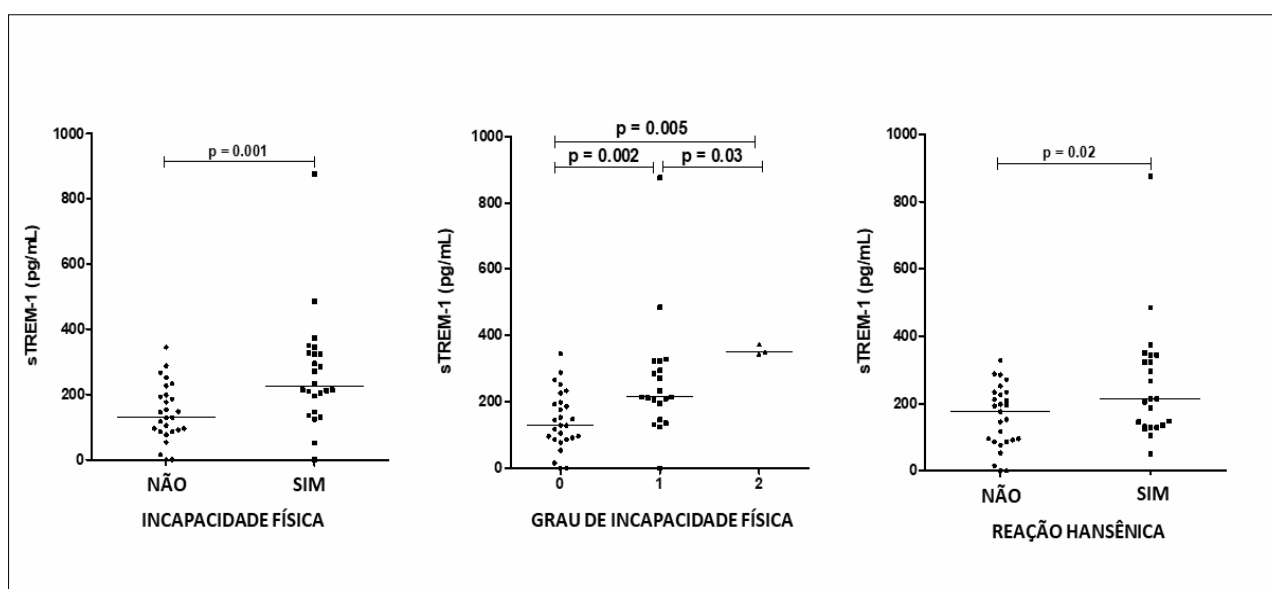


Gráfico 2. Níveis séricos de sTREM-1 em pacientes com hanseníase de acordo com a ocorrência de incapacidade física (A), com o grau de incapacidade física (B) e reação hansênica (C).

Para determinar os melhores valores de corte para o sTREM-1 como biomarcador, foi aplicado teste de curva ROC. Com isso, foram identificados os melhores valores de sensibilidade e especificidade para discriminar pacientes com a ocorrência de reação hansênica e de incapacidade física. O ponto de corte identificado pelo teste para os maiores

valores de sensibilidade e especificidade foi de 210 pg/ml. Com isso, foram comparadas variáveis clínicas e demográficas dos pacientes com hanseníase que apresentaram níveis séricos de sTREM-1 acima e abaixo de 210 pg/ml. Foi observado que pacientes com níveis de sTREM-1 >210 pg/ml apresentaram maior percentual da forma clínica HV (63,63%; p -valor = 0,05; OR = 4,81); de ocorrência de reação hansênica (54,16%; p -valor = 0,09; OR = 2,81) e incapacidade física (62,5%; p -valor = 0,004; OR = 5,83).

Tabela 2. Características demográficas e clínicas dos pacientes com hanseníase associados aos níveis de sTREM-1 acima de 210 pg/ml.

Variáveis	sTREM-1 >210 pg/ml n (%)	<i>p</i>-valor	Odds Ratio	IC (95%)
Masculino	11 (55%)	0.56	1.49	0.47 to 4.68
Classificação operacional- MB	15 (65.22%)	0.09	2.81	0.86 to 9.09
Forma clínica - HV	07 (63.63%)	*0.05	4.81	0.89 to 25.8
Reação hansênica	13 (54.16%)	0.09	2.81	0.88 to 8.88
Incapacidade física	15 (62.5%)	**0.004	5.83	1.71 to 19.91

MB: Hanseníase multibacilar. HV: Hanseníase virchoviana. IC: Intervalo de confiança. * p -valor<0.05; ** p -valor <0.01;

DISCUSSÃO

Na hanseníase, a ocorrência de episódios reacionais e o desenvolvimento de incapacidade física representam as complicações clínicas mais severas da doença. A infecção e lesão de nervos periféricos é um sinal clínico relevante na doença, embora os mecanismos imunopatogênicos envolvidos nas lesões ainda não sejam totalmente esclarecidos [4,8,9]. Nesse cenário, a hanseníase pode evoluir para complicações clínicas limitantes denominadas de reações hansênicas (RH) e incapacidade física [8]. As RH são um fenômeno de inflamação

aguda que pode ocorrer antes, durante ou após o tratamento. Na ausência de intervenção precoce, o paciente pode evoluir com sequelas graves que são responsáveis pelo forte estigma social e comprometimento significativo da qualidade de vida.

Ademais, níveis séricos elevados de citocinas no paciente com a hanseníase desempenham um papel importante na patogênese e podem estar associados às complicações clínicas da doença. As respostas das células T helper tipo 1 (Th1 - mediadas sobretudo por IFN- γ , IL-2 e TNF- α) e Th17 (mediadas por IL-17A e IL-1 β) estão relacionadas com o controle da replicação e disseminação do *M. leprae* e está presente na forma tuberculóide da hanseníase. Contudo, estudos reforçam que respostas pró-inflamatórias exacerbadas podem aumentar o dano tecidual, como ocorre nas RH [1,5,20–22]. Por outro lado, as respostas das células T helper tipo 2 (Th2 – mediada por IL-4, IL-6 e IL-13) e T reguladoras (T reg – mediada sobretudo pela citocina anti-inflamatória IL-10 e TGF- β), estão associadas às apresentações clínicas multibacilares da hanseníase. Recentes estudos vêm demonstrando o papel do sTREM-1 nas respostas inflamatórias e em infecções por patógenos intracelulares como a leishmaniose (18), a tuberculose pulmonar (21), a artrite reumatóide (19) e a sepse (22). Além disso, alguns autores atestam que o sTREM-1 pode ser útil como biomarcador para a evolução clínica e o desfecho de pacientes com sepse (23).

Este é primeiro estudo a avaliar os níveis séricos de TREM-1 solúvel em pacientes com diferentes formas clínicas da hanseníase e seus controles contactantes. O presente estudo estabelece associação com significância estatística entre níveis séricos elevados de sTREM-1 e a forma MB da doença, quando comparado aos PB e ao grupo controle contactante. Além disso, níveis mais elevados de sTREM-1 foram também identificados na forma HV. Isto sugere que o sTREM-1, juntamente com outros parâmetros clínicos e laboratoriais, pode servir como um biomarcador promissor para avaliar a gravidade na hanseníase.

Níveis mais elevados de sTREM-1 foram também observados em pacientes com algum grau de incapacidade física (1 ou 2) e naqueles com episódios reacionais. Isso sugere que o sTREM-1 pode estar diretamente relacionado às complicações clínicas da hanseníase. Além do mais, foi observado que altos níveis circulantes de sTREM-1, acima de 210pg/ml se associa significativamente com a forma clínica HV e com a ocorrência de incapacidade física.

O sTREM-1 regula negativamente a sinalização do receptor TREM-1 via neutralização de ligante (18,19,20). Dessa forma, os níveis de sTREM-1 aumentados, observados na RH e na ocorrência de incapacidade física, deve-se às respostas inflamatórias exacerbadas desencadeada pelos altos níveis dessa molécula circulante no plasma. Portanto, é possível que a liberação de sTREM-1 induzida pelo *M. leprae* potencialize a via inflamatória e contribua para a doença, por prejudicar a sinalização do receptor TREM-1. Essa resposta, vale ressaltar, pode ser importante para o paciente, sobretudo pela ativação de neutrófilos que podem fagocitar o bacilo durante a infecção. Assim sendo, no presente estudo, altos níveis de sTREM-1 estão associados a parâmetros clínicos de gravidade da hanseníase.

Em conclusão, o sTREM-1 sérico pode fornecer um novo biomarcador para o monitoramento da hanseníase, para sua gravidade e prognóstico, bem como para avaliação da atividade da doença e para resposta ao tratamento com PQT. A expressão aumentada de sTREM-1 na hanseníase sugere que o TREM-1 possa desempenhar um papel na patogênese da doença. Apesar disso, são necessários novos estudos, que avaliem sobretudo os mecanismos imunológicos e moleculares pelos quais o TREM-1 e o sTREM-1 podem afetar às manifestações e progressão clínica da hanseníase.

References

1. Simon M, Scherlock J, Duthie MS, Ribeiro De Jesus A. Clinical, immunological, and genetic aspects in leprosy. *Drug Dev Res* (2011) **72**:509–527. doi:10.1002/ddr.20457
2. WHO. Global leprosy update, 2016: accelerating reduction of disease burden. *Wkly Epidemiol Rec* (2017) **92**:501–520. doi:10.1186/1750-9378-2-15.Voir
3. Fonseca AB de L, Simon M do V, Cazzaniga RA, de Moura TR, de Almeida RP, Duthie MS, Reed SG, de Jesus AR. The influence of innate and adaptative immune responses on the differential clinical outcomes of leprosy. *Infect Dis Poverty* (2017) **6**:5. doi:10.1186/s40249-016-0229-3
4. Duthie MS, Reece ST, Lahiri R, Goto W, Raman VS, Kaplan J, Ireton GC, Bertholet S, Gillis TP, Krahenbuhl JL, et al. Antigen-specific cellular and humoral responses are induced by intradermal Mycobacterium leprae infection of the mouse ear. *Infect Immun* (2007) **75**:5290–5297. doi:10.1128/IAI.00564-07
5. Silva CLM, Fonseca SC, Kawa H, Palmer DDOQ. Spatial distribution of leprosy in Brazil: A literature review. *Rev Soc Bras Med Trop* (2017) **50**:439–449. doi:10.1590/0037-8682-0170-2016
6. de Oliveira DT, Bezerra MM, de Almeida JAP, Duthie M, Reed S, de Jesus AR. Neurological disability in leprosy: Incidence and gender association in Sergipe, Brazil. *Geospat Health* (2012) **6**: doi:10.4081/gh.2012.130
7. Santos MB, de Oliveira DT, Cazzaniga RA, Varjão CS, dos Santos PL, Santos MLB, Correia CB, Faria DR, Simon M do V., Silva JS, et al. Distinct Roles of Th17 and Th1 Cells in Inflammatory Responses Associated with the Presentation of Paucibacillary Leprosy and Leprosy Reactions. *Scand J Immunol* (2017) **86**:40–49. doi:10.1111/sji.12558
8. Aar??o TL de S, de Sousa JR, Botelho BS, Fuzii HT, Quaresma JAS. Correlation between nerve growth factor and tissue expression of IL-17 in leprosy. *Microb Pathog* (2016) **90**:64–68. doi:10.1016/j.micpath.2015.11.019
9. Santos MB, de Oliveira DT, Cazzaniga RA, Varjão CS, dos Santos PL, Santos MLB, Correia CB, Faria DR, Simon MDV, Silva JS, et al. Distinct Roles of Th17 and Th1 Cells in Inflammatory Responses Associated with the Presentation of Paucibacillary Leprosy and Leprosy Reactions. *Scand J Immunol* (2017) **86**: doi:10.1111/sji.12558
10. Polycarpou A, Walker SL, Lockwood DNJ. A systematic review of immunological studies of erythema nodosum leprosum. *Front Immunol* (2017) **8**: doi:10.3389/fimmu.2017.00233
11. Mazini PS, Alves HV, Reis PG, Lopes AP, Sell AM, Santos-Rosa M, Visentainer JEL, Rodrigues-Santos P. Gene association with leprosy: A review of published data. *Front Immunol* (2016) **6**:1–17. doi:10.3389/fimmu.2015.00658
12. Palermo ML, Pagliari C, Trindade MAB, Yamashitafuji TM, Duarte AJS, Cacere CR, Benard G. Increased expression of regulatory T cells and down-regulatory molecules in lepromatous leprosy. *Am J Trop Med Hyg* (2012) **86**:878–883. doi:10.4269/ajtmh.2012.12-0088
13. Oliveira RM, Hungria EM, De Araújo Freitas A, De Sousa ALOM, Costa MB, Reed SG, Duthie MS, Stefani MMA. Synergistic antigen combinations for the development

- of interferon gamma release assays for paucibacillary leprosy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2014) **33**:1415–1424. doi:10.1007/s10096-014-2077-z
14. Nascimento MSL, Carregaro V, Lima-Júnior DS, Costa DL, Ryffel B, Duthie MS, De Jesus A, De Almeida RP, Da Silva JS. Interleukin 17A acts synergistically with interferon γ to promote protection against leishmania infantum infection. *J Infect Dis* (2015) **211**:1015–1026. doi:10.1093/infdis/jiu531
 15. de Sousa JR, Sotto MN, Quaresma JAS. Leprosy as a complex infection: Breakdown of the Th1 and Th2 immune paradigm in the immunopathogenesis of the disease. *Front Immunol* (2017) **8**:18–21. doi:10.3389/fimmu.2017.01635
 16. Saini C, Ramesh V, Nath I. CD4⁺ Th17 Cells Discriminate Clinical Types and Constitute a Third Subset of Non Th1, Non Th2 T Cells in Human Leprosy. *PLoS Negl Trop Dis* (2013) **7**: doi:10.1371/journal.pntd.0002338
 17. Boer MC, Joosten SA, Ottenhoff THM. Regulatory T-cells at the interface between human host and pathogens in infectious diseases and vaccination. *Front Immunol* (2015) **6**:1–15. doi:10.3389/fimmu.2015.00217
 18. Bomfim LGS, Magalhães LS, Santos-Filho MAA, Peres NTA, Corrêa CB, Tanajura DM, Silva AM, Lipscomb MW, Borges VM, Jesus AR, et al. Leishmania infantum induces the release of sTREM-1 in visceral leishmaniasis. *Front Microbiol* (2017) **8**:1–8. doi:10.3389/fmicb.2017.02265
 19. Molad Y, Ofer-Shiber S, Pokroy-Shapira E, Oren S, Shay-Aharoni H, Babai I. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 is a biomarker of anti-CCP-positive, early rheumatoid arthritis. *Eur J Clin Invest* (2015) **45**:557–564. doi:10.1111/eci.12442
 20. Cao C, Gu J, Zhang J. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1 (sTREM-1): a potential biomarker for the diagnosis of infectious diseases. *Front Med* (2017) **11**:169–177. doi:10.1007/s11684-017-0505-z
 21. Feng JY, Su WJ, Pan SW, Yeh YC, Lin YY, Chen NJ. Role of TREM-1 in pulmonary tuberculosis patients- Analysis of serum soluble TREM-1 levels. *Sci Rep* (2018) **8**:1–11. doi:10.1038/s41598-018-26478-2
 22. Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Bene MC, Cravoisy A, Levy B, Faure GC, Bollaert PE. Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells-1: its diagnostic accuracy in patients with suspected sepsis. *Ann Intern Med* (2004) **141**:9–15. doi:10.1161/19 [pii]
 23. Oku R, Oda S, Nakada T, Sadahiro T, Nakamura M, Hirayama Y, Abe R, Tateishi Y, Ito M, Iseki T, et al. Cytokine Differential pattern of cell-surface and soluble TREM-1 between sepsis and SIRS. *Cytokine* (2013) **61**:112–117. doi:10.1016/j.cyto.2012.09.003

REFERÊNCIAS

- BHAT, R. M.; PRAKASH, C. Leprosy: An Overview of Pathophysiology. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2012, 2012.
- BOMFIM, L. G. S. et al. Leishmania infantum Induces the Release of sTREM-1 in Visceral Leishmaniasis. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 16 nov. 2017.
- CAO, C.; GU, J.; ZHANG, J. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1 (sTREM-1): a potential biomarker for the diagnosis of infectious diseases. **Frontiers of Medicine**, v. 11, n. 2, p. 169–177, 19 jun. 2017.
- DE CARVALHO, F. M. **Resposta imune celular Mycobacterium leprae-específica in vitro de contatos de pacientes com hanseníase multibacilar no início e durante o tratamento do caso índice.** [s.l.] INSTITUTO OSWALDO CRUZ, 2013.
- DE JESUS, A. R. et al. The influence of innate and adaptative immune responses on the differential clinical outcomes of leprosy. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 6, n. 1, p. 1–8, 2017.
- EIDT, L. M. Breve história da hanseníase: sua expansão do mundo para as Américas, o Brasil e o Rio Grande do Sul e sua trajetória na saúde pública brasileira Trajectory in the Brazilian Public Health. **Saúde e Sociedade**, v. 13, n. 2, p. 76–88, 2004.
- FENG, J.-Y. et al. Role of TREM-1 in pulmonary tuberculosis patients- analysis of serum soluble TREM-1 levels. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 8223, 29 dez. 2018.
- GIBOT, S. et al. Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells-1: its diagnostic accuracy in patients with suspected sepsis. **Annals of internal medicine**, v. 141, n. 1, p. 9–15, 6 jul. 2004.
- JACOBSON, R. R.; KRAHENBUHL, J. L. Leprosy. **Lancet (London, England)**, v. 353, n. 9153, p. 655–60, 20 fev. 1999.
- LANA, F. C. F. et al. **Hanseníase em menores de 15 anos no Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil**, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/reben/v60n6/13.pdf>>. Acesso em: 25 mar. 2019.
- LASTÓRIA, J. C.; ABREU, M. A. M. M. DE. Leprosy: review of the epidemiological, clinical, and etiopathogenic aspects-Part 1 *. **An Bras Dermatol**, v. 89, n. 2, p. 205, 2014.
- MENDONÇA, V. A. et al. **Imunologia da hanseníase** **An Bras Dermatol**, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abd/v83n4/a10v83n4.pdf>>. Acesso em: 27 mar. 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. **DATASUS: HANSENÍASE - INDICADORES OPERACIONAIS E EPIDEMIOLÓGICOS.** Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/sinannetbd/hanseniaze/hans_indicadores.htm>. Acesso em: 24 mar. 2019.

MOLAD, Y. et al. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 is a biomarker of anti-CCP-positive, early rheumatoid arthritis. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 45, n. 6, p. 557–564, jun. 2015.

OKU, R. et al. Differential pattern of cell-surface and soluble TREM-1 between sepsis and SIRS. **Cytokine**, v. 61, n. 1, p. 112–117, jan. 2013.

OPROMOLLA, D. V. A. **NOÇÕES DE HANSENOLOGIA.** Bauru: Centro de Estudos “Dr. Reynaldo Quagliato”, 2000.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE OMS. **Global Health Observatory data repository.** Disponível em: <http://apps.who.int/neglected_diseases/ntddata/leprosy/leprosy.html>. Acesso em: 24 mar. 2019.

RIBEIRO, M. D. A.; SILVA, J. C. A.; OLIVEIRA, S. B. Estudo epidemiológico da hanseníase no Brasil: reflexão sobre as metas de eliminação. **Rev Panam Salud Publica**, v. 42, p. 1–7, 2018.

RIDLEY, D. S. Classification of Leprosy According to Immunity. **Internacional Journal of Leprosy**, v. 34, n. 3, p. 255–273, 1966.

SANTOS, M. B. **RESPOSTA IMUNE A ANTÍGENOS DE Mycobacterium leprae E APRESENTAÇÃO CLÍNICA DA HANSENÍASE COMO PERSPECTIVA PARA O DESENVOLVIMENTO DE FERRAMENTAS PARA PROGNÓSTICO E IMUNOPROFILAXIA.** [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE, 2017.

SANTOS, M. B. et al. Distinct Roles of Th17 and Th1 Cells in Inflammatory Responses Associated with the Presentation of Paucibacillary Leprosy and Leprosy Reactions. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 86, n. 1, p. 40–49, 1 jul. 2017.

SCOLLARD, D. M. et al. The continuing challenges of leprosy. **Clinical microbiology reviews**, v. 19, n. 2, p. 338–81, abr. 2006.

SIMON, M. et al. Clinical, immunological, and genetic aspects in leprosy. **Drug Development Research**, v. 72, n. 6, p. 509–527, 1 set. 2011.

APÊNDICE A - Questionário de Pesquisa

14. Cidade:	15. Estado:
-------------	-------------

QUESTIONÁRIO

Estudo Imunológico e Genético na Hanseníase

1. Nº Estudo: ____ - ____

3. Classificação:

2. Família de Relação ____

CASO ÍNDICE (1) CONTROLE ÍNDICE (2) PARENTE do CASO (3)

HEREDOGRAMA

HISTÓRIA DA DOENÇA PREGRESSA

36. Já teve lesão cutânea da Hanseníase anteriormente? Se a resposta for NÃO , passe para a questão 44 .	Sim (1) Não (2) NS (3) NA(99)
37. Caso a resposta seja afirmativa , qual foi a data de início?	____/____/____
16. Já trabalhou como (caso índice) ou acompanhou-os?	Sim (1) Não (2) NS (3) NA(99)
17. Caso a resposta seja afirmativa , por quanto tempo (aproximado)?	____ meses ou ____ anos NA(99)
38. Caso a resposta seja afirmativa , apresentou quantas lesões?	____ lesões cutâneas NA(99)
18. Que tipo de animal cacou?	____ ou ____ NA(99) [Se 16 for (2)]
39. Tem ou não cicatrizes cutâneas características de Hanseníase?	Sim (1) Não (2) NS (3) NA(99)
19. Tem luz elétrica na casa?	Sim (1) Não (2)
40. Você recebeu tratamento para a Hanseníase?	Sim (1) Não (2) NS (3) NA(99)
20. Tem água encanada?	Sim (1) Não (2)
41. Caso a resposta seja afirmativa , você completou o tratamento?	Sim (1) Não (2) NS (3) NA(99)
21. Quanto tempo durou o seu tratamento?	____ meses Não (2) NA(99)
43. Caso a resposta seja afirmativa , tempo total?	____ meses ou ____ anos NA(99) [Se 22 for (2)]
24. Caso a resposta seja afirmativa , descreva a quantidade (ml) / semana	____, tipo de bebida
25. Exatidão?	Antes (1) Durante (2) Depois (3) NA(99)
26. Caso a resposta seja afirmativa , há quanto tempo parou?	____ meses ou ____ anos NA(99) [Se 24 for (2)]
27. Há quanto tempo mora na mesma casa que o [caso índice]?	____ meses ou ____ anos NA(99)
28. Há mais alguém [além do caso índice] com Hanseníase na família?	Sim (1) Não (2)
29. Caso a resposta seja afirmativa , quantos parentes?	____ parentes ou ____ NA(99) [Se 27 for (2)]
30. Caso a resposta seja afirmativa , qual o grau de parentesco?	Pai/Mãe (1) Irmãos (2) Filho (a) (3) Avô (ó) (4) Primo (a) (5) Tio (a) (7) Sobrinho(a) (6) Cônjuge (8) Outro (10) NA (99) [Se 27 for (2)]
31. Esta(as) pessoa(as) RESIDEM na mesma casa que você?	Sim (1) Não (2) NA(99) Reside na mesma casa, mas não é parente (4)
32. Você já recebeu BCG?	Sim (1) Não (2) NS (3)
33. Você já recebeu a segunda dose da BCG?	Sim (1) Não (2) NS (3)
34. Algum dos seus parentes recebeu a 2ª dose da vacina BCG?	Sim (1) Não (2) NS (3)
35. Caso a resposta acima seja afirmativa , quais familiares?	Pai/Mãe (1) Irmãos (2) Filho(a) (3) Avós (4) Primos (5) Sobrinho(a) (6) Tio(7) Cônjuge(8) NA(99) Outro(10)

HISTÓRIA DA DOENÇA ATUAL

45. Observa-se lesão cutânea ativa?	Sim (1)	Não (2)	NS (3)	NA(99)
46. Caso a resposta seja afirmativa , apresenta quantas lesões?	_____ lesões ou		NS(3*)	NA(99)
47. Caso a resposta seja afirmativa , há quanto tempo apresenta essas lesão(ões)?	_____ (meses) ou		NS(3*)	NA(99)
48. Você está tratando a Hanseníase ativa? Caso sim responder a questão 77	Sim (1)	Não (2)	NA(99)	
49. Houve confirmação da Hanseníase por biópsia?	Sim (1)	Não (2)	NS (3)	NA(99)
50. Qual o nome do Hospital/UBS que recebe atendimento?	_____ ou		NS (3)	NA(99)
51. Qual a Forma Clínica?	HI (1) HDV (5)	HT (2) HV(6)	HDT (3) Neural (7)	HD (4) NA(99)
52. Qual o esquema terapêutico ou drogas utilizadas?	PQT/PB (1) NA(99)	PQT/MB (2)	NS (3)	
53. Tem a marca da vacina BCG?	Sim (1)	Não (2)	NS (3)	NA(99)
54. Apresenta sangramento ou formação de crostas nasais?	Sim (1)	Não (2)	NS (3)	NA(99)
55. Grau de incapacidade avaliado no exame neurológico:	Grau Zero (1) Grau 3 (4)	Grau 1 (2) NA(99)	Grau 2 (3)	

INFORMAÇÃO ADICIONAL

DETECÇÃO DE DOENÇAS ALÉRGICAS - ASMA

56. Alguma vez na vida, você teve sibilos (chiado no peito)? Se a resposta for NÃO , passe para a questão 59 .	Sim(1)	Não(2)	NS(3)	NA(99)
57. Nos últimos 12 (doze) meses, você teve sibilos (chiado no peito)? Se a resposta for NÃO , passe para a questão 59 .	Sim(1)	Não(2)	NS(3)	NA(99)
58. Nos últimos 12 (doze) meses, quantas crises de sibilos você teve?	Nenhuma(1) 1 a 3 crises(2) 4 a 12 crises (4) + de 12 (5) NS(3) NA(99)			
59. Nos últimos 12 meses, com que frequência você teve seu sono perturbado por chiado no peito?	Nunca acordou com chiado (1) Menos de 1 noite por semana (2) 1 ou mais noites por semana (4) NS(3) NA(99)			
60. Nos últimos 12 meses seu chiado foi tão forte a ponto de impedir que você conseguisse dizer mais de duas palavras entre cada respiração?	Sim(1)	Não(2)	NS(3)	NA(99)
61. Alguma vez na vida você teve asma?	Sim(1)	Não(2)	NS(3)	NA(99)
62. Nos últimos 12 meses você teve chiado no peito após exercícios físicos?	Sim(1)	Não(2)	NS(3)	NA(99)
63. Nos últimos 12 meses você teve tosse seca à noite, sem estar gripado ou com infecção respiratória?	Sim(1)	Não(2)	NS(3)	NA(99)

DETECÇÃO DE DOENÇAS ALÉRGICAS – RINITE (13 A 14 anos)

OBS: Todas as perguntas são sobre problemas que ocorreram quando você não estava gripado ou resfriado!

64. Alguma vez na vida você teve problema com espirros ou coriza (corrimento nasal), quando não estava resfriado ou gripado? Se a resposta for NÃO , passe para a questão 67 .	Sim(1) Não(2) NS(3) NA(99)
65. Nos últimos 12 meses você teve algum problema com espirros, coriza (corrimento nasal) ou obstrução nasal quando não estava gripado ou resfriado? Se a resposta for NÃO , passe para a questão 67 .	Sim(1) Não(2) NS(3) NA(99)
66. Nos últimos 12 meses esse problema nasal foi acompanhado de lacrimejamento ou coceira nos olhos?	Sim(1) Não(2) NS(3) NA(99)
67. Nos últimos 12 meses, quantas vezes suas atividades diárias foram atrapalhadas por esse problema nasal?	Nada(1) Um pouco(2) Moderado(4) Muito (5) NS(3) NA(99)
68. Alguma vez na vida você teve rinite alérgica?	Sim(1) Não(2) NS(3) NA(99)

DETECÇÃO DE DOENÇAS ALÉRGICAS – DERMATITE ATÓPICA

69. Alguma vez na vida você teve manchas com coceira na pele, que apareciam e desapareciam por pelo menos 6 meses? Se a resposta for não , passe para a questão 73 .	Sim(1) Não(2) NS(3) NA(99)
70. Nos últimos 12 meses você teve essas manchas na pele (eczema)? Se a resposta for não , passe para a questão 73 .	Sim(1) Não(2) NS(3) NA(99)
71. Alguma vez essas manchas com coceira afetaram algum dos seguintes locais: dobras dos cotovelos, atrás dos joelhos, na frente dos tornozelos, abaixo das nádegas ou em volta do pescoço, orelhas ou olhos?	Sim(1) Não(2) NS(3) NA(99)
72. Alguma vez essas manchas com coceira (eczema) desapareceram completamente nos últimos 12 meses?	Sim(1) Não(2) NS(3) NA(99)
73. Nos últimos 12 meses, quantas vezes, aproximadamente, você ficou acordado à noite por causa de coceira na pele?	Nunca nos últimos 12 meses (1) Menos de 1 noite por semana (2) 1 ou mais noites por semana (4) NS(3) NA(99)
74. Alguma vez você teve eczema?	Sim(1) Não(2) NS(3) NA(99)
EXAMES COMPLEMENTARES	
75. Baciloscopia	Positiva(1) Negativa(2) NA(99)
76. Biópsia (descrever)	

77. Parasitológico de Fezes:	1º Exame	2º Exame	3º Exame
78. Há quantos meses trata a Hanseníase ativa?			_____ (meses)
79. É Tabagista? Se a resposta for sim responda a questão seguinte			Sim(1) Não(2)
80. Quantos cigarros diários?			_____

APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre Esclarecido para o Estudo
Da Resposta Imune

CONSENTIMENTO INFORMADO PARA O ESTUDO DA RESPOSTA IMUNE

Nome do Projeto: Estudo Imunológico e Genético na Hanseníase

NOME DO PACIENTE: _____ **Registro.HU:** _____
Nº: ____ - ____

Investigador Principal: Amélia Ribeiro de Jesus, médica, Hospital Universitário Rua Cláudio Batista S.N, Bairro Sanatório, Aracajú, Brasil. Tel: (79)3218-1805.

Convite e Objetivo:

Você é convidado(a) a participar de um estudo que tem como objetivo entender porque as pessoas têm Hanseníase. Este estudo incluirá 90 pessoas com esta doença que apresentam formas diferentes de feridas na pele. Além das informações deste documento você pode perguntar tudo sobre o estudo ao seu médico. Caso decida participar do estudo você será solicitado(a) assinar este formulário de consentimento.

Participação voluntária: A sua participação é voluntária. Você pode decidir não participar do estudo em qualquer momento, sem perder os benefícios dos cuidados médicos prestados e de seu tratamento. Caso, após aceite participar, resolva descontinuar sua participação, isto será feito sem qualquer prejuízo para você. Participando ou não do estudo você receberá o medicamento utilizado para o tratamento da Hanseníase.

Finalidade do estudo: Este estudo vai estudar como o seu corpo se defende quando atacado pela bactéria que causa esta doença. Para isto estudaremos o seu sangue e uma parte do exame de biópsia de sua ferida na pele.

Procedimentos: Caso você concorde em participar do estudo, além de ser examinado por um médico clínico, realizar biópsia da lesão, teste intradérmico e exame de secreção de sua orelha, métodos que são necessários para o diagnóstico da doença, você doará 40ml de sangue (mais ou menos 3 colheres de sopa) para a pesquisa dos mecanismos de defesa do organismo. A retirada do pedaço da pele ou da ferida para diagnóstico da sua doença será feita com anestesia para você não sentir dor e parte deste material poderá ser utilizado para os estudos

da defesa do seu corpo contra a bactéria que causa a doença. Caso o diagnóstico de Hanseníase não seja confirmado, todo o material obtido para pesquisa será destruído.

Duração do estudo: Após a assinatura do termo de consentimento sua participação no estudo é de 5 anos, a contar do primeiro dia de tratamento, caso você tenha Hanseníase. Periodicamente, você será examinado para determinar a cura da doença ou necessidade de utilização de novo tratamento, que também lhe será fornecido gratuitamente.

Confidencialidade: Qualquer informação obtida durante este estudo só será do conhecimento da equipe médica e do órgão que protege o indivíduo em pesquisas (Comitê de ética do Hospital Universitário) Você e qualquer participante desse estudo não será identificado por nome nas publicações dos resultados do estudo. Apenas os representantes do Comitê de Ética em Pesquisa poderão ver sua ficha clínica.

Análises de riscos e benefícios: A retirada de seu sangue e de um pedaço da ferida são feitos se você tiver ferida, ainda antes do tratamento, para confirmar o diagnóstico da doença. Dor leve na retirada de sangue devido à punção com agulha pode ocorrer. Em casos raros a retirada de sangue provoca sangramento ou mancha roxa na pele. Como anestesia local é utilizada, a retirada de um pedaço da ferida não é acompanhada de dor. O tratamento que você receberá é igual ao que todos os pacientes receberão participando ou não do estudo. A participação lhe trará como benefício um acompanhamento clínico mais freqüente. Um médico lhe visitará em sua casa para examinar também sua família. Você deve retornar às consultas médicas regularmente de acordo com marcação de seu cartão do Ambulatório do HU

Retorno de benefícios para o sujeito e para a sociedade: A Hanseníase é relacionada a reação do seu organismo contra a bactéria que causa a doença e o conhecimento destas reações do seu corpo pode contribuir não só para o entendimento da doença como para o aparecimento de novas formas de tratamento ou controle os sintomas e também formas de prevenir a doença.

Custos: Você não terá custos com o tratamento. Você não receberá pagamento por sua participação neste estudo.

Esclarecimentos: Caso você precise de atendimento médico durante o estudo, você pode contactar um dos seguintes Médicos pelo telefone (79)3237-7353: Dra. Amélia Ribeiro de Jesus, Dr. Emerson Ferreira da Costa ou Dr. Roque Almeida. Caso você queira saber alguma coisa sobre seus direitos e de seu filho, como paciente, você pode procurar o Comitê de Ética do Hospital Universitário, cujo endereço encontra-se no início deste consentimento ou pelo telefone (79) 3218-1805.

Consentimento: Se você leu o consentimento informado ou este lhe foi explicado e você concorda em participar do estudo, favor assinar o nome abaixo. A você será entregue uma cópia deste formulário para guardar.

Assinatura do participante

Data

Hora

Assinatura do pesquisador

Data

Hora

Assinatura da testemunha (apenas analfabetos)

Data

Hora

APÊNDICE C - Termo de Consentimento Livre Esclarecido para o Estudo
Da Resposta Imune para Menores de Dezoito Anos

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO PARA MENORES DE IDADE
(MENORES DE 18 ANOS)
ESTUDO DA RESPOSTA IMUNE

Nome do Projeto: Estudo Imunológico e Genético na Hanseníase

NOME DO PACIENTE: _____ **Registro.HU:** _____
Nº: ____ - ____

Investigador Principal: Amélia Ribeiro de Jesus, médica, Hospital Universitário Rua Cláudio Batista S.N, Bairro Sanatório, Aracajú, Brasil. Tel: (79)3218-1805.

Convite e objetivo: Você está sendo convidado a participar de um estudo científico para determinar as razões porque pessoas desenvolvem Hanseníase. Nós perguntaremos a você sobre a sua saúde. Um médico fará exame físico em você, incluindo boca e nariz. Isto não causará dor em você. Então, nós tiraremos um pouco de sangue (cerca de duas colheres de sopa) de seu braço usando uma seringa e agulha descartáveis para realizar alguns exames que ajudarão a explicar a doença. Nós também iremos fazer um teste na pele, onde nós injetaremos uma pequena quantidade de líquido (duas gotas) no seu braço usando uma agulha fina. Nós também vamos precisar remover um pequeno pedaço da pele ou do nariz para confirmar se você tem a doença. Isso será feito por um médico no hospital, com anestesia local para evitar dor. Nós esperamos através deste estudo esclarecer mais sobre a doença, entendê-la e assim poderemos preveni-la no futuro.

Você pode não participar deste estudo. Se você quer nos ajudar, por favor, assine ou coloque sua impressão digital abaixo.

Assinatura ou impressão do paciente

Data

Hora

Assinatura ou impressão do responsável

Data

Hora

Testemunha

Data

Hora

Pesquisador

Data

Hora

