

Caracterização imunológica de um núcleo familiar com caso de hanseníase do leste de Minas Gerais

Iara Mary Smith¹
 Gabriel Coimbra Carvalho Schuwarden²
 Michel Peçanha³
 Marli Elias Pereira³
 Claudine de Menezes Pereira Santos³
 Rosemary Souza Ferreira³
 Eloisa Helena Medeiros Cunha³
 Ana Clara de Alvarenga Morais³
 Mar Lucy Rodrigues Lima³
 Zeina Calek Graize Trindade³
 Leonardo Oliveira Leão e Silva⁴
 Suely Maria Rodrigues⁴
 Sueli Siqueira⁴
 Pedro Henrique Ferreira Marçal⁵
 Lúcia Alves de Oliveira Fraga⁶

¹Acadêmico(a) do curso de Farmácia da Universidade Vale do Rio Doce - Univale

²Acadêmico(a) do curso de Medicina da Universidade Vale do Rio Doce - Univale

³Professor(a) do curso de Farmácia da Universidade Vale do Rio Doce - Univale

⁴Professor(a) do curso de mestrado em Gestão Integrada do Território da Universidade Vale do Rio Doce - Univale

⁵Coordenador do curso de Farmácia da Universidade Vale do Rio Doce - Univale

⁶Professora do Departamento de Ciências da Vida da Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF/Campus Governador Valadares

Resumo

A Hanseníase é uma doença crônica, causada pelo *Mycobacterium leprae*, parasita intracelular capaz de induzir resposta imune celular ou humoral nos indivíduos acometidos. Este trabalho teve como principal objetivo quantificar, as subpopulações das células e citocinas envolvidas no processo imunológico da hanseníase, em um indivíduo que apresenta a forma clínica paucibacilar e seus contatos, caracterizando-os imunologicamente, através de técnicas específicas como Citometria de Fluxo e do uso de biomarcadores moleculares. Na comparação entre os indivíduos, evidenciou-se diferença no percentual de células (CD3+), (CD4+), (CD8+), (CD4+CD62L+) e (CD8+CD62L+), (CD4+CD69+) e (CD8+CD69+), (CD4+CD25+), (CD14+), (CD19+), citocinas IL4, IL10 e INF- γ . Com base nos resultados encontrados, observamos que um dos contatos domiciliar do indivíduo com hanseníase, apresentou um perfil imunológico semelhante ao doente, podendo-se pressupor que este indivíduo pode estar infectado pelo *M. leprae*, sem apresentar sintomatologia clínica. Assim, a avaliação de parâmetros imunológicos se torna essencial, visando identificar em uma população em geral pessoas mais susceptíveis a adoecer, sendo então possível elaborar medidas de controle, com intuito de reduzir possíveis agravamentos da doença e disseminação do bacilo.

Palavras – chave: Hanseníase, *Mycobacterium leprae*, Citocinas, Contatos domiciliares.

Introdução

A hanseníase é uma doença de pele que é considerada um grave problema de saúde pública, principalmente nos países denominados de “terceiro mundo”. (SILVEIRA et al., 2014). Ela se define por ser uma doença infectocontagiosa, de evolução lenta, que se manifesta através de sinais e sintomas dermatológicos: lesões na pele e nos nervos periféricos, em especial nos olhos, mãos e pés (SILVEIRA et al., 2014).

É uma doença crônica causada pelo *Mycobacterium leprae*, o qual é um parasita intracelular, desco-

berto e descrito por Gerhard H. A. Hansen em 1968, em Burgen, na Noruega (BATISTA et al, 2011).

As vias aéreas superiores constituem a principal via de entrada e eliminação do bacilo. O contágio se dar o pelo contato, entre indivíduos sadios e casos bacilíferos da doença sem tratamento (VIDERES, 2010).

Atualmente, 80% dos casos novos concentram-se em países localizados na faixa intertropical: Índia; Brasil; Myamar; Madagascar; Nepal e Moçambique. Atualmente, o Brasil ocupa o segundo lugar em números absolutos de casos de hanseníase no mundo (FRANCHESCHI, 2009).

Em 2013, o Brasil apresentou prevalência de 1,42 casos por 10.000 habitantes, correspondendo a 28.445 casos em tratamento. Ainda que se registre no país decréscimos contínuos nos coeficientes de prevalência e de detecção de casos novos da doença, algumas regiões são consideradas mais endêmicas, com áreas importantes na manutenção da transmissão (BRASIL, 2015).

Especificamente em Minas Gerais, segundo dados de 2009, registraram-se 1873 casos novos de hanseníase, dos quais 4,5% eram menores de 15 anos, 65,7% multibacilares e 9,8% com grau 2 de incapacidade, ou seja, com alguma deformidade, o que indica expansão e diagnóstico tardio da doença (ANDRADE, 2010).

Segundo Andrade (2010) a taxa de detecção por macrorregional de saúde em 2009 e afirmou que a taxa de detecção do Leste Mineiro é “muito alta” (20,00 a 39,99/100.000 hab.), sendo que o restante do estado apresenta taxa “média” (2,00 a 9,99/100.000 hab.) em algumas regiões e “alta (10,00 a 19,99/100.000 hab.)” em outras. Porém, devido ao esforço do Ministério da Saúde, mesmo com esses grandes números, a taxa de prevalência em Minas Gerais diminuiu cerca de 22 vezes nos últimos 22 anos, e a taxa de detecção vem decrescendo nos últimos 8 anos (ANDRADE, 2010).

No Estado de Minas Gerais destaca-se a região leste incluída no cluster de número 4, onde o Vale do Rio Doce e regiões vizinhas, compreendendo o município de Inhapim são considerados de alta prevalência.

A imunidade mediada por célula representa um fator importante no controle da infecção pelo *M. Leprae*. Em indivíduos paucibacilares as células Th1 produzem IFN- γ que ativa macrófago e IL-2 que estimula o crescimento de células T antígeno-específicas, resultando na redução da carga bacilar ou cura (MARÇAL, 2011). Já os indivíduos multibacilares possuem um padrão de citocinas do tipo Th2. Essas Células produzem

IL-4, IL-5 e IL-10 e ampliam a resposta humoral. IL-4 estimula a produção de IgE, e ambas IL-4 e IL-10 estimulam células B e inibem a ativação de macrófago resultando em infecção progressiva (MARÇAL, 2011).

O bacilo tem a capacidade de infectar grande número de indivíduos, poucos adoecem devido sua patogenicidade, propriedade esta que não é função apenas de suas características intrínsecas, mas que depende, sobretudo, de sua relação com hospedeiro e do grau de endemicidade do meio (MOURA, 2010).

O diagnóstico precoce e a introdução do tratamento específico são importantes para reduzir fontes de transmissão e para prevenir doença grave com incapacidade e deficiência física (MARÇAL, 2011).

O tratamento da Hanseníase compreende: quimioterapia específica, supressão dos surtos reacionais, prevenção de incapacidades físicas, reabilitação física e psicossocial. Este conjunto de medidas deve ser desenvolvido em serviços de saúde da rede pública ou particular, mediante notificação de casos à autoridade sanitária competente (FREITAS, et al., 2009).

Apesar dos esforços, a meta de eliminação para o Brasil ainda não foi atingida, dentre os fatores que impediram alcançar a meta, está à permanência de casos não diagnosticados, prevalência oculta, responsáveis pela manutenção de fontes de contágio na população (FREITAS et al., 2009).

Diante deste contexto, o presente trabalho pretende, por meio de técnicas imunológicas específicas como Citometria de Fluxo, caracterizar imunologicamente os pacientes incluídos no estudo através uso de biomarcadores moleculares.

Metodologia

Indivíduos estudados

Nesse estudo foram avaliados seis indivíduos de uma mesma família, caracterizando um núcleo familiar. Um indivíduo doente, na forma clínica paucibacilar e seus contatos, sendo três filhos, uma irmã e uma sobrinha. Os indivíduos foram acompanhados clinicamente por médicos dermatologistas da Secretaria Municipal de Saúde de Inhapim, Minas Gerais. O diagnóstico e a classificação dos indivíduos com hanseníase foram baseados em critérios clínicos, sendo utilizada a classificação operacional da OMS (WHO, 1995). Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade Vale do Rio Doce e todos os participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

PARTICIPANTE	FORMA CLÍNICA	SEXO	IDADE
Indivíduo 1	Caso hanseniae paucibacilar	Feminino	40 anos
Indivíduo 2	Contato domiciliar	Masculino	19 anos
Indivíduo 3	Contato domiciliar	Masculino	15 anos
Indivíduo 4	Contato domiciliar	Feminino	11 anos
Indivíduo 5	Contato domiciliar	Feminino	08 anos
Indivíduo 6	Contato extradomiciliar	Feminino	69 anos

Tabela 1 – Informações sobre os indivíduos envolvidos no estudo.

Imunofenotipagem

Os ensaios de imunofenotipagem de células do sangue periférico foram realizados, adicionando-se 2µl do anticorpo monoclonal marcado com o fluorocromo específico para o receptor celular de interesse (CD3+ FITC, CD4+ PE, CD8+ PE, CD4+CD62L+ FICT, CD8+CD62L+ FICT, CD4+CD69+ FITC, CD8+CD69+ FICT, CD4+CD25+FITC, CD14+ PER-cP, CD19+ FITC) em 100µl de sangue periférico total, incubado por 30 minutos. Em seguida, as amostras foram submetidas à etapa de lise dos eritrócitos utilizando 2ml de solução de lise comercial (FacsLysingSolution – Becton Dickinson) e submetidas à centrifugação (400g, 10 minutos a 18°C), para descarte do sobrenadante. As amostras foram lavadas 2 vezes com 2 ml de tampão salina fosfato (PBS) 0,015M pH 7,4 e posteriormente, fixadas com 300µl de solução fixadora (10g/l de paraformaldeído, 1% de cacodilato de sódio, 6,67 g/l de cloreto de sódio, pH 7,2). Após um período de 15 minutos a 4°C, a análise dos parâmetros fenotípicos das células presentes e marcadas em cada tubo foi determinada com o auxílio de um citômetro de fluxo Beckman Coulter EPICS XL-MCL. (EMERENCIANO et al., 2004).

Deteção de citocinas intracelulares

O sangue dos indivíduos foi colocado em RPMI-suplementado e em contato com o antígeno M.leprae por tempo variável. Brefeldina A (10mg/ml) foi adicionada 4 horas antes do final da cultura. As células foram lavadas com PBS e incubadas por 30 minutos, ao abrigo da luz, a temperatura ambiente, com anticorpo monoclonais de superfície, a saber CD4+ PE e CD8+

PE. Em seguida, as amostras foram lavadas com PBS por centrifugação (400g, 7 minutos) e o sobrenadante desprezado. Após a lise das hemácias, fixação e permeabilização com solução de lise, formaldeído (4%) e saponina (0,5%), respectivamente, as células foram incubadas com anticorpos monoclonais anti-citocinas (IL4, IL10 e IFN- γ), marcados com PE por 30 minutos, ao abrigo da luz, a temperatura ambiente. Após incubação as células foram lavadas com PBS e em seguida adicionada solução fixadora (MFF-10g/L). A leitura foi realizada em Citômetro de Fluxo Beckman Coulter EPICS XL-MCL.

Obtenção de dados no citômetro de fluxo e análises dos resultados

As amostras serão analisadas em citômetro de fluxo Beckman Coulter EPICS XL-MCL. A aquisição dos dados e o estudo dos resultados serão realizados utilizando-se o software do equipamento denominado EXPO 32. Foram coletados 50.000 eventos para a análise após estimulação in vitro. A identificação das populações celulares de interesse, bem como a determinação do valor percentual de populações celulares e das citocinas produzidas foi feita através de um sistema de computador acoplado ao citômetro.

O primeiro passo consiste na identificação da população de leucócitos em estudo, realçando os linfócitos. Após a seleção da região de interesse, a mesma é analisada utilizando-se a intensidade de fluorescência apresentada pelas células presentes na região selecionada, utilizando-se gráficos de fluorescência 1 (FL1- fluorescência verde obtida pela marcação com isotiocianato de fluoresceína – FITC) versus fluorescência 2 (fluorescência laranja obtida pela marcação com ficoeritrina –PE). Logo após a seleção da população de linfócitos, o segundo passo consiste na identificação da população de monócitos.

Resultados

Porcentagem de células CD3+, CD4+ e CD8+

A figura 1 apresenta a porcentagem de células CD3+, CD4+ e CD8+ no sangue periférico dos indivíduos estudados. Pode-se observar na figura 1A, que o indivíduo 1 (6,75%) apresenta baixa porcentagem de células CD3+. Diferentemente, os indivíduos 2 (17,10%) e 4 (19,4%) foram os que apresentaram maior porcentagem de células CD3+.

Com relação à figura 1B, verificou-se novamente que o indivíduo 1 (3,63%) apresentou baixa porcentagem de células CD4+, comparando-o com os demais indivíduos. Somente o indivíduo 6 (2,59%) apresentou menor porcentagem de células CD4+ do que o indivíduo 1. Em contrapartida o indivíduo 3 (8,07%) apresentou a maior porcentagem de células CD4+.

A figura 1C apresenta a porcentagem de células CD8+. Foi possível notar que os indivíduos os 1 (3,58%) e 4 (3,29%), apresentaram baixa porcentagem de células CD8+, enquanto que o indivíduo 3 (13,10%) apresentou porcentagem elevada de células CD8+.

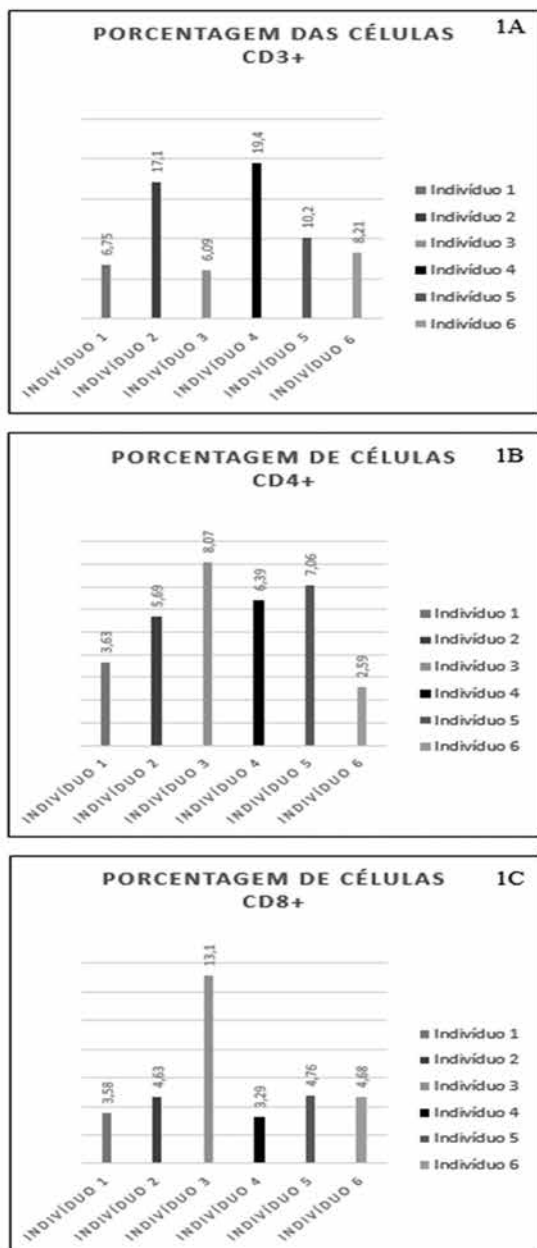


Figura 1 - Porcentagem de células CD3+, CD4+ e CD8+ nos indivíduos estudados.

Porcentagem de células CD4+CD62L+, CD8+CD62L+, CD4+CD69+, CD8+CD69+, CD4+CD25+, CD14+ e CD19+

A figura 2 apresenta a porcentagem de células CD4+CD62L+, CD8+CD62L+, CD4+CD69+, CD8+CD69+, CD4+CD25+, CD14+ e CD19+ no sangue periférico dos indivíduos estudados.

A análise das figuras 2A e 2B permite observar que somente o indivíduo 6 apresentou porcentagem elevada de células CD4+CD62L+ (0,83%) e CD8+CD62L+ (1,06%). Em contrapartida pode-se observar que o indivíduo 3 apresentou baixa porcentagem de células CD4+CD62L+ (0,25%) e CD8+CD62L+ (0,17%).

A figura 2C mostrou que os indivíduos 2 (1,38%) e 6 (1,56%), foram os que apresentaram maior porcentagem de células CD4+CD69+, já os indivíduos 3 (0,29%) e 5 (0,26%) foram os que apresentaram, baixa porcentagem de células CD4+CD69+ os demais indivíduos apresentaram níveis medianos de células CD4+CD69+, quando comparados aos indivíduos estudados.

Com relação a células CD8+CD69+, os indivíduos que apresentaram maior porcentagem de células CD8+CD69+ foram 2 (1,55%) e 6 (1,45%), já os indivíduos 3 (0,42%) e 4 (0,54%) foram os que apresentaram, baixa porcentagem de células CD8+CD69+, os demais indivíduos apresentaram níveis medianos de células CD8+CD69+, quando comparados aos demais indivíduos envolvidos no estudo (figura 2D).

A figura 2E apresenta a porcentagem de células CD4+CD25+. Pode-se observar que o indivíduo 3 (0,21%) e 5 (0,26%) apresentou baixa porcentagem de células CD4+CD25+, enquanto que o indivíduo 6 (2,12%) apresentou a maior porcentagem de células CD4+CD25+.

Com relação a células CD14+ pode-se observar que o indivíduo 6 (4,79%) apresentou maior porcentagem de células CD14+. Em contrapartida o indivíduo 5 (1,91%) apresentou a menor porcentagem de células CD14+ (figura 2F).

Interessantemente, os indivíduos 2 (1,57%) e 3 (1,47%), apresentaram maior porcentagem de células CD19+, enquanto os indivíduos 1 (0,84%) e 6 (0,58%) apresentaram menor porcentagem de células CD19+ (figura 2G).

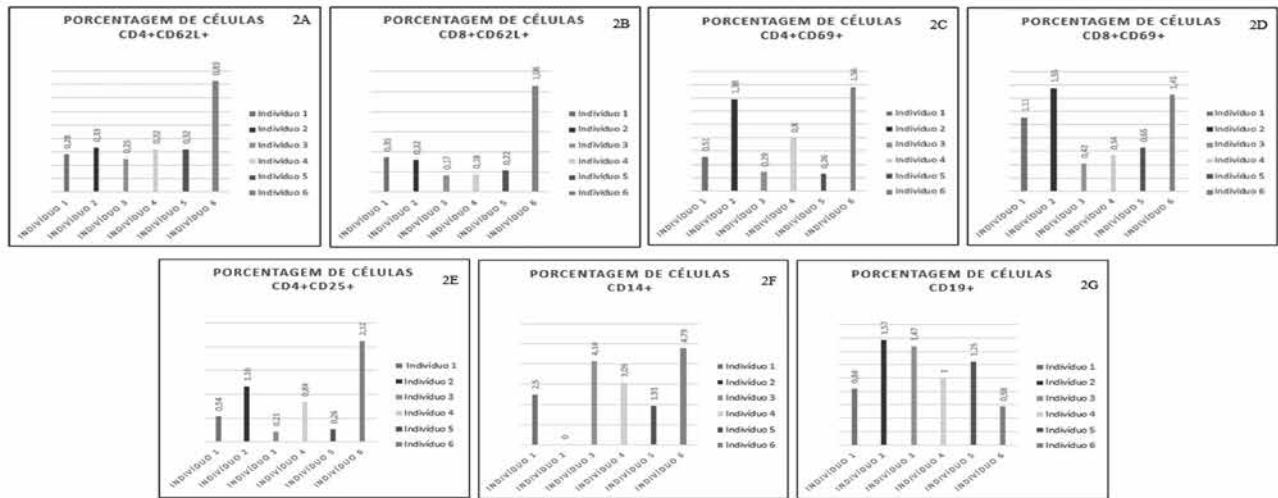


Figura 2 - Porcentagem de células CD4+CD62L+, CD8+ CD62L+, CD4+ CD69+, CD8+CD69+, CD4+CD25+ CD14+ e CD19+ nos indivíduos estudado.

Porcentagem de células CD4+ IL4+, CD8+ IL4+, CD4+ IL10+ e CD8+ IL10+ antes e após estímulo com *Mycobacterium leprae* bruto

A figura 3 apresenta a porcentagem de células CD4+ IL4+, CD8+ IL4+, CD4+ IL10+ e CD8+ IL10+, antes e após estímulo com *M. leprae* bruto. A figura 3A representa a porcentagem de células CD4+ IL4+ (antes do estímulo com *M. leprae* bruto). Pode-se observar menor porcentagem de células CD4+ IL4+, no indivíduo 4 (0,12%). Já os indivíduos 2 (0,22%), 5 (0,21%) e 6 (0,21%) apresentaram elevada porcentagem de células CD4+ produtoras de IL4+. A figura 3B apresenta a porcentagem de células CD4+ IL4+ (após estímulo com *M. leprae* bruto). Os indivíduos 2 (0,19%) e 5 (0,19%) apresentam elevada porcentagem de CD4+ IL4+. Já o indivíduo 6 (0,10%) apresentou a menor porcentagem de células CD4+ IL4+.

A figura 3C, representa a porcentagem de células CD8+ IL4+ (antes do estímulo com *M. leprae* bruto). Observa-se que o indivíduo 2 (0,68%) apresenta elevada porcentagem de células CD8+ IL4+. A figura 3D apresenta a porcentagem de células CD8+ IL4+ (após estímulo com *M. leprae* bruto). Podendo-se que os indivíduos 1 (0,57%) e 2 (0,66%) apresentam maior porcentagem de células CD8+ IL4+.

A figura 3E representa a porcentagem de células CD4+ IL10+ (antes do estímulo com *M. leprae* bruto). Observar-se que o indivíduo 1 (0,12%) apresentou a menor porcentagem de células CD4+ produtoras de IL10+, enquanto os indivíduos 2 (0,21%) e 5 (0,21%) apresentaram porcentagem elevada de células CD4+ IL10+. Em contrapartida, a figura 3F apresenta a porcentagem de células CD4+ IL10 (após estímulo com *M. leprae* bruto). Pode-se observar que o indivíduo 2 (0,16%) apresentou, a maior porcentagem de células CD4+ produtoras de IL4+, enquanto os indivíduos 1 (0,11%) e 3 (0,10%) apresentaram a menor porcentagem de células CD4+ IL4+.

A figura 3G representa a porcentagem de células CD8+IL10+ (antes do estímulo com *M. leprae* bruto). Pode-se observar que os indivíduos 3 (0,41%) e 4 (0,42%) apresentaram o menor porcentual de células CD8+ IL10+. A figura 3H apresenta a porcentagem de células CD8+IL10+ (após estímulo com *M. leprae* bruto). Os indivíduos 1 (0,54%) e 2 (0,50%) apresentaram porcentagem elevadas muito próximas. Os demais indivíduos apresentaram porcentagens $\leq 0,38\%$ sem grandes variações.

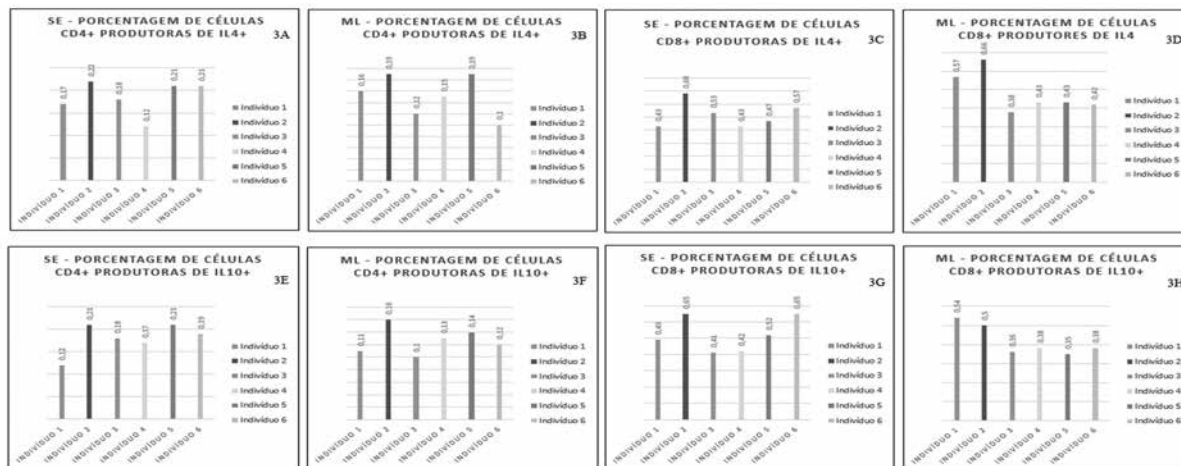


Figura 3 - Porcentagem CD4+ IL4+, CD8+ IL4+, CD4+ IL10+ e CD8+ IL10+ antes e após estímulo com *Mycobacterium leprae* bruto.

Porcentagem de células CD4+ IFN- γ + e CD8+ IFN- γ + antes e após estímulo com *Mycobacterium leprae* bruto

A figura 4 apresenta a porcentagem de células CD4+ IFN- γ + e CD8+ IFN- γ +, antes e após estímulo com *M. leprae* bruto. A figura 4A apresenta a porcentagem de células CD4+ produtora de IFN- γ + (antes do estímulo com *M. leprae* bruto). Nota-se que o indivíduo 3 (0,21%) apresenta elevada porcentagem de células CD4+ IFN- γ +. A figura 4B apresenta a porcentagem de células CD4+ IFN- γ + (após estímulo com *M. leprae* bruto). Pode-se observar que o indivíduo 1 (0,21%) apresentou a maior porcentagem de células CD4+ produtoras de IFN- γ +. A figura 4C apresenta a porcentagem de células CD8+ IFN- γ + (antes do estímulo com *M. leprae* bruto). Pode-se observar que o indivíduo 1 (1,23%) a maior porcentagem de células CD4+ IFN- γ +, em contrapartida o indivíduo 5 (0,48%) apresentou o menor percentual de células CD8+ IFN- γ +. A figura 4D apresenta a porcentagem de células CD8+ IFN- γ + (após estímulo com *M. leprae* bruto). Observa-se que indivíduo 1 apresenta elevada porcentagem no número de células CD8+ produtoras de IFN- γ + (0,78%) e os demais indivíduos encontram-se na faixa entre 0,54%.

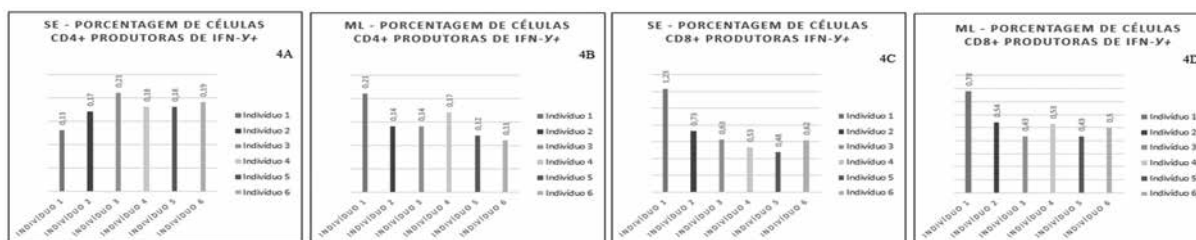


Figura 4 - Porcentagem CD4+ IFN- γ + e CD8+ IFN- γ + antes e após estímulo com *Mycobacterium leprae* bruto.

Discussão

A hanseníase é uma doença crônica, infecto-contagiosa, que se caracteriza por apresentar diferentes formas clínicas, as quais são dependentes da resposta imune do hospedeiro frente ao bacilo (Scollard et al., 2006).

O presente estudo buscou quantificar, as subpopulações das células e citocinas envolvidas no proces-

so imunológico da hanseníase, em sangue periférico de seis indivíduos de uma mesma família, caracterizando um núcleo familiar, sendo um indivíduo doente e seus contatos três filhos, uma irmã e uma sobrinha que não foram diagnosticados com a doença.

Na comparação entre os indivíduos, evidenciou-se diferença no percentual de células (CD3+) linfócitos T totais; (CD4+) T auxiliares; (CD8+) T ci-

totóxico; (CD4+CD62L+) e (CD8+CD62L+) T virgem; (CD4+CD69+) e (CD8+CD69+) T efetora; (CD4+CD25+) T reguladora; (CD14+) macrófago; (CD19+) linfócito B. Além do diferencial na porcentagem de células envolvidas na resposta imunológica do indivíduo frente ao bacilo, pode-se observar também alterações da produção de citocinas IL4, IL10 e interferon gama IFN- γ . A partir dos resultados obtidos, pode-se observar que indivíduo 1, encontra-se imunocomprometido, apresentando baixo percentual, de células CD3+, CD4+, CD8+, CD4+CD62L e CD19+, níveis medianos de células CD4+CD69+, CD8+CD69+, CD4+CD25+ e CD14+ quando comparados aos demais indivíduos do estudo.

O indivíduo 2 apresenta níveis medianos de células CD4+, CD8+ e CD8+CD62L+. Já o indivíduo 3 apresenta níveis altos de células CD4+, CD8+, CD14+ e CD19+.

No indivíduo 4 observamos um baixo percentual de células CD8+, CD8+CD62L+, CD8+CD69+ e níveis medianos das demais células envolvidas no estudo. O indivíduo 5 apresentou níveis baixos de células CD4+CD25+ e CD14+, níveis altos de células CD4+ e CD8+.

O indivíduo 6 apresentou níveis baixos de células CD4+ e CD19+, níveis medianos de células CD3+ e CD8+ e níveis altos de células CD4+CD25+. Quando comparamos os indivíduos estudados podemos observar que o indivíduo 6 apresenta o perfil mais semelhante ao indivíduo 1 diagnosticado com a doença, podendo-se então pressupor que o indivíduo 6 pode estar infectado pelo *M. leprae*, sem apresentar sintomatologia clínica.

Estudo semelhante foi realizado por Pinheiro em Fortaleza (2013), que utilizou a citometria para investigar as subpopulações linfocitárias de CD3+, CD4+, CD8+ e CD19+ em sangue periférico de indivíduos com hanseníase e indivíduos saudáveis. O estudo evidenciou as médias das contagens de linfócitos B (CD19+) no grupo de pacientes com hanseníase e nos controles saudáveis dadas em células/mm³, foram 233,3 (+85,89) e 115,3 (+53,01) respectivamente $p = 0,0001$. Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre amostras de leucócitos, de linfócitos T CD3+, linfócitos T CD4+ e linfócitos T CD8+. Os dados do estudo sinalizam que os linfócito B ocupam papel de destaque na resposta imunológica ao *M. leprae*, sobretudo nas formas lepromatosas, o estudo reforça sua importância. No presente estudo foram avaliados indivíduos com hanseníase e controles saudáveis. Os indivíduos fo-

ram provenientes do centro de dermatologia D. Libânia, Fortaleza – CE, Brasil.

As células T reguladora (CD4+CD25+) são células que desempenham papel central na regulação da resposta imune em infecções crônicas, o que favorece a persistência do patógeno. Em nosso estudo obtivemos resultados, que nos demonstram que o indivíduo 1, apresenta níveis medianos de células CD4+CD25+ e o indivíduo 6 apresenta alto percentual T reguladoras, quando comparados aos demais indivíduos estudados.

Estudos posteriores foram feitos por Lima (2012) com objetivo de avaliar o envolvimento de células T reguladoras na hanseníase. No trabalho foi investigado a presença de células T reguladoras em lesões e sangue periférico de indivíduos doentes. Os resultados demonstraram que não há diferenças, quanto a proliferação de T reguladoras e produção de IFN- γ por células desses indivíduos, mas a produção de IL4 foi detectada em indivíduos com forma clínica multibacilar como o pólo Virchoviano. Em relação a presença de células T reguladoras dos indivíduos doentes pode-se observar o aumento no número de linfócitos T CD4+CD25+ em indivíduos com hanseníase virchoviana. Os resultados demonstram também que nas amostras de lesões de pele de indivíduos com hanseníase virchoviana há acúmulo de CD25+ produtoras de IL10, enquanto que estas células não foram detectadas nas lesões de indivíduos tuberculóide. Dessa forma os resultados obtidos indicam que os indivíduos com hanseníase virchoviana apresentam aumento no número de células T reguladoras circulante e no infiltrado inflamatório, e estas células apresentam

maior atividade supressora. O acúmulo de células T reguladoras no sítio da infecção pode ser correlacionado com o controle da resposta imune e consequente persistência do *M. leprae*.

Já com relação a produção de citocinas, os resultados foram obtidos em duas partes: a primeira refere-se aos dados obtidos antes do estímulo com *M. leprae* bruto, e a segunda aos dados obtidos após estímulo com *M. leprae* bruto.

Nos resultados obtidos antes do estímulo com *M. leprae* bruto, pode-se observar que o indivíduo 1 diagnosticado com hanseníase apresentou baixo percentual de IL4+ produzidos pelas células CD4+ e CD8+, nível mediano de IL10+ e alto percentual de IFN- γ produzida pelas células CD8+. O indivíduo 6 que apresentou o perfil imunológico, mais semelhante ao indivíduo 1 doente, quando comparamos a por-

centagem de células envolvidas na resposta imune do hospedeiro frente ao bacilo, apresentou uma diferença significativa quando comparado ao indivíduo doente na produção de citocinas, o mesmo apresentou alto percentual de IL4+ produzidas pelas células CD4+ e CD8+, nível mediano de IL10+ e IFN- γ produzidas pelas células CD4+.

Já nos resultados obtidos após estímulo com *M. leprae* bruto, pode-se observar que o indivíduo 1 apresentou alto percentual de IL4+ e IL10+ produzidas pelas células CD8+ e também alto percentual de IFN- γ produzidas pelas células CD4+ e CD8+. O indivíduo 6 apresentou baixo percentual de IL4+ e níveis medianos de IL10+ produzidas pelas células CD4+ e CD8+ com relação a produção de IFN- γ o indivíduo apresentou baixa produção pelas células CD4+ e níveis medianos pelas células CD8+ quando comparados ao demais indivíduos estudados estes não apresentaram nenhuma alteração significativa na produção de suas citocinas.

Outro estudo foi feito por Marçal (2011), no qual os resultados demonstraram que, frente a estímulo com *M. lepra*, pacientes mutibacilares e um contato do paciente apresentaram alta porcentagem de IL4+ e IL10+. Quanto a produção de IFN- γ , o paciente paucibacilar e seu contato apresentaram alta porcentagem de células produtoras. Interativamente o contato extradomiciliar, que apresentou alta frequência de IL4+ e IL10+, durante o experimento controle (sem estímulo), quando suas células entram em contato com *M. leprae* houve modulação da resposta, ocorrendo uma diminuição na frequência de IL4+ e IL10+ e respectivamente aumento de células produtoras de IFN- γ .

O presente estudo é de grande importância pois a partir dos resultados

obtidos, podemos indicar marcadores que permitam identificar em uma população em geral, os indivíduos mais susceptíveis a doer e com isso desencadear medidas de controle para a prevenção de possíveis agravamentos da doença nos indivíduos acometidos e um melhor controle em sua disseminação, tentando impedir novos casos de hanseníase.

Conclusão

Com base nos resultados demonstrados nesse estudo e na literatura, identifica-se que os contatos intradomiciliares de pacientes com hanseníase apresentam um risco maior de adoecer e, o acompanhamento desse grupo representa a melhor maneira de detectar preco-

zamente a doença. O diagnóstico da hanseníase é baseado nas manifestações clínicas, no entanto, a escassez de sinais iniciais ou sintomas, leva ao atraso no diagnóstico correto e tratamento apropriado. Cabe ressaltar que o diagnóstico precoce leva ao tratamento nos estágios iniciais da doença, o que reduz a transmissão e diminui o número de pacientes com incapacidades.

A avaliação de parâmetros imunológicos é essencial na compreensão dos mecanismos imunes associados à maior ou menor susceptibilidade à infecção pelo *M. leprae*. Diante do exposto, conclui-se então, que torna-se importante o uso de técnicas para mensuração de células e interleucinas, com o objetivo de indicar marcadores que permitam identificar numa população geral, indivíduos que possam ter mais susceptibilidade a desenvolver a hanseníase, como aqueles que se encontram constantemente expostos ao bacilo, chamados de contatos intra ou extradomiciliares.

Cabe observar que fica claro a necessidade de investimento do órgãos públicos nestas áreas de saúde, visando um controle intradomiciliar mais adequado, com intuito de reduzir a longo prazo a contaminação por *M. leprae* no leste mineiro, que ainda permanece como um problema de saúde pública.

Referências

- ANDRADE, A. R. C. **Situação epidemiológica de Minas Gerais**. 2010. Trabalho apresentado no 5º Simpósio Brasileiro de Hansenologia. Belo Horizonte, Minas Gerais.
- BATISTA, E. S. et al. Perfil sócio - demográfico e clínico – epidemiológico dos pacientes diagnosticados com hanseníase em Campos de Goytacazes, RJ. **Revista Brasileira de Clínica Médica**. V. 9(2), p.101-106, 2011.
- BRASIL. Ministério da saúde. **Informe Técnico: Campanha Nacional de Hanseníase, Verminoses, Tracoma e Esquistossomose 2015**. Brasília. 2015.
- EMERENCIANO, M. et al. **The frequency of aberrant immunophenotypes in acute leukemias**. *Revista Brasileira de Cancerologia*. v. 50, n. 3, p. 183-189, 2004.
- FRANCHESCHI, Danilo Santana Alessio et al. **Hanseníase no Mundo Moderno: O Que Sabemos Sobre a Influência Genética do Hospedeiro no seu Controle?**. *Arquivos de Medicina*, v. 23, n. 4, p. 159-165, 2009.
- FREITAS, Márcia Elaine Rodrigues et al. **Hanseníase e a suspeição diagnóstica de enfermagem**. 2009. Universidade Vale do Rio Doce. Curso de Enfermagem.
- LIMA, Hayana Ramos. **Análise do envolvimento de células T reguladoras na hanseníase**. 2012. Teste de doutorado. Universidade de São Paulo

MARÇAL, Pedro Henrique Ferreira. **Citocinas intracitoplasmáticas em pacientes com hanseníase e contatos intradomiciliares: estudo de caso.** 2011. Especialização *latu senso*. Análises clínicas e gestão de laboratório. Universidade Vale do Rio Doce.

MOURA, Silva Helena Lyon de. **Avaliação de incapacidades físicas e transtornos psicossociais em pacientes com hanseníase em centro de referência de minas gerais.** 2010. Pós-graduação em ciência da saúde. UFMG.

PINHEIRO, Catiússia Dantas. **Células CD3+, CD4+, CD8+, CD3-CD16+CD56 e CD19+ em sangue periférico de pacientes com hanseníase e indivíduos saudáveis.** 2013.

SCOLLARD DM, Adams LB, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Truman RW, Williams DL. **The continuing challenge of leprosy.** Clin Microbiol Rev.2006.

SILVEIRA, Mariana Guimaraes Bicalho et al. **Portador de hanseníase: impacto psicológico do diagnóstico.** Psicologia & Sociedade, v. 26, n. 2, p. 517-527, 2014.

VIDERES, Arieli Rodrigues Nobrega. **Trajetória de vida de ex-portadores de hanseníase com histórico asilar.** 2010. Pós – graduação em enfermagem. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Guide to eliminate leprosy as a public health problem.** Geneva: WHO; 1995.