

E L E M I R M A C E D O D E S O U Z A

MÉDICO, pela Faculdade de Medicina de Sorocaba da
Pontifícia Universidade Católica de São Paulo.

MESTRE em MEDICINA, pela Faculdade de Medicina da
Universidade São Paulo.

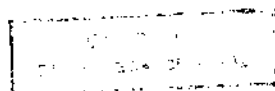
ESTUDO COMPARATIVO DAS RESPOSTAS DA PELE EXPOSTA
CRONICAMENTE A LUZ SOLAR E DA PELE NÃO EXPOSTA A LUZ SOLAR,
DE CAUCASÓIDES NÃO HANSÊNICOS, AO ANTÍGENO DE MITSUDA

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas
da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP,
para a obtenção do Título de Doutor em Medicina

Orientador: Aureliano B. Fonseca

Professor Titular de Dermatologia do
Departamento de Clínica Médica da Fa-
culdade de Ciências Médicas da Univer-
sidade Estadual de Campinas - UNICAMP

Campinas, 1989



CLASSIF.	T
AUTOR	So89e
V.	EX
TOMBO BCI	11098

CM-00027518-0

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL - UNICAMP

So89e Souza, Elemir Macedo de
Estudo comparativo das respostas da pele expos-
ta cronicamente à luz solar e da pele não exposta
à luz solar, de caucasóides não hansênicos, ao an-
tígeno de Mitsuda / Elemir Macedo de Souza. --
Campinas : Is.n.l, 1989.

Tese (doutoramento) - Universidade Estadual de
Campinas, 1989.
Orientador: Aureliano B. Fonseca.

I. Dermatologia - Reação de Mitsuda - Exames
histológicos. II. Fonseca, Aureliano B III.
Título.

19. CDD- 616.507 583

Índices para catálogo sistemático:

1. Dermatologia : Reação de Mitsuda : Exames histológicos
616.507 583
2. Reação de Mitsuda : Exames histológicos : Dermatologia
616.507 583

Aos meus pais e irmãos

Aos meus filhos

Aos meus mestres

Aos médicos residentes

Aos doentes

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Aureliano da Fonseca, Professor Titular da Disciplina de Dermatologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas e orientador deste trabalho, que me proporcionou enormes oportunidades com intensa confiança e amizade.

A Dra. Maria Letícia Cintra, Professora Assistente do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, que encerra dentro da pesquisadora a bondade e a humildade dos grandes vultos, por sua valiosa colaboração na discussão histológica e pelas sugestões oferecidas.

A Dra. Maria Inés Gomes, MS - Stanford University, estatística médica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, pelo estudo estatístico dos dados deste trabalho e pelo auxílio no abstract.

A Dra. Ana Lúcia Brunelli, Médica Residente do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas pelo fornecimento da preparação histológica do timo para ilustração fotográfica.

A Sra. Christiane Chuffi Haluen, à Sra. Juliana Martins Dálan e ao Sr. Emerson Gianni pelos trabalhos gráficos de computação.

A todos que de modo direto ou indireto contribuíram para a realização deste trabalho.

	RESUMO	I
	ABSTRACT	VI
1.	INTRODUÇÃO.....	01
1.1	CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O BACILO DE HANSEN.	04
1.2	A REAÇÃO DE MITSUDA E O SEU ANTÍGENO.....	06
1.2.1	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS (MORFOLÓGICAS) DA REAÇÃO DE MITSUDA.....	10
1.2.2.	CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DA REAÇÃO DE MITSUDA.....	13
1.3.	CONSIDERAÇÕES GERAIS ACERCA DA PELE EXPOSTA CRONICAMENTE AO SOL.....	34
1.3.1.	RESPOSTA IMUNOLÓGICA DA PELE NORMAL (TECIDOS LINFÓIDES ASSOCIADOS A PELE - SALT).....	36
1.3.1.1.	CÉLULAS DE LANGERHANS.....	38
1.3.1.2.	FATOR ATIVADOR DE TIMÓCITO DERIVADO DA CÉLULA EPIDÉRMICA OU " EPIDERMAL CELL-DERIVED THYMOCYTE ACTIVATING FACTOR-ETAF ".....	42
1.3.1.3.	LINFÓCITOS COM ATIVIDADE EPIDERMOTRÓPICA.....	43
1.3.2	RESPOSTA IMUNOLÓGICA DA PELE EXPOSTA CRONICAMENTE AO SOL.....	45
2.	OBJETIVOS.....	52
3.	CASUÍSTICA E MÉTODO.....	54
3.1.	AMOSTRA DE INDIVÍDUOS COM PELE EXPOSTA CRONICAMENTE AO SOL, NÃO HANSENÍCOS E NÃO COMUNICANTES.....	55

3.2.	LEPROMINA	57
3.3.	INTRADERMORREACO.....	58
3.4.	LEITURA DA REACO DE MITSUDA.....	59
3.4.1.	LEITURA CLÍNICA.....	60
3.4.2.	BIÓPSIA CUTANEA.....	61
3.4.3.	PREPARACO HISTOLÓGICA.....	62
3.4.4.	LEITURA HISTOLÓGICA.....	63
3.4.4.1.	LEITURA POLARIZADA.....	64
3.4.4.2.	LEITURA ESPECTRAL.....	65
3.4.5.	INTENSIDADE HISTOLÓGICA DA REACO DE MITSUDA...	68
3.4.6.	ÍNDICE DE BACILOS NO GRANULOMA.....	69
3.5.	MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	70
4.	RESULTADOS	71
4.1.	LEITURA CLÍNICA DA REACO DE MITSUDA	75
4.1.1.	LEITURA CLÍNICA DA REACO DE MITSUDA E A COR DOS OLHOS.....	78
4.1.2.	LEITURA CLÍNICA DA REACO DE MITSUDA E O SEXO..	87
4.1.3.	LEITURA CLÍNICA DA REACO DE MITSUDA E A IDADE.	95
4.2.	LEITURA HISTOLÓGICA DA REACO DE MITSUDA.....	101
4.2.1.	LEITURA POLARIZADA SEGUNDO MICHALANY & MICHA- LANY.....	101
4.2.1.1.	LEITURA HISTOLÓGICA DA REACO DE MITSUDA E A COR DOS OLHOS DOS INDIVÍDUOS.....	103
4.2.1.2.	LEITURA HISTOLÓGICA DA REACO DE MITSUDA E O SEXO DOS INDIVÍDUOS.....	106

4.2.1.3.	LEITURA HISTOLÓGICA DA REAÇÃO DE MITSUDA E A IDADE DOS INDIVÍDUOS.....	109
4.2.1.4.	CORRELAÇÃO ENTRE AS LEITURAS CLÍNICA E HISTOLÓGICA POLARIZADA DA REAÇÃO DE MITSUDA, NAS ÁREAS EXPOSTA E NÃO EXPOSTA DA AMOSTRA EXAMINADA.....	112
4.2.2.	LEITURA HISTOLÓGICA ESPECTRAL DA REAÇÃO DE MITSUDA.....	116
4.2.3.	ÍNDICE DE BACILOS NO GRANULOMA.....	120
4.2.4.	FRAÇÃO GRANULOMA.....	121
4.2.5.	LOCALIZAÇÃO DO INFILTRADO NAS ÁREAS EXPOSTA E NÃO EXPOSTA À LUZ SOLAR.....	122
4.2.6.	INFILTRAÇÃO PERINEURAL E OS NERVOS NA REAÇÃO DE MITSUDA.....	123
4.2.7.	NECROSE.....	124
5.	DISCUSSÃO.....	133
6.	CONCLUSÕES.....	156
7.	BIBLIOGRAFIA.....	160

RESUMO

A reatividade do órgão cutâneo à lepromina foi avaliada em áreas de pele exposta e de pele não exposta à luz solar, em 30 indivíduos caucasóides, com idade média de 60,77 anos, sendo 17 do sexo feminino e 13 do sexo masculino, injetando-se, por via intradérmica, 0,1 ml de lepromina humana com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

As alterações morfológicas macroscópicas determinadas pelo inóculo foram interpretadas segundo critérios estabelecidos na II Conferência Panamericana de Lepra, em 1946 (Rio de Janeiro), 21 dias após a inoculação, quando, também, foram feitas as biópsias.

As modificações despertadas no local inoculado foram analisadas microscopicamente segundo a leitura histológica proposta por MICHALANY & MICHALANY (1983). Sugeriu-se uma interpretação espectral onde se comparam as alterações provocadas pelo antígeno inoculado com as determinadas pela doença hansênica.

A análise dos resultados obtidos permitiu retirar as seguintes conclusões:

1. Os índices de positividade das leituras clínicas da reação de Mitsuda na área exposta (59,9%) e na área não exposta (66,6%) à luz solar, da amostra estudada, foram inferiores, comparativamente, aos referidos para indivíduos na terceira década da vida.

2. Os mesmos índices foram semelhantes aos encontrados em grupos etários mais elevados e àqueles obtidos em indivíduos do meio rural, na década de 60.

3. As leituras clínicas da reação de Mitsuda, na amostra estudada, foram mais intensas na área não exposta à luz solar do que na área exposta à luz solar.

4. A pele exposta à luz solar respondeu à inoculação de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml com endurações de diâmetro médio de 4,67 mm (positivo +) e a pele não exposta revelou endurações com diâmetro médio de 6,0 mm (positivo ++).

5. Não houve associação, estatisticamente significativa, entre a intensidade das leituras clínicas e a cor dos olhos, sexo e o grupo etário dos indivíduos da amostra estudada.

6. Há indícios de que os indivíduos de olhos claros tenham respostas negativas à lepromina, em percentual maior na área exposta, quando comparado com a área não exposta.

7. Houve associação, estatisticamente significativa, entre a intensidade da leitura clínica e a positividade da leitura histológica em ambas as áreas.

8. Não houve associação, estatisticamente significativa, entre a intensidade da leitura clínica e a intensidade da leitura histológica, em ambas as áreas.

9. A associação entre a intensidade da leitura clínica e a positividade histológica foi mais expressiva na área não exposta à luz solar.

10. A pele exposta cronicamente à luz solar tem resposta imune à lepromina menos intensa do que na área não exposta.

11. O índice de positividade da reação de Mitsuda, pela leitura histológica, foi de 86,6% na área não exposta à luz solar e de 73,3% na área exposta à luz solar, na amostra estudada, com idade média de 60,77 anos.

12. A fração granuloma foi maior na área não exposta à luz solar.

13. A resposta inflamatória na AE localizou-se mais profundamente (63,3%), respeitando a área de degeneração basofílica do colágeno.

14. A reação de Mitsuda deve ser realizada em áreas cobertas e que tenham derme mais espessa.

15. Os filetes nervosos podem responder à inoculação da lepromina de modo semelhante à doença hansênica (neurite lepromínica).

16. A reação de Mitsuda pode ser interpretada de modo espectral, como a doença hansênica, pois a inoculação intradérmica de lepromina determina alterações histológicas semelhantes ao substrato patológico da hanseníase.

17. A comparação dos pares que exibiram reações de Mitsuda diferentes, com a leitura espectral, revelou tendência da reatividade cutânea à lepromina na ANE a ser mais expressiva e com substrato anátomo-patológico do polo T, e na AE a reatividade a ser menos expressiva com estrutura histopatológica do grupo "borderline".

ABSTRACT

Response of the skin to lepromin was studied in skin exposed and not exposed to sunlight in 30 caucasian subjects, 17 females and 13 males, with a mean age of 60.77 years. 0.1 ml of human lepromin with $6.2 \times (10)^7$ bacilli/ml was injected intradermally.

Twenty-one days after the injection, when biopsies were performed, the macroscopic morphologic alterations were interpreted according to criteria established at the II Panamerican Conference of Leprosy (Rio de Janeiro) in 1946.

The changes in the inoculated region were analyzed microscopically according to the histologic grading system proposed by Michalany & Michalany (1983). A spectral interpretation was suggested in which the changes caused by the injected antigen are compared to the changes in Hansen's disease.

Analysis of the results allowed the following conclusion to be drawn:

01. The proportions of Mitsuda positive clinical responses in the sun-exposed skin (59,9%) and the nonexposed skin (66,6%), were lower than for subjects in their third decade.

02. These proportions were similar to those found in older age groups and in subjects from rural areas in the 1960's.

03. The clinical responses to lepromin observed in this study were more intense in the skin not exposed to sunlight than in the exposed skin.

04. The skin injected with 0,1 ml of lepromin with $6,2 \times (10)^7$ bacilli/ml showed a response with a mean induration of 4,67 mm (+ positive) in the sun-exposed skin and a mean of 6,0 mm (++ positive) in the nonexposed skin.

05. In this study there was no statistically significant association between the intensity of the clinical response and eye color, sex, or age group.

06. There was a tendency for subjects with light-colored eyes to have more negative responses to lepromin compared to subjects with dark eyes, this tendency being greater in the sun-exposed skin.

07. There was a significant association between the intensity of the clinical response and a positive histological reading in both the sun-exposed skin and the nonexposed skin.

08. There was no association between the intensity of the clinical response and the intensity of the histological response in both the sun exposed and nonexposed skin.

09. The association between the intensity of the clinical response and a positive histological reading was stronger in the skin not exposed to sunlight.

10. Skin chronically exposed to sunlight has a less intense immune response to lepromin than skin not exposed to sunlight.

11. In this study the proportion of positive responses to lepromin was 86,6% in the skin not exposed to sunlight and 73,3% in the sun-exposed skin.

12. The granuloma fraction was greater in the skin not exposed to sunlight.

13. The inflammatory response was found more deeply in the dermis of the exposed skin and not involving the area of basophilic collagen degeneration.

14. The lepromin test should be performed on covered skin and where there is a thicker dermis.

15. The nerve fibers respond to inoculation of lepromin in a way similar to the response in Hansen's disease (lepromin neuritis);

16. The Mitsuda's reaction can be interpreted spectrally, as with Hansen's disease, since the intradermal inoculation of lepromin causes histologic changes similar to the pathology of Hansen's disease.

17. Comparison of pairs which showed different responses to lepromin, using a spectral reading, revealed a tendency for the cutaneous reactivity to be more distinct in the skin not exposed to sunlight and with a pathologic picture of the Hansen's tuberculoid disease. The sun-exposed

skin showed a less distinct response and a histopathologic structure of the borderline group.

1. INTRODUÇÃO

A reação de Mitsuda, a despeito do tempo passado após o seu reconhecimento, continua a ser motivo de estudo, que ultrapassa o incontestável valor na avaliação da resistência do organismo contra o *Mycobacterium leprae*.

A doença de Hansen e o *M. leprae* têm particularidades que traduzem, em cada indivíduo, com a sua respectiva carga genética (BEIGUELMAN, 1983), a luta do sistema imunológico, procurando resistir à presença e ao desenvolvimento do microorganismo.

Desta batalha surge o espectro de manifestações, onde os oponentes, o sistema imunológico e o *M. leprae*, disputam a soberania, que para o organismo será a saúde (vitória imunológica) ou a doença (erro imunológico).

Falando em erro imunológico, merece citação a capacidade imunológica preservada do hanseniano virchowiano relativamente ao bacilo de CALMETTE- GUÉRIN (BCG), também uma micobactéria (ROTTA, 1986).

Não menos interessante é a resposta imunológica da pele alterada pela radiação ultravioleta. O sol causa o envelhecimento forçado da pele, com alterações morfológicas que serão responsáveis por modificações funcionais.

A pele, como via de sensibilização e imunização, foi utilizada por JENNER, que descobriu a vacina (do latim vaccina, de vacca).

A pele tornou-se, desde então, um excelente marcador para as avaliações das respostas imunológicas do organismo, apreciadas pelos testes de contato, pela intradermoreação com diferentes antígenos e, até mesmo, usada como seu próprio antígeno, no estudo da rejeição de enxertos.

Estes dois elos, a reação de Mitsuda e a pele exposta cronicamente ao sol, poderão contribuir para o melhor conhecimento das doenças que surgem nas áreas expostas à luz solar e conseqüentemente o seu caráter imunológico.

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O BACILO DE HANSEN

Em 1871, GERHARD HENRIK ARMAUER HANSEN (1841-1912) noticiou a observação de pequenos e finos bastonetes em tecidos não corados, que eram melhor caracterizados quando tratados pelo ácido ósmico diluído (Int.J.Leprosy, 1973).

Em 28 de fevereiro de 1873, HANSEN demonstrou, em esfregação não corado de material obtido de nódulos das narinas de um doente com "lepra", grande quantidade dos referidos bastonetes, admitindo serem eles a causa da doença.

Em 1879, HANSEN denominou os bastonetes de Bacillus leprae e, em 1896, a denominação Mycobacterium leprae foi proposta por LEHMANN & NEUMANN (YOSHIE, 1973).

O Mycobacterium leprae é, do ponto de vista bacteriológico, um bacilo que se cora em vermelho com a fucsina básica, pelo método de ZIEHL-NEELSEN, modificado por FARACO, não se descorando pela ação do álcool e ácidos, motivando a denominação bacilo álcool-ácido resistente (BAAR). Tem a característica de formar globias, que são aglomerados de bacilos imersos em um substrato gelatinóide (gléia).

O bacilo de Hansen, embora tenha sido descrito há mais de 100 anos, não foi, ainda, cultivado em meios artificiais. Deste modo, não satisfaz o postulado de KOCH: estar presente nas lesões da doença, ser cultivado em meio artifi-

cial e inoculando o cultivo em animal susceptível, deve reproduzir-se a doença.

O M. leprae reproduz-se com facilidade em macrófagos de indivíduos com hanseníase virchowiana, sendo possível encontrá-lo, também, no interior de nervos, músculos eretores do pêlo, células névicas (NEVES & ALMEIDA, 1974), nevocarcinoma (CASTRO & CASTRO, 1937) e tumores nervosos.

A sua multiplicação tem sido obtida no coxim da pata do camundongo (Mus musculus brevirostris) sem, no entanto, ser possível a reprodução da doença (SHEPARD, 1960).

Inoculado no tatu (Dasypus novemcinctus), o bacilo de Hansen multiplica-se causando a doença com características da hanseníase virchowiana (KIRCHHEIMER & STORRS, 1971; KIRCHHEIMER et alii, 1972).

O bacilo de Hansen multiplica-se em algumas espécies de ratos atímicos congênitos, pelados e imunodeficientes (HASTINGS et alii, 1980). A infecção natural em macacos (chimpanzés) tem trazido grandes contribuições para o conhecimento do comportamento biológico do bacilo de Hansen (LEININGER et alii, 1980; WALSH et alii, 1981).

1.2 A REAÇÃO DE MITSUDA E O SEU ANTÍGENO

As primeiras pesquisas que deram origem à reação de Mitsuda iniciaram-se com YOSHINOBU HAYASHI em 1914, ao tentar obter cultura do bacilo de Hansen. Finas fatias de lepromas foram incubadas em solução de Ringer à temperatura de 34° a 37° C por três a cinco semanas. A suspensão obtida desta "cultura" foi, então, aquecida durante 30 minutos à temperatura de 60° C com igual quantidade de solução de Ringer, tendo 0,5% de fenol.

HAYASHI, Y. inoculou este material em hansenianos, com a intenção de obter um teste análogo ao da tuberculina, fortemente expressivo em doentes virchowianos e fracamente expressivo em doentes hansenianos de forma neural. Os resultados surpreenderam o pesquisador, pois foram completamente o oposto do esperado, obtendo 75,0% de reações positivas em 16 doentes com "lepra nervosa" e 27,3% em 44 doentes com "lepra" nodular. Estes resultados foram publicados em 1918, e posteriormente traduzidos, para o inglês, pelo autor em depoimento a Wade (WADE, 1953).

KENSUKE MITSUDA (1919) publicou os resultados obtidos com a inoculação de três antígenos diferentes: o sobrenadante da suspensão de leproma fresco, aquecido a 60° C

e fenolizado; suspensão de leproma fervido durante duas horas em soro fisiológico e o 3º o fluido no qual o leproma fora fervido, contendo poucos bacilos. Estes conhecimentos foram relatados na III Conferência Internacional de Lepra, realizada em Estrasburgo, em 1923 (Mitsuda, 1924).

MITSUDA avaliou a resposta tissular ao inóculo em diferentes tempos, observando reação inicial às 24 horas e reação tardia, entre três a quatro semanas depois (Reação de Mitsuda), fato publicado em 1919 e não em 1916 como relatou FUMIO HAYASHI (1933).

Não houve reação (reação negativa) na grande maioria dos doentes. Em três doentes com "lepra nervosa", Mitsuda procedeu ao exame histopatológico da reação cutânea (positiva) após a 4ª semana, observando processo inflamatório granulomatoso com bacilos no interior de células epitelióides (num dos preparados não se encontraram bacilos). Verificando, porém, haver reação positiva em indivíduos saudáveis, Mitsuda concluiu que a reação não tinha valor absoluto para o diagnóstico da doença hansênica.

Logo após a conferência de Estrasburgo, surgiram relatos semelhantes de MARIANI (1924,1925) e de BARGEHR (1926), que não mencionavam os achados de Mitsuda, pelo que não ficou claro se eles foram influenciados pelo pesquisador japonês.

MARIANI (1924,1925) descreveu com detalhe o quadro histológico da reação de Mitsuda positiva em dois doentes com "lepra nervosa" e em um indivíduo sadio, afirmando tratar-se de processo inflamatório tuberculóide representado por células epitelióides, células gigantes de Langhans e linfócitos, não se observando bacilos. Este quadro histológico com as características da hanseníase tuberculóide* foi denominado pelo autor como **"Lepra__tuberculóide experimental"**.*.

BARGEHR (1926) usou pela primeira vez a denominação **lepromina** quando tentava imunizar pessoas não reativas por inoculações repetidas, em JAVA (INDONÉSIA).

FUMIO HAYASHI (1933) publicou os seus resultados sobre a reação de Mitsuda na "lepra", relatando a leitura clínica e os achados histopatológicos coincidentes com os publicados por Mitsuda, ou seja, os fenômenos inflamatórios agudos iniciais são progressivamente substituídos por alterações crônicas representadas por células epitelióides e gigantes fagocitando bacilos de Hansen. Na reação de Mitsuda negativa, assinalaram-se bacilos íntegros sem reatividade tissular em torno.

O termo lepromina, sugerido por Bargehr (1926), referia-se a uma suspensão estéril de bacilos de Hansen mortos pelo calor, que foram mecanicamente extraídos de hanse-
* Reação de Mitsuda Tuberculóide (vide 4.2.2)

nomas em solução isotônica de cloreto de sódio. Esta lepromina tornou-se conhecida como lepromina integral (tipo Mitsuda ou leprominum integrale) ou lepromina H (Human-lepromin) para diferenciá-la da lepromina-A (obtida de armadillo).

1.2.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS (MORFOLÓGICAS) DA REAÇÃO DE MITSUDA

Considera-se reação de Mitsuda a resposta tissular que se obtém três a quatro semanas após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina avaliada na sua expressão morfológica macroscópica (clínica) e histologicamente.

Quatro a seis horas após a inoculação intradérmica da lepromina, pode surgir, em doentes com hanseníase virchowiana, uma área eritematosa com bolha central muito semelhante à fase inicial do fenômeno de Lúcio, que Latapi interpretou como decorrente da hipersensibilidade bacteriana do tipo Schwartzmann-Sanarelli. É a reação de Medina (SAÚL, 1971).

Há uma reação precoce que surge 24 horas após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina, atingindo a sua máxima expressão entre 48 e 72 horas, desaparecendo em seguida. Esta manifestação, lida habitualmente 48 horas após a inoculação, é conhecida com o nome reação de Fernandez* (FERNANDEZ, 1940). Trata-se de um halo eritematoso centrado pelo ponto de inoculação, podendo formar-se concomitantemente endureção. Esta manifestação precoce já havia sido notada por Mitsuda.

A primeira manifestação da infiltração tissular surge a partir da primeira semana após a inoculação da lepromina. É um elemento papuloso ou nodular que atinge a sua máxima expressão nas terceira e quarta semanas. Quando a reatividade é muito intensa, o nódulo ulcera-se na parte central. A reatividade máxima, em pessoas sadias, pode ser mais tardia (BECHELLI et alii, 1963).

A manifestação cutânea tardia ou reação de Mitsuda tem a sua avaliação clínica padronizada segundo critérios estabelecidos na II Conferência Panamericana de Lepra em 1946 (Rio de Janeiro), ratificados nos Congressos Internacionais de Leprologia de Havana (1948), Madrid (1953) e Tóquio (1958).

Na tabela 1.1 encontram-se os critérios de interpretação clínica das reações de Fernandez e de Mitsuda.

* Na segunda Reunião Anual de Leprologia celebrada em Rosario, em maio de 1944, sob os auspícios da Associação Argentina de Dermatologia e Sifilografia foi proposto e aceito denominar-se de Reação de Fernandez a reação precoce provocada pela lepromina. (FERNANDEZ, 1953).

Tabela 1.1 CRITÉRIOS PARA A INTERPRETAÇÃO CLÍNICA DAS REAÇÕES DE FERNANDEZ E DE MITSUDA (LEITURA CLÍNICA)

GRAUS DE REAÇÃO	REAÇÃO PRECOCE (FERNANDEZ)	REAÇÃO TARDIA (MITSUDA)
NEGATIVO (-)	Ausência de resposta ou no- ta-se halo eritematoso com diâmetro inferior a 5mm	Ausência de respo- ta
DUVIDOSO (+/-)	Halo eritematoso igual ou superior a 5mm e inferior a 10mm, com ou sem infiltração	Infiltração com diâmetro inferior a 3mm.
POSITIVO FRACO (+)	Halo eritematoso com diâme - tro igual ou superior a 10mm e inferior a 15mm, com ou sem infiltração.	Infiltração franca com diâmetro entre 3 e 5 mm.
POSITIVO FORTE (++)	Halo eritematoso com diâme - tro igual ou superior a 15mm e inferior a 20mm com ou sem infiltração.	Infiltração nodu- lar com diâmetro superior a 5mm.
POSITIVO INTENSO (+++)	Halo eritematoso com diâme - tro igual ou superior a 20mm com ou sem infiltração.	Infiltração nodu- lar ulcerada

1.2.2- CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DA REAÇÃO DE MITSUDA

As primeiras leituras histológicas da reação de Mitsuda foram feitas pelo próprio Mitsuda. Em três doentes de "lepra nervosa", assinalou estrutura granulomatosa com células epitelióides e gigantes. Os bacilos de Hansen foram observados em reações de dois hansenianos, isolados no interior de células epitelióides ou raros e fracamente corados.

Achados semelhantes foram referidos após a comunicação de Mitsuda na Conferência Internacional de Lepra em Estrasburgo, em 1923 (MITSUDA, 1924; MARIANI, 1924,1925; BARGEHR, 1926; HAYASHI, 1933).

CHIYUTO (1932) verificou estruturas tuberculóides nos nódulos de reação positiva à lepromina em hansenianos, fenómeno não observado com a injeção de controle com leite e tuberculina.

As alterações inflamatórias agudas nos primeiros dias após a inoculação da lepromina são progressivamente substituídas por processo inflamatório crônico tuberculóide, contendo bacilos no interior das células epitelióides. Em torno, acumulam-se linfócitos onde só raramente foram encontrados bacilos álcool-ácido resistentes (HAYASHI,1933). Na reação negativa, foram observados muitos bacilos íntegros sem participação tissular (HAYASHI, 1933).

SCHUJMAN (1936) publicou os resultados de um estudo progressivo e comparativo das reações tissulares que a inoculação da lepromina provocara nas diversas formas clínicas de hanseníase, salientando a importância prognóstica da reação de Mitsuda. Nos doentes com hanseníase tuberculóide, o processo inflamatório foi intenso, agudo, neutrofílico e eosinofílico inicial, com bacilos (2º ao 4º dias), seguindo-se fenômenos subagudos, estabelecendo-se entre os 8º e 30º dias processo inflamatório crônico constituído por células epitelióides, gigantócitos e linfócitos, que às vezes tinha disposição folicular. Em quase todos os casos, a baciloscopia foi negativa.

Em doentes bacilíferos, beneficiados com a terapêutica (?) - (com negativas clínicas e baciloscópicas) e num grupo bacilífero em atividade e em franca evolução, observou-se inicialmente um processo inflamatório agudo menos intenso quando comparado ao grupo tuberculóide. A baciloscopia era, a exemplo dos tuberculóides, positiva. Em uma semana, o processo inflamatório desaparecia e a pele adquiriu aspecto praticamente normal.

Nos doentes com "lepra" da forma nervosa pura, assim denominada por Schujman, que por dedução da descrição clínica tratava-se de hanseníase incompleta ou indeterminada, o comportamento das reações foi semelhante aquele observado nas formas tuberculóides.

Da sua observação resultaram as seguintes conclusões:

"1. A reação de Mitsuda é positiva em 100% dos doentes com hanseníase tuberculóide.

2. Na hanseníase tuberculóide, a reação de Mitsuda é agudíssima nos primeiros dias e após uma semana surgem fenômenos inflamatórios de natureza granulomatosa tuberculóide muito semelhantes ao granuloma determinado pela própria doença *.

3. Nas formas bacilíferas, ativas ou negativadas, a pele normaliza-se após o processo inflamatório agudo nos primeiros dias.

4. Na forma nervosa pura (indeterminada) a reação é clínica e histologicamente semelhante à reação do grupo tuberculóide.

5. Nas lesões nodulares, após um mês, observaram-se zonas de necrose e caseose semelhantes às observadas nas neurites leprosas do tipo caseoso".

RABELLO & ROTBERG (1937) assinalaram a presença de estruturas tuberculóides em reações de Mitsuda positivas de doentes com hanseníase tuberculóide e em alguns doentes denominados cutâneos (tuberculóide reacional - TR?).

NAGAI (1938) relatou os estudos histológicos da reação de Mitsuda em indivíduos sadios e em hansenianos.

* Reação de Mitsuda Tuberculóide (vide 4.2.2)

Nos sadios, havia supuração no 18º dia após a inoculação. Histologicamente, aos 22 dias, havia células epitelióides envoltas por intenso processo inflamatório linfocitário e células gigantes; na área supurativa, era intensa a quantidade de neutrófilos. Nos indivíduos com lepra nervosa (indeterminada ?, tuberculóide ?), os locais inoculados revelaram na microscopia bacilos álcool-ácido resistentes e infiltração de células epitelióides envoltas por linfócitos. O exame histológico da reação lepromínica em doentes virchowianos não revelou resposta tissular, exceto por raros histiócitos fagocitando os bacilos injetados.

TACHIKAWA (1939) descreveu o mesmo aspecto de granuloma tuberculóide na reação de Mitsuda positiva (2 casos). O autor relatou que a reação de Mitsuda acarretou "manchas tuberculóides" com histologia tuberculóide. *

ALAYON (1939) e **ALAYON & SOUZA LIMA** (1940) não identificaram manifestações de padrão tuberculóide nas reações de Mitsuda, realizadas em doentes virchowianos.

BÜNGELER & FERNANDEZ (1940) efetuaram o estudo clínico e histológico das reações alérgicas na hanseníase. Concordaram com outros autores, inclusive Mitsuda, que a leitura deve ser feita por volta da 3ª semana, uma vez que só tem valor o endurecimento nodular. Cerca de 70,0% dos indivíduos comunicantes, assim como sadios não comunicantes,

* **Reação de Mitsuda Tuberculóide.**(vide 4.2.2)

revelaram-se Mitsuda positivo. Os AA enfatizaram a existência de focos de necrose fibrinóide nas fases iniciais da reação, que se transformavam em "nódulos organizados de células epitelióides e gigantes reproduzindo os nódulos da hanseníase tuberculóide típica" *. Admitiram, ainda, que as alterações de necrose fibrinóide iniciais permitiriam concluir sobre a evolução da reação.

ROTBERG (1940) comentando a hanseníase tuberculóide e alergia salientou a lei de **JADASSOHN-LEWANDOWSKY**: "quando os agentes patogênicos crescem em grande número e sem impedimento determinam uma reação inflamatória banal da parte do organismo; quando pelo contrário os germes sucumbem lentamente sob ação de anticorpos específicos, o organismo reage com produção de tecido tuberculóide ". Os indivíduos tuberculóides reagem de forma intensa destruindo os bacilos e conseqüentemente formam granulomas tuberculóides e são Mitsuda positivo.

NOLASCO (1940) fez o estudo microscópico da reação de Mitsuda em 35 doentes com reação hansênica. As biópsias foram realizadas entre os 21º e 34º dias após a inoculação. Nos doentes com reação de Mitsuda positiva, o quadro histológico foi representado por granuloma tuberculóide* em torno da necrose caseosa. Na área tuberculóide, foram vistos poucos bacilos.

* Reação de Mitsuda Tuberculóide. (vide 4.2.2)

No grupo controle, um doente classificado como neural, com reação positiva, foi biopsiado no 42º dia, revelando o estudo histológico granulomas, com bacilos nos cortes seriados, mas nunca no centro das reações tuberculóides. O autor salientou que a presença de tecido conjuntivo proliferado, com células gigantes de corpo estranho e tubérculos sem qualquer estrutura tuberculóide deve ser interpretada como reação de corpo estranho.

LOPES DE FARIA (1947, 1949, 1951, 1953) publicou os resultados histopatológicos da reação de Mitsuda realizada no cão e em doentes com hanseníase. O aparecimento do granuloma no cão foi mais tardio (4º dia) do que no hanseniano (2º dia), no qual pode permanecer até 90 dias. Os bacilos permaneciam nos granulomas do cão por menor tempo (até o 35º dia) enquanto que no hanseniano eram encontrados até o 88º dia.

O autor relatou, ainda, que as reações de Mitsuda devem ser lidas histologicamente para decidir sobre a positividade (estrutura tuberculóide)* ou sobre a negatividade (estrutura lepromatosa)+. A estrutura tuberculóide, encontrada na reação de Mitsuda em hansenianos tuberculóides, era constituída por células epitelióides e raras células gigantes.

* Reação de Mitsuda Tuberculóide (Vide 4.2.2)

+ Reação de Mitsuda Virchowiana (Vide 4.2.2)

Os granulomas foram encontrados na derme e na hipoderme, junto ou em torno de vasos sangüíneos, glândulas sudoríparas e folículos pilosos. Entre as células epitelióides, podiam-se notar raros linfócitos, que se tornavam frequentes na periferia dos granulomas. Quando havia a redução dos linfócitos, os granulomas assumiam o aspecto sarcoídeo. Os bacilos foram encontrados nos granulomas até o 3º mês, tendo sido freqüentes, numerosos ou excepcionais, em maior quantidade no centro do que na periferia do granuloma.

LOPES DE FARIA observou, ainda, que do 19º ao 23º dias após a inoculação, era grande a quantidade de bacilos na zona central dos granulomas, isolados ou em globias. Nos granulomas da periferia, eram raros ou apenas freqüentes.

Nos hansenianos virchowianos, havia infiltração por histiócitos semelhantes às células de Virchow+, vacuolizados e ricos em bacilos. As células histiocitárias formavam infiltrados leves ou moderados, difusos, sem formação de granulomas de limites nítidos.+ Os bacilos foram, sempre, observados. A degeneração fibrinóide verdadeira não foi observada nas reações estudadas por este autor.

PINEYRO RODRIGUEZ (1950) observou que a reação de Mitsuda positiva tem aspecto histológico semelhante ao encontrado na "lepra" tuberculóide *, mantendo-se assim nos

+ Reação de Mitsuda Virchowiana (Vide 4.2.2)

* Reação de Mitsuda Tuberculóide (Vide 4.2.2)

10^o, 21^o, 30^o dias e quatro meses após a inoculação da lepromina.

HADLER (1953,1954), em estudo da reação de Mitsuda na cobaia e no rato, salientou que o seu resultado só deve ser interpretado em bases histológicas e que a reação será negativa histologicamente se existirem as "células leprosas" que fagocitaram os bacilos injetados sem lisá-los, conferindo quadro semelhante ao das lesões "lepromatosas" produzidas em condições naturais +.

BECHELLI et alii (1957, 1959) realizaram amplo estudo sobre a reação de Mitsuda focalizando a correlação entre a leitura clínica e o exame histopatológico. Para a leitura clínica adotaram os critérios de Madrid (1953) (tabela 1.1).(Pag nº 12).

Os AA relataram a dificuldade em ser estabelecido um padrão para diagnóstico histológico das reações, pois a reação de Mitsuda é um teste que deve ser mais interpretado do que simplesmente lido ou medido. Deste modo, preferiram utilizar o termo "corresponde" a reação positiva ou negativa. A interpretação histológica foi baseada na experiência pessoal de Paulo Rath de Souza, que considerou:

"1^o - a intensidade do infiltrado inflamatório provocado pela lepromina,

2^o - a sua qualidade citológica estrutural e

+ Reação de Mitsuda Virchowiana (Vide 4.2.2)

3a - o resultado da baciloscopia nos cortes histológicos".

Estes AA consideraram positivas histologicamente as reações com infiltrado inflamatório crônico granulomatoso intenso e constituído predominantemente por células epitelióides e com estrutura tuberculóide. A estrutura tuberculóide pode ser tão típica que reproduz "com exatidão as lesões da lepra tuberculóide produzidas em condições naturais"*. "A pesquisa dos bacilos deve ser negativa ou revelar, no máximo, raros bacilos. Desde que se note certa facilidade em encontrar bacilos, a positividade deve ser colocada em dúvida".

Quando houver infiltrado inflamatório crônico linfocitário, banal e pouco intenso e com baciloscopia em geral negativa, ou positiva com pequeno número de bacilos, a reação será negativa. Também será negativa, a reação que tiver infiltrado granulomatoso mais ou menos intenso sem estrutura tuberculóide, constituído por histiócitos sem as características epitelióides e com grande quantidade de bacilos no seu interior. Este aspecto pode, até certo ponto, ser comparado ao das lesões da "lepra lepromatosa" produzida em condições naturais, quando o histiócito fagocita o bacilo mas não consegue destruí-lo +.

* Reação de Mitsuda Tuberculóide (Vide 4.2.2)

+ Reação de Mitsuda Virchowiana (Vide 4.2.2)

Quando este substrato corresponder a uma leitura clínica positiva, deve-se interpretá-lo, segundo estes AA, como reação falsamente positiva.

A observação de "infiltrado inflamatório linfocitário crônico de certa intensidade, porém não totalmente granulomatoso e nem constituído predominantemente por células epitelióides, embora presentes em pequeno número, agrupadas numa tendência mais ou menos nítida à formação de estruturas nodulares" constitui a reação que BECHELLI et alii (1957) denominaram "quadro histológico que fala a favor de se tratar de reação positiva". Células gigantes existem com raros bacilos ou nenhum.

Apoiados nestes elementos BECHELLI et alii (1957,1959) concluíram que quase todos os doentes virchowianos "branqueados" com leitura clínica negativa também tinham leitura histológica negativa. Em onze casos de hanseníase virchowiana com Mitsuda clínico negativo, oito eram realmente negativos e três tiveram um quadro histológico "falando a favor de positivo".

Dos 14 doentes virchowianos branqueados com leitura clínica positiva (+); nove foram histologicamente negativos e cinco foram enquadrados na classe "falando a favor de positivo".

No grupo tuberculóide (93 doentes), a leitura clínica positiva (+++) correspondeu à leitura histológica

positiva em 80,0%. As outras positivities clínicas (+) e (++) discordaram em 25,0% com a leitura histológica.

Nos 82 doentes com hanseníase indeterminada estudados por estes AA não houve discordância entre as leituras clínicas positivas (+++) e as leituras histológicas. Neste mesmo grupo, em quatro reações (4.8%) negativas houve discordância; em 14 duvidosas, oito foram microscopicamente negativas e seis foram positivas. Dos demais casos indeterminados (56) com positivities (+) e (++) , 10 (17.8%) revelaram-se histologicamente negativos. Entre as leituras macro e microscópicas da reação de Mitsuda em doentes branqueados, BECHELLI et alii (1959) encontraram 65,0% de resultados discordantes, sendo de 25,0% a discordância entre os tuberculóides e de mais ou menos 20,0% entre os indeterminados.

AZULAY et alii (1960) analisaram o comportamento da reação de Mitsuda em 94 indivíduos (41 doentes com hanseníase virchowiana clinicamente curados, sete doentes com hanseníase tuberculóide, 22 doentes com a forma indeterminada, sete com tuberculose pulmonar e 17 indivíduos contactantes sadios). As biópsias foram realizadas um a dois meses após a inoculação intradérmica da lepromina. Os critérios para a interpretação da leitura clínica foram os estabelecidos no VI Congresso Internacional de Leprologia em Madrid (1953). A leitura da expressão histológica baseou-se na existência do granuloma tuberculóide, sem valorizar o aspec-

to quantitativo da resposta granulomatosa, deduzindo que o granuloma tem o mesmo significado, seja pequeno ou grande; e consideraram como reação negativa os processos inflamatórios crônicos linfo-histiocitários, granulomas de corpo estranho e reação inflamatória predominantemente fibrosa.

A comparação clínico-patológica das leituras foi concordante em 55 doentes (75.3%) e discordante em 18 casos (24.7%) . Os AA relataram, ainda, as seguintes correlações:

" 1. Em 21 espécimes de reações clinicamente duvidosas, oito (38,0%) tinham granuloma tuberculóide,

2. Em 71 espécimes de reações positivas, 18 (25,0%) não evidenciaram granuloma tuberculóide,

3. Em 13 reações macroscopicamente duvidosas, em doentes "lepromatosos" estacionados, três (23,0%) tinham granuloma tuberculóide.

4. Em 26 doentes "lepromatosos" estacionados com reações positivas, 14 (54,0%) apresentaram granuloma tuberculóide .

ANDRADE (1962) estudou comparativamente os aspectos macro e microscópicos da reação de Mitsuda realizada em 11 indivíduos sadios não comunicantes. Todos eram Mitsuda positivo do ponto de vista histológico, apresentando granuloma tuberculóide. Na leitura clínica, a autora encontrou nove casos positivos: um de +++, oito de ++, e dois duvidosos. Quanto a baciloscopia, relatou não ter observado baci-

los nas reações com diâmetros maiores; nas outras, os bacilos eram raros ou em pequeno número e com morfologia alterada. Os dois casos duvidosos (+/-) com positividade histológica representaram 18,0% de discordância.

ARCURI & CONEJOS (1964) estudaram a histologia da intradermorreação à lepromina total injetada em cão previamente sensibilizado com lepromina integral, assinalando, na reação precoce, a existência de necrose fibrinóide e concluíram que a resposta obtida é do tipo da hipersensibilidade bacteriana tuberculínica.

SAUL et alii (1969) estudaram o quadro histológico da reação lepromínica quatro horas após a inoculação, correlacionando a ausência de bacilos com os indivíduos tuberculóides e sadios com imunidade retardada normal. Nos indivíduos virchowianos, os bacilos se encontravam presentes nos tecidos 4 horas após a inoculação. Nos indeterminados, a observação de bacilos sustentaria um substrato virchowiano. Nos casos duvidosos ou de difícil classificação, a presença ou a ausência de bacilos no local da inoculação poderia indicar a migração polar da doença.

Em resumo, os AA admitiram que a ausência de bacilos quatro horas após a inoculação corresponderá a um granuloma tuberculóide na leitura microscópica no 21º dia e a presença de bacilos após quatro horas indicará a sua persistência no 21º dia sem a formação de granuloma tuberculóide.

AZULAY (1970) relatou a sua experiência sobre o teste lepromínico, de 1944 a 1970, referindo que do ponto de vista histológico encontrou reação com estrutura tuberculóide em "doentes lepromatosos" que haviam tomado BCG. Assim de 18 "lepromatosos", dois tinham reações macroscópicas positivas, com granuloma tuberculóide; 12 tiveram reações macroscópicas duvidosas, mas em três havia granuloma tuberculóide ao lado de infiltrado com células de Virchow (estrutura dimorfa) **; os quatro restantes foram negativos clínica e histologicamente.

O autor relatou ter examinado vários cortes histológicos quando as primeiras lâminas foram negativas.

Em coletividade indene de lepra e de tuberculose (nos índios carajás), obteve os menores índices de positividade lepromínica.

MICHALANY (1974) utilizou para a análise histológica da reação de Mitsuda, na tese de **ALCHORNE** (1974), o seu critério para a classificação dos granulomas e a respectiva intensidade histológica, estabelecido em 1972 no Departamento de Anatomia Patológica da Escola Paulista de Medicina, que é o seguinte:

"a - reação positiva forte (+++): granuloma polar tuberculóide completo com baciloscopia negativa.

**** Reação de Mitsuda "Borderline" (Vide 4.2.2)**

b - reação positiva moderada (++) : granuloma incompleto e baciloscopia negativa".

c - reação positiva fraca (+) : infiltrado linfocitário não granulomatoso e baciloscopia negativa".

O autor, concomitantemente, esclarecia se o processo ocupava a derme superior, derme média ou a profunda.

ALCHORNE (1974) concluiu de seu estudo que a reação de Mitsuda manteve-se, em geral, inalterada ou teve variações pouco expressivas no sentido de aumento, diminuição ou desaparecimento ao longo do tempo no mesmo indivíduo hanseniano (após 25 a 35 anos). Assinalou, ainda, que todas as reações positivas clinicamente apresentaram quadro histológico também positivo, embora tenha havido divergência entre os graus de intensidade em ambos os tipos de leitura. Segundo o autor, a localização do processo inflamatório em diferentes níveis dérmicos é causa de divergências entre a leitura clínica e o exame histopatológico das reações positivas.

THOMAS et alii (1980) correlacionaram a histologia da reação de Mitsuda com as alterações histológicas da própria doença e a presença ou não de bacilos.

Em quatro doentes com hanseníase tuberculóide e leitura clínica fortemente positiva (8 a 21,5mm), encontraram granulomas de células epitelióides com estrutura tuberculóide e células gigantes de Langhans envolvidos por denso

infiltrado linfocitário*. Os granulomas eram grandes e confluentes e a baciloscopia foi negativa.

Em 12 doentes com hanseníase "borderline" tuberculóide, a reação clínica foi positiva em grau variável (menor do que 3 mm até 18 mm) com quadro histológico semelhante ao anterior, sendo, porém, os granulomas menores e constituídos por células epitelióides predominantemente, com variável número de células gigantes e linfócitos**. Os bacilos foram observados em cinco doentes e em número moderado, raros em dois doentes e não se encontraram em cinco doentes.

Em quatro doentes com hanseníase "borderline" virchowiana, a reação clínica foi negativa, encontrando-se histologicamente pequenos agregados de macrófagos e linfócitos e também poucas células gigantes de corpo estranho.***. Os bacilos estavam presentes em moderado número dentro de macrófagos, gigantócitos de corpo estranho e células mononucleares balonizadas lembrando fibroblastos.

Em nove doentes com hanseníase virchowiana, a leitura clínica foi negativa e o exame histológico revelou micronódulos contendo gigantócitos de corpo estranho, agregados de linfócitos e os bacilos no interior de macrófagos,

* Reação de Mitsuda tuberculóide (vide 4.2.2)

** Reação de Mitsuda "borderline" tuberculóide (vide 4.2.2)

*** Reação de Mitsuda "borderline" virchowiana (vide 4.2.2)

gigantócitos e em células do estroma +.

Em nove doentes com hanseníase indeterminada, a leitura clínica foi positiva em oito (3,1 mm em um doente e entre 6,5 a 15,5 mm em sete) e negativa em um doente. Na histologia, nos oito doentes positivos havia granulomas de células epitelióides com estrutura tuberculóide, com poucas células gigantes e variável número de linfócitos. Bacilos não foram encontrados em cinco exames, foram escassos em um e nos dois outros havia pequeno número de bacilos nos granulomas.

JOB et alii (1982) realizaram trabalho procurando correlacionar a aparência histológica da reação lepromínica em tatus com a resposta à infecção pelo Mycobacterium leprae.

Descreveram três tipos diferentes de respostas à lepromina: "lepromatosa", "borderline" e tuberculóide. O desenvolvimento da doença generalizada, após a inoculação dos tatus com o M leprae, ocorreu em 10/11 animais com reação lepromínica "lepromatosa" e também no único animal com resposta "borderline" à lepromina. Os dois animais com resposta lepromínica tuberculóide e 1/11 com resposta lepromínica "lepromatosa" não desenvolveram a doença disseminada.

+ Reação de Mitsuda virchowiana (vide 4.2.2)

PETRI (1982) avaliou a reação de Mitsuda em 100 indivíduos do sexo masculino sadios não comunicantes. A autora utilizou a lepromina A e o estudo histológico foi motivo de tese de **MICHALANY** (1983), que se baseou na existência ou não de infiltrado inflamatório granulomatoso, do tipo tuberculóide ou não, e na baciloscopia.

Segundo **PETRI** (1982), a leitura clínica da reação de Mitsuda está qualitativamente associada aos resultados da leitura histológica, havendo, no entanto, independência entre as intensidades clínica e histológica em não comunicantes de hanseníase. A autora valorizou o estudo histológico das reações, pois mesmo endurações menores do que 3 mm podem ser histologicamente positivas, sendo válido este procedimento para respostas clínicas negativas.

PETRI (1982) obteve 97,0% de positividade nas reações de Mitsuda analisadas histologicamente, e só 77,0% de positividade na leitura clínica. Os 19 resultados clínicos duvidosos foram positivos histologicamente e de quatro reações clínicas negativas uma revelou granuloma tuberculóide histologicamente.

MICHALANY & MICHALANY (1983) publicaram os resultados histológicos da tese de **MICHALANY, N.** (1983), onde os critérios de leitura histológica seguiam os de **BECELLI et alii** (1957, 1959) e de **MICHALANY** (1972) para os granulomas em geral. Adotaram apenas cinco classes e não seis como uti-

lizado na tese de PETRI, e combinaram as classes com o critério de cruzes (Tab. 1.2) (Pag. nº 33).

NICHALANY & NICHALANY (1983) encontraram 23,0% dos indivíduos com reação histológica de classe IV; 42,0% de classe III; 32,0% de classe II; 2,0% de classe I; e 1,0% de classe 0. Como já fora afirmado por PETRI (1982), houve no material 97,0% de positividade.

DESIKAN et alii (1983) fizeram estudo histológico seqüencial da leprominorreação nos diferentes grupos de hanseníase (12 virchowianos, cinco "borderlines" virchowianos, 16 "borderlines" tuberculóides e 22 tuberculóides). As reações foram "biopsiadas" em diferentes épocas, desde 24 horas até 28 dias após a inoculação. Realizaram 77 biópsias, sendo 12 em doentes com hanseníase virchowiana, cinco em hansenianos "borderlines" virchowianos, 35 em "borderlines" tuberculóides e em 25 tuberculóides.

A intensidade do infiltrado foi medida semiquantitativamente em proporção de derme ocupada pelo infiltrado inflamatório. Os AA chamaram a atenção para o envolvimento dos filetes nervosos em 39/77 biópsias. Células mononucleares formavam agrupamentos em torno dos filetes nervosos sem qualquer infiltração significativa. Aventaram a hipótese de que o tecido nervoso esteja de algum modo associado com o processo imunológico da reação à lepromina.

BAKOS et alii (1988) utilizaram em estudo preliminar a reação de Mitsuda para melhor posicionar os tuberculóides reacionais dentro do espectro dimorfo. Relataram que a histologia da reação de Mitsuda nos indivíduos tuberculóides reacionais tem alterações mais semelhantes às dos dimorfos tuberculóides do que dos tuberculóides, sugerindo que imunologicamente os tuberculóides reacionais sejam agrupados no espectro dimorfo.

**Tabela 1.2 CRITÉRIOS PARA A LEITURA HISTOLÓGICA DA REAÇÃO DE
MITSUDA, SEGUNDO MICHALANY & MICHALANY**

CLASSE	HISTOLOGIA	RESULTADO

0	Não há infiltrado inflamató- rio. Bacilos presentes.	NEGATIVO (-)
I	Infiltrado inflamatório não granulomatoso. Bacilos raros ou não observados	SUGESTIVO DE POSITIVO FRACO (+/-)
II	Infiltrado inflamatório gra- nulomatoso tuberculóide in- completo com células epite- lióides, mas sem arranjo fo- licular, com raros bacilos ou ausentes.	POSITIVO DE GRAU FRACO (+)
III	Infiltrado inflamatório gra- nulomatoso tuberculóide in- completo ou tuberculóide completo com esboço de ar- ranjo folicular, sem bacilos	POSITIVO DE GRAU MÉDIO (++)
IV	Infiltrado inflamatório gra- nulomatoso tuberculóide com- pleto com arranjo folicular, sem bacilos.	POSITIVO DE GRAU FORTE (+++)

1.3 CONSIDERAÇÕES GERAIS ACERCA DA PELE EXPOSTA CRONICAMENTE AO SOL

As alterações cutâneas causadas pelo sol são percebidas à simples inspeção.

A pele exposta cronicamente ao sol torna-se seca, áspera e inelástica. Em algumas áreas, como a nuca e a superfície de extensão dos antebraços, a pele espessa-se e pregueia-se adquirindo tonalidade amarelada (pele citrina de MILLIAN, 1921). Este aspecto também é conhecido por elastose solar ("élastome diffus de la peau", DUBREUILH, 1913).

O exame histológico da pele elastótica revela degeneração basofílica do colágeno na derme superior, bem evidenciada pela coloração com a hematoxilina e eosina. Esta área basofílica está separada da epiderme, relativamente atrófica, por estreita faixa de colágeno normal. Na zona de degeneração basofílica, o colágeno é substituído por material granular amorfo e basofílico. Colorações especiais para fibras elásticas revelam que o material basofílico se cora como estas fibras, portanto, denominado elastótico. O material elastótico é resultante de alteração funcional do fibroblasto, por perda da capacidade de sintetizar fibras colágenas e elásticas (EBNER, 1969, NÜRNBERGER et alii, 1978).

As alterações do tecido elástico devidas à radiação ultravioleta são diferentes das devidas apenas à idade cronológica. Disto, resulta "in vivo", um padrão de fluorescência induzida diferente, nas áreas exposta e não exposta à luz solar (LEFFELL, 1988).

A alteração da maturação e diferenciação ordenadas e progressivas dos queratinócitos está retratada na hipoplasia e hiperplasia epidérmicas e pela disqueratose. Também, as células de Langerhans encontram-se em número reduzido nas áreas expostas cronicamente ao sol (TOEWS et alii, 1980b; STREILEIN et alii, 1980b; ABERER et alii, 1981; KRIPKE, 1984).

Estas alterações são responsáveis por disfunções cutâneas geradoras de dermatoses que surgem na pele das áreas expostas à luz solar e, também, pela diminuição de sua capacidade em responder aos estímulos provenientes do meio ambiente.

1.3.1. RESPOSTA IMUNOLÓGICA DA PELE NORMAL - TECIDOS LINFÓIDES ASSOCIADOS A PELE (SALT)

Admite-se que existe um sistema integrado de vigilância imunológica para a pele denominado SALT (Skin-Associated Lymphoid Tissue) (STREILEIN, 1978, 1983), constituído por:

1. Células de Langerhans especializadas em apresentar antígenos na epiderme.
2. Queratinócitos secretantes de fatores imunorreguladores ou citocinas (ETAF - Epidermal Thymocyte Activating Factor).
3. Subpopulações de linfócitos circulantes com distinta afinidade para a pele, especialmente para a epiderme.
4. Gânglios regionais

É evidente que alterações no SALT podem acarretar distúrbios imunológicos locais e sistêmicos.

Estes conhecimentos atuais permitem deduzir que a pele é um órgão do sistema imunológico. Muitos elementos reforçam as evidências da origem comum da pele e do sistema imunológico, com a existência de interações entre as suas funções.

Na concepção de FICHTELIUS et alii, (1970), a pele é um órgão linfóide de localização avançada (primeiro nível de defesa) com estreitas ligações com o timo, tendo o seguinte apoio:

1. O corpúsculo de Hassall, componente epitelial do timo, tem semelhanças histológicas com o epitélio escamoso estratificado, representado pelas células epiteliais periféricas, contendo tonofilamentos e desmossomas (VAN GAUDECKER & SCHMALE, 1974).

2. Imunologicamente, constatou-se que anticorpos dirigidos contra a queratina epidérmica também reagem com a queratina dos corpúsculos de Hassall. Anticorpos antiepiderme, obtidos por sensibilização de coelhos, reagem, no timo de cobaia, com o corpúsculo de Hassall e suas células circunjacentes (TAKIGAWA & IMAMURA, 1977; SUN et alii, 1979; DIDIERJEAN & SAURAT, 1980).

3. Ausência de folículo terminal no camundongo pelado atímico imunodeficiente (PANTELOURIS, 1978).

1.3.1.1. CÉLULAS DE LANGERHANS

Foram descritas por Paul Langerhans, ainda estudante de medicina com 21 anos de idade, em 1868, quando corava pele humana com cloreto de ouro. Tais células dendríticas e sem desmosomas representam 3 a 4% de todas as células epidérmicas, sendo identificadas em microscopia eletrônica pela presença dos grânulos de Bierbeck no seu citoplasma.

As células de Langerhans (CL) têm estreitas relações filogenéticas e funcionais com os macrófagos (derivando do sistema monocítico/macrofágico) (KATZ et alii, 1979; TAMAKI et alii, 1980; TAMAKI & KATZ, 1980).

As CL desempenham importante função imunocompetente na epiderme (BRAATHEN & THORSBY, 1980, 1983; STINGL et alii, 1980; TAMAKI et alii, 1980) demonstrada com os anticorpos monoclonais, especialmente OKT6 (FITHIAN et alii, 1981). Elas captam os antígenos e, após processá-los, os apresenta aos linfócitos T, na fase aferente da resposta imune. São células capazes de produzir e secretar interleucina-1 (IL-1), que inicia e mantém a resposta imune (SAUDER et alii, 1984). A CL pode, ainda, após captar o antígeno na epiderme, migrar para o linfonodo regional, onde outras células T serão expostas ao antígeno, facilitando o processo de sensibilização (SILBERBERG - SINAKIN et alii, 1976;

SILBERBERG-SINAKIN & THORBECKE, 1980; STREILEIN, 1983).

A rede de CL da epiderme é denominada sistema retículoepitelial, indicando a sua estreita relação com o sistema retículoendotelial, que livra o organismo de antígenos que ganharam a circulação. Na epiderme, esta rede de CL tem grande afinidade para a maioria dos sensibilizantes de contato, de tal forma que haptenos ou antígenos que penetram através da camada córnea são capturados pelo retículo de células dendríticas (SHELLEY & JUHLIN, 1976).

As células de Langerhans podem ser identificadas por técnicas químicas (impregnação por metais, principalmente o ouro) (LANGERHANS, 1868), histoquímicas, imunológicas e pela microscopia eletrônica.

Histoquimicamente, demonstra-se haver atividade específica da CL, ligada à membrana plasmática resistente à formalina, dependente de um radical sulfidrílico da 5 - adenosina trifosfatase (ATPase).

As CL diferem dos melanócitos e queratinócitos pelos antígenos de superfície e receptores envolvidos na reação imune. Têm, ainda, receptores de superfície para a fração Fc da IgG, para C3b, que é um produto da ativação do 3º componente do complemento e para antígenos Ia (ROWDEN et alii, 1977; KLARESKOG et alii, 1977; STINGL et alii, 1977, 1978; BERMAN & GIGLI, 1980; ROWDEN, 1980).

Recentemente, assinalou-se que OKT6, originalmente elevado contra linfócitos T humanos, liga-se seletivamente à célula de Langerhans epidérmica (FITHIAN et alii, 1981).

Os critérios ultraestruturais utilizados para a caracterização das células de Langerhans são:

1. Grânulos de Bierbeck - em bastão ou raquete-símile,
2. Citoplasma claro com aparelho de Golgi, retículo endoplasmático e lisossomas proeminentes,
3. Núcleo lobulado,
4. Ausência de desmosomas,
5. Ausência de tonofilamentos e
6. Ausência de premelanossomas ou melanossomas.

As CL são encontradas primariamente no epitélio escamoso estratificado, mas não exclusivamente. Foram descritas no epitélio dos apêndices cutâneos (infundíbulo e bainha externa do pêlo, glândulas sebáceas e sudoríparas écrinas, nas glândulas apócrinas e seus dutos), nas mucosas oral e esofágica, assim como em tecidos de origem mesodérmica. Embora em quantidade variada, as CL distribuem-se por toda a epiderme (BERMAN et alii, 1983).

As CL desempenham importante papel em certas reações imunológicas, demonstrado por SILBERBERG (1971, 1973). Esta autora revelou que de quatro a seis horas após a apli-

cação tópica de bicloreto de mercúrio, ocorria a aposição de uma célula mononuclear linfócito - símile junto de uma célula de Langerhans na epiderme e na derme. Ela denominou este fenômeno de **peripolosis**. Esta interação célula-celular, o subsequente dano e um aparente declínio do número de CL foram notados nos locais onde se aplicou, em animais sensibilizados, a dose desencadeante do antígeno. Tal fato não ocorria em animais não sensibilizados. Estes estudos foram confirmados no homem; as células mononucleares que se justapõem à CL são linfócitos sensibilizados especificamente, que interagem com os antígenos na superfície ou próximo da superfície da CL, que é, então, lesada devido às substâncias liberadas por eles. Como resultado do dano, as CL podem liberar substâncias que determinam outras alterações inflamatórias (SILBERBERG et alii, 1974). Se na primeira exposição para um alérgeno de contato houver alterações na resposta das CL, ocorrerá tolerância e não sensibilização (STREILEIN et alii, 1980a; TOEWS et alii, 1980a; STREILEIN & BERGSTRESSER, 1983).

1.3.1.2. FATOR ATIVADOR DE TIMÓCITO DERIVADO DA CÉLULA EPIDÉRMICA OU ETAF - "EPIDERMAL CELL-DERIVED THYMOCYTE ACTIVATING FACTOR"

Os queratinócitos produzem uma substância com capacidade de ativar timócitos (SAUDER et alii, 1982, 1984). O aumento da proliferação de timócitos foi detectado em cultura de células epidérmicas, mesmo que as células de Langerhans tenham sido inativadas por antissoro e complemento, nesta cultura (LUGER et alii 1981, 1983). Esta substância foi denominada, por estes autores, "Epidermal (E) cell-derived Thymocyte (T) Activating (A) Factor (F) ou fator derivado de célula epidérmica ativador de timócito. É uma substância antigenicamente e funcionalmente semelhante à interleucina-1 (IL-1), com atuação na produção da interleucina-2 (IL-2) pelos linfócitos.

A interleucina-1 é produzida sempre que houver agressão aos macrófagos. Do mesmo modo, as injúrias aos queratinócitos aumentam a produção de ETAF (LUGER et alii, 1981, 1982, 1983; SAUDER et alii, 1982; SAUDER & KATZ, 1982; SHIMADA & KATZ, 1988).

1.3.1.3. LINFÓCITOS COM ATIVIDADE EPIDERMOTRÓPICA

Populações linfocitárias recirculantes existem na pele. O processamento e a apresentação dos antígenos, através da pele contendo células de Langerhans, representam um forte sinal imunogênico para os linfócitos imunocompetentes. Este sinal pode ser recebido pelo linfócito na própria pele ou no gânglio regional. Embora ambas as hipóteses sejam possíveis, a primeira é bastante forte, pois os linfócitos ativados devem "aprender" alguma coisa na pele que dirige a sua futura recirculação entre o órgão cutâneo e a circulação sistêmica. A epiderme é o local ideal para o "aprendizado" dos linfócitos, funcionando como microambiente para a diferenciação pós-tímica da célula T (BREATHNACH, 1986).

As semelhanças entre os queratinócitos epidérmicos e as células epiteliais do timo indicam a possibilidade de haver uma propriedade funcional da epiderme, em comum com o timo, de induzir a diferenciação da célula T na pele. (TOEWS et alii, 1980a).

As subpopulações de linfócitos T, na derme, têm um especial epidermotropismo, como se evidencia nos infiltrados dos linfomas cutâneos de células T (micose fungóide, síndrome de Sézary e leucemia de células T do adulto) (EDELSON, 1980; STREILEIN, 1983).

As células T auxiliares (helper), quando migram para a epiderme, localizam-se em torno das células de Langerhans, como se observa na dermatite de contato por sensibilização (SILBERBERG, 1971).

1.3.2. RESPOSTA IMUNOLÓGICA DA PELE EXPOSTA CRONICAMENTE AO SOL

O contato direto da pele com o meio ambiente favorece a ação da radiação ultravioleta na epiderme e nas células imunológicas que nela circulam (PARRISH, 1983).

Sabendo-se da inter-relação da pele com o sistema imunológico, pode deduzir-se que qualquer fator interferindo num sistema acarretará mudanças no outro. A radiação ultravioleta pode alterar a antigenicidade de certas moléculas e desencadear manifestações de fotoalergia; a sua ação sobre a resposta imune, no entanto, é geralmente de imunossupressão.

A radiação ultravioleta (RUV), absorvida pela pele, pode induzir alterações locais e sistêmicas, em áreas distantes não expostas. A diminuição das respostas imunes ocorre tanto em animais de experimentação, como o camundongo (NOONAN et alii, 1980) e a cobaia (MORISON & PARRISH, 1980), como no homem (O'DELL et alii, 1980), mesmo com doses toleráveis de RUV. Já foram assinaladas, a diminuição da intensidade da dermatite de contato alérgica, a diminuição da hipersensibilidade a um antígeno injetado, o prolongamento da sobrevivência de enxertos cutâneos e alteração da função e da distribuição dos linfócitos (O'DELL et alii, 1980; MORISON et alii, 1980; MORISON, 1981; STÜTTGEN, 1982). A RUV diminui o número de CL demonstrável com a coloração pela

ATPase, por decréscimo na densidade (STREILEIN et alii, 1980 a; BERGSTRESSER et alii, 1980) ou por alteração na estrutura da CL (STINGL et alii, 1980; ABERER et alii, 1981).

As alterações acarretadas pela RUV, nas reações imunológicas, podem ser agudas ou crônicas e são conhecidas desde 1905, quando FLEISCHMANN demonstrou que a reação precipitante de anticorpos podia ser abolida pela exposição de antígenos à radiação UV-C, "in vitro". A seguir, verificou-se que a viabilidade das células linfóides, indicada por sua capacidade em excluir o azul de Tripan, estava diminuída após a exposição à luz solar, na presença da hematoporfirina (fotossensibilizador) (PAPPENHEIMER, 1917).

HANISZKO & SUSKIND (1963) observaram que uma exposição leve, eritematogênica (290-320nm), diminuía, mas não abolia, a resposta ao 2,4-Dinitroclorobenzeno (DNCB), nos animais já sensibilizados a esta substância. Esta alteração restringiu-se ao local da exposição, sem repercussões sistêmicas.

A radiação UV-B torna a pele abdominal do rato não reativa à imunização tópica com Dinitrofluorbenzeno (DNFB) (TOEWS et alii, 1980b), e diminui a reatividade a antígenos injetados por via intradérmica, no homem (estreptokinase/estreptodornase) (O'DELL et alii, 1980). Assinale-se, ainda, que camundongos expostos cronicamente à radiação UV-B tornam-se incapazes, transitoriamente, de desenvolver

hipersensibilidade tardia ao DNCB. A alteração desta reatividade foi sistêmica, pois não havia respostas imunes em locais distantes não expostos (KRIPKE et alii, 1977; JESSUP et alii, 1978).

A radiação ultravioleta, especialmente a UV-B, determina alterações na função celular de apresentar antígenos, e a incapacidade do camundongo de desenvolver a hipersensibilidade tardia está associada ao aparecimento de um linfócito T supressor antígeno específico (ELMETS et alii, 1983). Estas células supressoras inibem o desenvolvimento da dermatite de contato alérgica, em animais singenéticos, mas não afetam a liberação da resposta alérgica em animais com sensibilidade já estabelecida, sendo provável que a radiação UV atue, portanto, na fase de indução da resposta imune (FISHER & KRIPKE, 1977, 1978).

Exposições constantes à radiação ultravioleta determinam alterações nas CL, sendo a radiação UV-B responsável pelo desaparecimento virtual das CL da epiderme. Estas células, após a exposição, diminuem em cerca de 20,0% a 30,0% e as que permanecem estão lesadas. As doses cumulativas, no homem e no camundongo, de 80-120 J/cm² UV-A (+B) ou 1-2 J/cm² de UV-A, acarretaram acentuada redução de células exibindo reatividade à ATPase e Ia. No espectro UV-B, doses únicas de 60-80 J/cm² produziram eliminação virtual completa dos marcadores de membrana das células de Langerhans (ABERER

et alii, 1981). Na realidade, as CL são menos susceptíveis às radiações UV do que os seus marcadores de membrana.

A pele envelhecida cronologicamente tem menor quantidade de CL e demora mais tempo para responder ao estímulo ultravioleta (GILCHREST et alii, 1982, 1982). A resposta imunológica deste tipo de pele está diminuída (ROBERTS-THOMSON et alii, 1974; SMITH & BRYSK, 1980).

Em camundongos, a dermatite de contato alérgica, a um hapteno aplicado topicamente, não pode ser induzida através da pele deficiente em células de Langerhans, como resultado de uma exposição prévia à radiação UV-B (TOEWS et alii, 1980b; STREILEIN et alii, 1980b).

Há poucos estudos indicando que a supressão da hipersensibilidade tardia, pela exposição à radiação UV, não é restrita à dermatite de contato alérgica.

A exposição de cobaias a doses eritematosas de UV-B ou PUVA produziu supressão, local e sistêmica, da hipersensibilidade tardia, que se desenvolve com a injeção no coxim da pata do camundongo de conjugado proteína-hapteno, no adjuvante de Freund completo, cuja dose desencadeante foi administrada por via intradérmica (MORISON & PARRISH, 1980).

O estudo do efeito da RUV, sobre a hipersensibilidade tardia no homem, tem sido pouco abordado. Como já assinalado, a resposta à injeção de estreptoquinase/estreptodornase, por via intradérmica, estava diminuída em um único indivíduo exposto a UV-C (HOROWITZ et alii, 1974).

O'DELL et alii (1980) revelaram ser necessário concentrações maiores de DNCB para despertar uma resposta de contato alérgica, na pele exposta cronicamente ao sol, de indivíduos previamente sensibilizados, comparativamente à área não exposta ao sol. Ambas as áreas foram testadas com antígenos inoculados por via intradérmica, e as respostas foram menos intensas na área exposta cronicamente ao sol. Segundo estes AA, havia um defeito local da imunidade mediada por células na pele exposta por longo tempo ao sol. Desta forma, o grande número de câncer de pele, em áreas expostas, será, pelo menos parcialmente, devido a um impedimento local da vigilância imunológica, e as alterações dérmicas interferindo na resposta imune normal, poderão explicar a tendência de carcinomas ocorrerem em cicatrizes.

Há três tipos de interação da radiação ultravioleta com o sistema imunológico (KRIPKE, 1984):

1. Interação direta da radiação UV com as células da pele que determina o aparecimento de novos antígenos ou antígenos alterados (v.g. antígenos associados ao tumor), reconhecidos pelo sistema imune.

2. Interação indireta da RUV com o sistema imune que induz a falta de resposta específica a certos antígenos.

3. Interação direta da radiação UV com elementos do sistema imune que residem na pele (v.g. células de Langerhans) que pode, também, resultar em não resposta específica.

ELMETS et alii (1983) demonstraram que a supressão da hipersensibilidade por contato está associada com a produção de linfócitos T supressores antígeno-específicos. Já em 1981, SEMMA & SAGAMI revelaram que aplicações de DNFB, na pele da cauda do rato, que é deficiente em células de Langerhans, também induzia ao aparecimento de células T supressoras antígeno-específicas. Estas observações sugerem que, quando antígenos se desviam das células de Langerhans, a via da célula supressora é ativada, no lugar da via de célula efetora. As células de Langerhans, provavelmente, captam o antígeno, o processam de algum modo e o apresentam, em forma imunologicamente ativa, ao linfócito, iniciando a resposta de hipersensibilidade de contato (BERGSTRESSER & STREILEIN, 1983). Sendo lesadas pela radiação UV, as células de Langerhans não poderão mais funcionar nesta via e, como consequência, a introdução do antígeno pode disparar uma via imunológica alternada, resultando em supressão (STREILEIN & BERGSTRESSER, 1983; BERGSTRESSER & STREILEIN, 1983).

Os linfócitos T supressores, que surgem nos camundongos irradiados com UV, são responsáveis pela não rejeição de tumores, induzidos por UV, que normalmente são altamente antigênicos e rejeitados por receptores singenéticos normais (KRIPKE & FISHER, 1976; FISHER & KRIPKE, 1977, 1978). Estes tumores, altamente antigênicos, conseguem proliferar no hospedeiro primário, porque escapam à detecção e

destruição imunológicas. Os linfócitos supressores são induzidos, tanto por fontes artificiais de radiação ultravioleta, como pela luz solar. Eles são específicos para um antígeno comum, presente nos tumores induzidos pela RUV, mas ausentes em tumores induzidos por outros agentes (KRIPKE, 1984, 1987).

A RUV pode, ainda, induzir o aparecimento de células supressoras dirigidas contra outros antígenos, diferentes daqueles expressos pelas células tumorais, determinados pela radiação UV. Este acontecimento é decorrente da via de administração do antígeno e não de suas propriedades físico-químicas, e do tempo de imunização relativo à exposição ao ultravioleta. Após doses relativamente altas de UV, células supressoras antígeno-específicas são induzidas por injeção subcutânea de antígenos que, normalmente, determinam hipersensibilidade tardia; em camundongos irradiados, a aplicação de substâncias químicas sensibilizantes, por contato, também induz à proliferação de células supressoras e não à hipersensibilidade. Células supressoras também são induzidas por sensibilizantes de contato, aplicados em peles diretamente irradiadas com doses baixas de UV (KRIPKE, 1987).

A RUV pode, ainda, impedir a resposta imune contra microorganismos patogênicos, que induzem a hipersensibilidade tardia ou contra microorganismos que atingem o hospedeiro entrando pela pele (KRIPKE, 1987).

2 - OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo são os seguintes:

2.1 - Comparar as leituras clínicas e histológicas da reação de Mitsuda realizada na pele de área exposta à luz solar (AE) e na pele de área não exposta à luz solar (ANE) de uma amostra de indivíduos sadios, não hansênicos e não comunicantes.

2.2 - Propor a sistematização da leitura histológica da reação de Mitsuda de modo espectral e verificar o comportamento da reatividade à lepromina da pele das áreas exposta e não exposta à luz solar frente a esta leitura.

2.3 - Avaliar a reatividade, à lepromina, de indivíduos pertencentes a um grupo etário de mais de 40 anos.

2.4 - Comparar a reatividade da reação de Mitsuda nas áreas exposta e não exposta à luz solar em relação à cor dos olhos e ao sexo dos indivíduos.

2.5 - Propor as regiões cutâneas ideais para a realização e avaliação da reação de Mitsuda.

3 - CASUÍSTICA E MÉTODO

3.1 AMOSTRA DE INDIVÍDUOS COM PELE EXPOSTA CRONICAMENTE AO SOL, NXO HANSÊNICOS E NXO COMUNICANTES.

Estudaram-se 30 indivíduos com intensa degeneração elastótica da pele exposta à luz solar que permitiram a avaliação completa da reação de Mitsuda. Os indivíduos não tiveram contato conhecido com doentes hansênicos e foram acompanhados no Ambulatório de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) onde procuraram tratamento para as suas queratoses solares.

Todos eram caucasóides (C), com idade média de 60,77 anos e desvio padrão 11,54, com mediana 60,5, tendo 40 anos o mais novo e 84 anos o mais idoso.

Embora todos fossem caucasóides, destacaram-se quatro loiros (13,3%); os restantes (86,6%) tinham cabelos escuros ou referiram ter cabelos escuros antes do encanecimento.

Quanto à cor dos olhos, havia a seguinte distribuição:

Castanha Clara (Cc).....	6 - (20,0%)	Escura
Castanha Escura (Ce).....	3 - (10,0%)	36,6%
Castanha (CC).....	2 - (6,6%)	
Azul (A).....	9 - (30,0%)	Clara
Verde (V).....	9 - (30,0%)	63,3%
Azul e Verde (AV).....	1 - (3,3%)	

Treze (43,3%) eram do sexo masculino e 17 (56,6%) eram do sexo feminino, com as seguintes profissões:

Lavrador	21... (70,0%)
Ambulante.....	01... (3,3%)
Jardineiro.....	01... (3,3%)
Cozinheira.....	02... (6,6%)
Doméstica	02... (6,6%)
Pedreiro	03... (10,0%)

3.2. LEPRONINA

A lepromina integral pertencia a um mesmo lote, produzida no Hospital Lauro de Souza Lima - Aimorés - Baurú - São Paulo, contendo $6,2 \times (10)^7$ bacilos por mililitro. Tratava-se de lepromina humana (H). De todos os frascos utilizados, procedeu-se a feitura de um esfregaço corado pelo método de Ziehl-Neelsen, com a finalidade de se comprovar a existência de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR).

3.3 INTRADERMOREAÇÃO

A inoculação da lepromina foi feita com seringas do tipo insulina e agulhas nº 13 X 4,5 descartáveis.

A área central da superfície medial do braço direito foi escolhida como área não exposta à luz solar (ANE).

A superfície de extensão do antebraço direito, próxima à prega antecubital, onde a pele recobre a área de relevo do músculo braquiorradial, foi escolhida como área exposta à luz solar (AE).

As duas áreas, exposta e não exposta ao sol, foram marcadas com fita de Micropore 3M em cujo centro havia um orifício de 1,5 cm de diâmetro. Na pele delimitada pelo orifício da fita, procedeu-se à inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina, recolhida do frasco previamente agitado.

3.4 LEITURA DA REAÇÃO DE NITSUDA

As respostas tissulares, observadas no local da inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina integral humana, com $6,2 \times 10^7$ bacilos/ml, foram avaliadas do ponto de vista clínico (leitura clínica) e histologicamente (leitura histológica).

A leitura clínica e a biópsia, para o estudo das alterações histológicas, foram realizadas 21 dias após a inoculação.

3.4.1 LEITURA CLÍNICA

A leitura clínica foi baseada nos critérios estabelecidos na II Conferência Panamericana de Lepra em 1946 (Rio de Janeiro) e ratificados nos Congressos Internacionais de Leprologia de Havana (1949), Madrid (1953) e Tóquio (1958), que consideraram a enduração, medida em milímetros. Os resultados foram agrupados quanto a intensidade, qualitativamente, pelo método de cruces (tabela 1.1). (pag nº 12).

3.4.2 BIÓPSIA CUTÂNEA

As biópsias foram realizadas com "punch" (sacabocados) de 6 mm de diâmetro, com prévia anestesia local pela Xylocaína a 2%, sem vasoconstrictor. O tecido gorduroso da hipoderme foi atingido em todas as biópsias.

3.4.3 PREPARAÇÃO HISTOLÓGICA

Os fragmentos cutâneos obtidos, contendo inclusive a hipoderme, foram fixados em formol cálcio a 10%, e incluídos em parafina para cortes de aproximadamente 5µm, que foram corados pela hematoxilina e eosina e pelo método de Ziehl-Neelsen (modificado por Fite-Faraco para bacilos álcool-ácido resistentes).

3.4.4 LEITURA HISTOLÓGICA

A leitura das preparações histológicas foi realizada sem o conhecimento das leituras clínicas e aleatoriamente. Saliente-se, no entanto, que a pele proveniente da AE é facilmente identificada pela existência da degeneração basofílica do colágeno. A leitura histológica das alterações encontradas 21 dias após a inoculação da lepromina foi feita em dois critérios: polarizado e espectral.

3.4.4.1 LEITURA POLARIZADA

Utilizou-se a metodologia de MICHALANY & MICHALANY (1983) como se encontra na Tabela 1.2. (pag nº 33).

3.4.4.2 LEITURA ESPECTRAL

O critério utilizado para esta leitura foi baseado na resposta natural do organismo frente ao bacilo de Hansen quando há doença.

A leitura espectral avalia, portanto, a capacidade de resposta do organismo em produzir determinada estrutura histológica, que será a mesma que ele faria na infecção natural, como se encontra no espectro defendido por RIDLEY & JOPLING (1966), modificado pelo autor:

1. REAÇÃO DE MITSUDA TUBERCULÓIDE (MTT) - a estrutura histológica é a da hanseníase tuberculóide polar: granulomas tuberculóides de células epitelióides em torno de anexos e nervos. Os granulomas poderão ser sarcoídeos. A baciloscopia será negativa ou revelará raros bacilos (menos de 10 bacilos por 100 campos de imersão).

2. REAÇÃO DE MITSUDA "BORDERLINE" TUBERCULÓIDE (MBT) tem as mesmas características do Mitsuda tuberculóide, porém com fenômenos exsudativos (edema) mais acentuados. Os bacilos são encontrados até 10 por 10 campos de imersão.

3. REAÇÃO DE MITSUDA "BORDERLINE" (MBB) - encontram-se estruturas epitelióides e estruturas macrofágicas. Os bacilos são encontrados até 10 por campo de imersão.

4. REAÇÃO DE MITSUDA "BORDERLINE" VIRCHOWIANA - (MBV) as áreas macrofágicas virchowianas são mais expressivas e a bacilosopia revela de 10 a 100 bacilos por campo de imersão.

5. REAÇÃO DE MITSUDA VIRCHOWIANA (MVV) - infiltração constituída por histiócitos fagocitando grande quantidade de bacilos (mais de 100 em campo de imersão).

6. REAÇÃO DE MITSUDA INDETERMINADA TUBERCULOÍDE (MIT) o quadro histológico revela processo inflamatório linfocitário em torno de anexos e nervos. Esboços focais de células epitelióides podem existir. Na bacilosopia, há raros bacilos ou não se encontram.

7. REAÇÃO DE MITSUDA INDETERMINADA VIRCHOWIANA (MIV) - O processo inflamatório é crônico, linfocitário em torno de anexos e nervos com histiócitos de permeio contendo bacilos no seu interior.

8. REAÇÃO DE MITSUDA NXO REATORA (MNR) - não se encontram bacilos no local inoculado e não há reatividade tissular.

3.4.5 INTENSIDADE HISTOLÓGICA DA REAÇÃO DE MITSUDA

A intensidade histológica da reação de Mitsuda foi avaliada de acordo com a área ocupada pelo processo inflamatório na derme e/ou hipoderme e a denominação fração granuloma (FG) assim definida: "será a fração da derme e/ou hipoderme, ocupada pelo granuloma (ou processo inflamatório), observada sob objetiva de aumento 2,5 e expressa decimalmente"; assim 1,0 indica que toda a derme (e/ou hipoderme) está ocupada por processo inflamatório; 0,5 indica que metade da derme (e/ou hipoderme) está ocupada; 0,2 é fração granuloma para a ocupação de 1/5. (RIDLEY, 1977) (modificado pelo autor).

A fração granuloma foi aplicada na leitura de MICHALANY & MICHALANY para se comparar a intensidade dos resultados obtidos nas áreas exposta e não exposta.

3.4.6 ÍNDICE DE BACILOS NO GRANULOMA

Este índice exprime a quantidade de bacilos existente no interior dos granulomas, dos histiócitos ou livres nos tecidos (RIDLEY, 1977)

Com a objetiva de imersão, utilizou-se a escala empregada para o estudo da quantidade de bacilos, nos cortes histológicos da doença:

6. muitos bacilos aglomerados (acima de 1000)*
5. mais de 100 bacilos*
4. 10 a 100 bacilos*
3. 01 a 10 bacilos*
2. 01 a 10 bacilos em 10 campos de imersão
1. 01 a 10 bacilos em 100 campos de imersão (modificada pelo autor).

* Em campo de imersão

3.5 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

O teste exato de Fisher foi usado para analisar o grau de associação entre duas variáveis, quando os valores nas caselas foram pequenos. Foi considerado o nível 0,05 para indicar uma associação significativa.

O teste do sinal foi aplicado para fazer a comparação entre a reação na área exposta e área não exposta, quando se obtiveram diferenças negativas ou positivas entre os valores encontrados. ($p=0,05$)

A análise dos dados de dois grupos independentes, também foi feita pelo teste da soma de postos de Wilcoxon e, quando foi necessário comparar mais de dois grupos, utilizou-se o teste de Kruskal - Wallis. ($p=0,05$)

4. RESULTADOS

Na tabela 4.1 estão os resultados obtidos no estudo do grupo, onde se registram a idade, o sexo, a raça, a cor dos olhos e a profissão dos indivíduos. Referem-se ainda as leituras clínicas obtidas nas AE e ANE, tanto em milímetros como na sua correspondência pelo sistema de cruzes e os resultados das leituras histológicas .

Relação das siglas utilizadas:

LCRM	-	Leitura clínica da reação de Mitsuda
LHRMMM	-	Leitura histológica da reação de Mitsuda, segundo MICHALANY & MICHALANY
FG	-	Fração granuloma
IBG	-	Índice de bacilos no granuloma
AE	-	Área exposta à luz solar
ANE	-	Área não exposta à luz solar
RUV	-	Radiação ultravioleta
UVA	-	Ultravioleta A
UVB	-	Ultravioleta B
UVC	-	Ultravioleta C
RM	-	Reação de Mitsuda
MTT	-	Reação de Mitsuda tuberculóide
MBT	-	Reação de Mitsuda "borderline" tuberculóide
NBB	-	Reação de Mitsuda "borderline"

NBV	- Reação de Mitsuda "borderline" virchowiana
NVV	- Reação de Mitsuda virchowiana
MIT	- Reação de Mitsuda indeterminada tuber- culóide
MIV	- Reação de Mitsuda indeterminada vir- chowiana
MNR	- Reação de Mitsuda não reatora
C	- Caucasóide
Cl	- Caucasóide loiro
Cc	- Castanha clara
Ce	- Castanha escura
CC	- Castanha
A	- Azul
V	- Verde
AV	- Azul e verde

Tabela 4.1 Distribuição da amostra estudada, segundo a idade, o sexo, a raça, a cor dos olhos e a profissão dos indivíduos, e o resultado das leituras clínicas e histológicas, segundo MICHALANY & MICHALANY, da reação de Mitsuda, realizada nas áreas exposta e não exposta, 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com 6,2 X (10)7 bacilos/ml.

N	IDADE	SEXO	RAÇA	OLHOS	PROFISSÃO	LCRMAE	LHRNMMAE	IBGAE	FCAE	LCRMANE	LHRNMMAE	IBGANE	FCANE
01-	71	F	C	Cc	LAVRADORA	-	0	5	0,0	-	0	6	0,0
02-	79	M	Cl	A	LAVRADOR	-	0	0	0,0	-	0	0	0,0
03-	51	M	Cl	Ce	LAVRADOR	+- 2mm	II	2	0,5	+	III	3	0,8
04-	53	M	C	Ce	AMBULANTE	++ 7mm	III	3	0,6	++ 8mm	II	1	0,5
05-	63	M	C	Cc	JARDINEIRO	++ 6mm	III	1	0,5	++ 9mm	III	1	0,8
06-	40	M	C	Cc	PEDREIRO	+ 5mm	II	2	0,5	++ 6mm	II	1	0,5
07-	69	F	Cl	V	LAVRADORA	++15mm	II	1	0,4	++15mm	II	1	0,5
08-	58	F	C	V	COZINHEIRA	+ 5mm	IV	0	0,7	++7mm	IV	0	1,0
09-	84	F	C	V	LAVRADORA	-	III	0	0,2	+- 2mm	III	0	0,6
10-	70	F	C	V	LAVRADORA	-	III	1	0,2	-	0	0	0,0
11-	68	M	C	A	PEDREIRO	+ 4mm	III	3	0,3	+- 2mm	III	4	0,5
12-	50	F	C	AV	DOMESTICA	-	0	5	0,3	-	0	5	0,2
13-	77	F	C	Ce	LAVRADORA	-	II	3	0,2	-	II	3	0,2
14-	67	F	C	A	LAVRADORA	-	I	0	0,1	-	II	0	0,2
15-	67	M	C	A	LAVRADOR	-	II	3	0,2	+	III	0	0,5
16-	63	F	C	Cc	COZINHEIRA	++12mm	III	0	0,7	++5mm	IV	0	1,0
17-	40	F	C	A	DOMESTICA	-	I	4	0,2	++12mm	II	1	0,5
18-	55	F	Cl	V	LAVRADORA	+ 4mm	III	2	0,5	++ 7mm	III	1	0,7
19-	76	F	C	Cc	LAVRADORA	++ 6mm	III	0	0,7	++ 9mm	IV	0	0,7
20-	56	M	C	Cc	LAVRADOR	++10mm	II	0	1,0	++13mm	III	0	1,0
21-	66	F	C	V	LAVRADORA	++ 7mm	I	4	0,2	++ 10mm	III	2,5	1,0
22-	48	F	C	A	LAVRADORA	+- 2mm	I	5	0,2	-	II	1	0,5
23-	59	F	C	Cc	LAVRADORA	++ 10mm	III	0	1,0	++12mm	III	0	1,0
24-	57	F	C	V	LAVRADORA	++ 7mm	III	4	0,6	++ 7mm	III	4	0,6
25-	61	M	C	A	LAVRADOR	++ 7mm	0	0	0,1	++ 7mm	II	3	0,5
26-	56	F	C	A	LAVRADORA	+- 2mm	III	4	0,7	+ 5mm	III	4	0,7
27-	60	M	C	Cc	LAVRADOR	++ 7mm	III	0	1,0	++12mm	IV	0	1,0
28-	43	M	C	V	PEDREIRO	++ 9mm	IV	0	1,0	++9mm	IV	0	1,0
29-	45	M	C	A	LAVRADOR	++ 6mm	IV	1	1,0	++9mm	IV	1	1,0
30-	71	M	C	V	LAVRADOR	++ 7mm	III	5	1,0	++9mm	III	5	1,0

4.1 LEITURA CLÍNICA DA REAÇÃO DE MITSUDA

A avaliação da comparação entre as leituras clínicas nas AE e ANE é facilitada pelo agrupamento dos resultados na tabela 4.2.

Em ambos os grupos, as respostas iguais concentraram-se na classe ++, correspondendo a 40,0% dos indivíduos.

Na AE, nove indivíduos (30,0%) reagiram negativamente, em três (10,0%) as reações foram duvidosas, em quatro (13,3%) foram positivas (+), em 13 (43,3%) foram positivas (++) e em um (3,3%) foi positiva (+++).

Na ANE, oito indivíduos (26,6%) reagiram negativamente, em dois (6,6%) as reações foram duvidosas, em três (10,0%) foram positivas (+), em 15 (50,0%) foram positivas (++) e em dois (6,6%) foram positivas (+++).

Na AE, 59,9% das reações foram positivas segundo a leitura clínica; na ANE, as reações positivas clinicamente atingiram o valor de 66,6%.

Para melhor análise estatística da intensidade das respostas à lepromina, nas duas áreas cutâneas, foram consideradas as leituras em valores milimétricos. A enduração média das reações obtidas na AE foi de 4,67 mm, com desvio padrão de 4,12 e na ANE, a enduração média foi de 6,0

mm, com desvio padrão de 4,66.

A média das leituras na AE situou-se entre 3 e 5 mm, o que corresponde a uma leitura clínica com positividade de uma cruz (positiva +).

A média das leituras na ANE, sendo 6,0 mm, foi enquadrada entre as reações com enduração maior do que 5,0 mm, correspondendo a uma leitura clínica positiva (++) .

Aplicando-se o teste do sinal, para os valores em milímetros encontrados nas leituras de ambas as áreas, obteve-se $p = 0,0007$, revelando diferença significativa entre as respostas observadas pela leitura clínica nas AE e ANE destes 30 indivíduos.

A distribuição das reações foi a seguinte:

Reação menor na área exposta	16	(53,0%)
Reações iguais em ambas as áreas.....	12	(40,0%)
Reação maior na área exposta	02	(7,0%)

Para se investigar a associação entre as respostas à lepromina lidas clinicamente com a cor dos olhos, sexo e idade dos indivíduos, os resultados também foram distribuídos em tabelas que serão apresentadas a seguir. Embora as respostas à lepromina sejam tabeladas em cruces, para a sua análise estatística foram usados os valores em milímetros.

Tabela 4.2 Distribuição da amostra estudada, segundo a intensidade das leituras clínicas, obtidas nas áreas exposta e não exposta à luz solar, 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LCRMANE	-	+-	+	++	+++
LCRMAE					

-	7	1	1		9 (30,0)
+-	1		2		3 (10,0)
+		1		3	4 (13,3)
++				12	1 13 (43,3)
+++					1 1 (3,3)

	8(26,6)	2(6,6)	3(10,0)	15(50,0)	2(6,6) 30(100,0)

p= 0,0007 - teste do sinal para os valores em milímetros. Os números entre os parênteses são as porcentagens.

4.1.1 LEITURA CLÍNICA DA REAÇÃO DE MITSUDA E A COR DOS OLHOS

DADOS DA ÁREA EXPOSTA

A análise estatística dos dados, pelo teste da soma de postos, revelou que os indivíduos de olhos escuros não tiveram reações mais intensas do que os indivíduos de olhos claros na AE ($p = 0,19$).

Quando se observa a tabela 4.3., percebe-se que 18,1% dos indivíduos com olhos escuros tiveram reação negativa na AE, e 36,8% dos indivíduos de olhos claros, portanto, mais do que o dobro, reagiram negativamente. Embora o percentual de negatividade entre os indivíduos de olhos claros tenha sido o dobro da mesma resposta entre os indivíduos de olhos escuros, não houve diferença significativa como se observa na tabela 4.4. O teste exato de Fisher, aplicado aos resultados da tabela 4.4, encontrou o valor de $p=0,42$.

Chegou-se ao mesmo resultado quando se agruparam os valores negativos e duvidosos das leituras obtidas na AE, dos indivíduos com olhos claros e olhos escuros na tabela 4.5.. Para estes dados, o teste exato de Fisher forneceu $p=0,44$, confirmando não haver diferença significativa entre os resultados obtidos.

DADOS DA AREA NXO EXPOSTA:

Aplicando-se o teste da soma de postos aos dados da tabela 4.6 não se encontrou diferença significativa entre as reações na ANE, dos indivíduos com olhos claros e com olhos escuros ($p = 0,11$). As mesmas considerações feitas para as leituras clínicas na AE, com relação aos percentuais obtidos para ambas as cores dos olhos, foram aplicadas para os resultados obtidos na ANE.

Aplicando-se o teste exato de Fisher aos dados da tabela 4.7, obteve-se $p = 0,67$, confirmando a inexistência de diferença significativa.

O agrupamento de negativos e duvidosos, entre os indivíduos de olhos claros e escuros, não revelou diferença significativa, embora se note um maior percentual de reações negativas e duvidosas (42,1%) entre os indivíduos de olhos claros do que para os indivíduos de olhos escuros (18,1%) ($p = 0,25$) (Tabela 4.8).

COMPARAÇÃO DOS DADOS DAS AE E ANE:

Quando se analisam os resultados obtidos, constata-se não haver diferença significativa entre as intensidades das reações lidas nas AE e ANE entre indivíduos de olhos claros e olhos escuros. (teste da soma de postos $p = 0,18$).

A média, em milímetro, das leituras clínicas da reação de Mitsuda, foi menor entre os indivíduos de olhos claros mas o desvio padrão, sendo maior do que a média, revelou grande variabilidade que não permitiu detectar uma diferença significativa.

Tabela 4.3 Distribuição da amostra estudada, segundo a cor dos olhos dos indivíduos e a leitura clínica da reação de Mitsuda, realizada na área exposta à luz solar (AE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LCBNAE - +- + ++ +++

COR

OLHOS

ESCURA 2(18,1) 1(9,0) 1(9,0) 6(54,5) 1(9,0) 11(100,0)

CLARA 7(36,8) 2(10,5) 3(15,7) 7(36,8) 19(100,0)

 9 3 4 13 1

p = 0.19 (teste da soma de postos). Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

Tabela 4.4 Distribuição da amostra estudada, segundo a cor dos olhos dos indivíduos e o agrupamento da leitura clínica da reação de Mitsuda em negativa e duvidosa com positiva, lida na área exposta à luz solar, 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $5,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LCRMAE	NEGATIVA	DUVIDOSA/POSITIVA	
COR OLHOS			

ESCURA	2 (18,1)	9 (81,8)	11 (100,0)
CLARA	7 (36,8)	12 (63,1)	19 (100,0)

$p = 0,42$ (teste exato de Fisher). Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

Tabela 4.5 Distribuição da amostra estudada, segundo a cor dos olhos dos indivíduos e o agrupamento da leitura clínica da reação de Mitsuda em negativa_com_duvidosa e positiva, lida na área exposta à luz solar, 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LCRMAE	NEGATIVA/DUVIDOSA	POSITIVA	
COR OLHOS			
ESCURA	3 (27,2)	8 (72,7)	11 (100,0)
CLARA	9 (47,3)	10 (52,6)	19 (100,0)

$p = 0,44$ (teste exato de Fisher) Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

Tabela 4.6 Distribuição da amostra estudada, segundo a cor dos olhos dos indivíduos e a leitura clínica da reação de Mitsuda, realizada na área não exposta à luz solar, 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LERMANE	-	+-	+	++	+++
COR					
OLHOS					

ESCURA	2(18,1)		1(9,0)	6(54,5)	2(18,11) 11(100,0)
CLARA	6(31,5)	2(10,5)	2(10,5)	9(47,3)	19(100,0)

	8	2	3	15	2

p = 0,11 (teste da soma de postos). Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

Tabela 4.7 Distribuição da amostra estudada, segundo a cor dos olhos dos indivíduos e o agrupamento da leitura clínica da reação de Mitsuda em negativa e duvidosa com positiva, lida na área não exposta à luz solar, 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times 10^7$ bacilos/ml.

LCRHANE	NEGATIVA	DUVIDOSA/POSITIVA	
COR OLHOS			

ESCURA	2 (18,1)	9 (81,8)	11 (100,0)
CLARA	6 (31,5)	13 (68,4)	19 (100,0)

p= 0,67 (teste exato de Fisher) Os números entre parênteses correspondem ao percentual

Tabela 4.8 Distribuição da amostra estudada, segundo a cor dos olhos dos indivíduos e o agrupamento da leitura clínica da reação de Mitsuda em negativa, com duvidosa e positiva, lida na área não exposta à luz solar, 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times 10^7$ bacilos ml.

LESMANE	NEGATIVA/DUVIDOSA	POSITIVA	
COR OLHOS			

ESCURA	2 (18,1)	9 (81,8)	11 (100,0)
CLARA	8 (42,1)	11 (57,8)	19 (100,0)

p= 0,25 (teste exato de Fisher) Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

4.1.2 LEITURA CLÍNICA DA REACÇÃO DE MITSUDA E O SEXO

DADOS DA ÁREA EXPOSTA

Não houve diferença significativa entre as intensidades, em milímetros, das reacções de Mitsuda nas AE dos indivíduos dos sexos masculino e feminino. (O teste da soma de postos revelou $p = 0,25$).

A análise da tabela 4.9, levando-se em conta os valores percentuais, sugere maior negatividade entre as mulheres. Tal fato, no entanto, não encontrou suporte no estudo estatístico pela aplicação do teste exato de Fisher ($p = 0,23$) aos valores agrupados na tabela 4.10. Mesmo quando se agruparam os negativos e os duvidosos, não houve diferença entre as reacções em ambos os sexos ($p = 0,20$). (Tabela 4.11).

DADOS DA ÁREA NAO EXPOSTA

O estudo estatístico dos dados da tabela 4.12 não detectou diferença significativa entre as intensidades, em

milímetros, das reações lidas, clinicamente, na ANE, entre homens e mulheres (O teste da soma de postos revelou $p=0,22$).

Do mesmo modo que se observou na AE, os valores percentuais parecem indicar maiores índices de negatividade das reações na ANE, no sexo feminino. Esta suspeita não pode ser confirmada, pois os dados não resistiram a análise estatística (teste exato de Fisher $p=0,09$). O mesmo ocorreu quando se compararam os negativos e duvidosos com os positivos, em ambos os sexos (teste exato de Fisher $p=0,12$) (Tabelas 4.13 e 4.14).

COMPARAÇÃO DOS DADOS DAS AE E ANE

As intensidades, em milímetros, das reações observadas nas AE e ANE, nos indivíduos do sexo masculino e sexo feminino, não diferiram de modo significativo (teste da soma de postos - $p=0,19$).

Tabela 4.9 Distribuição da amostra estudada, segundo o sexo dos indivíduos e a leitura clínica da reação de Mitsuda, realizada na área exposta à luz solar (LCRMAE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times 10^7$ bacilos/ml.

LCRMAE -	+-	+	++	+++	
SEXO					

MASC.	2(15,3)	1(7,6)	2(15,3)	7(53,8)	1(7,6) 13(100)
FEM.	7(41,1)	2(11,7)	2(11,7)	6(35,2)	17(100)

	9	3	4	13	1
MASC. MASCULINO	FEM. FEMININO				

$p=0,25$ (teste da soma de postos) Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

Tabela 4.10 Distribuição da amostra estudada, segundo o sexo dos indivíduos e o agrupamento da leitura clínica da reação de Mitsuda em negativa e duvidosa com positiva, lida na área exposta à luz solar (LCRMAE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LCRMAE	NEGATIVA	DUVIDOSA/POSITIVA	
SEXO			

MASCULINO	2 (15,3)	11 (84,6)	13 (100,0)
FEMININO	7 (41,1)	10 (58,8)	17 (100,0)

p= 0,23 (teste exato de Fisher) Os números entre parênteses correspondem ao percentual

Tabela 4.11 Distribuição da amostra estudada, segundo o sexo dos indivíduos e o agrupamento da leitura clínica da reação de Mitsuda em negativa com duvidosa e positiva, lida na área exposta à luz solar (LCRMAE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LCRMAE	NEGATIVA/DUVIDOSA	POSITIVA	
SEXO			

MASCULINO	3(23,0)	10(76,9)	13(100,0)
FEMININO	9(52,9)	08(47,0)	17(100,0)

p= 0,20 (teste exato de Fisher) Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

Tabela 4.12 Distribuição da amostra estudada, segundo o sexo dos indivíduos e a leitura clínica da reação de Mitsuda, realizada na área não exposta à luz solar (LCRMANE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1ml de lepromina com $6,2 \times 10^7$ bacilos/ml.

LCRMANE -	++	+	++	+++	
SEXO					

MASC.	1(07,6)	1(07,6)	2(15,3)	8(61,5)	13(100)
FEM.	7(41,1)	1(05,8)	1(05,8)	7(41,1)	17(100)

	8	2	3	15	2
MASC. - MASCULINO					
FEM. - FEMININO					

p= 0,22 (teste da soma de postos) Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

Tabela 4.13 Distribuição da amostra estudada, segundo o sexo dos indivíduos e o agrupamento da leitura clínica da reação de Mitsuda em negativa e duvidosa com positiva, lida na área não exposta à luz solar (LCRMANE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LCRMANE NEGATIVA DUVIDOSA/POSITIVA

SEXO

MASCULINO	1 (07,6)	12 (92,3)	13 (100,0)
FEMININO	7 (41,1)	10 (58,8)	17 (100,0)

p= 0,09 (teste exato de Fisher). Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

Tabela 4.14 Distribuição da amostra estudada, segundo o sexo dos indivíduos e o agrupamento da leitura clínica da reação de Mitsuda em negativa com duvidosa e positiva, lida na área não exposta à luz solar (LCRMANE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LCRMANE	NEGATIVA/DUVIDOSA	POSITIVA
SEXO		

MASCULINO	2 (15,3)	11 (84,6) 13 (100,0)
FEMININO	8 (47,0)	09 (52,9) 17 (100,0)

p= 0,12 (teste exato de Fisher). Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

4.1.3 LEITURA CLÍNICA DA REAÇÃO DE MITSUDA E A IDADE

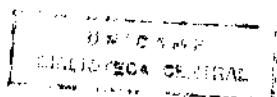
DADOS DA ÁREA EXPOSTA

As leituras clínicas foram comparadas entre os grupos etários 40-49 anos, 50-59 anos e maiores de 60 anos de idade; analisaram-se, também, possíveis diferenças que pudessem existir entre indivíduos maiores e menores de 60 anos de idade. Os resultados foram agrupados nas tabelas 4.15 e 4.16.

Sendo os grupos muito pequenos (5, 9 e 16 indivíduos), tornou-se muito difícil estabelecer uma diferença significativa ($p = 0,74$ - teste de Kruskal-Wallis). A aplicação do teste exato de Fisher, para os dados da tabela 4.16, revelou não haver diferença significativa entre as leituras observadas na área exposta e os diferentes grupos etários ($p = 0,12$).

DADOS DA ÁREA NÃO EXPOSTA

Não há diferença significativa entre as leituras clínicas da reação de Mitsuda na ANE dos três grupos etários



($p = 0,75$ - teste de Kruskal-Wallis), assim como entre os indivíduos maiores e menores de 60 anos de idade ($p = 0,69$ - teste exato de Fisher), (tabelas 4.17 e 4.18).

COMPARAÇÃO DOS DADOS DAS AE E ANE

A comparação das leituras, com os valores da endureção em milímetros, obtidas nas AE e ANE, nos diferentes grupos etários, não revelou diferença significativa ($p = 0,31$ - teste de Kruskal-Wallis).

Tabela 4.15 Distribuição da amostra estudada, segundo o grupo etário dos indivíduos e a leitura clínica da reação de Mitsuda, realizada na área exposta à luz solar (LCRMAE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LCRMAE - +/- + ++ +++

G. ETARIO

40-49	1	1	1	2		5 (100,0%)
50-59	1	2	2	3	1	9 (100,0%)
>= 60	7		1	8		16 (100,0%)
	9	3	4	13	1	30

p= 0,74 (teste de Kruskal-Wallis)

Tabela 4.16 Distribuição dos indivíduos, segundo os grupos etários menores e maiores de 60 anos e o agrupamento da leitura clínica da reação de Mitsuda em negativa e duvidosa - com positiva, lida na área exposta à luz solar (LCRMAE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LCRMAE	NEGATIVA	DUVIDOSA/POSITIVA	
G. ETARIO			

<60	2 (14,2)	12 (85,7)	14 (100,0)
>= 60	7 (43,7)	09 (56,2)	16 (100,0)

p= 0,12 (teste exato de Fischer). Os números entre os parênteses correspondem ao percentual.

Tabela 4.17 Distribuição da amostra estudada, segundo o grupo etário dos indivíduos e a leitura clínica da reação de Mitsuda, realizada na área não exposta à luz solar (LCRMANE) 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LCRMANE - +/- + ++ +++

G. ETARIO

40-49	2			3		5 (100,0%)
50-59	1		2	5	1	9 (100,0%)
>= 60	5	2	1	7	1	16 (100,0%)
	8	2	3	15	2	30

p= 0,75 (teste de Kruskal-Wallis)

Tabela 4.18 Distribuição dos indivíduos, segundo os grupos etários menores e maiores de 60 anos e o agrupamento da leitura clínica da reação de Mitsuda em negativa e duvidosa com positiva, lida na área não exposta à luz solar (LCRMANE) 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LCRMANE	NEGATIVA	DUVIDOSA/POSITIVA	
G. ETARIO			

< 60	3 (21,4)	11 (78,5)	14 (100,0)
>= 60	5 (31,2)	11 (68,7)	16 (100,0)

p= 0,69 (teste exato de Fisher). Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

4.2 LEITURA HISTOLÓGICA DA REAÇÃO DE MITSUDA

4.2.1 LEITURA POLARIZADA, SEGUNDO MICHALANY & MICHALANY

Aplicando-se os conceitos definidos por MICHALANY & MICHALANY às alterações histológicas determinadas pela inoculação de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml obtiveram-se os resultados distribuídos na tabela 4.19.

Tabela 4.19 Distribuição das leituras histológicas da reação de Mitsuda, segundo MICHALANY & MICHALANY, de acordo com a sua intensidade observada nas AE e ANE, 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6.2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

INTENSIDADE	AREA EXPOSTA	AREA NXO EXPOSTA
0	4 (13,3%)	4 (13,3%)
I	4 (13,3%)	
II	7 (23,3%)	8 (26,6%)
III	12 (40,0%)	12 (40,0%)
IV	3 (10,0%)	6 (20,0%)
	30 (100,0%)	30 (100,0%)

A comparação entre os resultados obtidos nas AE e ANE revelou:

Intensidade menor na AE.....	12	(40,0%)
Intensidades iguais	16	(53,3%)
Intensidade maior na AE.....	02	(6,6%)

A aplicação do teste do sinal, para os grupos de respostas diferentes, nas AE e ANE, dos 30 indivíduos, revelou uma diferença significativa ($p = 0,007$), sendo portanto a intensidade histológica da reação de Mitsuda maior na área não exposta do que na área exposta.

As intensidades das respostas histológicas foram correlacionadas com a cor dos olhos, com o sexo e com a idade dos indivíduos, como ver-se-á adiante.

4.2.1.1 LEITURA HISTOLÓGICA DA REAÇÃO DE NITSUDA E A COR DOS OLHOS DOS INDIVÍDUOS

A análise das tabelas 4.20 e 4.21 revelou não haver diferença significativa entre a intensidade histológica das reações e a cor dos olhos dos indivíduos tanto na AE ($p=0,71$ - teste da soma de postos) como na ANE ($p=0,56$ - teste da soma de postos).

A observação dos valores percentuais revelou que 54,5% dos indivíduos com olhos escuros foram enquadrados na classe III, segundo as respostas na AE. Dentre os indivíduos com olhos claros, apenas 31,5% tiveram resposta histológica da classe III, na AE. As reações negativas e duvidosas (classe 0 e I) ocorreram em valores percentuais maiores entre os indivíduos com olhos claros (15,7 e 21,0% respectivamente) do que entre indivíduos de olhos escuros (9,0% e 0,0%). O pequeno número de casos nestas classes não permitiu a confirmação estatística destas diferenças percentuais.

Na ANE, o comportamento da pele, frente à inoculação da lepromina, foi semelhante nos indivíduos de olhos claros e escuros.

A comparação das intensidades das respostas histológicas das reações nas AE e ANE e a cor dos olhos dos indivíduos não revelou diferença significativa ($p=0,97$ - teste da soma de postos).

Tabela 4.20 Distribuição da amostra estudada, segundo a cor dos olhos dos indivíduos e a intensidade da leitura histológica da reação de Mitsuda, segundo MICHALANY & MICHALANY, da área exposta à luz solar (LHRMMMAE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LHRMMMAE	0	I	II	III	IV
COR					
OLHOS					

ESCURA	1(9,0)		4(36,3)	6(54,5)	11(100)
CLARA	3(15,7)	4(21,0)	3(15,7)	6(31,5)	3(15,7)
					19(100)

	4	4	7	12	3
					30

p= 0,71 (teste da soma de postos). Os números entre parênteses correspondem ao percentual

Tabela 4.21 Distribuição da amostra estudada, segundo a cor dos olhos dos indivíduos e a intensidade da leitura histológica da reação de Mitsuda, segundo MICHALANY & MICHALANY, da área não exposta à luz solar (LHRMMANE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times 10^7$ bacilos/ml.

LHRMMANE	0	I	II	III	IV
COR					
OLHOS					

ESCURA	1(9,0)		3(27,2)	4(36,3)	3(27,2) 11(100)
CLARA	3(15,7)		5(26,3)	8(42,0)	3(15,7) 19(100)

	4		8	12	6 30

$p = 0,56$ (teste da soma de postos). Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

4.2.1.2 LEITURA HISTOLÓGICA DA REAÇÃO DE MITSUDA E O SEXO DOS INDIVÍDUOS

A intensidade das respostas histológicas da reação de Mitsuda não sofreu influência do sexo dos indivíduos em ambas as AE e ANE ($p = 0,49$ - teste da soma de postos e $p = 0,41$ - teste da soma de postos, respectivamente). (Tabelas 4.22 e 4.23).

A comparação das intensidades encontradas nas AE e ANE, relativamente ao sexo dos indivíduos, também não revelou diferença significativa. ($p = 0,93$ - teste da soma de postos).

Tabela 4.22 Distribuição da amostra estudada, segundo o sexo dos indivíduos e a intensidade da leitura histológica da reação de Mitsuda, de acordo com MICHALANY & MICHALANY, da área exposta à luz solar (LHRMMAE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LHRMMAE	0	I	II	III	IV	
SEXO						

NASC.	2(15,3)		4(30,7)	5(38,4)	2(15,3)	13(100)
FEM.	2(11,7)	4(23,5)	3(17,6)	7(41,1)	1(5,8)	17(100)

	4	4	7	12	3	30

$p = 0,49$ (teste da soma de postos). Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

NASC.- MASCULINO FEM. - FEMININO

Tabela 4.23 Distribuição da amostra estudada, segundo o sexo dos indivíduos e a intensidade da leitura histológica da reação de Mitsuda, de acordo com MICHALANY & MICHALANY, da área não exposta à luz solar (LHRMMANE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times 10^7$ bacilos/ml.

LHRMMANE	0	I	II	III	IV
SEXO					

MASC.	1(7,6)		3(23,0)	6(46,1)	3(23,0) 13(100)
FEM.	3(17,6)		5(29,4)	6(35,2)	3(17,6) 17(100)

	4		8	12	6

$p = 0,41$ (teste da soma de postos). Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

MASC. - MASCULINO FEM. - FEMININO

4.2.1.3 LEITURA HISTOLÓGICA DA REAÇÃO DE MITSUDA E A IDADE DOS INDIVÍDUOS

A idade dos indivíduos não teve influência nas intensidades das respostas histológicas da reação de Mitsuda, tanto na AE ($p = 0,43$ - teste de Kruskal-Wallis), como na ANE ($p = 0,85$ - teste de Kruskal-Wallis); também não houve diferença significativa entre as leituras nas AE e ANE e o grupo etário ($p = 0,36$). Estes resultados encontram-se nas tabelas 4.24 e 4.25.

Tabela 4.24 Distribuição da amostra estudada, segundo o grupo etário dos indivíduos e a intensidade da leitura histológica da reação de Mitsuda, de acordo com MICHALANY & MICHALANY, da área exposta à luz solar (LHRMMMAE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times 10^7$ bacilos/ml.

LHRMMMAE	0	I	II	III	IV
G. ETÁRIO					

40-49		2(40,0)	1(20,0)		2(40,0) 05(100)
50-59	1(11,1)		2(22,2)	5(55,5)	1(11,1) 09(100)
>= 60	3(18,7)	2(12,0)	4(25,0)	7(43,7)	16(100)

p= 0,43 (teste de Kruskal-Wallis). Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

Tabela 4.25 Distribuição da amostra estudada, segundo o grupo etário dos indivíduos e a intensidade da leitura histológica da reação de Mitsuda, de acordo com MICHALANY & MICHALANY, da área não exposta à luz solar (LHRMMANE), 21 dias após a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml.

LHRMMANE	O	I	II	III	IV
G. ETÁRIO					

40-49			3(60,0)		2(40,0) 05(100)
50-59	1(11,1)		1(11,1)	6(66,6)	1(11,1) 09(100)
>= 60	3(18,7)		4(25,0)	6(37,5)	3(18,7) 16(100)

p = 0,85 (teste de Kruskal-Wallis). Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

4.2.1.4 CORRELAÇÃO ENTRE AS LEITURAS CLÍNICA E HISTOLÓGICA POLARIZADA DA REAÇÃO DE MITSUDA, NAS ÁREAS EXPOSTA E NÃO EXPOSTA, DA AMOSTRA EXAMINADA

As leituras clínicas foram divididas em dois grupos, de acordo com a sua intensidade medida em milímetros - 0 a 2 mm e de 3 a 15 mm - (15 mm foi o maior diâmetro de endureção obtido).

As leituras histológicas também foram divididas em dois grupos, de acordo com a positividade (classes II, III, e IV) e negatividade (classes 0 e I).

DADOS DA ÁREA EXPOSTA

Houve associação significativa entre a intensidade da leitura clínica e a positividade da reação histológica ($p=0,034$ - teste exato de Fisher) (tabela 4.26).

Dentre as 18 reações clínicas maiores do que 3mm, 16 (88,8%) foram positivas histologicamente, sendo três (16,6%) para a classe II, 10 (55,5%) para a classe III e três (16,6%) para a classe IV. As duas (11,1%) leituras negativas histologicamente tiveram endureção de 7mm.

Das 12 leituras clínicas negativas ou duvidosas, ou seja, menores do que 3mm, seis (50,0%) revelaram ser positivas (quatro para a classe II, e duas para a classe III) e seis (50,0%) foram realmente negativas.

A média, em milímetros, dos valores das leituras clínicas, que histologicamente foram classificadas como classes 0 e I, foi de 2mm e para as classes II, III e IV, foi de 5,63mm.

DADOS DA ÁREA NAO EXPOSTA

A associação da leitura clínica maior do que 3mm (20=100%) com leitura histológica positiva foi mais significativa do que na área exposta à luz solar ($p=0,008$ - teste exato de Fisher), com a seguinte distribuição para as classes: II - quatro (20,0%), III - 10 (50,0%) e IV - seis (30,0%). (Tabela 4.27).

Das 10 leituras clínicas negativas ou duvidosas, seis (60,0%) foram histologicamente positivas, sendo quatro (40,0%) de classes II e duas (20,0%) de classe III; quatro (40,0%) foram realmente negativas.

A média, em milímetros, para os valores negativos e duvidosos (classes 0 e I) foi zero e de 6,92 mm para as classes II, III e IV.

Tabela 4.26 Correlação entre as leituras clínica e histológica polarizada da reação de Mitsuda, segundo as suas intensidades na área exposta à luz solar.

LHRMMAE	0, I	II, III • IV	
LCRMAE			

0-2 mm	6 (50,0)	6 (50,0)	12 (100,0)
3-15 mm	2 (11,1)	16 (88,8)	18 (100,0)

p= 0,034 (Teste exato de Fisher). Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

Tabela 4.27 Correlação entre as leituras clínica e histológica polarizada da reação de Mitsuda, segundo as suas intensidades na área não exposta à luz solar.

LHRMMANE	0, I	II, III • IV
LCRMANE		
0-2 mm	4 (40,0)	6 (60,0) 10 (100,0)
3-15 mm	0	20 (100,0) 20 (100,0)

p= 0,008 (Teste exato de Fisher). Os números entre parênteses correspondem ao percentual.

4.2.2 LEITURA HISTOLÓGICA ESPECTRAL DA REAÇÃO DE MITSUDA

A leitura histológica espectral visa a classificação da reação de Mitsuda de acordo com as diferentes respostas que o organismo oferece ao bacilo de Hansen. Deste modo, as lâminas histológicas foram lidas e interpretadas como se fossem oriundas de doentes com hanseníase. Os resultados obtidos podem ser analisados na tabela 4.28.

A análise estatística destes dados é muito difícil, pois não há uma ordem natural para todas as categorias. É possível, no entanto, analisar a leitura desta amostra, considerando-se apenas a correspondência das respostas nas AE e ANE, como se observa nas tabelas 4.29 e 4.30.

Dezessete indivíduos (56,6%) apresentaram reações iguais em ambas as áreas, exposta e não exposta. Registraram-se as respostas iguais em ambas as áreas, não se considerando se eram boas ou ruins, favoráveis ou desfavoráveis. (tabela 4.29).

A seguir, analisaram-se apenas os pares não iguais, ou seja, aqueles onde a resposta à lepromina foi diferente, nas AE e ANE. Da análise, foram excluídos os 3 pares que não puderam ser comparados com os MNR (não reatores).

Tabela 4.28 Distribuição das reações de Mitsuda nas AE e ANE, segundo a leitura histológica espectral.

LEITURA ESPECTRAL	AREA EXPOSTA	AREA NAO EXPOSTA
MNR	2 (6,6%)	2 (6,6%)
MTT (4.6 a 4.8)*	11 (36,6%)	15 (50,0%)
MBT (4.9 a 4.11)*	3 (10,0%)	1 (3,3%)
MBB (4.1 a 4.5)*	6 (20,0%)	4 (13,3%)
MBV (4.15)*	1 (3,3%)	2 (6,6%)
MVV (4.16)*	1 (3,3%)	1 (3,3%)
MIT (4.12)*	2 (6,6%)	3 (10,0%)
MIV (4.13 e 4.14)*	4 (13,3%)	2 (6,6%)
	30 (100,0%)	30 (100,0%)

* Indicam os números das figuras

Para os 10 pares diferentes restantes, aplicou-se o teste do sinal. A reação indeterminada foi considerada como a menor, em qualquer par, e o polo T, sempre, como o maior e o polo V, como o menor. Os resultados podem ser analisados na tabela 4.30.

Tabela 4.29 Distribuição dos pares de reação de Mitsuda espectral iguais, nas AE e ANE à luz solar.

AREA EXPOSTA	AREA NAO EXPOSTA	n
MTT	MTT	10 (33,3%)
MBB	MBB	2 (6,6%) ,
MBV	MBV	1 (3,3%)
MVV	MVV	1 (3,3%)
MIT	MIT	1 (3,3%)
MIV	MIV	2 (6,6%)
		17 (56,6%)

Tabela 4.30 Comparação de pares diferentes da reação de Mitsuda espectral, nas AE e ANE à luz solar.

AREA EXPOSTA		AREA NAO EXPOSTA	n
AREA	MBT	MTT	2 (6,6%)
EXPOSTA	MBB	MTT	2 (6,6%)
MENOR	MBB	MBT	1 (3,3%)
	MIT	MTT	1 (3,3%)
	MIV	MIT	2 (6,6%)
			8 (26,6%)
AREA	MBT	MBB	1 (3,3%)
EXPOSTA	MBB	MBV	1 (3,3%)
MAIOR			2 (6,6%)
	MNR	MNR	1 (3,3%)
NAO	MTT	MNR	1 (3,3%)
REATOR	MNR	MBB	1 (3,3%)
			3 (9,9%)

Não foi possível demonstrar uma diferença significativa com apenas 10 pares de respostas diferentes ($p=0,055$).

4.2.3 ÍNDICE DE BACILOS NO GRANULOMA

A comparação dos índices de bacilos no granuloma de ambas as áreas, exposta e não exposta, revelou que os seus valores não são úteis para diferenciar as respostas tissulares à inoculação da lepromina ($p= 0,29$ - teste do sinal), embora a média dos índices para a AE tenha sido 1,93 e a média para a ANE foi de 1,6.

4.2.4 FRAÇÃO GRANULOMA

A intensidade da reação de Mitsuda pode ser avaliada considerando-se a área da derme e/ou hipoderme que foi ocupada pelo processo inflamatório, decorrente da inoculação da lepromina.

A comparação dos dados obtidos nas leituras histológicas, nas AE e ANE, revelou que as reações são mais intensas na ANE. A fração granuloma teve, como média na AE, o valor 0,48 e desvio padrão 0,34 e na ANE estes valores foram 0,62 e 0,33 respectivamente. Há uma diferença significativa entre as reações, nas AE e ANE, com base na fração granuloma ($p = 0,0003$ - teste do sinal).

4.2.5 LOCALIZAÇÃO DO INFILTRADO NAS AE E ANE

A leitura histológica da reação de Mitsuda, observada na AE, revelou que o processo inflamatório localizava-se abaixo da zona de degeneração basofílica do colágeno dérmico. A ocupação desta região basofílica, pelo processo inflamatório, ocorreu em 11/30 (36,6%) das preparações histológicas. O acometimento da área basofílica esteve relacionado com reações de Mitsuda com leituras clínicas positivas (++), e com as seguintes classes histológicas: 6/11 reação de classes III, 2/11 reações da classe IV, 2/11 reações de classe II e 1/11 reações de classe I.

A fração granuloma nas 11 reações também revelou boa intensidade: 5/11 a FG= 1,0, em 2/11 a FG= 0,7, em 1/11 a FG= 0,6 em 1/11 a FG= 0,3, e em 2/11 a FG= 0,2.

A leitura histológica da reação de Mitsuda, observada na ANE, revelou que o processo inflamatório localizou-se em toda a derme e o acometimento da derme superficial não esteve relacionado com a intensidade das leituras clínicas e histológica da reação.

4.2.6 INFILTRAÇÃO PERINEURAL E OS NERVOS NA REAÇÃO DE MITSUDA

O processo inflamatório, granulomatoso ou não, que é determinado pela inoculação da lepromina, revelou ser neurotrópico.

Os filetes nervosos, envoltos pelo processo inflamatório, estavam espessados. Em nenhum filete nervoso foram demonstrados bacilos álcool-ácido resistentes. (Figs nº 4.4; 4.5; 4.10; 4.12; 4.13).

Em 11 preparações do material da AE e em 15 preparações do material da ANE, onde havia filetes nervosos, observaram-se infiltrados inflamatórios em torno. Nas 19 preparações restantes da AE e nas 15 restantes da ANE, não se observaram filetes nervosos.

4.2.7 NECROSE

Das 60 preparações histológicas estudadas, com muitos cortes de cada, somente em 7 da AE e em 8 da ANE foi observada a necrose do tipo caseoso.

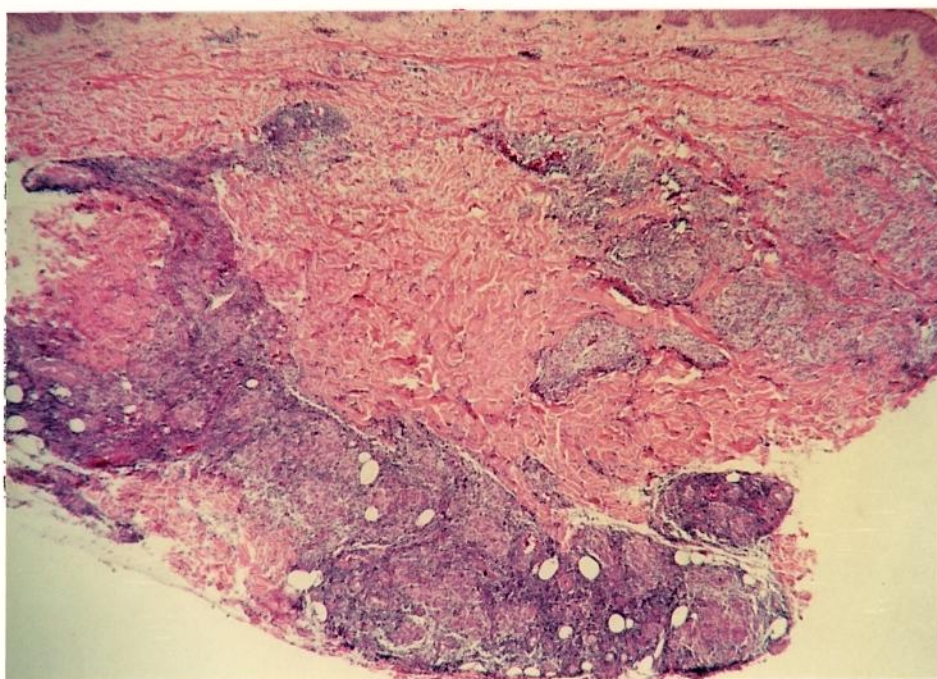


Fig. nº 4.1 Reação de Mitsuda "Borderline" 37,5X.

Coloração H&E.

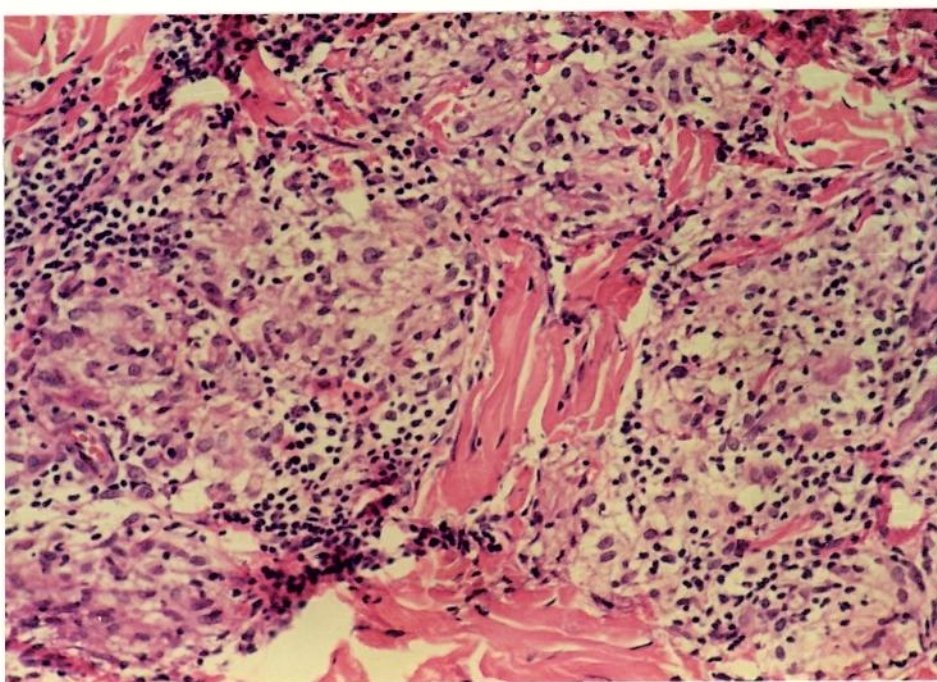


Fig. nº 4.2 Reação de Mitsuda "Borderline". Enfoque da área histiocitária macrofágica da Fig. nº 4.1 240X.

Coloração H&E.

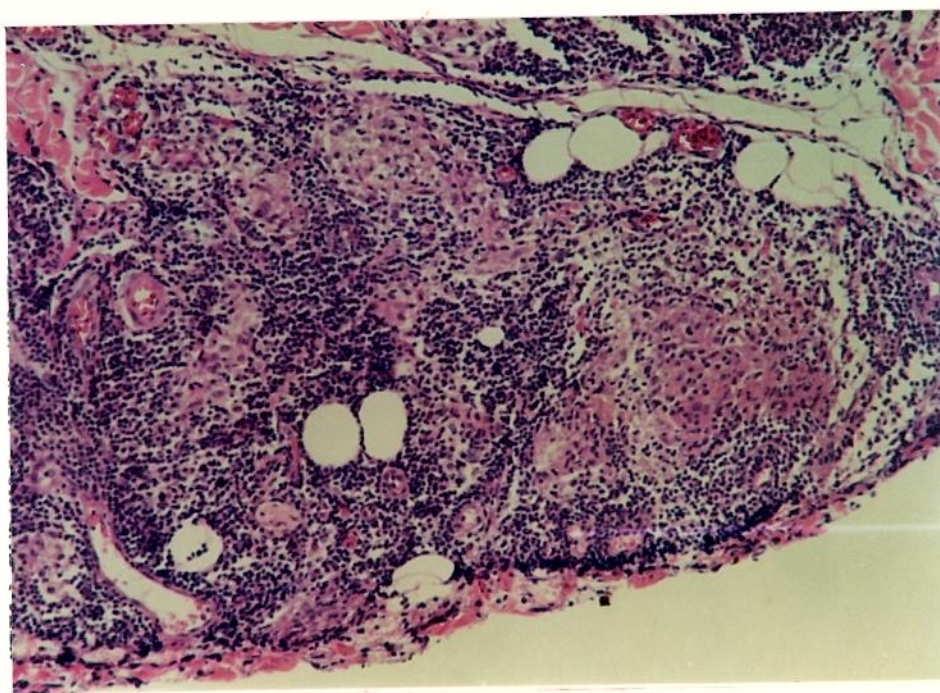


Fig. nº 4.3 Reação de Mitsuda "Borderline". Enfoque da área tuberculóide da Fig. nº 4.1. 151 X. Coloração H&E

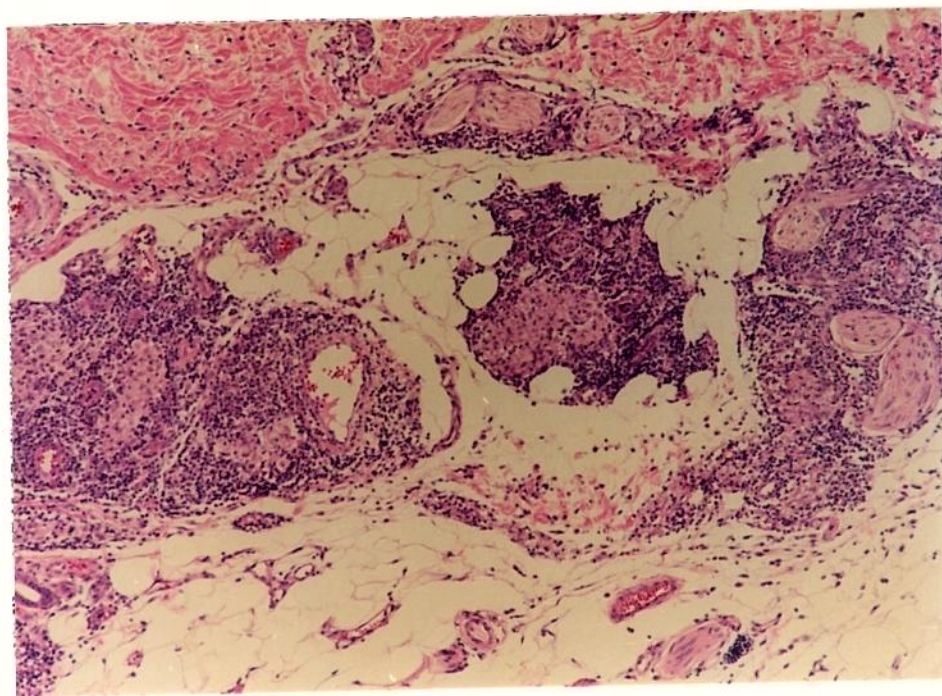


Fig. nº 4.4 Reação de Mitsuda "Borderline". Área tuberculóide com marcado neurotropismo. 95 X. Coloração H&E.

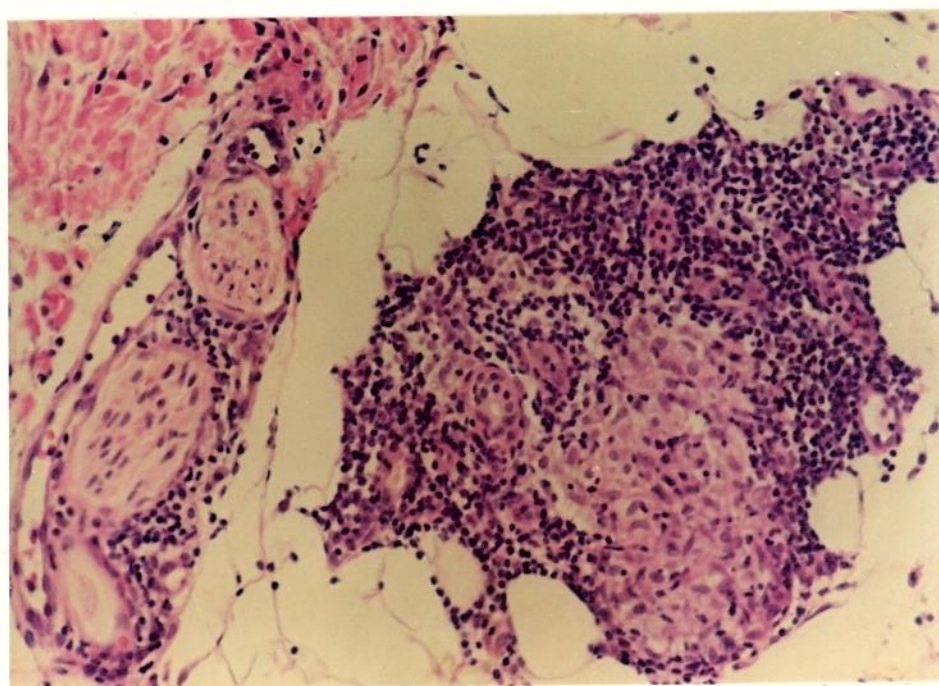


Fig. nº 4.5 Reação de Mitsuda "Borderline". Detalhe da Fig. nº4.4 com nítido foco tuberculóide e processo inflamatório perineural. 240 X. Coloração H&E.

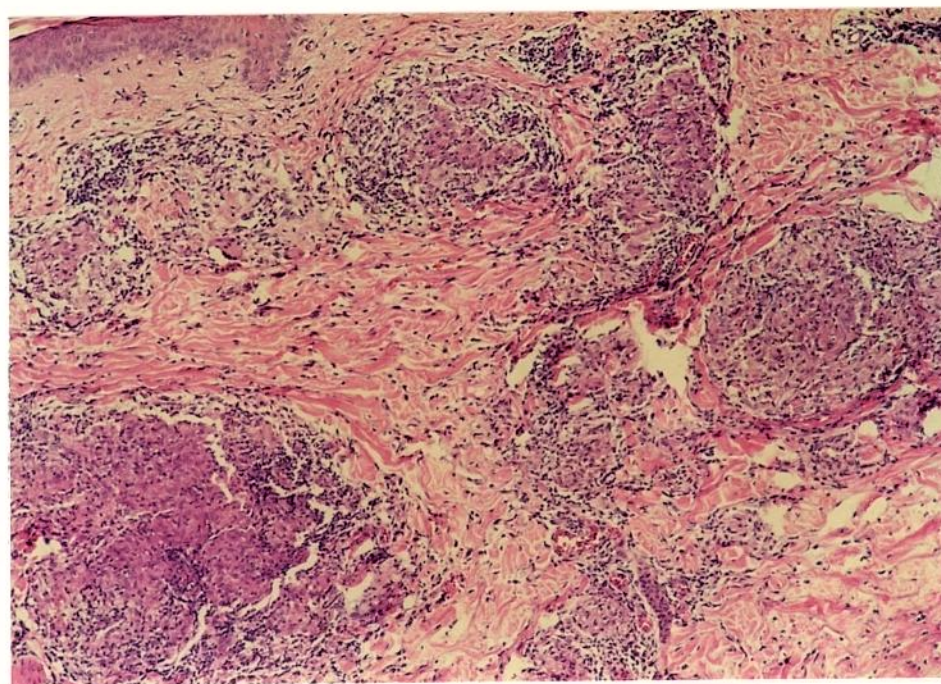


Fig. nº 4.6 Reação de Mitsuda Tuberculóide. 94,5X. Coloração H&E

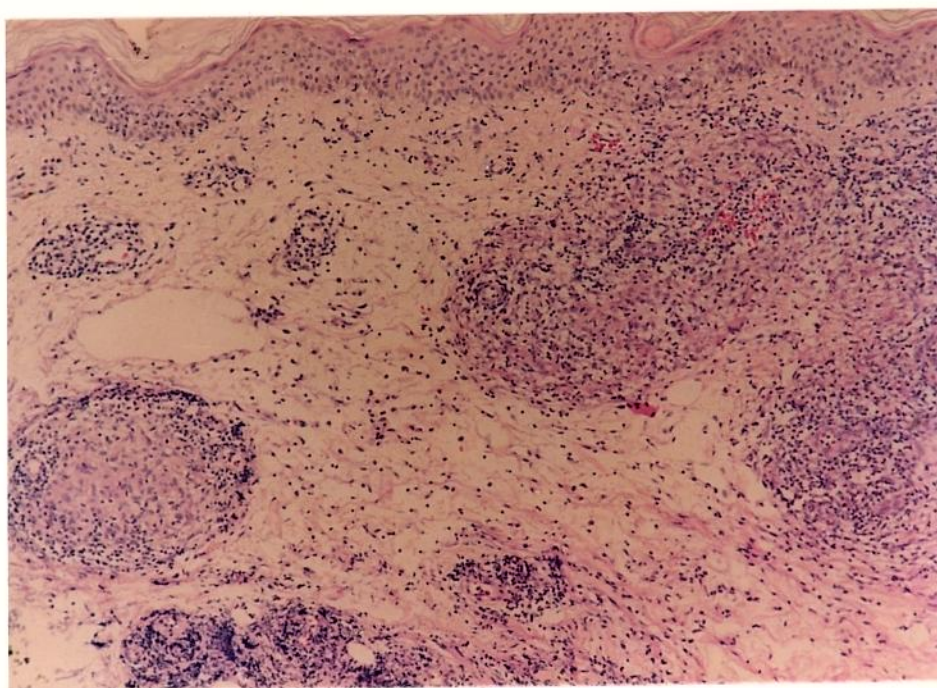


Fig. nº 4.7 Reação de Mitsuda Tuberculóide. 94,5X. Coloração H&E

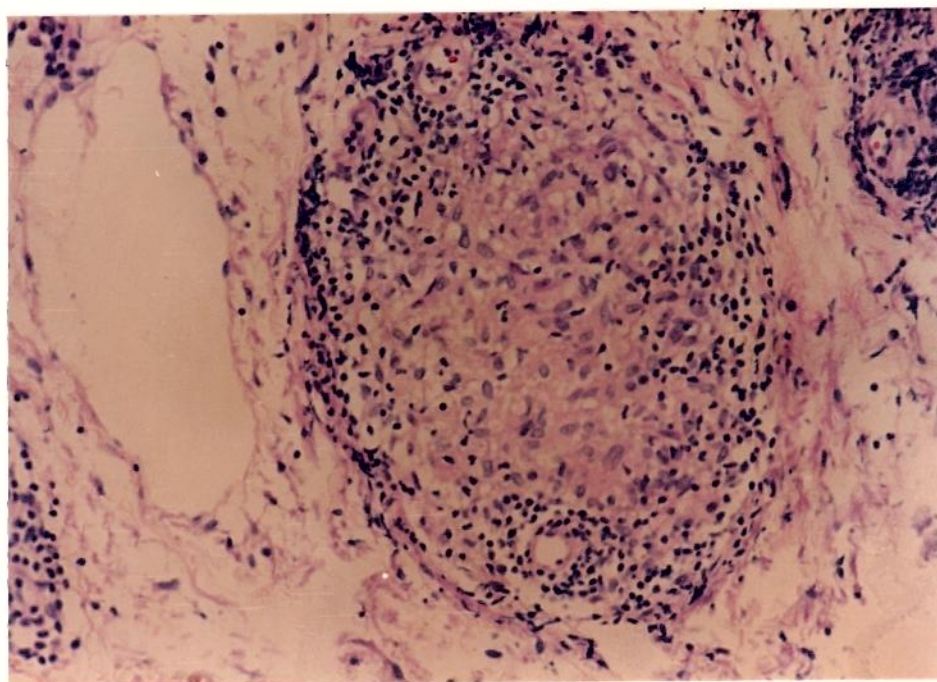


Fig. nº 4.8 Reação de Mitsuda Tuberculóide. 240X. Coloração H&E.

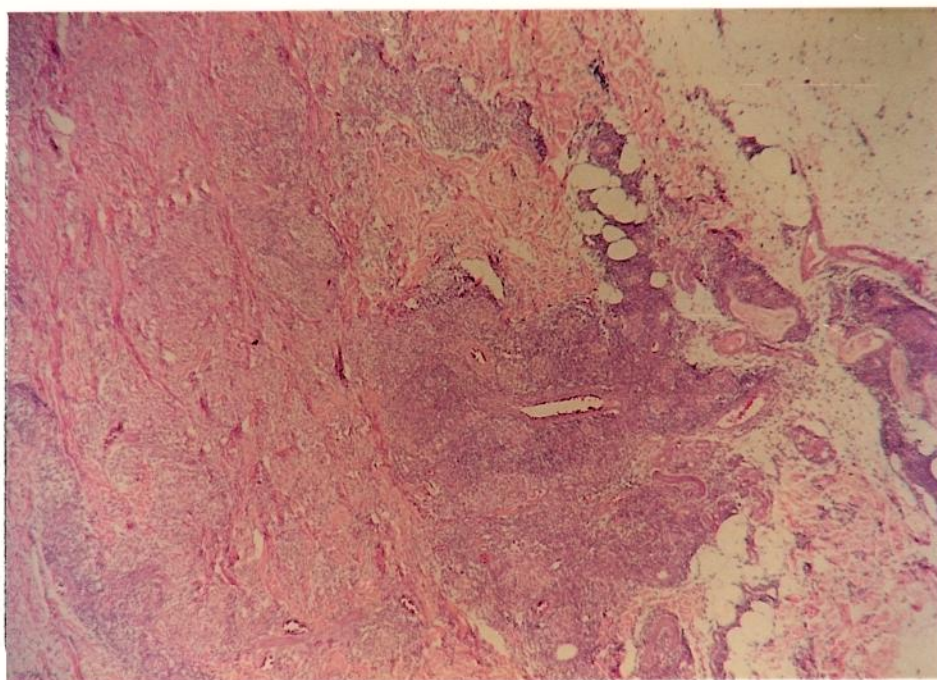


Fig. nº 4.9 Reação de Mitsuda "Borderline" Tuberculóide
37,5X. Coloração H&E.

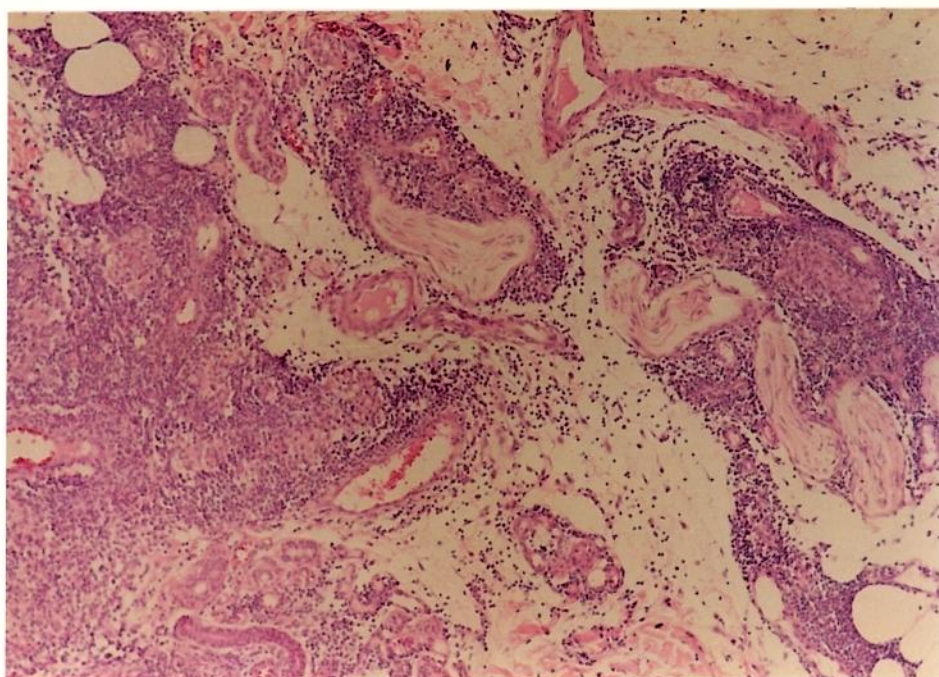


Fig. nº 4.10 Reação de Mitsuda "Borderline" Tuberculóide.
Detalhe do envolvimento perineural. 94,5X. Co-
loração H&E.

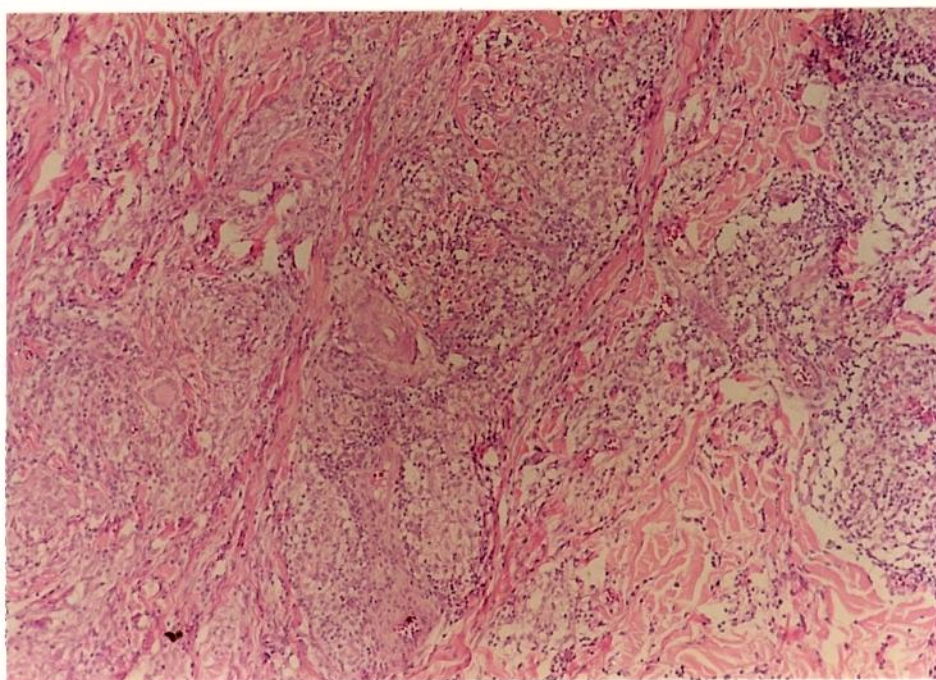


Fig. nº 4.11 Reação de Mitsuda "Borderline" Tuberculóide.
Detalhe da Fig.nº4.9. 94,5X. Coloração H&E.

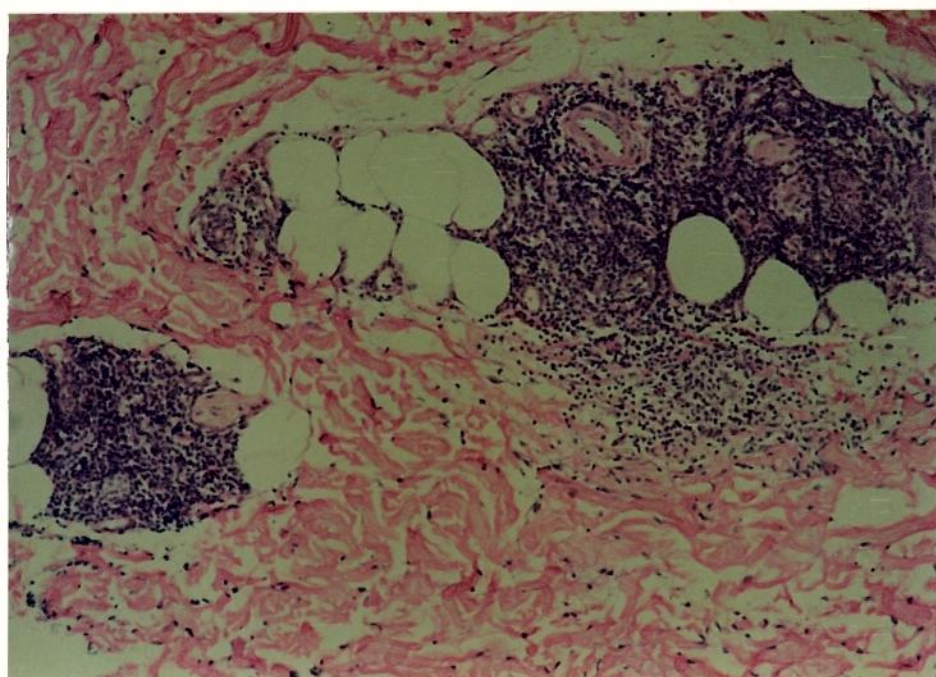


Fig. nº 4.12 Reação de Mitsuda Indeterminada Tuberculóide
com envolvimento neural. 120X. Coloração H&E.

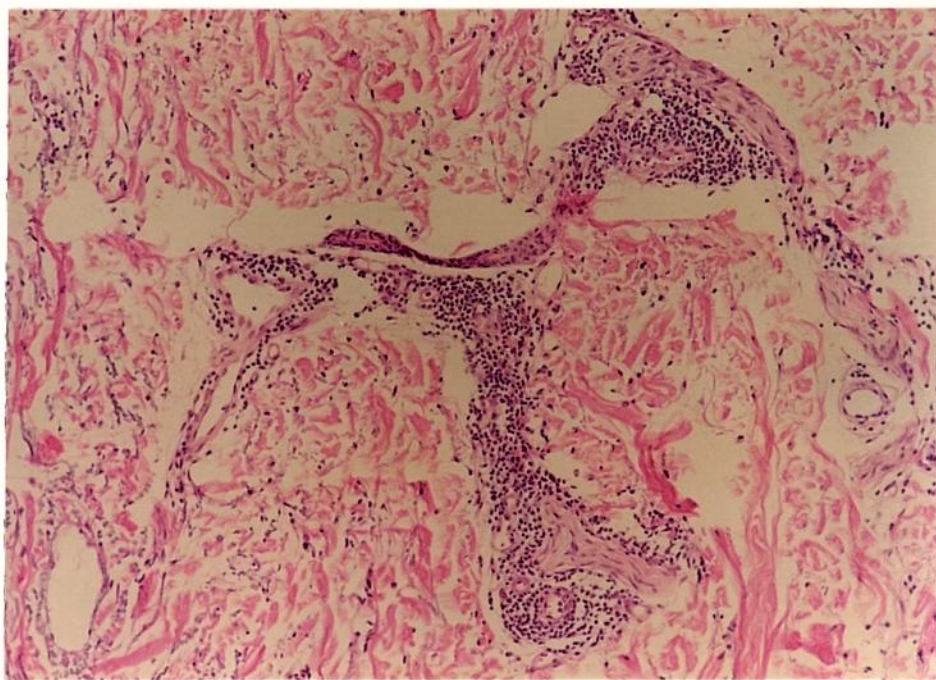


Fig. nº 4.13 Reação de Mitsuda Indeterminada Virchowiana,
com envolvimento neural. 120X. Coloração H&E.

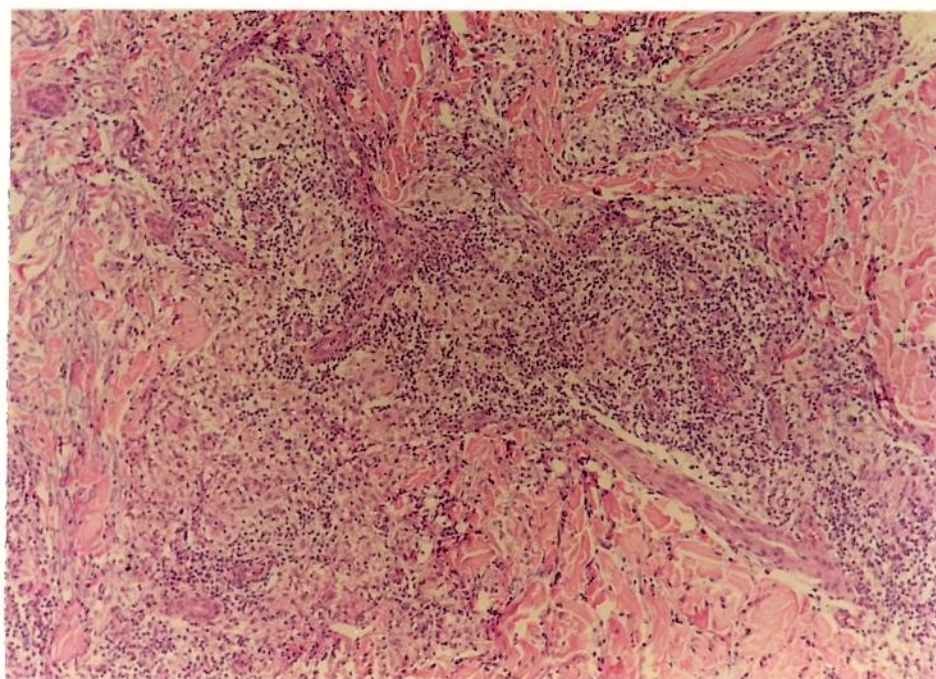


Fig. nº 4.14 Reação de Mitsuda "Borderline" Virchowiana
94,5X. Coloração H&E.

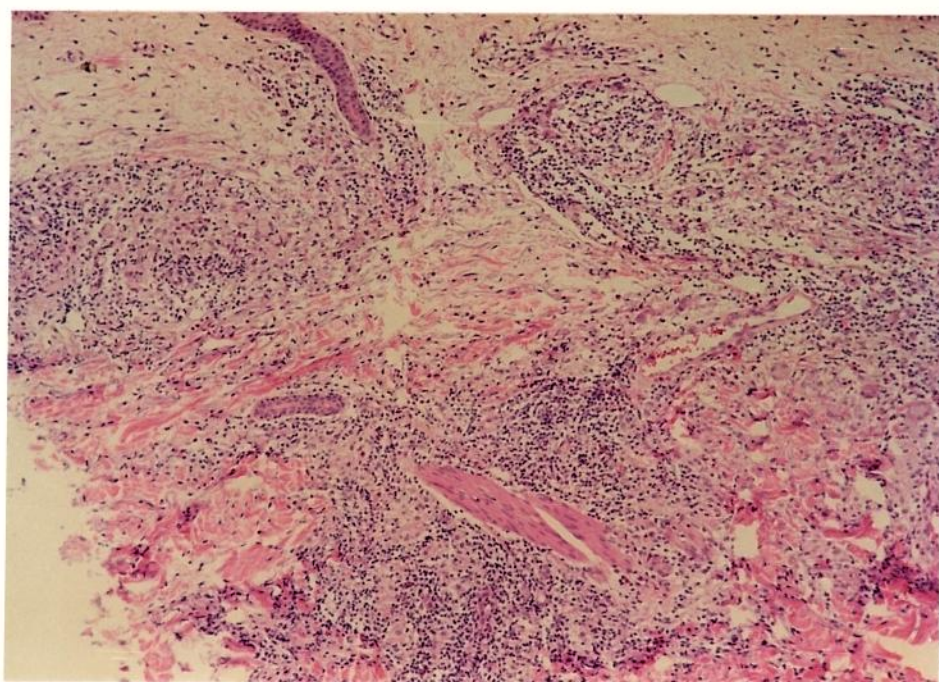


Fig. nº 4.15 Reação de Mitsuda "Borderline" Virchowiana
94,5X. Coloração H&E.

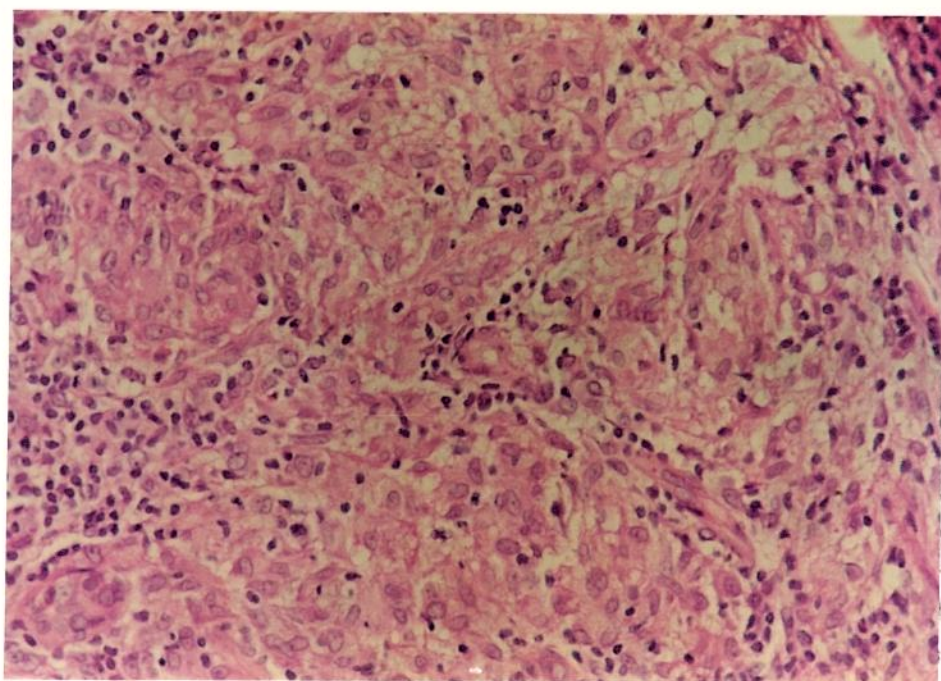


Fig. nº 4.16 Reação de Mitsuda Virchowiana. 307X.
Coloração H&E.

5 - DISCUSSAO

A reatividade do órgão cutâneo à lepromina, desde os primeiros ensaios, tem suscitado polêmica e o estudo da reação de Mitsuda tem sido sucessivamente reativado nos 75 anos que se passaram desde o seu reconhecimento, pois se considera muito haver, ainda, a esclarecer e a contribuir.

Tal reatividade, em não contactantes, não existe nos primeiros anos de vida e aumenta à medida que os indivíduos alcançam as segunda e terceira décadas da vida (BECHELLI et alii, 1971). Em torno da terceira década, a positividade da reação de Mitsuda tem sido verificada em, aproximadamente, 97,0% dos indivíduos (PETRI, 1982). Há, no entanto, variações destes índices, consoante a amostra estudada e a endemicidade hansênica.

Em doentes mentais, a positividade da reação de Mitsuda foi referida em 96,0% (CUMMINGS & WILLIAMS, 1934) e 17,2% de positividade forte e 34,4% de positividade fraca (DUBOIS, 1936). Em 18 indivíduos sadios, de Nova York, as reações de Mitsuda foram positivas em 94,5% da amostra (BECHELLI et alii, 1945); estes índices foram de 98,1% entre adultos sadios da cidade de São Paulo (ROTBERG & SOUZA CAMPOS, 1948). ROTBERG et alii, (1949) encontraram 62,4% de positividade à lepromina em 64 adultos sadios, provenientes de zona não endêmica dos Estados Unidos da América.

AZULAY et alii (1962) encontraram reação de Mitsuda positiva em apenas 21,8% de índios carajás maiores de

20 anos de idade, não havendo reação no grupo etário de dois a vinte anos de idade. **BECELLI et alii** (1971) referiram 97,0% de positividade em indivíduos de 15 a 19 anos de idade, 66,0% no grupo de 40 a 59 anos de idade e 62,0% de positividade para o grupo etário maior de 60 anos. Citam-se, ainda, **BEIGUELMAN** (1962) assinalando 84,5% e **KARAZAWA et alii** (1980) com 94,2%.

Saliente-se que todos estes autores se basearam apenas na leitura clínica da reação de Mitsuda, com exceção de **PETRI** (1982). Esta autora encontrou 77,0% de positividade para a leitura clínica e 97,0% com a leitura histológica.

Na amostra de 30 indivíduos deste estudo, com idade média de 60,77 anos, encontraram-se 59,9% e 66,6% de positividade, respectivamente, na área exposta (AE) e na área não exposta (ANE) à luz solar.

Os índices de positividade um pouco mais baixos no grupo etário mais elevado poderiam, em parte, ser explicados por doenças associadas ou pelo estado geral precário dos indivíduos. Entre doentes de tuberculose, por exemplo, os índices de positividade não foram tão baixos (85,7%), exceto quando a doença estava em estágio avançado (35,2%) (**BECELLI et alii**, 1971). **ROTBERG & OLIVEIRA** (1937) registraram 95,7% de positividade entre doentes de tuberculose pulmonar.

Na amostra do estudo, o estado geral dos indivíduos era, aparentemente, bom, sem doença associada que pu-

desse ser determinante de índices relativamente baixos da positividade da leitura clínica da reação de Mitsuda.

A positividade da reação, no meio rural, pode situar-se em torno de 60,0% (BEIGUELMAN, 1962; BEIGUELMAN & QUAGLIATO, 1965), talvez devido ao isolamento dos indivíduos, de modo que a reatividade expresse, apenas, a resistência natural do organismo, não tendo ocorrido estímulos antigênicos micobacterianos paraespecíficos.

Na amostra, há 21/30 (70,0%) de lavradores. Saliente-se que os hábitos dos lavradores têm-se modificado, e nos últimos 30 anos ocorreu migração muito grande dos ruralistas para as cidades, aumentando a sua urbanização e acarretando maior exposição a diversos antígenos estranhos.

Atualmente, em muitos locais, o lavrador vai ao meio rural para trabalhar, regressando à cidade no final do dia ou no final da semana.

A diminuição da reatividade pode, também, ser justificada pelo envelhecimento cronológico (GILCHREST et alii, 1980). Neste processo, há declínio na capacidade em rejeitar enxertos, diminuição nas respostas aos testes cutâneos e decréscimo na capacidade do linfócito em destruir células tumorais (SMITH & BRYSK, 1980).

A exposição crônica à radiação ultravioleta pode diminuir as respostas imunológicas, tanto nas áreas expostas, como sistemicamente (HANISZKO & SUSKIND, 1963; TOWES et

alii, 1980b; KRIPKE et alii, 1977; JESSUP et alii, 1978), sendo mais expressiva na área de exposição (O'DELL et alii, 1980).

É óbvio serem os idosos os que mais se expuseram ao sol e, principalmente, aqueles com pele clara e olhos claros sofreram maiores danos cutâneos.

A pele exposta cronicamente ao sol torna-se, portanto, susceptível de desenvolver carcinomas espinocelulares, epiteliomas basocelulares e melanomas, tumores estes originados nos queratinócitos e melanócitos. A epiderme e a derme devem ser consideradas uma unidade morfofuncional, e as alterações num elemento refletem-se no outro. Nas cicatrizes de queimaduras, ou nas radiodermites crônicas, por exemplo, é fácil o desenvolvimento de carcinomas na epiderme que as recobre. Na pele exposta cronicamente ao sol e, também, em áreas de radiodermite crônica, podem desenvolver-se tumores dérmicos (fibroxantoma atípico) (LEVER & SCHAUMBURG - LEVER, 1983).

Para a avaliação das respostas imunes da pele à lepromina foram escolhidas áreas exposta (AE) e não exposta (ANE) à luz solar. A pele da superfície interna do braço é bastante protegida da radiação ultravioleta e tem a espessura semelhante à da pele da superfície interna (ou ventral) do antebraço, que é o local utilizado para a realização da reação de Mitsuda; deste modo poder-se-ão estabelecer compa-

rações com leituras clínicas e histológicas realizadas por outros autores.

Na amostra estudada, o indivíduo é o seu próprio controle e o lógico seria a obtenção de respostas iguais em ambas as áreas, pois o sistema imunológico, qualquer que seja a sua situação, será o mesmo. A diferença entre a pele de ambas as áreas reside na alteração cutânea causada pelo sol. Se as radiações solares também acarretarem alterações sistêmicas, é de se admitir que os resultados obtidos sejam diferentes dos encontrados em outras amostras.

O risco de se perder o local da reação, a ser "biópsiado", foi contornado pela sua marcação e a não reatividade local só foi observada em 6,6% dos casos (dois indivíduos), não sendo falha na realização da biópsia, mas sim real ausência de resposta.

O estudo seqüencial das respostas histológicas revelou, que a partir do 8º dia após a inoculação da lepromina, começam a surgir as respostas granulomatosas (SCHUJMAN, 1936; LOPES DE FARIA, 1949, 1953). Considerou-se, então, que o 21º dia seria o limite de tempo, para a análise histológica da reação de Mitsuda, pois neste período de tempo é possível avaliar a capacidade lisadora dos macrófagos.

A inoculação concomitante, por via intradérmica, de 0,1 ml de lepromina, contendo $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml, não modifica as respostas em áreas diferentes (SCHUJMAN, 1936; LOPES DE FARIA, 1949, 1953; PINEYRO RODRIGUEZ, 1950).

Na amostra estudada, as leituras clínicas foram positivas em 59,9% das reações da AE e em 66,6% das reações da ANE.

Os 59,9% das reações positivas na AE foram representados por 13,3% (quatro) positivas +, 43,3% (12) positivas ++ e 3,3% (uma) positivas +++.

Os 66,6% das reações positivas na ANE tiveram a seguinte composição: 10,0% (três) positivas +, 50,0% (15) positivas ++, e 6,6% (duas) positivas +++.

A intensidade das respostas cutâneas foram melhor analisadas considerando a medida da enduração em milímetros. O valor médio foi de 4,67 mm para a enduração na área exposta e de 6,0 mm para a enduração na área não exposta. Estes valores correspondem às leituras positivas de + e ++, respectivamente para as AE e ANE. A intensidade da leitura clínica da reação de Mitsuda foi mais expressiva na área não exposta à luz solar ($p=0,0007$).

Na área exposta à luz solar, o espessamento da pele é um fator de erro na medida da enduração clínica, pois poderia aumentar o seu valor, nas reações positivas, ou, aparentemente, mascarar uma reação de pequena intensidade. A aplicação do teste do sinal aos dados obtidos em ambas as áreas, revelou que a probabilidade do registro das leituras diferentes tenha sido casual foi muito pequena ($p=0,0007$).

O exame histológico das reações de Mitsuda, em ambas as áreas, reforçou os achados clínicos que indicaram maior reatividade da pele não exposta à luz solar.

As respostas histológicas observadas na pele da área não exposta, à lepromina, foram mais intensas do que na AE em 12 casos (40,0%), iguais em 16 (53,3%) e menos intensas em dois (6,6%), ($p = 0,007$ - teste do sinal).

Em se tratando do mesmo indivíduo, qualquer que fosse o estado de sua capacidade imunológica geral, o esperado seria a igualdade de respostas. A menor intensidade da resposta tissular na AE revelou uma alteração no seu comportamento imunológico, caracterizado por imunodepressão parcial. Esta alteração foi demonstrada em animais (MORISON, 1981; PARRISH, 1983; KRIPKE, 1984) e no homem (HOROWITZ et alii, 1974; O'DELL et alii, 1980; STÜTTGEN, 1982).

A positividade histológica da reação de Mitsuda, agrupando-se as leituras das classes II, III e IV foi de 73,3 % para a AE e de 86,6% para a ANE.

Os índices de positividade clínica foram elevados em ambas as áreas, pela leitura histológica, como já assinalado (PETRI, 1982).

A maioria dos indivíduos, 12/30 (40,0%), teve em ambas as áreas, positividade de classe III. Percentual semelhante (42,0%), foi obtido por MICHALANY (1983), para a classe III, na avaliação histológica das leituras realizadas por PETRI (1982).

Na amostra estudada, a diferença mais expressiva ocorreu entre indivíduos que tiveram respostas da classe IV, que foi maior (20,0%) na ANE do que na AE (10,0%). Nas classes II e III, as respostas foram semelhantes. A classe I não teve representantes na ANE. Os dados encontrados têm pequena probabilidade de terem ocorrido casualmente ($p = 0,007$).

Embora não haja correlação quantitativa entre os resultados obtidos, através das leituras clínica e histológica da reação de Mitsuda, na amostra estudada, assinalou-se uma associação significativa entre a intensidade da leitura clínica e a positividade histológica em ambas as áreas. Não houve, portanto, correlação entre a intensidade da leitura clínica e a intensidade da reatividade histológica. Esta observação já foi assinalada em outros trabalhos (BECHELLI et alii, 1957; PETRI, 1982).

Na ANE, todas as reações de Mitsuda com endurações de 3 a 15 mm (20) foram positivas, histologicamente, sem que houvesse correlação entre as intensidades de positivities clínica e histológica.

De 10 reações com resultados clínicos de 0 a 2 mm (oito negativas e duas duvidosas), quatro (40,0%) foram, realmente, negativas histologicamente e seis (60,0%) foram positivas. As duas reações duvidosas, clinicamente, foram positivas no exame histológico e de classe III; das reações negativas, quatro (50,0%) revelaram ser, realmente, negativas e quatro (50,0%) resultaram positivas.

A análise histológica das reações negativas e duvidosas é bastante importante, confirmando outros autores (BECELLI et alii, 1957, 1959; AZULAY, 1960; PETRI, 1982).

Na AE, de 18 leituras clínicas com endurações de 3 a 15 mm, duas (11,1%) não tiveram correspondência histológica positiva e 16 (88,8%) foram positivas histologicamente. Em 12 leituras clínicas, as avaliações revelaram respostas com endurações de 0 a 2 mm, sendo seis (50,0%) positivas e seis (50,0%) negativas histologicamente. As reações positivas foram enquadradas nas classes II (quatro) e III (duas). Das negativas, três pertenceram à classe 0 e três à classe I.

Tanto na área exposta como na área não exposta, as intensidades das leituras clínicas estão significativamente associadas com a positividade histológica, mas a associação é mais expressiva na ANE ($p = 0,008$) quando comparada com a AE ($p = 0,034$). Grandes endurações não devem ser interpretadas como respostas líticas macrofágicas intensas.

A análise comparativa dos resultados obtidos, através da leitura clínica da reação de Mitsuda e a cor dos olhos dos indivíduos, não revelou diferença, estatisticamente significativa. Quando há poucos casos em cada grupo é necessário que haja uma diferença muito grande entre os valores percentuais para se detectar diferença estatisticamente significativa. No entanto, revelou alguns dados interessantes.

tes. Os indivíduos com olhos escuros tiveram, na AE, 18,1% de leituras clínicas negativas, enquanto os indivíduos com olhos claros alcançaram 36,8% de negatividade. Os mesmos 18,1% foram registrados entre indivíduos com olhos escuros na ANE e assinalou-se um pequeno declínio na negatividade (31,5%), para os indivíduos com olhos claros, nesta mesma área. Trata-se de uma pequena diferença, mas os indivíduos com olhos claros, geralmente, revelam maior susceptibilidade da pele aos raios solares e, portanto, uma injúria maior acarretará maiores alterações na imunidade do local irradiado. A observação diária revela a pequena capacidade da pele dos indivíduos com olhos claros em se bronzear.

Talvez, com uma amostra maior, se possa afirmar que indivíduos com olhos claros tenham reatividade cutânea menor a antígenos injetados na pele de área exposta ao sol. O aumento da positividade, observado na ANE em relação à AE, destes indivíduos, é indício de que a pele protegida não teria a reatividade modificada pelo sol.

As impressões resultantes das comparações dos valores da leitura clínica, com a cor dos olhos, são confirmadas pela histopatologia. Dentre os indivíduos com olhos claros, 36,8% tiveram reações histológicas da classe 0 e I e só 9,0% dos indivíduos com olhos escuros tiveram reações enquadradas nestas classes histológicas na AE.

Na ANE, o índice de negatividade diminuiu cerca de 50,0% entre os indivíduos de olhos claros. Este valor percentual, relativamente alto, fornece indícios de que na ANE as reações negativas tiveram o mesmo comportamento para olhos claros e escuros, pois, estatisticamente, estes valores não revelaram diferença significativa. A comparação dos valores negativos, na AE e na ANE, não revelou diferença significativa.

Em relação ao sexo dos indivíduos, nesta amostra, não houve correlação com as leituras clínica e histológica, concordando com estudos já realizados (BECELLI et alii, 1971).

As leituras clínica e histológica tiveram comportamento semelhante nos diferentes grupos etários (três), na amostra estudada, mesmo quando se consideraram indivíduos maiores e menores de 60 anos de idade.

Os índices de positividade histológica (considerando a ANE - 86,6%), não foram tão altos quanto aos assinados por PETRI (1982) e MICHALANY (1983), em 97,0%, para um grupo de indivíduos com idade média de 20,9 anos.

86,6% representam o índice de positividade para um grupo com idade média de 60,77 anos. Embora menor, este índice está de acordo com observações epidemiológicas, que não têm revelado maior susceptibilidade de pessoas idosas à hanseníase (BECELLI et alii, 1971).

De modo geral, sabe-se que o índice de positividade da reação de Mitsuda aumenta com a idade cronológica (ROTBERG & SOUZA CAMPOS 1948; AZULAY et alii, 1960; BEIGUELMAN, 1962; BEIGUELMAN & QUAGLIATO, 1965; BECHELLI et alii, 1971) e que permanece estável entre portadores de hanseníase (ALCHORNE 1973).

Se o grupo estudado for procedente de uma população que teve positividade alta entre os 20 e 30 anos de idade, a diminuição da reatividade observada na ANE da amostra deve ser decorrente do envelhecimento cronológico, pois não havia doenças associadas (ROBERTS-THOMSON et alii, 1974; SMITH & BRYSK, 1980), e os indivíduos já tinham sofrido a urbanização (BEIGUELMAN, 1962; BEIGUELMAN & QUAGLIATO, 1965).

Na AE, os índices de positividade menores podem ser explicados pelo fotoenvelhecimento que diminui as respostas imunes (O'DELL et alii 1980; STÜTTGEN, 1982; KRIPKE, 1984).

Considerando que, no meio rural, os indivíduos podem ter negatividade de até 40,0% (BEIGUELMAN, 1962; BEIGUELMAN & QUAGLIATO, 1965) houve, na amostra, um aumento da reatividade, decorrente do maior contato dos lavradores com o meio urbano. Isto seria válido para 70,0% da amostra.

Se os indivíduos fossem Mitsuda negativo e tivessem vindo para a cidade em idades mais elevadas, deve-se

considerar que os mais idosos perdem, progressivamente, a capacidade de se sensibilizar a novos antígenos. Seriam, então, Mitsuda negativo e, epidemiologicamente, haveria maior número de hanseníase entre lavradores idosos morando no meio urbano; isto não é observado (BECHELLI et alii, 1971).

No exame histológico das reações de Mitsuda, a quantidade de bacilos encontrada nos granulomas, ou entre eles, foi surpreendente, em contraste com a referência de negatividade, ou de pequena quantidade, nas respostas positivas (SCHUJMAN, 1936; NOLASCO, 1940; PINEYRO ROGRIGUEZ, 1950; BECHELLI et alii, 1957, 1959; ANDRADE, 1962; SAÚL, 1969; MICHALANY, 1974; THOMAS et alii, 1980; MICHALANY, 1983; BAKOS et alii, 1988).

Há relatos que assinalam a presença de quantidade substancial de bacilos nas lesões determinadas pela inoculação da lepromina (HAYASHI, 1933; NAGAI, 1938; NOLASCO, 1940; LOPES DE FARIA, 1949, 1953; OGATA et alii, 1963; THOMAS et alii, 1980).

A quantidade de bacilos presente, nos cortes histológicos de reações de Mitsuda, está na dependência da capacidade de lise dos macrófagos. A teoria do limiar de lise, proposta por BEIGUELMAN (1983), permite compreender a quantidade de bacilos presente na reação de Mitsuda. A capacidade de destruição do *M. leprae*, pelos macrófagos, está expressa em diferentes graus (limiares de lise). Os indivíduos

que têm macrófagos lisadores, destroem os bacilos e os que têm macrófagos não lisadores, não conseguem a destruição, embora haja a fagocitose. O "clearance" bacilar vai depender da velocidade com que os macrófagos conseguem lisar os bacilos, nos diferentes graus da capacidade destrutiva.

Na amostra estudada, procurou-se avaliar a quantidade de bacilos, nos cortes histológicos, através da contagem simples em campos microscópicos de imersão. A quantidade de bacilos expressa pelo Índice de bacilos no granuloma (IBG) não serviu para diferenciar o "clearance" bacilar, em ambas as áreas exposta e não exposta. Foi útil, no entanto, para se entender melhor a reatividade dos indivíduos frente ao bacilo de Hansen inativo, como se discutirá adiante.

A intensidade da resposta inflamatória, determinada pela lepromina, no local da inoculação, deve ser valorizada. A presença de granuloma tuberculóide, sem se considerar se pequeno ou grande, localizado ou difuso, tem sido considerada como suficiente para indicar a positividade da reação de Mitsuda (AZULAY et alii, 1960).

No entanto, o resultado, simples e lacônico, de reação de Mitsuda positiva não deve ser considerado como suficiente, uma vez que a sua intensidade é de imenso valor (BECHELLI et alii, 1957; MICHALANY, 1974; RIDLEY, 1977; DESIKAN et alii, 1983).

A resposta granulomatosa tuberculóide, que ocupa uma grande extensão da derme e/ou hipoderme, indicará uma resposta mais intensa do que aquela, pequena, que preenche, apenas, uma restrita área da derme ou da hipoderme.

No grupo amostral em estudo, a fração granuloma foi utilizada, para se comparar a intensidade das respostas orgânicas à inoculação da lepromina, em áreas cutâneas exposta e não exposta à luz solar.

A fração granuloma foi maior na ANE, quando comparada com a FG da AE. Embora receba o nome de fração granuloma, é necessário salientar que esta fração foi utilizada, também, para indicar a área ocupada pelos processos inflamatórios não granulomatosos.

Os granulomas e os processos inflamatórios não granulomatosos localizaram-se mais profundamente na AE. A zona de degeneração basofílica do colágeno dérmico não retém os bacilos injetados, fato este comprovado pela localização mais profunda da resposta inflamatória e abaixo da referida zona de degeneração.

Quando da inoculação da lepromina, procurou-se injetar a suspensão o mais superficial possível, para se obter um depósito bastante intradérmico. Na pele exposta cronicamente ao sol, há vasos sangüíneos e linfáticos muito dilatados que podem, eventualmente, "aspirar" os bacilos no momento da injeção, levando-os para outras áreas, e consequentemente não haverá reatividade local.

Nas peles muito finas, devido a sua estrutura, e na "pele solar", em decorrência da degeneração basofílica do colágeno, a área dérmica normal é pequena. Para reações do tipo Mitsuda e Kvein, é melhor realizar a inoculação em áreas onde a derme seja abundante, permitindo que o antígeno ali depositado tenha contato mais íntimo com o estroma e com as células imunocompetentes, que para este local migrarão, não havendo fenômenos de escape do antígeno. Recomendam-se áreas localizadas no dorso ou na superfície lateral das coxas (FERNANDEZ, 1957; WADE, 1957).

Na amostra estudada, a ocupação da zona de degeneração basofílica do colágeno dérmico, pelo processo inflamatório, ocorreu em 11/30 (36,6%) das preparações histológicas e correspondeu a leituras clínicas relativamente intensas (positiva ++) e com classe histológica III.

A localização profunda da resposta inflamatória e o espessamento natural da pele exposta cronicamente ao sol podem explicar porque algumas reações clínicas são negativas e histologicamente positivas.

Somente as reações muito intensas ocuparam a derme superficial na AE.

As respostas inflamatórias, desencadeadas pela inoculação da lepromina na ANE, ocorreram em toda a derme, apesar de sua fina espessura, mas também invadiram a hipoderme.

No exame histológico das preparações, observaram-se filetes nervosos espessados em 11 lâminas da AE e 15 lâminas da ANE. O espessamento era acompanhado por nítido neurotropismo do processo inflamatório, sem, no entanto, invasão do filete nervoso e nenhum fragmento examinado revelou bacilos no seu interior (neurite lepromínica) (Figs nos 4-4; 4-5; 4-10; 4-12 e 4-13).

O neurotropismo do infiltrado inflamatório, despertado por um antígeno específico, reproduzindo na reação de Mitsuda o substrato que ocorre na doença natural, pode indicar a participação das células nervosas na resposta imune, como admitido por DESIKAN et alii (1983). Estudos mais aprofundados deverão ser executados com a finalidade de melhor compreensão desta resposta muito peculiar.

Em coelhos, conseguiu-se a indução de granuloma tuberculóide reproduzindo o quadro histológico da hanseníase tuberculóide, injetando-se homogeneizado de nervo sensitivo periférico, com adjuvante de Freund (CRAWFORD et alii, 1977). Ao responder ao M. leprae, o organismo também o faz contra a substância do tecido neural sensitivo periférico.

Após a discussão sobre as leituras clínica e histológica da reação de Mitsuda, se faz necessário tecer alguns comentários sobre a visão espectral da referida reação.

O organismo reage de diferentes formas quando ocorre o contato natural com o bacilo de Hansen. Mesmo con-

cordando com o conceito de polaridade de RABELLO (1936), saliente-se que, entre os polos T e V, existe o grupo "borderline", e há também o grupo indeterminado. O estudo da hanseíase tuberculóide revela diferentes manifestações clínicas e a reação de Mitsuda, nestes doentes, nem sempre tem a mesma intensidade. Se existem os polos T e V é de se compreender que entre eles deva existir outras manifestações, como o próprio "borderline". Neste grupo, já se admitem manifestações que estão mais próximas do polo T (BT) e manifestações que estão mais próximas do polo V (BV).

Se o organismo reage destas diferentes maneiras frente ao bacilo de Hansen, na doença ou infecção, por que teria de ser diferente quando inoculado com bacilos de Hansen mortos, mas com as mesmas propriedades antigênicas?

Será suficiente saber apenas se o indivíduo é positivo ou negativo, ou será importante avaliar de quanto é a positividade, ou qual é a intensidade da resposta ao bacilo de Hansen?

Após a inoculação da lepromina, o organismo deverá responder da mesma forma que faria ao entrar em contato com o *Mycobacterium leprae*, naturalmente.

A inoculação da lepromina, em indivíduos com hanseíase tuberculóide polar, determina uma resposta tão intensa e típica, que reproduz o quadro anátomo-patológico da doença, como observado por MARIANI (1924, 1925), que denomi-

nou este fenômeno de "lepra tuberculóide experimental". Poder-se-ia denominar esta reação como **Reação de Mitsuda tuberculóide** ou simplesmente **REAÇÃO de MARIANI**. A reação de Mitsuda positiva, reproduzindo o granuloma da doença hansênica tuberculóide, tem sido referida por vários autores (MARIANI, 1924, 1925; SCHUJMAN, 1936; BÜNGELER & FERNANDEZ, 1940; LOPES DE FARIA, 1949, 1953; PINEYRO RODRIGUEZ, 1950; HADLER 1953, 1954; BECHELLI et alii, 1957, 1959; THOMAS et alii, 1980). (Figs nº 4-6, 4-7 e 4-8).

Para se caracterizar a leitura histológica negativa, aliás muito pouco estudada, seria necessário o encontro de uma estrutura inflamatória constituída por histiócitos vacuolizados semelhante à da hanseníase virchowiana (LOPES DE FARIA, 1949, 1953; HADLER, 1953, 1954; BECHELLI et alii, 1957, 1959; THOMAS et alii, 1980). Esta manifestação histológica poderia ser denominada **reação de Mitsuda virchowiana** ou **REAÇÃO de LOPES DE FARIA**, que pela primeira vez fez esta consideração. (Figs nºs 4-15 e 4-16).

A obtenção de resultados dimorfos também já foi salientada (AZULAY, 1970; THOMAS et alii, 1980). Esta seria a **reação de Mitsuda "borderline"** ou **REAÇÃO de AZULAY**. (Figs. nºs 4-1; 4-2; 4-3; 4-4 e 4-5).

Na amostra estudada, fez-se um ensaio preliminar no sentido de interpretar as reações de Mitsuda sob uma visão espectral. Este procedimento facilita o enquadramento

das manifestações histológicas com número variável de bacilos e de células epitelióides ao lado de células histiocitárias.

A resposta individual ao bacilo de Hansen depende da capacidade fagocítica e de lise por parte dos macrófagos (BEIGUELMAN, 1983). Os macrófagos podem ser lisadores e não lisadores e novamente se estabelecem características polares. É importante, no entanto, saber se os indivíduos são lisadores muito rápidos, rápidos, lentos ou muito lentos, caracterizando as manifestações tuberculóide, "borderline" tuberculóide, "borderline" virchowiana e virchowiana.

Indivíduos que não reagem aos bacilos injetados ou não "revelam" estes bacilos são caracterizados como NÃO REATORES, evitando-se a designação "não positivos" preconizada por BEIGUELMAN, (1983). A ausência de bacilos no local inoculado, não deve ser interpretada como erro do local biopsiado, se este foi previamente marcado.

A existência de um processo inflamatório crônico perineural e perianexial, em fragmentos de pele, é axiomático para se pensar em hanseníase.

A reprodução deste processo inflamatório, induzido pela inoculação de lepromina, caracteriza o substrato da fase indeterminada da doença hanseníca. Trata-se, pois, de uma reação de Mitsuda indeterminada num organismo que poderá evoluir para o polo V (persistência de bacilos) (Fig nº4-13) ou para o polo T (ausência de bacilos) (Fig nº 4-12).

Na amostra estudada, os não reatores constituíram 6,6% das leituras em ambas as áreas. Os indeterminados representaram 20,0% na AE e 16,6% na ANE.

A avaliação espectral da leitura histológica da reação de Mitsuda revelou 56,6% de respostas iguais nas AE e ANE. Pela leitura polarizada, esta igualdade ocorreu em 53,3%.

As respostas diferentes no estudo espectral, sejam maiores ou menores, para as AE e ANE, foram de 33,2%, e em 9,9% dos casos não houve possibilidade de análise.

Obtiveram-se melhores reações em 26,6% dos casos na ANE e em apenas 6,6% dos casos as respostas foram melhores na AE. Estatisticamente, não se demonstrou diferença significativa entre as respostas de ambas as áreas ($p = 0,055$). Talvez, com uma amostra maior poder-se-ia encontrar uma diferença mais significativa, uma vez que a sua divisão em várias classes dentro do espectro determinou uma subamostragem pequena e de difícil análise estatística. O valor de $p = 0,055$, no entanto, indica tendência para significação.

A persistência de uma maior quantidade de bacilos injetados por via intradérmica na pele de indivíduos pertencentes a um grupo etário mais elevado poderia ser explicada pela diminuição da capacidade lisadora dos macrófagos, de modo que os vinte e um dias seriam um tempo pequeno para a

lise total. No entanto, não houve interferência da idade nas respostas à lepromina e as respostas celulares foram mais nítidas na ANE do que na AE da amostra.

6 - CONCLUDES

1. Os índices de positividade das leituras clínicas da reação de Mitsuda na área exposta (59,9%) e na área não exposta (66,6%) à luz solar, da amostra estudada, foram inferiores, comparativamente, aos referidos para indivíduos na terceira década da vida.

2. Os mesmos índices foram semelhantes aos encontrados em grupos etários mais elevados e àqueles obtidos em indivíduos do meio rural, na década de 60.

3. As leituras clínicas da reação de Mitsuda, na amostra, foram mais intensas na área não exposta à luz solar do que na área exposta à luz solar.

4. A pele exposta à luz solar respondeu à inoculação de 0,1 ml de lepromina com $6,2 \times (10)^7$ bacilos/ml com endurações de diâmetro médio de 4,67 mm (positivo +) e a pele não exposta revelou endurações com diâmetro médio de 6,0 mm (positivo ++).

5. Não houve associação estatisticamente significativa entre a intensidade das leituras clínicas e a cor dos olhos, o sexo, e o grupo etário dos indivíduos da amostra estudada.

6. Há indícios de que os indivíduos de olhos claros tenham respostas negativas à lepromina, em percentual maior, na área exposta, quando comparado com a área não exposta.

7. Houve associação, estatisticamente significativa, entre a intensidade da leitura clínica e a positividade da leitura histológica, em ambas as áreas.

8. Não houve associação, estatisticamente significativa, entre a intensidade da leitura clínica e a intensidade da leitura histológica, em ambas as áreas.

9. A associação entre a intensidade da leitura clínica e a positividade histológica foi mais expressiva na área não exposta à luz solar.

10. A pele exposta cronicamente à luz solar tem resposta imune à lepromina menos intensa do que na área não exposta.

11. O índice de positividade da reação de Mitsuda, pela leitura histológica, foi de 86,6% na área não exposta à luz solar e de 73,3% na área exposta à luz solar, na amostra estudada, com idade média de 60,77 anos.

12. A fração granuloma foi maior na área não exposta à luz solar.

13. A resposta inflamatória na AE localizou-se mais profundamente (63,3%), respeitando a área de degeneração basofílica do colágeno.

14. A reação de Mitsuda deve ser realizada em áreas cobertas e que tenham derme mais espessa.

15. Os filetes nervosos respondem à inoculação da lepromina de modo semelhante à doença hansênica (neurite lepromínica).

16. A reação de Mitsuda pode ser interpretada de modo espectral, como a doença hansênica, pois a inoculação intradérmica de lepromina determina alterações histológicas semelhantes ao substrato patológico da hanseníase.

17. A comparação dos pares que exibiram reações de Mitsuda diferentes, com a leitura espectral, revelou tendência da reatividade cutânea à lepromina na ANE a ser mais expressiva e com substrato anátomo-patológico do polo T, e na AE a reatividade a ser menos expressiva com estrutura histopatológica do grupo "borderline".

BIBLIOGRAFIA

ABERER, W.; SCHULER, G.; STINGL, G.; HÖNIGSMANN, H. & WOLFF, K. Ultraviolet light depletes surface markers of Langerhans cell. *J. Invest. Dermatol.* 76(3): 202-210, 1981.

ALAYON, F. L. Histologia do lepromin-test nos lepromatosos. *Rev. Bras. Leprol.* 2(nº especial): 3-17, 1939.

ALAYON, F.L. & SOUZA LIMA, L. Sobre a histologia da reação de Mitsuda em lepromatosos. Nova contribuição ao seu estudo. *Rev. Bras. Leprol.* 9(nº especial): 367-374, 1940.

ALCHORNE, M.M.A. Evolução da hanseníase em 38 enfermos submetidos à reação de Mitsuda há 23 a 35 anos. Valor prognóstico da reação. Tese de docência livre apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco 1974, 157p.

ANDRADE, L.M.C. Comparação entre os aspectos microscópicos e macroscópicos do teste lepromínico. *Bol. Serv. Nac. Lepra.* 21(1, nº especial): 55-123, 1962.

ARCURI, P. & CONEJOS, M. Histologia de la intradermoreaccion a la leprolina proteica total. Estudio experimental. *Leprologia* 9(2): 80-85, 1964.

AZULAY, R.D.; ANDRADE, L. M. C.; SILVA, C.; RABELLO NETTO, A.V.; AZULAY, J.D.; NEVES, R.G. & MIGUEZ ALONSO, A. Comparison of the macroscopic readings and microscopic findings of the lepromin reactions. Int. J. Leprol. 28(1): 38-43, 1960.

AZULAY, R.D. El teste leprominico. En base a observaciones personales (desde 1944 hasta 1970). Apresentada na 1ª Reunión Leprológica del Cono Sud. Arch. Arg. Dermatol. 20(1) 36-53, 1970.

BAKOS, L.; MÜLLER, L.F.B.; BUSKO, M.G.; PERES, M & CESTARI, T. A histologia da reação de Mitsuda. Dado auxiliar para posicionar os tuberculóides reacionais dentro do espectro dimorfo. An. Bras. Dermatol. 63(supl. 1): 219-221, 1988.

BARGEHR, P. Spezifische Hautreaktionen bei Lepra. Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie 47: 529-531, 1926, Apud KEFFER, L. Reação de Mitsuda 1910-1959 - 4º Suplemento - Índice Bibliográfico de Lepra, p.1, 1960.

BECHELLI, L.M.; KEIL, H. & ROTBERG, A. Resultados da lepromino-reação em países não endêmicos de lepra. Rev. Bras. Leprol. 13(1):21-24, 1945.

BECHELLI, L.M.; SOUZA, P.R. & QUAGLIATO, R. Correlação entre os resultados da leitura clínica e do exame histopatológico da reação de Mitsuda. *Rev. Bras. Leprol.* 25(1):25-58, 1957.

BECHELLI, L.M.; SOUZA, P.R. & QUAGLIATO, R. Correlação entre os resultados da leitura clínica e do exame histopatológico da reação de Mitsuda. *Rev. Bras. Leprol.* 27(4):172-182, 1959.

BECHELLI, L.M.; GARCIA, G.; NAKAMURA, S. & QUAGLIATO, R. Determinação da data da leitura da reação de Mitsuda com lepromina integral em indivíduos sãos, sem exposição prévia conhecida ao *M. leprae*. *An VIII Cong. Int. Leprol.* Rio de Janeiro 3:284-294, 1963.

BECHELLI, L.M.; QUAGLIATO, R.; NAKAMURA, S. & LIMA FILHO, E.C. Lepromin test in noncontacts (mainly 1-19 years old) living in an area of low leprosy endemicity. *Int. J. Leprol.* 39(2):136-145, 1971.

BEIGUELMAN, B. Hereditariedade da reação de Mitsuda. *Rev. Bras. Leprol.* 30(3):153-172, 1962.

BEIGUELMAN, B. & QUAGLIATO, R. Nature and familial character of the lepromin reaction *Int. J. Leprol.* 33(4):800-807, 1965.

BEIGUELMAN, B. Leprosy and genetics: A review. Rev. Bras. Genet. VI(1):109-172, 1983.

BERGSTRESSER, P.R.; TOEWS, G.B. & STREILEIN, J.W. Natural and perturbed distributions of Langerhans cells: responses to UV light, heterotopic skin grafting and dinitrofluorobenzene sensitization. J. Invest. Dermatol. 75(1):73-77, 1980.

BERGSTRESSER, P.R. & STREILEIN, J.W. Ultraviolet radiation produces selective immune incompetence. J. Invest. Dermatol. 81(2):85-86, 1983.

BERMAN, B. & GIGLI, I. Complement receptors on guinea pig epidermal Langerhans cells. J. Immunol. 124(2):685-690, 1980.

BERMAN, B.; FRANCE, D.S.; CHEN, V.; DOTZ, W.I. & PETRONI, G. Anatomical mapping of epidermal Langerhans cell densities in adults. Br. J. Dermatol. 109(5):553-558, 1983

BRAATHEN, L.R. & THORSBY, E. Studies on human epidermal Langerhans cells. I. Alloactivating and antigen-presenting capacity. Scand. J. Immunol. 11(4):401-408, 1980.

BRAATHEN, L.R. & THORSBY, E. Human epidermal Langerhans cells are more potent than blood monocytes in inducing some antigen-specific T-cell response. Br. J. Dermatol. 108(2):139-146, 1983.

BREATHNACH, S.M. Do epidermotropic T cells exist in normal skin ?. A re-evaluation of the SALT hypothesis. Brit. J. Dermatol. 115(4):389-392, 1986.

BÜNGELER, W. & FERNANDEZ, J.M.M. Estudo clínico e histopatológico das reações alérgicas na lepra. 1ª parte: Investigações clínicas e histológicas sobre a reação à lepromina (Reação de Mitsuda) Rev. Bras. Leprol. 8(2):157-170, 1940.

CASTRO, A.A.M. & CASTRO, A.F.M. Lepra e tumores malignos. Contribuição ao seu estudo anátomo-clínico. Rev. Bras. Leprol. 5(nº especial):179-222, 1937.

CHIYUTO, S. Leprolin test. Month. Bull. Phillipps Health Service 12:300-307, 1932.

CRAWFORD, C.L.; HARDWICKE, P.M.D.; EVANS, D.H.L. & EVANS, E.M. Granulomatous hypersensitivity induced by sensory peripheral nerve. Nature 265:455-457, 1977.

CUMMINGS, S.L. & WILLIAMS, E.M. Cutaneous sensitivity to acid-fast bacilli in suspension. Brit. Med. J. 1 :702-703, 1934 Apud FURTADO, T.A. Subsídio ao estudo das relações imunológicas entre a lepra e a tuberculose. Arquivos Mineiros de Leprologia XXII (1):6-103, 1962.

DESIKAN, K.V.; MUKHERJEE, A.; RAMU, G. & TIWARI, V.D. Sequential histological study of lepromin reaction. Int. J. Lepr. 51(4):473-480, 1983.

DIDIERJEAN, L. & SAURAT, J. Epidermis and thymus: similar antigenic properties in Hassall's corpuscle and subsets of keratinocytes. Clin. Exp. Dermatol. 5(4):395-404, 1980.

DUBOIS, A. La réaction de Mitsuda. Bull. Soc. Path. Exotique 29(6):649-651, 1936 Apud FURTADO, T.A. Subsídio ao estudo das relações imunológicas entre a lepra e a tuberculose. Arquivos Mineiros de Leprologia XXII (1):6-103, 1962.

EBNER, H. Über die Entstehung des elastotischen Materials. Z. Hautkr. 44 : 889-894, 1969. in LEVER, W.F. & SCHAUMBURG-LEVER, G. Histopathology of the skin Ed. Lippincott Company, p271, 1983.

EDELSON, R.L. Round cells of the epidermis: clues from studies on neoplastic lymphocytes of cutaneous T cell lymphoma. J. Invest. Dermatol. **75**(1):95:102, 1980.

ELMETS, C.A.; BERGSTRESSER, P.R.; TIGELAAR, R.E.; WOOD, P.J. & STREILEIN, J.W. Analysis of the mechanism of unresponsiveness produced by haptens painted on skin exposed to low dose ultraviolet radiation. J. Exp. Med. **158**(3):781-794, 1983.

FERNANDEZ, J.M.M. The early reaction induced by lepromin. Int. J. Lepr. **8**(1):1-14, 1940.

FERNANDEZ, J.M.M. Lepra in CASTELLÓ, V.P. Dermatologia e Sifilologia 4a Ed. Cultural S.A. La Habana, Cuba, p505-556, 1953.

FERNANDEZ, J.M.M. Question of the optimal site for the lepromin test. Int. J. Lepr. **25**(1):58, 1957

FICHTELIUS, K.E.; GORTH, O. & LIDEN, S. The skin, a first level lymphoid organ? Int. Arch. Allergy **37**:607-620, 1970.

FISHER, M.S. & KRIPKE, M.L. Systemic alteration induced in mice by ultraviolet light irradiation and its relationships to ultraviolet carcinogenesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **74**(4):1688-1692, 1977.

FISHER, M.S. & KRIPKE, M.L. Further studies on the tumor-specific suppressor cells induced by ultraviolet radiation. J. Immunol. 121(3):1139-1144, 1978.

FITHIAN, E., KUNG, S., GOLDSTEIN, G., RUBENFELD, M., FENOGGIO, C. & EDELSON, R. Reactivity of Langerhans cell with hybridoma antibody. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 78(4):2541-2544, 1981.

FLEISCHMANN, P. Die bei der Präzipitation beteiligten Substanzen in ihren Verhalten gegenüber photodynamischen Stoffen. Munch Med. Wochenschr. 52 : 693-694, 1905 Apud MORISON, W.L. Photoimmunology. J. Invest. Dermatol. 77(1):71-76, 1981.

GILCHREST, B.A., STOFF, J.S. & SOTER, N.A. Chronologic aging alters the response to ultraviolet-induced inflammation in human skin. J. Invest. Dermatol. 79(1):11-15, 1982.

GILCHREST, B.A., MURPHY, G.F. & SOTER, N.A. Effect of chronologic aging and ultraviolet irradiation on Langerhans cells in human epidermis. J. Invest. Dermatol. 79(2):85-88, 1982.

HADLER, W.A. Comportamento do cobaio e do rato, normais, injectados com "lepromina" por via intradérmica. Rev. Bras. Leprol. 21(3):165-194, 1953.

HADLER, W.A. Influência do BCG sobre a reação provocada pela lepromina no rato. Ciência e Cultura 6(4):168-169, 1954.

HANISZKO, J. & SUSKIND, R.R. The effect of ultraviolet radiation on experimental cutaneous sensitization in guinea pigs. J. Invest. Dermatol. 40(3):183-191, 1963.

HASTINGS, R.C.; CHEHL, S.P.K.; MORALES, M.J.; SHANNON, E.J. & KIRCHHEIMER, W.F. Multiplication of acid-fast bacilli in nude mice inoculated with armadillo-derived *M. leprae*. Int. J. Lepr. 48 (4): 490-491, 1980.

HAYASHI, F. Mitsuda's skin reaction in leprosy. Int. J. Lepr. 1(1) : 31-38, 1933.

HAYASHI, Y. On a pure culture of leprosy bacilli, and a skin reaction by means of the pure culture suspension. Seikingu Zasshi (J. Bacteriol.) 272:51-53, 1918 (published by the Kitasato Institute) Reprinted in translation by the author. Int. J. Lepr. 21(3):370-372, 1953.

HOROWITZ, S.; CRIPPS, D. & HONG, R. Selective T cell killing of human lymphocytes by ultraviolet radiation. Cell Immunol. 14(1):80-86, 1974.

INTERNATIONAL JOURNAL OF LEPROSY - Centennial Festschrift, I, 1873-1973. Int. J. Lepr. 41(2):150-151, 1973.

JESSUP, J.M.; HANNA, N.; PALASZYNSKI, E. & KRIPKE, M.L. Mechanism of depressed reactivity to dinitrochlorobenzene and ultraviolet-induced tumors during ultraviolet carcinogenesis in BALB/c mice. Cell Immunol 38(1):105-115, 1978.

JOB, C.K.; KIRCHHEIMER, W.F. & SANCHEZ, R.M. Tissue response to lepromin, an index of susceptibility of the armadillo to M. leprae infection- a preliminary report. Int. J. Lepr. 50(2):177-182, 1982.

KARAZAWA, E.H.; PROENÇA, N.G.; MINICA, I.; KLIEMANN, T.A.E.; MARTINEZ, E.W.; GUEDES, M. & FARIAS, L.R. Estudo comparativo da intradermo-reação praticada com lepromina integral e com lepromina tratada por ultra-som em indivíduos normais. Hansen. Int. 5(2):123-128, 1980.

KATZ, S.I.; TAMAKI, K. & SACHS, D.M. Epidermal Langerhans cells are derived from cells which originate in bone marrow. Nature 282 :324-326, 1979.

KEFFER, L. Reação de Mitsuda-1910-1959. 4º Suplemento. Índice Bibliográfico de Lepra, Biblioteca do Departamento de Profilaxia da Lepra. São Paulo, 1960, 226p.

KIRCHHEIMER, W.F. & STORRS, E.E. Attempts to establish the armadillo (Dasybus novemcinctus Linn.) as a model for the study of leprosy. I. Report of lepromatoid leprosy in a experimentally infected armadillo. Int. J. Lepr. 39(3):693-702, 1971.

KIRCHHEIMER, W.F.; STORRS, E.E. & BINFORD, C.H. Attempts to establish the armadillo (Dasybus novemcinctus Linn.) as a model for the study of leprosy. II. Histopathologic and bacteriologic post-mortem findings in lepromatoid leprosy in the armadillo. Int. J. Lepr. 40(2):229-242, 1972.

KLARESKOG, L.; TJERNLUND U.M.; FORSUM, U. & PETERSON. P.A. Epidermal Langerhans cells express Ia antigen. Nature 269: 248-250, 1977.

KRIPKE, M.L. & FISHER, M.S. Immunologic parameters of ultraviolet carcinogenesis. J. Natl. Cancer Inst. 57(1):211-215, 1976.

KRIPKE, M.L.; LOFGREEN, J.S.; BEARD, J.; JESSUP, J.M. & FISHER, M.S. In vivo immune responses of mice during carcinogenesis by ultraviolet irradiation. *J. Natl. Cancer Inst.* 59 (4):1227-1230, 1977.

KRIPKE, M.L. Immunological unresponsiveness induced by ultraviolet radiation. *Immunol. Rev.* 80(1):87-102, 1984.

KRIPKE, M.L. UV role in carcinogenesis pinpointed by new findings *World Congress of Dermatology*. Berlin, 1987.

LANGERHANS, P. Über die Nerven der menschlichen Haut. *Virchow's Arch. Path. Anat. Physiol.* 44: 325, 1868. Apud EBLING, F.J.G. Homage to Paul Langerhans. *J. Invest. Dermatol.* 75 (1):3-5, 1980.

LEFFELL, D.J.; STETZ, M.L.; MILSTONE, L.M. & DECKELBAUM, L.I. In vivo fluorescence of human skin. A potential marker of photoaging. *Arch. Dermatol.* 124(10):1514-1518, 1988.

LEININGER, J.R.; DONHAM, K.J. & MEYERS, W.M. Leprosy in a chimpanzee. Post-mortem lesions. *Int. J. Leprol.* 48(3):414-421, 1980.

LEVER, W.F. & SCHAUMBURG-LEVER, G. Histopathology of the skin. 6^a Ed. Philadelphia, J.B. Lippincott, 1983, p.611.

LOPES DE FARIA, J. Estudo da reação à lepromina (Mitsuda em cães). Histopatologia, significação. Tese de Livre Docência em Anatomia Patológica apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1947, 190p.

LOPES DE FARIA, J. Sobre a natureza da reação de Mitsuda. Rev. Bras. Leprol. 17(4):237-247, 1949.

LOPES DE FARIA, J. Estudo da reação à lepromina (Mitsuda em cães). Histopatologia, significação. Monografia do Serv. Nac. da Lepra Depto. Imprensa Nacional. Rio de Janeiro, 1951, 190p.

LOPES DE FARIA, J. Contribuição ao conhecimento da natureza da reação de Mitsuda. Monografia do Serv. Nac. da Lepra. Depto. de Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, 1953, 197p.

LUGER, T.A.; STADLER, B.M.; KATZ, S.I. & OPPENHEIM, J.J. A thymocyte activating factor produced by a murine keratinocyte cell line (ETAF). J. Immunol. 127(4):1493-1498, 1981.

LUGER, T.A.; STADLER, B.M.; LUGER, B.M.; MATHIESON, B.J.; MAGE, M.; SCHMIDT, J.A. & OPPENHEIM, J.J. Murine epidermal cell derived thymocyte activating factor resembles murine interleukin 1. J. Immunol. 129(5):2147-2152, 1982.

LUGER, T.A.; STADLER, B.M.; LUGER, B.M.; SZTEIN, M.B.; SCHMIDT, J.A.; HAWLEY-NELSON, P.; GRABNER, G. & OPPENHEIM, J.J. Characteristics of an epidermal cell thymocyte-activating factor (ETAF) produced by human epidermal cells and a human squamous cell carcinoma cell line. J. Invest. Dermatol. 81(3):187-193, 1983.

MARIANI, G. Osservazioni sopra una forma speciale di allergia cutanea nella lebbra: lepra tuberculoide sperimentale nell'uomo. Pathologica 16:471-477, 1924.

MARIANI, G. Nuove osservazione sulle reazioni provocate sperimentalmente com materiale lebbroso nell'uomo. G. Ital. Derm. Sif. 66:402-426, 1925.

MICHALANY, J. Critérios de graduação histológica da reação de Mitsuda. in ALCHONE, M.M.A. Evolução da hanseníase em 38 enfermos submetidos à reação de Mitsuda há 23 a 35 anos. Valor prognóstico da reação. Tese de docência livre apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco. p24-25, 1974.

MICHALANY, N.S. Histopatologia da reação de Mitsuda em adultos sadios não comunicantes de hansenianos. Tese de mestrado em anatomia patológica apresentada à Escola Paulista de Medicina, 1983, 124p.

MICHALANY, N.S. & MICHALANY, J. Histopatologia da reação de Mitsuda em adultos sadios não comunicantes de hansenianos. Hansen. Int. 8(2):105-123, 1983.

MITSUDA, K. Les lépreux maculo-nerveux, d'une part, les tuberculeux, d'autre part, se comportent différemment à la suite d'une inoculation d'émulsion de tubercule lépreux. In Conférence Internationale de la Lèpre, 2. Strasbourg, 1923 Communications et débats. Paris, Baillière et Fils, 1924, p219-220.

MITSUDA, K. On the value of a skin reaction to a suspension of leprous nodules. Hifuka Hinyoka Zasshi (Japanese Journal of Dermatology and Urology 19 (1919): 697-708. Reprinted in translation by the author. Int. J. Leprol. 21(3):347-358, 1953.

MORISON, W.L. & PARRISH, J.A. Further studies of the effects PUVA and UV-B radiation on delayed hypersensitivity in the guinea pig. J. Invest. Dermatol. 74(4):259, 1980.

MORISON, W.L.; PARRISH, J.A.; WOEHLE, M.E. & BLOCH, H.J. The influence of PUVA and UVB radiation on skin-graft survival in rabbits. J. Invest. Dermatol. 75(4):331-333, 1980.

MORISON, W.L. Photoimmunology. J. Invest. Dermatol. 77(1):71-76, 1981.

NAGAI, K. Histopathologische Befunde nach Anstellung der Mitsuda'schen Reaktion. La Lepra IX:26, 1938.

NEVES, R.G. & ALMEIDA, M.J.M. Estudo do tropismo do Mycobacterium leprae para as células névicas. Med. Cut. I.L.A. 2(3):221-225, 1974.

NOLASCO, J.O. The lepromin test in lepra reaction. II Histology of the reaction lesions and persistence of the injected bacilli. Int. J. Lepr. 8(3):285-303, 1940.

NOONAN, F.; PEDERSEN, G. & KRIPKE, M.L. Ultraviolet radiation suppresses cell-mediated immunity. J. Invest. Dermatol. 74(4):261, 1980.

NÜRNBERGER, F.; SCHÖBER, E. & MARSCH, W.C. Actinic elastosis in black skin. *Arch. Dermatol. Res.* 262(1):7-14, 1978.

OGATA, T.; FUKUSHI, K.; ISHIHARA, S.; KOBAYASHI, S.; ARAKAWA, I. & NARITA, M. Histopathological studies of the lepromin reaction: Studies of leprosy based upon fundamental investigation into tuberculosis. Published by Japan Lepr. Res. Comm. 147-161, 1963.

O'DELL, B.L.; JESSEN, R.T.; BECKER, L.E.; JACKSON, R.T. & SMITH, E.B. Diminished immune response in sun-damaged skin. *Arch. Dermatol.* 116(5):559-561, 1980.

PANTELOURIS, E.M. Absence of thymus in a mouse mutant. *Nature* 217:370-371, 1978.

PARRISH, J.A. Ultraviolet radiation affects the immune system. *Pediatrics* 71(1):129-133, 1983.

PAPPENHEIMER, A.M. Experimental studies upon lymphocytes. I. The reaction of lymphocytes under various experimental conditions. *J. Exp. Med.* 25:633-650, 1917 Apud MORISON, W.L.; PARRISH, J.A. & EPSTEIN, J.H. Photoimmunology. *Arch. Dermatol.* 115(3):250-353, 1979.

PETRI, V. Comparação entre as leituras clínica e histológica da reação de Mitsuda em indivíduos sadios adultos não comunicantes de hansenianos. Tese de doutorado apresentada à Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 115p, 1982.

PIERARD, J.; KINT, A. & DE BERSAQUES, J. L'élastose sénile. Maladies du tissu élastique cutané- Rapports et Communications présentés au XII Congrès de l' Association des Dermatologistes et Syphiligraphes de langue française- 1965, p. 374.

PINEYRO RODRIGUEZ, R. Reaccion de Mitsuda: Estudio histopatológico *Bol. Soc. Cuba. Derm. Sif.* 7(1):1-16, 1950.

RABELLO Jr., F.E. Uma classificação clínico-epidemiológica das formas de lepra. *Rev. Bras. Leprol.* 4(4):375-410, 1936.

RABELLO, F.E.A. & ROTBERG, A. Nota preliminar sobre a alergia histológica na lepra. *Arq. Dermat. Sif.* 1(2):140-141, 1937.

RIDLEY, D.S. & JOPLING, W.H. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *Int. J. Leprol.* 34(3):255-273, 1966.

RIDLEY, D.S. Skin biopsy in leprosy. Documenta Geigy (Ciba-Geigy Limited), Basle, Switzerland, 1977, 57p.

ROBERTS-THOMSON, I.C.; WHITTINGHAM, L.; YOUNGCHAIYUD, U. & MACKAY, I.R. Aging, immune response and mortality Lancet 1(2):368-371, 1974.

ROTBERG, A. & OLIVEIRA, J.F. A reação de lepromina na tuberculose. Rev. Bras. Leprol. 5(nº especial):287-291, 1937.

ROTBERG, A. Lepra tuberculóide e alergia. Rev. Bras. Leprol. 9(nº especial):265-282, 1940.

ROTBERG, A. & CAMPOS, N.S. Lepromino-reações em indivíduos sãos em São Paulo, não comunicantes. Rev. Bras. Leprol. 16(4):267-275, 1948

ROTBERG, A.; BECHELLI, L.M. & KEIL, H. Reação de Mitsuda em área não leprogênica. Memoria del V Cong. Intern. de la Lepra, 1948, Habana, 1949, p.586-594.

ROTTA, O. Avaliação da reação tecidual dos hansenianos polares ao BGG intradérmico. Tese de doutorado apresentada à Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 68p, 1986.

ROWDEN, R.; LEWIS, M.G. & SULLIVAN, A.L. Ia antigen expression on human epidermal Langerhans cells. Nature 26:247-248, 1977.

ROWDEN, G. Expression of Ia antigens on Langerhans cells in mice, guinea pigs, and man. J. Invest. Dermatol. 75(1):22-31, 1980

SAUDER, D.N.; CARTER, C.; KATZ, S.I. & OPPENHEIM, J.J. Epidermal cell production of thymocyte activating factor (ETAF). J. Invest. Dermatol. 79(1) 34-39, 1982.

SAUDER, D.N. & KATZ, S.I. Immune modulation by epidermal cell products: possible role of ETAF in inflammatory and neoplastic skin diseases. J. Am. Acad. Dermatol. 7(5):651-654, 1982.

SAUDER, D.N.; DINARELLO, C.A. & MORHENN, V.B. Langerhans cell production of interleukin-1. J. Invest. Dermatol. 82(6):605-607, 1984.

SAUL, A.; RODRIGUEZ, O.; NOVALES, J. & NAVARRO, E. Histopatologia de la leprominorreaccion a las 4 horas. Correlacion entre la presencia o ausencia de bacilos y la clasificacion de los casos. Derm. Rev. Mex. 13(3):301-308, 1969.

SAUL, A. The response of the patient with leprosy toward Mycobacterium leprae injected with lepromin. A histopathologic study four hours after the injection. Int. J. Leprol. 39(2):300-307, 1971.

SCHUJMAN, S. Histopatologia de la reaccion de Mitsuda: Estudio progresivo y comparativo de las reacciones tisulares que provoca en las diversas formas clinicas de lepra. Rev. Bras. Leprol. 4(4):469-478, 1936.

SEMMA, M. & SAGAMI, S. Induction of suppressor T cells to DNFB contact sensitivity by application of sensitizer through Langerhans cell-deficient skin. Arch. Dermatol. Res. 271(3):361-364, 1981.

SHELLEY, W.B. & JUHLIN, L. Langerhans cells form a reticuloepithelial trap for external contact antigens. Nature 261:46-47, 1976.

SHEPARD, C.C The experimental disease that follows the injection of human leprosy bacilli into the food-pads of mice. J. Exp. Med. 112(9):445-454, 1960.

SHIMADA, S. & KATZ, S.I. The skin as an immunologic organ. Arch. Pathol. Lab. Med. 112(3): 231-234, 1988.

SILBERBERG, I. Studies by electron microscopy of epidermis after topical application of mercuric chloride. J. Invest. Dermatol. **56**(2): 147-160, 1971.

SILBERBERG, I. Apposition of mononuclear cells to Langerhans cells in contact allergic reactions. Acta Dermato-Venereol. **53**(1) 1-12, 1973.

SILBERBERG, I.; BAER, R.L. & ROSENTHAL, S.A. The role of Langerhans cell in contact allergy. I. An ultrastructural study in actively induced contact dermatitis in guinea pigs. Acta Derm. Venereol. **54**(5): 321-331, 1974.

SILBERBERG-SINAKIN, I.; THORBECKE, G.J.; BAER, R.L.; ROSENTHAL, S.A. & BEREZOWSKI, V. Antigen-bearing Langerhans cells in skin, dermal lymphatics, and in lymph nodes. Cell. Immunol. **25**(2): 137-151, 1976.

SILBERBERG-SINAKIN, I. & THORBECKE, G.J. Contact hypersensitivity and Langerhans cells. J. Invest. Dermatol. **75**(1): 61-67, 1980.

SMITH, E.B. & BRYSK, M. Age related immune changes and skin cancer. Cutis **25** (4): 378-379, 1980.

STINGL, G.; WOLFF-SCHREINER, E.C.; PICHLER, W.J.; GSCHNAIT, F.; KNAPP, W. & WOLFF, K. Epidermal Langerhans cells bear Fc and C3 receptors. Nature 268: 245:246, 1977.

STINGL, G.; KATZ, S.I.; CLEMENT, L.; GREEN, I. & SHEVACH, E.M. Immunologic functions of Ia-bearing epidermal Langerhans cells. J. Immunol. 121(5): 2005-2013, 1978.

STINGL, G.; KATZ, S.I.; GREEN, I. & SHEVACH, E.M. The functional role of Langerhans cells. J. Invest Dermatol. 74(5): 315-317, 1980.

STREILEIN, J.W. Lymphocyte traffic, T cells and the skin. J. Invest. Dermatol. 71(1): 167-171, 1978.

STREILEIN, J.W.; TOWES, G.T. ; GILLIAN, J.N. & BERGSTRESSER, P.R. Tolerance or hypersensitivity to 2,4- dinitro-1-fluorobenzene: the role of Langerhans cell density within epidermis. J. Invest. Dermatol. 74(5): 319-322, 1980a.

STREILEIN, J.W.; TOEWS, G.B. & BERGSTRESSER, P.R. Langerhans cells: functional aspects revealed by in vivo grafting studies. J. Invest. Dermatol. 75(1): 17-21, 1980b.

STREILEIN, J.W. & BERGSTRESSER, P.R. Two antigen presentation pathways, only one of which requires Langerhans cells, lead to the induction of contact hypersensitivity. J. Invest. Dermatol. 80(4): 302, 1983.

STREILEIN, J.W. Skin-associated lymphoid tissues (SALT): origins and functions. J. Invest. Dermatol. 80(suppl.): 126, 1983.

STÜTTGEN, G. The risk of Photochemotherapy. Int. J. Dermatol. 21(4): 198-202, 1982.

SUN, T.T.; SHIH, C. & GREEN, H. Keratin cytoskeletons in epithelial cells of internal organs. Proc Natl. Acad. Sci. USA 76 (6): 2813-2817, 1979.

TACHIKAWA, N. The histological figures of two cases of tuberculoid maculae caused by skin test (Mitsuda's reaction). Leprosy 10 (3): 55, 1939.

TAKIGAWA, M. & INAMURA, S. Experimental production of rabbit anti-guinea-pig epidermal cell sera. Comparison to pemphigus antibodies. J. Invest. Dermatol. 68(5): 259-264, 1977.

TAMAKI, K.; STINGL, G. & KATZ, S.I. The origin of Langerhans cells. J. Invest. Dermatol. 74(5): 309-311, 1980.

TAMAKI, K & KATZ, S.I. Ontogeny of Langerhans cells. J. Invest. Dermatol. 75(1): 12-13, 1980

The Journal of Investigative Dermatology. Immunology of the epidermis: changing perspectives (Editorial) J. Invest. Dermatol. 81 (3): 185-186, 1983.

THOMAS, J.; JOSEPH, M.; RAMANUJAM, K.; CHACKO, C.J.C. & JOB, C.K. The histology of the Mitsuda reaction and its significance. Lep. Rev. 51(4): 329-339, 1980.

TOWES, G.B.; BERGSTRESSER, P.R. & STREILEIN, J.W. Langerhans cells: sentinels of skin associated lymphoid tissue. J. Invest. Dermatol. 75(1): 78-82, 1980a.

TOWES, G.B.; BERGSTRESSER, P.R.; STREILEIN, J.W. & SULLIVAN, S. Epidermal Langerhans cell density determines whether contact hypersensitivity or unresponsiveness follows skin painting with DNFB. J. Immunol. 124(1): 445-453, 1980b.

VAN GAUDECKER, B. & SCHMALE, E.M. Similarities between Hassall's corpuscles of the human thymus and the epidermis. Cell. Tissue Res. 151(4): 347-367, 1974.

WADE, H.W. The original publications on the Mitsuda test. Int. J. Lepr. 21(3): 363-364, 1953.

WADE, H.W. Question of optimal site for the lepromin test. Editorials. Int. J. Lepr. 25(1): 51-52, 1957.

WALSH, G.P.; MEYERS, W.M.; BINFORD, C.H.; GERONE, P.J.; WOLF, R.H. & LEININGER, J.R. Leprosy: A zoonosis. Lepr. Rev. 52(suppl.): 77-83, 1981.

YOKOTA, T. The histopathological study of Mitsuda reaction in the case of subsided lepromatous leprosy. La Lepra 22(5): 228-235, 1953.

YOSHIE, Y. Advances in the Microbiology of *M. leprae* in the past century. Int. J. Lepr. 41(3): 361-371, 1973.