

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE NEUROCIÊNCIAS E CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO

PABLO VINÍCIUS SILVEIRA FEITOZA

**Caracterização clínica e eletroneuromiográfica em população amazônica com neuropatia
hansênica e a associação com variantes de suscetibilidade genética nos genes NCKIPSD e
CARD9.**

Ribeirão Preto – SP
2022

PABLO VINÍCIUS SILVEIRA FEITOZA

**Caracterização clínica e eletroneuromiográfica em população amazônica com neuropatia
hansênica e a associação com variantes de suscetibilidade genética nos genes NCKIPSD e
CARD9.**

Tese apresentada ao Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Neurologia e Neurociências Clínicas

Área de Concentração: Neurologia

Orientador: Prof. Dr. Wilson Marques Júnior

Ribeirão Preto – SP
2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Versão corrigida. A versão original encontra-se disponível tanto na Biblioteca da Unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

FICHA CATALOGRÁFICA

Feitoza, Pablo Vinícius Silveira Feitoza

Caracterização clínica e eletroneuromiográfica em população amazônica com neuropatia hansênica e a associação com variantes de suscetibilidade genética nos genes NCKIPSD e CARD9. / Pablo Vinícius Silveira Feitoza; Orientador Wilson Marques Júnior. – São Paulo, 2022

105 f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento, Programa de Pós-graduação em Neurologia e Neurociências Clínicas. 2022

1. Neuropatia hansênica. 2. Eletroneuromiografia. 3. Genes NCKIPSD e CARD9.

I. Marques Jr, Wilson. II. Título

Folha de Aprovação

Nome: FEITOZA, Pablo Vinícius Silveira

Título: Caracterização clínica e eletroneuromiográfica em população amazônica com neuropatia hansênica e a associação com variantes de suscetibilidade genética nos genes NCKIPSD e CARD9.

Tese apresentada ao Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Neurologia e Neurociências Clínicas

Aprovado em: ____/____/2023

Banca Examinadora

Prof. Dr.:

Instituição:

Assinatura: _____

Prof. Dr.:

Instituição:

Assinatura: _____

Prof. Dr.:

Instituição:

Assinatura: _____

Prof. Dr.:

Instituição:

Assinatura: _____

Prof. Dr.:

Instituição:

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À Alessandra, companheira incentivadora de todos os momentos. Ser humano singular e amoroso com a capacidade contínua de cultivar de forma mútua nossos ideais na vida material e no amor.

Aos meus filhos Maria Alice, Melissa e Pablo, que a cada dia renovam, fortalecem a nossa luta e me fazem acreditar no futuro mais amoroso e belo para todas as crianças.

Aos meus pais José Maurício do Rêgo Feitoza e Edinete Silveira Feitoza, e aos meus irmãos Dreyfus Lincoln e Mayara Janaína pelos estímulos e lições de vida que se expressam no cotidiano de nossas relações.

Aos meus sogros Maria de Lourdes e Sebastião Parra, pelos inúmeros exemplos dados. Reafirmando que se existe é tênue a fronteira entre o saber social e o conhecimento científico sistematizado.

Aos meus avós (*in memoriam*) pela edificação do meu caráter e amor contínuo oferecido durante a vida.

Aos meus alunos da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Amazonas que representam o motivo de continuamente acreditar na transformação de nossa sociedade através da educação pública, plural e inclusiva.

AGRADECIMENTOS

Expresso aqui meus agradecimentos às pessoas que constituem e edificam o nome da instituição Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP USP) que contribuíram para a concretização deste estudo.

Ao Professor Dr. Wilson Marques Júnior, orientador e colaborador na construção desse projeto. Um professor e pesquisador de alta grandeza intelectual e humana.

Aos meus amigos e colegas contemporâneos de residência médica em Neurologia e Neuroimunologia/Doenças Neuromusculares que a despeito das dificuldades enfrentadas mantiveram-se sempre com o desejo de contribuir na construção de um ambiente mais humanizado e dedicado ao cuidado do ser humano.

Aos Professores, Médicos Assistentes e demais Residentes que labutam diariamente nos ambulatórios de neurologia do HCFMRP USP contribuindo para dignificar o exercício vocacional da medicina, em especial, ao Prof. Dr. Amilton Antunes Barreira, in memoriam.

A todo corpo constituinte do Laboratório de Neurofisiologia e Neurologia Experimental (LINE) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (USP) que contribuíram de forma singular para concretização dessa pesquisa. Assim como contribuem continuamente e cotidianamente com inúmeros alunos e pesquisadores da Pós-Graduação em Neurologia da FMRP USP.

A todos os alunos e pesquisadores que conjuntamente contribuíram para a elaboração, execução e finalização dessa pesquisa. Em especial, as minhas alunas e orientandas de PIBIC na UFAM Louise Makarem Oliveira e Amanda França, a Dra. Michele Bastos, pesquisadora da FMT-HVD bem como seus orientandos no Laboratório de Estudos em Neuroinfecção e Resistência Bacteriana (LENRESB/Gerência de Bacteriologia/FMT-HVD).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior - Brasil (CAPES).

“O racismo, seja branco ou negro, está impregnado de violência por definição por objetar contra fatos orgânicos naturais – uma pele branca ou negra – que não poderiam ser mudados de modo algum; tudo o que se pode fazer, jogadas as cartas, é exterminar os donos dessas peles.”

(HANNAH ARENDT)

“Leproso é aquele homem, imundo está; o sacerdote o declarará totalmente por imundo; na sua cabeça tem a sua praga.”

(LEVÍTICO 13, 44)

“A lepra é vista dentro de uma prática da rejeição do exílio-cerca; deixa-se que se perca lá dentro como numa massa que não tem muita importância diferenciada; os pestilentos são considerados um policiamento tático meticuloso onde as diferenciações individuais são os efeitos limitantes de um poder que se múltipla se articula e se subdivide.”

(MICHEL FOUCAULT)

“É preciso transver o mundo.”

(MANOEL DE BARROS)

RESUMO

FEITOZA, P. V. S. **Caracterização clínica e eletroneuromiográfica em população amazônica com neuropatia hansênica e a associação com variantes de suscetibilidade genética nos genes NCKIPSD e CARD9.** 2022. Tese (Doutorado em Neurociências e Ciências do Comportamento), Programa de Pós-graduação em Neurologia e Neurociências Clínicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Introdução: A hanseníase é uma doença granulomatosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) que afeta principalmente a pele e os nervos periféricos. O *M. leprae* apresenta tropismo pelo nervo periférico gerando um processo inflamatório que culmina na neuropatia hansênica que é a principal causa de morbidade e responsável pela maioria das deficiências e deformidades exibidas por muitos pacientes. **Objetivos:** Caracterização clínica e neurofisiológica de uma população amazônica com neuropatia hansênica, assim como investigar a presença de polimorfismos associados a aumento da suscetibilidade à infecção pelo *M. leprae* nos genes NCKIPSD e CARD9. **Pacientes e métodos:** Estudo observacional, bicêntrico, transversal de pacientes com neuropatia hansênica com caracterização clínica, eletroneuromiográfica e genotípica através dos genes NCKIPSD e CARD9. **Resultados:** Foram avaliados 33 pacientes com diagnóstico de hanseníase e evidência de neuropatia periférica. Considerando a distribuição epidemiológica 18 pacientes eram do sexo masculino e a idade média foi de 41.6 anos, sendo que dois tinham menos de 18 anos. Houve predomínio dos sintomas sensitivos, notadamente os negativos (84.8%). No âmbito neurofisiológico, predomínio da neuropatia sensitiva e motora com componentes mielínicos expressos por alentecimento da velocidade de condução e dispersão temporal anormal. Os nervos mais acometidos foram os nervos sensitivos: mediano, ulnar e fibular superficial, notadamente. O protocolo eletroneuromiográfico de avaliação motora de segmento distal se mostrou sensível (97.0%), sendo que em três pacientes somente através do referido método confirmou-se a neuropatia periférica e, por conseguinte, a hanseníase. As formas de hanseníase virchowiana e dimorfa virchowiana apresentaram maior tempo entre o início dos sintomas até o diagnóstico ($p<000.1$) e maior grau de incapacidade funcional ($p=0.03$) quando comparadas as demais formas de hanseníase. **Conclusão:** A neuropatia da hanseníase se expressa predominantemente como uma neuropatia sensitiva e motora com alentecimento focal da velocidade de condução no âmbito neurofisiológico. A assimetria nos ramos interdigitais no nervo mediano são importantes marcadores de assimetria na neuropatia hansênica. As formas de hanseníase virchowiana e dimorfa virchowiana apresentaram maior tempo entre o início dos sintomas até o diagnóstico e maior grau de incapacidade funcional.

Palavras-chave: Neuropatia hansênica. Eletroneuromiografia. Genes NCKIPSD e CARD9.

ABSTRACT

FEITOZA, P. V. S. **Clinical and electroneuromyographic characterization in an Amazonian population with leprosy neuropathy and the association with genetic susceptibility variants in the NCKIPSD and CARD9 genes.** 2022. Thesis (Doctorate in Neurosciences and Behavioral Sciences), Graduate Program in Neurology and Clinical Neurosciences, University of São Paulo, São Paulo, 2022.

Introduction: Leprosy is a chronic granulomatous disease caused by *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) that mainly affects the skin and peripheral nerves. *M. leprae* presents tropism for the peripheral nerve, generating an inflammatory process that culminates in leprosy neuropathy, the leading cause of morbidity and responsible for most deficiencies and deformities exhibited by many patients. **Objectives:** Clinical and neurophysiological characterization of an Amazonian population with leprosy neuropathy, as well as to investigate the presence of polymorphisms associated with increased susceptibility to *M. leprae* infection in the NCKIPSD and CARD9 genes. **Patients and methods:** Observational, bicentric, cross-sectional study of patients with leprosy neuropathy with clinical, electroneuromyographic, and genotypic characterization through the NCKIPSD and CARD9 genes. **Results:** Thirty-three patients diagnosed with leprosy and evidence of peripheral neuropathy were evaluated. Considering the epidemiological distribution, 18 patients were male, and the average age was 41.6 years, with two younger than 18. Sensory symptoms were predominant, notably the negative ones (84.8%). In the neurophysiological scope, predominance of sensory and motor neuropathy with myelin components expressed by slowing of conduction velocity and abnormal temporal dispersion. The most affected were the sensitive nerves: median, ulnar, and superficial peroneal. The electroneuromyographic protocol for the motor evaluation of the distal segment was sensitive (97.0%), and in three patients, only through this method peripheral neuropathy and, consequently, leprosy were confirmed. The forms of lepromatous leprosy and borderline leprosy presented a more extended time between the onset of symptoms and diagnosis ($p < 0.0001$) and a greater degree of functional disability ($p = 0.03$) when compared to the other forms of leprosy. **Conclusion:** Leprosy neuropathy is predominantly expressed as a sensory and motor neuropathy with focal slowing of conduction velocity in the neurophysiological context. Asymmetry in the median nerve's interdigital branches is an important marker of asymmetry in leprosy neuropathy. The forms of lepromatous leprosy and borderline lepromatous leprosy showed a more extended time between the onset of symptoms and diagnosis and a greater degree of functional disability.

Keywords: Leprosy neuropathy. Electroneuromyography. NCKIPSD and CARD9 genes.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EC	Era das Cruzadas
AT	Antigo Testamento
OMHSLI	Ordem Militar e Hospitaleira de São Lázaro de Jerusalém
IPDVL	Inspetoria de Profilaxia das Doenças Venéreas e de Lepra
CNCH	Campanha Nacional Contra a Hanseníase
CIH	Congresso Internacional de Hanseníase
CNDS	Conselho Nacional de Dermatologia Sanitária Divisão
SSPRA	Serviço de Saneamento e Profilaxia Rural do Amazonas
DOC	Dispensário Oswaldo Cruz
DAM	Dispensário Alfredo da Matta
EGC	Educandário Gustavo Capanema
HCVBP	Hospital Colônia Vila Belisário Penna
CAA	Colônia Antonio Aleixo
EGH	Estratégia Global Hanseníase
BEH	Boletim Epidemiológico da Hanseníase
ML	Mycobacterium Leprae
HIV	Vírus da Imonodeficiência Humana
DH	Doença de Hansen
CHM	Complexo de Histocompatibilidade Maior
CD	Células Dentríticas
GD	Gêmeos Dizigóticos
CL	Células Linfóides
CM	Células Mielóides
ITAM	Tirosina de Imunoreceptor
TLRs	Toll-Like Receptors
RJ	Rodley-Jopling
HT	Hanseníase Tuberculóide
HV	Hanseníase Virchowiana
HB	Hanseníase Borderline ou Dimorfa
IB	Índice Bacteriológico
NH	Neuropatia Hansênica
HNP	Hanseníase Neural Primária
NU	Nervo Ulnar
NF	Nervo Fibular
NS	Nervo Sural
NM	Nervo Mediano
FMT-DHVD	Fundação de Medicina Tropical-Doutor Heitor Vieira Dourado
MRC	Medical Research Council
AM	Articulação Metatarsofalangeana
ADL	Atividade da Vida Diária

LINE
FMRP-USP

Laboratório de Neurofísica e Neurologia Experimental
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de
São Paulo

LISTA DE TABELAS E GRÁFICO

Tabela 1	Sequência de primers dos genes <i>CARD9</i> e <i>NCKIPSD</i>	40
Tabela 2	Protocolo de PCR	41
Tabela 3	Perfil térmico da PCR.....	41
Tabela 4	Protocolo da PCR de sequenciamento.....	42
Tabela 5	Perfil térmico da PCR de sequenciamento.....	42
Tabela 6	Banco de dados e sites utilizados.....	44
Tabela 7	Aspectos epidemiológicos dos pacientes com hanseníase.....	46
Tabela 8	Características clínicas dos pacientes com hanseníase.....	47
Tabela 9	Características eletroneuromiográficas dos pacientes com hanseníase.....	49
Tabela 10	Comparação de aspectos clínicos e funcionais da neuropatia hansênica entre as formas de hanseníase dimorfa virchowiana/virchowiana versus tuberculóide/dimorfa tuberculóide/indeterminada	51
Gráfico 1	Distribuição da fraqueza muscular na população com neuropatia hansênica...	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Consultório médico do Asilo do Umirisal. À frente de jaleco braço o Dr. Alfredo da Matta.....	19
Figura 2	Palhoças do Asilo do Umirisal.....	20
Figura 3	Frente do edifício principal da Leprosaria de Paricatuba.....	21
Figura 4	Leprosaria do Paredão do Rio Negro, com o refeitório ao centro. À frente os médicos Dr. Alfredo da Matta, Flávio de Castro e Souza-Araújo, 1933.....	22
Figura 5	Presença de casos em faixas etárias pediátricas.....	24
Figura 6	Condução motora do padrão da neuropatia sensitiva e motora assimétrica com alentecimento da velocidade de condução.....	51
Figura 7	Aspectos epidemiológicos dos pacientes com hanseníase.....	53
Figura 8	Condução sensitiva do padrão da neuropatia sensitiva e motora assimétrica com alentecimento da velocidade de condução.....	54
Figura 9	Condução motora normal com alteração exclusiva no protocolo + 4 centímetros distal.....	55
Figura 10	Condução sensitiva normal com alteração exclusiva no protocolo + 4 centímetros distal.....	57
Figura 11	Caracterização neurofisiológica ao estudo de condução do acometimento intrafascicular assimétrico no nervo mediano.....	58
Figura 12	Caracterização gráfica neurofisiológica do acometimento intrafascicular assimétrico no nervo mediano.....	59
Figura 13	Sequenciamento genético da variante NCKIPSD - rs145562243 na população amazônica com neuropatia hansênica.....	60
Figura 14	Sequenciamento genético da variante CARD9- rs149308743 na população amazônica com neuropatia hansênica.....	60

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	Contextualização histórica da Hanseníase	16
1.1.1	Hanseníase no mundo	16
1.1.2	Hanseníase no Brasil.....	17
1.1.3	Hanseníase no Amazonas.....	18
2	REVISÃO DA LITERATURA	22
2.1	Epidemiologia da Hanseníase	22
2.1.1	Epidemiologia no mundo	22
2.1.3	Epidemiologia no Amazonas	25
2.2	Conceitos relativos à Hanseníase	25
2.2. 1	Definição e Microbiologia	25
2.2.2	Microbiologia.....	26
2.2.4	Transmissão	27
2.2.5	Patogênese.....	28
2.2.6	Imunologia	Erro! Indicador não definido.
2.2.7	Genética	29
2.2.8	Formas de Hanseníase.....	31
2.2.9	Neuropatia Hansênica	32
3	JUSTIFICATIVA	33
4	OBJETIVOS	34
4.1	Primário.....	34
4.2	Secundário.....	34
5	PACIENTES E MÉTODOS	34
5.1	Desenho do estudo	34
5.2	Amostra.....	34
5.3	Critérios de Inclusão	35
5.4	Critérios de Exclusão	35
5.5	Avaliação neurológica do sistema nervoso periférico	35
5.6	Avaliação neurofisiológica do sistema nervoso periférico	36
5.7	Avaliação da qualidade de vida	37
5.8	Operacionalização do projeto.....	38
5.9	Avaliação Laboratorial.....	38
5.10	Coleta de material e extração do DNA	39
5.11	Quantificação, pureza e integridade das amostras	39
5.12	Seleção de Primers	40
5.13	Reação em cadeia de Polimerase (PCR)	41
5.14	Reação de Sequenciamento.....	42
5.15	Precipitação e purificação da Reação de Sequenciamento	43
5.16	Análise das sequências.....	43
5.17	Nomenclatura	44
5.18	Banco de dados e sites utilizados	44
5.19	Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)	44
5.20	Análise Estatística	45
6	RESULTADOS.....	45
7	DISCUSSÃO	61

8 CONCLUSÕES	69
REFERÊNCIAS	70
ANEXO 1: PROTOCOLO GENÉTICA E HANSENÍASE	77
ANEXO 2: PROTOCOLO DE NEUROPATIA PERIFÉRICA	80
ANEXO 3: COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - FUNDAÇÃO DE DERMATOLOGIA	88
ANEXO 4: ARTIGO	92

1 INTRODUÇÃO

1.1 Contextualização histórica da Hanseníase

1.1.1 Hanseníase no mundo

O termo “lepra” é uma palavra grega que deriva do verbo “lepo” significando pelar ou descamar, e de “lepros” que significa áspero ou escamoso. Foi essa palavra que os tradutores da Septuaginta (LXX), no século III a. C. usaram para traduzir o hebraico *tsara'th* (RODRIGUES, 2013).

Os primeiros israelitas acreditavam que a doença era o castigo para o pecado e o conjunto hediondo particular de síndromes referidas a “*tzaraat*”. A hanseníase, então, era tanto um castigo por um pecado quanto uma maldição divina porque era uma doença crônica e incurável (GRZYBOWSKI, 2016).

Na cultura judaica bíblica, cada doença de pele poderia tornar uma pessoa impura. A “Lei da Pureza” do Antigo Testamento, refere-se a um conjunto de regras para lidar com os doentes. O portador de “lepra” durante a duração da doença era considerado impuro e excluído de sua comunidade para não passar sua impureza a pessoas saudáveis. Sobre o que deveria ser considerado como “lepra” era uma decisão para os sacerdotes. Quando o sacerdote estabelecia o diagnóstico, a pessoa suspeita de ter “lepra” era colocado em quarentena de 7 dias. Após esse período o doente era reavaliado pelo sacerdote para determinar se a doença estacionara e não mais se propagava. Então era isolado novamente por sete dias. Em nova realização se a doença regredia era considerada como uma simples inflamação e o indivíduo era considerado puro. Todavia, se o sacerdote observava que a inflamação se propagou pela pele, o indivíduo era considerado impuro, pois se tratava efetivamente de “lepra” (LEVÍTICOS 13:3-8).

A estigmatização e segregação do hanseniano também foram refletidos pelo costume e dever de enterrá-los em cemitérios separados. A primeira leprosaria surgiu com o aumento da incidência da hanseníase no século IV, e nos 200 anos seguintes se espalhou por toda a Europa, onde, durante a Idade Média, a doença foi rapidamente inscrita no sistema de conotações religiosas: era um castigo de Deus por transgressões. Durante a Era das Cruzadas, os guerreiros acometidos de Hanseníase foram investidos de uma espécie de aura sagrada, e passaram a ser chamados de pobres

de Cristo. Cuidar de hansenianos se tornou uma obrigação cristã, culminando na Criação da Ordem Militar e Hospitaleira de São Lázaro de Jerusalém. Na consciência coletiva social das civilizações ocidentais, a Hanseníase não está mais associada a países europeus (GRZYBOWSKI, 2016).

1.1.2 Hanseníase no Brasil

Os primeiros relatos de Hanseníase no Brasil datam do período colonial, levando-nos a acreditar que o bacilo foi introduzido nas Américas pelo colonizador europeu (MAURANO, 1950; MACIEL, 2003). Assume-se que a hanseníase tenha sido introduzida, provavelmente, em diversos pontos da costa brasileira, correspondentes aos principais centros da Colônia e tenha se disseminado seguindo a marcha da colonização (MAURANO, 1950).

Os primeiros estudos sobre a Hanseníase no Brasil são oriundos de Bernardino Antônio Gomes, cirurgião da Armada Real, aportando no país pela primeira vez em 1798. Acompanhou D. Maria Leopoldina em sua vinda ao Brasil, dedicando sua notável obra intitulada “Ensaio dermosographico ou succinta descrição das doenças cutâneas com indicação dos respectivos remedios”. Inúmeros foram os cientistas que o seguiram, já no século XIX e meados do século XX, tais como: Prof. Góes Siqueira, Dr. Azevedo Lima, Raimundo Nina Rodrigues, José Lourenço de Magalhães, assim como Emílio Ribas e Adolpho Lutz (MAURANO, 1950).

Em 1904, Oswaldo Cruz introduziu a política de notificação compulsória. Em 1920, Carlos Chagas criou o Departamento Nacional de Saúde Pública dentro do qual pelo decreto nº. 14354 de 15 de setembro de 1921 foi instituída e regulamentada a Inspeção de Profilaxia das Doenças Venéreas e da Lepra. Ernani Agrícola, entre 1933 e 1935, instituiu um plano nacional de combate à hanseníase adotando o método campanhista, utilizado para outras doenças (MACIEL, 2003).

A política de segregação começa a ser criticada próximo da metade do século XX com término da mesma a partir de 1940 em alguns países europeus, sem comprometer o controle da endemia. Fato que teve grande contribuição pela descoberta e introdução da sulfona como primeiro quimioterápico efetivo contra o bacilo. Em 1959, a Campanha Nacional Contra a Hanseníase fundamentou-se nas conclusões obtidas no VII Congresso Internacional de Hanseníase realizado no ano anterior. O isolamento compulsório só foi formalmente abandonado pela lei nº 986, de 7 de maio de 1962. O termo “lepra” foi substituído por Hanseníase formalizado na portaria nº 165, de 14 de maio de 1976, pelo Conselho Nacional de Dermatologia Sanitária Divisão (MACIEL, 2003).

1.1.3 Hanseníase no Amazonas

No Estado do Amazonas, os primeiros relatos de hanseníase originam-se em 1854, embora à época não se considerasse uma doença endêmica (SOUZA-ARAÚJO, 1948). Havia três ou quatro casos isolados de hanseníase em Manaus; portanto, a doença existia no Baixo Amazonas e não no Alto Amazonas. Afirma-se que muito naturalmente os primeiros casos da doença no Amazonas tenham sido provenientes do Pará, onde já se tinha muitos doentes desde o início do século XIX. Justificado pelas relações comerciais entre Manaus, Belém e Santarém, à época, intensas. Em Santarém, já em 1822, os casos provenientes da cidade eram internados no Asilo de Tocunduba no Pará (MAURANO, 1950).

Em 1877, o Nordeste vivenciou uma das piores secas de sua história determinando um fluxo migratório de sua população no país. O Amazonas tinha na atividade extrativista da borracha a base de sua economia e principal determinante de sua pujança econômica. Portanto, havia uma necessidade de mão de obra nos seringais. Assim, os nordestinos migrantes assumiram em grande parte a atividade extrativista seringueira. Já durante a Segunda Guerra Mundial, houve novamente migração nordestina. Os trabalhadores que se destinavam a essa atividade laborativa nos seringais receberam a designação de “soldados da borracha” (TALHARI, 1977; TALHARI, 1981).

Alfredo da Matta, médico sanitário e hansenólogo, atesta que o primeiro doente com hanseníase registrado em Manaus foi em 24 de fevereiro de 1908, época da criação do Umirisal (Figura 1). Tratava-se de um ex-seringueiro que permaneceu por nove anos no asilo, indo a óbito em 1917.

Figura 1: Consultório médico do Asilo do Umirisal. À frente de jaleco braço o Dr. Alfredo da Matta



Fonte: História da Lepra no Brasil, H C de Souza-Araújo, v. II, Instituto Oswaldo Cruz, Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, Brasil, 1948, estampa 23.

Segundo Alfredo da Matta, a história da hanseníase no Amazonas possui três fases: 1889 a 1907, de 1908 a 1921, de 1922 a 1929. Na primeira fase, a Santa Casa de Misericórdia realizava o atendimento do doente hanseniano sem distinção das outras doenças. O período pode ser caracterizado como assistencial de caridade. Havia precariedade nas instalações para atendimento aos doentes, encaminhamento dos doentes provenientes do interior do Amazonas à capital, assim como grande fluxo migratória, sobretudo nordestino, determinando expansão do número de casos de hanseníase (SCHWEICKARDT, 2015).

No segundo período (1908 a 1921), afirma-se em âmbito local a visão de isolamento social preponderante mundialmente, expressa na Conferência Internacional sobre Lepra (1897), em Berlim. Em âmbito nacional, ratificava-se a partir do movimento sanitário de 1910 que culmina na estratégia adotada pela Inspetoria de Profilaxia da Lepra e das Doenças Venéreas, durante a década de 1920; defendendo o isolamento amplo e fechamento dos doentes em colônias, acompanhando e tratando as pessoas que tiveram contato e, finalmente, a internação compulsória (MONTEIRO, 2003; CUNHA, 2010; CABRAL, 2013).

No Amazonas, a referida estratégia se apropriou do Asilo do Umirisal que funcionou no final do século XIX e no início do século XX para isolamento dos doentes com varíola (Figura 2). Em 1908, decretou-se que o asilo se destinaria exclusivamente aos doentes com hanseníase. Em 1922, a população era de 171 pessoas; já em 1930, era de 207 internos. O Asilo do Umirisal ficou

estigmatizado como lugar da lepra e na sua desativação, em 1930, toda a sua estrutura foi queimada pelo Serviço Sanitário.

Figura 2: Palhoças do Asilo do Umirisal



Fonte: História da Lepra no Brasil, H C de Souza-Araújo, v. II, Instituto Oswaldo Cruz, Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, Brasil, 1948, estampa 23.

A terceira fase (1922 a 1929) é marcada por um número crescente de casos de hanseníase e pelo combate à endemia com a coordenação do Serviço de Saneamento e Profilaxia Rural do Amazonas. É criada a Inspetoria de Profilaxia da Lepra e das Doenças Venéreas que centralizou as ações voltadas à hanseníase com um tripé: dispensário-educandário-leprosário. Realizou-se, ainda, durante a terceira fase o Censo da Lepra no Amazonas publicado no primeiro relatório do Serviço Sanitário e de Profilaxia Rural de 1922. No período entre 1922 e 1928, segundo Alfredo da Matta, foram recenseadas 971 pessoas, e, numa revisão feita pelo médico no final de 1928, restaram oitocentos pacientes com hanseníase. No entanto, o médico calculava que se poderia acrescentar 25% aos casos, devido às dificuldades no diagnóstico e acesso geográfico (SCHWEICKARDT, 2015).

O atendimento aos doentes com hanseníase era realizado no Dispensário Oswaldo Cruz onde se realizava a avaliação inicial dos casos suspeitos, bem como os exames laboratoriais e instituição do tratamento. A partir de 1950, mudou-se de localização e de nome, passando a ser Dispensário Alfredo da Matta, também conhecido popularmente como “Casa Amarela”, homenageando o médico que atuou por mais de 50 anos na saúde pública do Amazonas.

Como parte da política de isolamento da hanseníase havia os preventórios que se destinavam a receber os filhos de doentes com a hanseníase logo ao nascimento. A primeira instituição com essa finalidade foi a creche Alice Sales, criada em 1926. Em 1939, foi criado o Educandário

Gustavo Capanema, inaugurado efetivamente no ano de 1942, com objetivo de amparar os filhos dos doentes nascidos nos leprosários Belisário Penna e Colônia Antônio Aleixo (UCHOA, 1922; TAVARES, 2011).

O Hospital-Colônia Vila Belisário Penna – Leprosaria de Paricatuba localizada à margem direita do Rio Negro, acima de Manaus, com acesso exclusivamente fluvial à época, recebeu em definitivo os doentes com hanseníase, provenientes do Asilo do Umirisal em 1931 (Figura 3).

Figura 3: Frente do edifício principal da Leprosaria de Paricatuba



Fonte: História da Lepra no Brasil, H C de Souza-Araújo, v. II, Instituto Oswaldo Cruz, Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, Brasil, 1948, estampa 25.

Entretanto, o decreto que destinava o prédio da leprosaria ao Saneamento Rural para esse fim data de 1924. Havendo o retardo na execução dessa finalidade devido o movimento revolucionário de julho de 1924 e, posteriormente, mudança na política relativa à finalidade do prédio, tendo sido construída uma nova leprosaria conhecida como Paredão, em frente à ilha de Marapatá, abaixo de Manaus (Figura 4).

Entre os anos de 1965 e 1967, a Vila Belisário Penna foi desativada e os seus pacientes foram transferidos para a Colônia Antônio Aleixo (SCHWEICKARDT, 2015).

Figura 4: Leprosaria do Paredão do Rio Negro, com o refeitório ao centro. À frente os médicos Dr. Alfredo da Matta, Flávio de Castro e Souza-Araújo, 1933.



Fonte: História da Lepra no Brasil, H C de Souza-Araújo, vol II, Instituto Oswaldo Cruz, Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, Brasil, 1948, estampa 24.

A Colônia Antônio Aleixo, criada em 1942, seguia o modelo dos hospitais-colônia no Brasil. A política de isolamento completo dos doentes persistiu até o ano de 1966; entre 1967 a 1972 passou-se a permitir a visita de parentes e a formação de famílias; no período de 1973 e 1977 passou-se a considerar a possibilidade de alta; culminando com sua desativação de 1978 a 1979 (TAVARES, 2011). A Colônia foi transformada em bairro, e pela ausência efetiva durante anos da administração pública, somaram-se as dificuldades resultantes no âmbito social e econômico. Hoje já se observa a presença de serviços de infraestrutura condizentes com um bairro urbano (SCHWEICKARDT, 2015).

Em 24 de novembro de 1982, o Dispensário Alfredo da Matta foi reconhecido como Centro de Dermatologia Tropical e Doenças Sexualmente Transmissíveis Alfredo da Matta e assumiu a responsabilidade para manejar o programa de controle de hanseníase no Amazonas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Epidemiologia da Hanseníase

2.1.1 Epidemiologia no mundo

Segundo a Estratégia Global de Hanseníase 2021–2030 “Rumo à zero hanseníase” foram detectados 202.256 novos casos em 118 países (26,0 por milhão de habitantes). Destes, 96% foram

relatados pelos 23 países prioritários globais, incluindo 79% na Índia, no Brasil e na Indonésia. Tais dados são oriundos de 161 países em 2019. Nota-se nítido predomínio na incidência de hanseníase no Sudoeste Asiático e nas Américas, com 143.787 casos e 29.936 casos, respectivamente.

No referido relatório alguns pontos merecem destaques: a taxa de casos novos com incapacidade funcional grau 2 (IG2), taxa de casos novos em crianças, taxas relativas ao tratamento e recidivas. Foram relatados 10.816 casos em 94 países com grau de incapacidade funcional 2 ao diagnóstico inicial. Determinando-se uma taxa de IG2 de 1,4 por milhão de habitantes. Coeficiente comparativamente menor ao evidenciado em 2014 (2,0), porém ainda acima do objetivo determinado pela meta 2020 de < 1 caso IG2 por milhão de habitantes.

Foram registrados 14.983 casos novos em crianças, com uma taxa de detecção de 7,9 por milhão de crianças. Em 2014 a taxa foi de 10,1 por milhão de crianças. Portanto, obtendo-se melhoria em relação ao índice, mas ainda houve a detecção de 370 casos de crianças com IG2 divergindo da meta estabelecida de zero casos em 2020.

As taxas de conclusão do tratamento para hanseníase ainda se mantêm baixas, evidenciando-se em apenas 47 países taxas superiores a 85%. Bem como, foram evidenciadas 3.897 recidivas em 54 países – 44% delas no Brasil – acima dos 1.175 em 2014. A taxa de recidiva na hanseníase parece baixa, em torno de 1% em 5-10 anos.

A meta da Estratégia Global de Hanseníase é a eliminação da hanseníase definida como interrupção da transmissão (Organização Mundial da Saúde, 2021). As metas para 2030 são: 120 países com zero novos casos autóctones, 70% de redução do número anual de novos casos detectados, 90% de redução da taxa por milhão de habitantes de novos casos com incapacidade de grau 2 (IG2) e 90% de redução da taxa por milhão de crianças de casos novos de hanseníase em crianças (Organização Mundial da Saúde, 2021). Para que esses objetivos sejam atingidos há pilares estratégicos na execução de políticas públicas, tendo como base a implementação em todos os países endêmicos, um roteiro zero hanseníase do próprio país.

2.1.2 Epidemiologia no Brasil

Segundo o Boletim Epidemiológico da Hanseníase, publicado em janeiro de 2022, foram detectados 155.359 casos novos de hanseníase entre os anos de 2016 e 2020 no Brasil. Ampliando-se a série histórica para o período compreendido entre 2011 e 2020, foram diagnosticados 284.723 casos novos de hanseníase. A partir desses dados, permite-se atestar uma redução de 51,9%,

Fonte: Sinan/SVS/MS. Boletim Epidemiológico Hanseníase, 2022, p.15.

2.1.3 Epidemiologia no Amazonas

No Estado do Amazonas foram detectados 1980 casos novos, entre 2016 e 2020, predominando na população considerada parda (74,9%) e com a população indígena contribuindo com 5,8%. Assim como observado a tendência em nível nacional, indivíduos com escolaridade expressa por ensino fundamental incompleto representou a maior parcela da população diagnosticada (43,5%) (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO HANSENÍASE, 2022).

Em relação à capital do Estado do Amazonas, Manaus, ao se analisar a série histórica de 2010 a 2020 observou-se uma redução na taxa de detecção de casos novos por 100.000 habitantes. Em 2010 a taxa foi de 15,23/100.000 habitantes e em 2020 foi de 3,24/100.000 habitantes. Com isto assumindo o estado com menor taxa de detecção de casos novos na região norte (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO HANSENÍASE, 2022).

O Amazonas foi, na série histórica de 2012 a 2020, o Estado da Federação com maior incremento no indicador de contatos examinados de casos novos de hanseníase, sendo de 50,3%. Aditivamente, o Estado do Amazonas foi uma das duas unidades da federação que apresentaram incremento em relação à proporção de cura, sendo a primeira o Estado de Goiás, com 22,9% de aumento, e o Amazonas, com 7,7%; as demais apresentaram declínio. Atesta-se assim uma tendência de melhoria na implementação das políticas públicas relacionadas à hanseníase no âmbito de busca ativa de casos, bem como na aplicação do tratamento da hanseníase com a poliquimioterapia (PQT) (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO HANSENÍASE, 2022).

2.2 Conceitos relativos à Hanseníase

2.2. 1 Definição e Microbiologia

A Hanseníase é uma infecção granulomatosa crônica causada por um micro-organismo intracelular obrigatório denominado *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) (LOCKWOOD, 2004). A doença acomete, predominantemente, a pele e os nervos periférico. Complicações secundárias à

neuropatia periférica podem resultar em deformidade e incapacidade funcional. Portanto, ainda, determinando estigmas relativos à doença (WALKER, 2007).

2.2.2 Microbiologia

O *M. leprae* foi descoberto por Gerhard Henrick Armauer Hansen em 1893, em Bergen na Noruega, sendo a primeira bactéria identificada como agente causador de uma doença em humanos (MUNGROO, 2020). É um bacilo álcool-ácido resistente (BAAR) 0,3-0,4 x 2-7µm, patógeno intracelular obrigatório com tropismos por macrófagos, e caracteristicamente, pelas células de Schwann nos nervos periféricos (SINGH, 2011).

Segundo classificação taxonômica vigente o agente etiológico da Hanseníase pertence ao filo Actinobacteria, à ordem Actinomycetales, à família Mycobacteriaceae, ao gênero *Mycobacterium* e à espécie *Mycobacterium leprae* (INTEGRATED TAXONOMIC INFORMATION SYSTEM-ITIS, 2022).

Na microscopia com cortes finos, o *M. leprae* tem uma parede celular de 15-20 nm de espessura composta por duas camadas de elétron-densos e uma camada externa elétron-transparente. Na microscopia eletrônica as paredes do *M. leprae* podem mostrar estruturas em forma de banda paralela ao eixo curto da célula e estruturas fibrosas pareadas. O exame de microscopia eletrônica de tecidos infectados pelo *M. leprae* estabeleceu a presença de uma zona elétron-transparente circundando os bacilos, que pode ser considerada como uma cápsula do *M. leprae*, composta por um micosídeo específico (PATTYN, 1983).

O *M. leprae* se multiplica nas partes mais frias do corpo de camundongos, ratos e hamsters: coxins, orelhas e testículos, com um tempo de geração durante a fase logarítmica de 12-14 dias (SHEPARD, 1960). Cresce melhor em torno de 30°C e, portanto, prefere as áreas mais frias do corpo humano. A bactéria pode permanecer viável por vários dias ex vivo (SASAKI, 2001).

2.2.3 Fatores de risco

Alter *et al.* questionam se apenas a presença do *M. leprae* é necessário para a existência da doença considerando que a maioria dos indivíduos expostos (>90%) ao bacilo são assintomáticos; e, portanto, sugerindo que a progressão de exposição ao desenvolvimento da doença requer fatores de riscos adicionais (ALTER, 2008; CHAUDHURY, 1994; CONVIT, 1992; GUPTE, 1998).

Moet *et al.* (2006) indicam que o grau de proximidade (distância física) ao doente com Hansen, o grau de parentesco (distância genética) com um doente e a idade contribuíram independentemente para o risco de hanseníase em contatos de doentes com hanseníase. Em relação à idade, observou-se uma distribuição bimodal com um aumento a partir de cinco anos de idade sendo o primeiro pico entre 15 e 20 anos, com um descenso entre 20 e 29 anos, e um novo aumento após os 30 anos de idade. Quanto à distância física se caracterizou uma relação inversa entre o grau de proximidade do contato com o doente e o risco de o contato desenvolver a doença. Aditivamente, indivíduos que apresentavam maior grau de parentesco (filho, irmão e pais) com o doente apresentaram maior chance de desenvolver a doença.

Pinheiro *et al.* (2011) corroboram a percepção de que a proximidade é uma importante determinante da transmissão. O risco relativo para o desenvolvimento da doença em contatos domiciliares é de 8 a 10 vezes para as formas virchowianas e de 2 a 4 vezes para as formas tuberculóides.

Acredita-se que esteja suprimida a resposta imune ao *M. leprae* em indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) antes de iniciar a terapia antirretroviral de alta eficácia (TARV). E, portanto, a instituição TARV constitui um fator de reversão de tal imunossupressão, desenvolvendo-se a síndrome inflamatória de reconstituição imune (SIRI) e consequente ativação da doença de Hansen (DEPS, 2008).

Quanto o risco ao dano do sistema nervoso periférico pela hanseníase há evidências importantes: 1) pacientes com hanseníase paucibacilar sem danos ao nervo periférico tem baixo risco, aproximadamente 1%, de dano futuro com o tratamento; 2) pacientes com hanseníase paucibacilar e com dano ao nervo periférico que recebem o tratamento tem um risco de 15% de dano aditivo ao nervo em dois anos de seguimento; 3) pacientes com hanseníase multibacilar e com dano ao nervo periférico tem um risco de 65% para dano adicional (WILDER-SMITH, 2008). Aditivamente, a presença de lesões de pele sobre o tronco de nervo periférico constitui fator de risco independente para dano ao nervo periférico (VAN BRAKEL, 2005).

2.2.4 Transmissão

O mecanismo de transmissão não é totalmente compreendido (MUNGROO, 2020). Assume-se que o trato respiratório possa exercer papel na transmissão do *M. leprae* (BARTON,

1974). A transmissão materna durante a gestação já foi relatada, bem como através de tatuagem (DUNCAN, 1983; GHORPADE, 2002). O compartilhamento de fômites também tem sido relatado, embora ainda não se tenha sido provado. A pele tem sido implicada como possível via de transmissão uma vez que os bacilos sobrevivem por mais de nove dias fora do corpo (EICHELMANN, 2013).

2.2.5 Patogênese

A invasão e a infecção do *M. leprae* é induzido pela ligação da bactéria à lâmina basal (NG, 2000). A isoforma da laminina-2, o proteoglicano do sulfato de heparina, o colágeno IV e o nidogênio são os principais componentes da lâmina basal, dos quais a isoforma da laminina-2, composta pelas cadeias $\alpha 2$, $\beta 1$ e $\gamma 1$, é o componente ao qual o *M. leprae* preferencialmente liga (MUNGROO, 2020). Foi revelado que o tropismo neuronal do *M. leprae* é mediado pela cadeia da laminina $\alpha 2$, uma vez que a bactéria não conseguiu se ligar a camundongos sem laminina $\alpha 2$ e estava ligada ao domínio G da laminina $\alpha 2$ (RAMBUKKANA, 1997).

A α -dístroglicano foi identificada como um receptor de membrana celular para *M. leprae* em células de Schwann, indicando um mecanismo pelo qual o domínio G da laminina $\alpha 2$ pode modular a entrada celular da bactéria (RAMBUKKANA, 1998). A parede celular do *M. leprae* é composta principalmente de glicolípídios e ácido ftiocerol dimicocerósico, que consiste principalmente de glicolípídeo fenólico-1 específico do *M. leprae* (PGL-1) (MUNGROO, 2020). A importância do PGL-1 na afinidade do *M. leprae* para os tecidos neurais é afirmada, uma vez que o domínio G da laminina $\alpha 2$ reativo ao PGL-1 é expresso principalmente na lâmina basal e no músculo das células de Schwann (RAMBUKKANA, 2001).

A desregulação do sistema de comunicação célula-axônio de Schwann ocorre quando o *M. leprae* interage com a lâmina basal das unidades axônicas-células de Schwann, levando ao colapso da bainha de mielina. Mediante a habilidade de reprogramar as células de Schwann após a invasão, o *M. leprae* aumenta muito sua capacidade de sobrevivência, persistência e propagação (MUNGROO, 2020).

2.2.6 Imunologia

Cerca de 80% da população de forma geral é naturalmente resistente à doença. Dos 20% restantes, 16-18% constituem o grupo definido como reatores lentos (Grupo Tuberculóide) e 2-4% constituem o grupo anérgico (Grupo Virchowiano) (RADA, 2009).

O sistema imunológico composto pela imunidade inata e adaptativa confere proteção às infecções, dentre as quais à micobacteriana. A imunidade inata constitui a primeira linha de defesa. Esta se fundamenta primariamente com a ativação do sistema complemento resultando em neutralização, opsonização, estimulação da fagocitose e culmina com a formação do complexo de ataque à membrana (CAM). Secundariamente, há a resposta inflamatória com estimulação de produtos bacterianos que secretam fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucina 1 (IL-1) e quimiocinas que induzem a infiltração de leucócitos em sítios de infecção (RADA, 2009).

As células dendríticas exercem importante papel na resposta ao *M. leprae*. Há evidências de redução na expressão das moléculas de superfície do complexo de histocompatibilidade maior (CHM) tipo 1 e tipo 2 nas células da pele e mucosa nasal. Enquanto, em contraponto, observa-se em outros cenários um aumento da expressão das moléculas de CHM tipo e em CD40 com aumento na produção de IL-12 quando estimulada pelo contato com *M. leprae*, sugerindo à supressão da interação entre as células dendríticas e os linfócitos em formas diversas da hanseníase (DEMANGEL, 2000; HASHIMOTO, 2002; MAEDA, 2003).

Em relação à imunidade adaptativa, se estabelece dois tipos de resposta: uma que se dá mediada por células (imunidade celular) na qual participam os linfócitos e outra mediada por anticorpos (imunidade humoral). Observa-se uma diminuição da resposta celular na infecção pelo *M. leprae* variável mediante as formas clínicas da doença, sendo mais evidentes nas formas multibacilares (RADA, 1987; RADA, 1997). Há ainda evidência de mecanismos de apoptose em todas as formas da doença predominantemente nas formas multibacilares e naqueles com reação tipo 2 (HERNANDEZ, 2003; WALSH, 2004; AJITH, 2005).

2.2.7 Genética

Em 1973, Chakravarti e Vogel mostraram que a concordância entre as formas clínicas de hanseníase foi maior entre gêmeos monozigóticos idênticos geneticamente (60-85%) quando

comparado aos gêmeos dizigóticos (5-20%) (CHAKRAVARTTI; VOGEL, 1973). Aditivamente, diversos estudos demonstraram a distribuição em agrupamentos familiares da hanseníase, assim como análises de segregação dão suporte a um modelo poligênico de herança (SHIELDS *et al*, 1987; ABEL *et al*, 1995). A descoberta de fatores de risco na região 5'-reguladora de PARK2 e PACRG confirmou a utilidade prevista da análise de ligação seguida de estudos de associação (ALTER, 2008).

Estudos subsequentes evidenciaram associação de suscetibilidade à hanseníase, conforme suas formas clínicas ou reacionais nos genes NOD2 e IFNG que regulam a resposta imune inata do hospedeiro através de vias de reconhecimento e autofagia (SALES MARQUES, 2014; SILVA, 2012). A partir de então postulou-se que tais polimorfismos genéticos poderiam ter papel na suscetibilidade à doença, sobretudo em contatos. Pesquisas posteriores com a mesma população de base étnica do presente estudo, os genes NOD2 e IFNG foram associados à resistência e ao risco de desenvolvimento de hanseníase, respectivamente (LETURIONDO, 2020).

Diversos outros genes tais como: TLR1, LRRK2, IL10, TNF que de forma similar participam na resposta imune inata foram associados à suscetibilidade da hanseníase (SALES MARQUES, 2014; WANG, 2015; ALVARADO-ARNEZ, 2015; AREESHI, 2017).

Habitualmente, três métodos têm sido utilizados para se determinar a suscetibilidade genética à hanseníase. O primeiro foi a clonagem posicional responsável por identificar os genes PARK2 e PACRG. Em seguida os estudos de associação genômica permitiram associar outros onze genes. E por último, alguns genes de suscetibilidade genética à hanseníase foram identificados por comparação de diferentes frequências entre casos e controles. Aditivamente, estudo de sequenciamento completo do exoma sugerem polimorfismos em dois outros genes associados ao aumento da suscetibilidade à doença, são eles: os genes GAL3ST4 e CHGB. O primeiro gene participa na síntese de glicoproteínas, metabolismo e transdução de sinais celulares. Enquanto, o segundo efetua papel na regulação de peptídeos (YUAN, 2017).

Liu e colaboradores realizaram estudo de análise genômica ampla da codificação de proteínas variantes da hanseníase. Nessa pesquisa, efetuado numa população chinesa, realizou-se um estudo de associação de três estágios em todo o exoma de variantes codificadoras de proteínas. Foram descobertas sete variantes de risco não sinônimas para hanseníase, incluindo cinco raras e de baixa frequência, dentre as quais: NCKIPSD - rs145562243 e CARD9- rs149308743, objeto de investigação do presente estudo (LIU, 2017).

O gene NCKIPSD não está diretamente relacionado à imunidade. A proteína de NCKIPSD pertence à família NCK de proteínas adaptadoras, principais reguladores de atuação no citoesqueleto. Participa da fagocitose dependente do receptor FCG e está implicado em muitos processos funcionais, como montagem e manutenção de sarcômeros e formação de fibras (LIM, 2001). Num estudo chinês demonstrou-se que a variante rara rs145562243 foi localizada na região rica em prolina (PRD) do N-terminal NCKIPSD (LIU, 2017). A sua superexpressão já foi demonstrada estar relacionada a anormalidades em formação e tráfego de vesículas, levando ao defeito endocitose do receptor FCG (OH, 2013). A descoberta do gene NCKIPSD destaca o potencial envolvimento da endocitose/fagocitose/autofagia na defesa do hospedeiro contra a infecção por *M. leprae* (LIU, 2017).

O gene CARD desempenha importante papel na ativação do NF- κ B, um importante regulador da resposta imune contra a infecção pelo *M. leprae* (BHATTACHARYYA, 2010). Uma interação importante ocorre com o gene BCL10 que regula a ativação de uma via de sinalização NF- κ B formando dois complexos CARMA1-Bcl10-MALT1 e CARD9-Bcl10-MALT1 em células linfóides (L-CBM) e mielóides (M-CBM), respectivamente (HARA, 2009).

Como regulador da imunidade inata, o complexo M-CBM atua na ativação de NF- κ B através de receptores acoplados ao motivo de ativação baseado em tirosina do imunorreceptor (ITAM) e receptores acoplados a hemITAM. M-CBM também pode regular a ativação de proteínas quinases ativadas por mitógenos a jusante de TLRs (“toll-like receptors”) e o sensor bacteriano intracelular NOD2 até RIPK2 como parte da resposta imune para infecção microbiana (LIU, 2013).

2.2.8 Formas de Hanseníase

São utilizadas duas formas de classificação de doentes com hanseníase. A primeira é a classificação de Ridley-Jopling baseada em características clínicas e histopatológicas, e a segunda, o índice bacteriológico. Os achados clínicos da doença são determinados pela resposta do hospedeiro ao *M. leprae*.

Em relação ao acometimento cutâneo, a hanseníase tuberculóide (HT) é caracterizada por lesão única ou poucas lesões, em geral tipo mácula ou placa com bordas bem definidas. Histologicamente são lesões granulomatosas circundadas por elementos vasculares e se estende a derme papilar, em geral bacilos álcool-ácidos resistentes não são visualizados. Já a hanseníase

virchowiana (HV) apresenta-se com máculas de distribuição difusa e simétrica com bordas mal definidas, com hipopigmentação e eritema (WALKER; LOCKWOOD, 2007).

As lesões podem assumir aspecto infiltrativas dando origem a alterações cutâneas clássicas como a “fácies leonina”, o espessamento do lobo das orelhas. Pode ocorrer perda de pelos notadamente em cílios e em sobrancelhas designada como madarose. Ulcerações também podem ocorrer. Histologicamente, as lesões acometem a epiderme com perda das cristas rete, a derme papilar aparece como uma faixa clara, enquanto a derme mais profunda está difusamente infiltrada por macrófagos, linfócitos e plasmócitos (WALKER; LOCKWOOD, 2007).

Existem abundantes bacilos álcool-ácido resistentes isolados ou em aglomerados. Aditivamente, a hanseníase borderline ou dimorfa (HB) é uma forma intermediária entre os pólos. A morfologia das lesões pode ser macular, papulonodular, em forma de placa, anular ou com aparência geográfica. A formação de pequenos granulomas é característica da hanseníase dimorfa, os granulomas tornam-se mais difusos da doença tuberculóide dimorfa (TB) para a doença virchowana dimorfa (VB) (WALKER; LOCKWOOD, 2007).

Quanto ao índice bacteriológico (IB) doentes com forte imunidade celular e baixo índice bacteriológico (IB – 0) correlacionam-se com formas HT, enquanto indivíduos com fraca imunidade celular e alto índice bacteriológico (IB 5-6+) correlacionam-se com formas HV (KHADILKAR; PATIL; SHETTY, 2021).

2.2.9 Neuropatia Hansênica

O acometimento dos nervos periféricos na Hanseníase compromete as fibras nervosas sensitivas, motora e autonômicas. A sensibilidade é primariamente afetada com sintomas negativos. A infiltração granulomatosa dos nervos periféricos determina espessamento de caráter doloroso ou não, e com conseqüente acometimento sensitivo e motor na distribuição do nervo acometido (WALKER; LOCKWOOD, 2007).

A neuropatia hansênica afeta predominantemente fibras finas de forma não contígua. A sensibilidade proprioceptiva está preservada até fases mais avançadas da doença. O prejuízo a sensibilidade térmica seguida de acometimento doloroso e tátil é o padrão característico. O comprimento motor puro dos nervos periféricos é incomum. O espessamento do nervo periférico tem uma prevalência que varia entre 40 e 75% dos doentes em áreas endêmicas, tendo no nervo

ulnar no sítio acima do cotovelo e no seu ramo cutâneo dorsal expressões comuns desse sinal clínico. As neuropatias cranianas são infrequentes sendo mais evidenciados nas formas virchowianas de longa duração, com os nervos facial e trigêmeo sendo os mais acometidos (KHADILKAR, 2021).

Tomaselli *et al.* (2022) ao estudarem a Hanseníase Neural Primária (HNP) caracterizaram-na clinicamente ao exame neurológico como uma neuropatia exclusivamente ou predominantemente sensitiva não-comprimento-dependente. Em todos os casos avaliados o acometimento sensitivo se expressou com distribuição assimétrica truncal e/ou intradérmica. Reafirma-se o predomínio dos sintomas sensitivos negativos em 64,6% dos doentes. O acometimento motor, o espessamento do nervo periférico, assim como as anormalidades nos reflexos osteotendinosos foram observados de forma mais significativas nos doentes de evolução mais longas. Dados corroborados pela maior prevalência de doentes com incapacidade funcional grau 2 em formas mais tardias da hanseníase.

Ao revisitar a HNP, Santos *et al.* (2017) evidenciaram no âmbito da avaliação neurofisiológica o padrão de mononeuropatia em 51,4% dos doentes e, no restante, 48,6% uma mononeuropatia múltipla assimétrica com ou sem alentecimento focal da velocidade de condução. Tendo como nervos mais comprometidos pela avaliação eletroneuromiográfica: o nervo ulnar no segmento do cotovelo (34.4%), o nervo fibular comum na cabeça da fíbula (30.2%), seguido pelo nervo ulnar sensitivo (12.8%), o nervo fibular superficial (10.4%), e o nervo sural (6.1%). Aditivamente, os doentes que se apresentaram à eletromiografia com padrão de mononeuropatia demonstram maiores índices de títulos ELISA anti-PGL-1 e maior positividade ao teste de reação em cadeia de polimerase quantitativo em tempo real (qPCR) realizado no esfregaço de pele padronizado para baciloscopia. Enquanto, nos doentes com mononeuropatia múltiplas foi evidenciado um número maior de indivíduos com espessamento nervoso e sintomas sensitivos quando comparado aos doentes com mononeuropatia isolada.

3 Justificativa

A hanseníase é uma doença granulomatosa crônica causada pelo *M. leprae* que afeta principalmente a pele e os nervos periféricos. O *M. leprae* apresenta tropismo pelo nervo periférico gerando um processo inflamatório que culmina na neuropatia hansênica que é a principal causa de morbidade e responsável pela maioria das deficiências e deformidades exibidas por muitos

pacientes. A neuropatia hansênica apresenta fenótipo peculiar quando comparada a outras neuropatias periféricas seja no que refere à distribuição de nervos acometidos ou quanto ao seu processo fisiopatológico. Até o presente momento não se consegue estabelecer fatores de riscos clínicos, genéticos ou imunológicos que determinam maior susceptibilidade ao comprometimento do nervo periférico pela hanseníase e, conseqüentemente, maior gravidade clínica. Portanto, a busca por fatores que possam contribuir na caracterização do fenótipo da neuropatia hansênica quanto a sua distribuição e gravidade clínica torna-se fundamental no avanço do conhecimento sobre a doença ainda endêmica em nossa realidade nacional, regional e local.

4 Objetivos

4.1 Primário

- Caracterização clínica e neurofisiológica de uma população amazônica com neuropatia hansênica.

4.2 Secundário

- Definir a presença de polimorfismos nos genes NCKIPSD e CARD9 em uma população amazônica com neuropatia hansênica;
- Avaliar o protocolo eletroneuromiográfico em uma população amazônica com neuropatia hansênica;
- Estabelecer o grau de acometimento da funcionalidade em população amazônica com neuropatia hansênica.

5 Pacientes e Métodos

5.1 Desenho do estudo

Estudo observacional, bicêntrico, transversal de pacientes com diagnóstico de Hanseníase com caracterização neurofisiológica e genotípica.

5.2 Amostra

Foram avaliados 33 pacientes com o diagnóstico de Hanseníase, em seguimento nos ambulatórios de dermatologia e neurologia, na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor

Vieira Dourado (FMT-HVD) e na Fundação de Dermatologia Tropical e Venereologia Alfredo da Matta (FUAM).

5.3 Critérios de Inclusão

Pacientes com diagnóstico de Hanseníase que apresentem os seguintes critérios:

- Diagnóstico de Hanseníase estabelecido por baciloscopia de pele, biópsia de pele ou de nervo, e/ou avaliação genética por proteína em cadeia de polimerase (PCR) de pele ou nervo.
- Avaliação clínica e neurofisiológica com eletroneuromiografia de quatro membros, tendo obedecido protocolo específico (Anexo 1 e 2).
- Avaliação genotípica para determinar polimorfismo nos genes humanos NCKIPSD e CARD9.
- Aceite do estudo, expresso por assinatura do termo de consentimento livre esclarecido (Anexo 3).

5.4 Critérios de Exclusão

Foram excluídos do presente estudo aqueles indivíduos que:

- Diagnóstico de Hanseníase presuntivo, na ausência de exame confirmatório como baciloscopia de pele, biópsia de pele ou nervo, e/ou PCR de pele ou nervo.
- Ausência de caracterização clínica e neurofisiológica através de eletroneuromiografia ou que não cumpra o protocolo de avaliação estabelecido (Anexo 1).
- Ausência de avaliação genotípica para determinar o polimorfismo nos genes humanos NCKIPSD e CARD9.
- Não aceite do estudo, expresso por não assinatura do termo de consentimento livre esclarecido.

5.5 Avaliação neurológica do sistema nervoso periférico

A avaliação do sistema nervoso periférico foi realizada através de exame neurológico amplo e sistematizado realizado pelo próprio pesquisador principal (ANEXOS 1 e 2). Em relação à força muscular foi graduada bilateralmente de 0 a 5 de acordo com a escala Medical Research Council

(MRC). O abductor curto do polegar (APB), primeiro interósseo dorsal, flexores e extensores dos dedos da mão definiram a extremidade superior grupo distal, enquanto os primeiros flexores e extensores do pé e dorsiflexores do pé e os flexores plantares definiram o grupo distal da extremidade inferior. Os músculos incluídos no grupo proximal foram bíceps, tríceps e flexores e extensores do ombro na extremidade superior, e quadríceps, isquiotibiais e flexores e extensores do quadril nas extremidades inferiores. Para cada grupo muscular definido acima, a quantificação do MRC foi somada e usada para caracterizar arbitrariamente o desempenho muscular da seguinte forma: 60 = força normal, 59 a 50 = fraqueza leve, 49 a 40 = fraqueza moderada, 39 a 30 = fraqueza grave, ≤ 30 = fraqueza muito grave. Tal classificação foi utilizada tendo como base um estudo sobre a Doença de Charcot-Marie-Tooth, todavia foi modificada arbitrariamente para o presente estudo sobre neuropatia hansênica (MARQUES JR, 2005).

5.6 Avaliação neurofisiológica do sistema nervoso periférico

A eletroneuromiografia foi realizada em aparelho Nihon-Kohden Neuropack de 2 canais. Os pacientes foram submetidos à avaliação neurofisiológica de condução nervosa sensitiva e motora nos quatro membros. Foram avaliados, bilateralmente, os nervos sensitivos: medianos, ulnares, radiais, surais e fibulares superficiais; assim como, os nervos motores: medianos, ulnares, tibiais e fibulares.

O protocolo de avaliação do estudo de condução motora, seguindo a técnica desenvolvida no laboratório de neurofisiologia do HCFMRP USP (Marques, 2017), foi realizado nos nervos especificados conforme exposto a seguir:

1. Nervo mediano: E1 - estímulo distal a oito centímetros do eletrodo ativo (G1), E2 – estímulo a quatro centímetros de E1, E3 – medial ao pulso da artéria braquial, E4 – proximal em porção medial do braço. G1 situa-se no ponto médio entre a crista distal do punho e a primeira articulação metacarpofalangeana.
2. Nervo ulnar: E1 – estímulo distal a oito centímetros do eletrodo ativo (G1), E2 – estímulo a quatro centímetros de E1, E3 – estímulo abaixo do cotovelo, E4 – estímulo a 10 centímetros de E4, E5 – estímulo medial do braço. G1 situa-se no ponto médio entre a crista distal do punho e a quinta articulação metacarpofalangeana.
3. Nervo tibial – estímulo distal a oito centímetros do eletrodo do ativo (G1), E2 – estímulo a quatro centímetros de E1, E3 – estímulo na fossa poplítea. G1 – ponto médio entre a protuberância do osso navicular e a primeira articulação metatarsofalangeana.

4. Nervo fibular - estímulo distal a oito centímetros do eletrodo do ativo (G1), E2 – estímulo a quatro centímetros de E1, E3 – estímulo abaixo da cabeça da fíbula, E4 – estímulo acima da cabeça da fíbula na porção lateral da fossa poplíteia. G1 – na musculatura do extensor curto dos dedos.

A avaliação da condução sensitiva foi realizada com técnica antidrômica com estimulação proximal e captação distal. Na avaliação dos nervos medianos foi realizado estímulo no punho captação nos dedos 1, 2 e 3 e, exclusão, da síndrome de túnel do carpo com estímulo palma-punho. Nos demais nervos descritos acima sensitivos e motores foi utilizada técnica antidrômica previamente descrita na literatura.

5.7 Avaliação da funcionalidade

A avaliação do acometimento da funcionalidade pela hanseníase foi realizada através das escalas: escala de incapacidade INCAT (BREINER, 2014). Os itens são agrupados de acordo com a avaliação de fibras pequenas, grandes e autonômicas, função nervosa, sintomas e atividades da vida diária (ADL). Pontuações em domínios individuais são agregados para fornecer uma pontuação total.

Aditivamente, utilizou-se a classificação do grau de incapacidade física para a hanseníase segundo os critérios do Guia Prático do Ministério da Saúde, 2017; conforme se dispõe abaixo:

- Grau 0
 - Olhos: Força muscular das pálpebras e sensibilidade da córnea preservadas, conta dedos a 6 metros, ou acuidade visual $\geq 0,1$ ou 6:60.
 - Mãos: Força muscular das mãos preservada e sensibilidade palmar: sente o monofilamento 2g (lilás) ou sente o mais leve toque da ponta de caneta esferográfica.
 - Pés: Força muscular dos pés preservada e sensibilidade plantar: sente o monofilamento 2g (lilás) ou sente o toque da ponta de caneta esferográfica.
- Grau 1
 - Olhos: Diminuição da força muscular das pálpebras sem deficiências visíveis e/ou diminuição ou perda da sensibilidade da córnea: resposta demorada ou ausente ao toque do fio dental ou diminuição/ausência do piscar.
 - Mãos: Diminuição da força muscular das mãos sem deficiências visíveis e/ou alteração da sensibilidade palmar: não sente o monofilamento 2g (lilás) ou não sente o toque da ponta de caneta esferográfica.
 - Pés: Diminuição da força muscular dos pés sem deficiências visíveis e/ou alteração da sensibilidade plantar: não sente o monofilamento 2g (lilás) ou o toque da ponta de caneta esferográfica.
- Grau 2
 - Olhos: Deficiência(s) visível(eis) causadas pela hanseníase, como: lagofalmo; ectrópio. entrópio; triquíase; opacidade corneana central,

iridociclite1 e/ou não conta dedos a 6 metros ou acuidade visual < 0,1 ou 6:60, excluídas outras causas.

- Mãos: Deficiência(s) visível(eis) causadas pela hanseníase, como: garras, reabsorção óssea, atrofia muscular, mão caída, contratura, feridas2 tróficas e/ou traumáticas.
- Pés: Deficiência(s) visível(eis) causadas pela hanseníase, como: garras, reabsorção óssea, atrofia muscular, pé caído, contratura, feridas2 tróficas e/ou traumáticas.

5.8 Operacionalização do projeto

A avaliação clínica com realização dos protocolos clínicos nos pacientes objetos do estudo ocorreu no ambulatório de neuroinfecção da FMT-HVD onde o pesquisador responsável atua como médico assistente na instituição, a partir da referência do dermatologista assistente proveniente da FUAM e da FMT-HVD. Após a avaliação clínica, no mesmo dia, o paciente foi encaminhado para coleta de sangue em tubos roxos com EDTA. O material biológico coletado será encaminhado ao laboratório de bacteriologia da FMT-HVD onde a pesquisadora coladora da pesquisa Dra. Michele Bastos Barrionuevo realizou a extração do DNA e, posterior, armazenamento das alíquotas extraídas a -70°.

Ao término das coletas da amostra calculada o material foi encaminhado como previamente explicitado ao sequenciamento genético relativo aos genes humanos NCKIPSD e CARD9 no Laboratório de Neurofisiologia e Neurologia Experimental (LINE) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (USP). Laboratório coordenado pelo orientador de doutorado e chefe da neurogenética da supracitada instituição: Prof. Dr. Wilson Marques Jr.

5.9 Avaliação Laboratorial

As técnicas de biologia molecular utilizadas neste trabalho foram a reação em cadeia da polimerase e o sequenciamento (Sanger) para avaliação de regiões específicas do genoma onde podem estar presentes variantes raras em regiões codificadoras associadas à hanseníase:

1. rs149308743 – R494H / c.1481G>A, no gene de Domínio de Recrutamento da Caspase 9 (CARD9 – ENSG00000289701).
2. rs145562243 – R176L / c.527 G>T, no gene da proteína de interação de Nck com domínio SH3 (NCKIPSD – ENST00000294129.7).

5.10 Coleta de material e extração do DNA

Foram coletadas aproximadamente 10 mL de sangue periférico dos pacientes para extração do DNA genômico (gDNA), utilizando-se o sistema de coleta à vácuo em tubos Vacutainer™ com anticoagulante EDTA.

O gDNA foi extraído no Centro de Medicina Genômica localizado no HC-FMRP, utilizando-se o seguinte protocolo recomendado pelo Maxwell® 16 Blood DNA Purification Kit (Promega):

As amostras de sangue total foram centrifugadas 2.000 g, durante 20 minutos, originando a separação do material em três camadas: *(i)* uma camada inferior contendo principalmente glóbulos vermelhos; *(ii)* uma camada superior de plasma; *(iii)* e uma camada branca fina na interface, conhecida por camada leucoplaquetária, a qual foi colhida cuidadosamente e utilizada como protocolo de processamento.

O gDNA foi extraído da camada leucoplaquetária de forma automatizada, seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante. O método foi utilizado em conjunto com o equipamento Maxwell® 16 Instrument, o que automatiza o processo de purificação de ácidos nucleicos de até 16 amostras, utilizando lise celular com subsequente ligação de partículas de sílica magnetizadas a ácidos nucleicos como princípio de separação primário.

Após essa etapa, é feita a seleção do protocolo de processamento. Conforme solicitado no instrumento Maxwell® 16, as amostras são colocadas nos cartuchos de reagente que, logo após, são colocados na plataforma do instrumento Maxwell® 16. Em seguida, o instrumento foi inicializado, efetuando automaticamente todos os procedimentos do protocolo. Os passos automatizados efetuados pelo sistema Maxwell® 16 incluem: *i)* lise da amostra na presença de um agente caotrópico e detergente; *(ii)* ligação dos ácidos nucleicos a partículas de sílica magnetizadas; *(iii)* lavagem das partículas ligadas, isolando-as dos outros componentes celulares; *(iv)* e eluição de ácidos nucleicos.

5.11 Quantificação, pureza e integridade das amostras

A obtenção de um material genético de alta qualidade é uma etapa essencial para a realização de testes moleculares. A obtenção de um gDNA puro e íntegro tem impacto direto nos resultados das técnicas de sequenciamento, principalmente nos sequenciamentos de nova geração.

Para verificar a integridade e pureza do DNA extraído nós utilizamos, respectivamente, as técnicas de gel de agarose e espectrofotometria. As amostras que não passaram em um dos testes de qualidade foram excluídas do trabalho e, quando possível, os pacientes foram solicitados a coletar nova amostra.

- *Quantificação e pureza:* Foram verificadas utilizando o espectrofotômetro NanoDrop® ND-1000 (Thermo Fisher Scientific®). A espectrofotometria é um método que se utiliza da interação entre a luz e a matéria, para medir de forma quantitativa, a concentração de determinadas moléculas em uma solução. Ou seja, a concentração de uma substância absorvente presente em uma solução é proporcional à quantidade de luz absorvida. As moléculas de ácido nucleico (DNA e RNA) absorvem luz em um comprimento de onda de 260 nm. Quanto maior for a absorção de luz nesse comprimento de onda, maior será a concentração de DNA na solução. O cálculo da concentração é feito utilizando-se a equação de Beer-Lambert e o resultado é dado em ng/ul. As amostras foram aliquotadas em eppendorfs de 0,5 mL a uma concentração aproximada de 50 ng/uL. Todas as amostras utilizadas nesse trabalho, foram diluídas, quando necessário, com água destilada ultrapura DNase, RNase free (Invitrogen™) até atingir a concentração desejada. Além disso, existem duas medidas usadas para avaliar a pureza do DNA na amostra que são as razões das absorbâncias 260/280 e 260/230. Valores de 1,8 (260/280) e 2,0 (260/230) indicam pureza do DNA. Se a razão for menor em qualquer um deles pode indicar a presença de contaminantes na amostra como proteínas, fenol, EDTA etc. Os valores estabelecidos para a seleção das amostras foram de 1,8 - 2,0 nm para a razão 260/280 e 2,0 - 2,2 nm para razão 260/230.

- *Integridade do DNA no gel de agarose:* Essa técnica permite ver se o DNA total está integro ou sofreu quebras durante o processo de extração. Para isso nós aplicamos 12 uL de uma alíquota diluída da amostra DNA em um gel de agarose a 1%.

5.12 Seleção de Primers

Os *primers* utilizados na análise para pesquisa de variações nos genes CARD9 e NCKIPSD estão na tabela 1.

Tabela1: Sequência de primers dos genes CARD9 e NCKIPSD

<i>Primers</i>	<i>Temperatura de</i>
----------------	-----------------------

			<i>Anneling</i>
rs149308743	12F	CTT CCC CCT TCT CCA GGA C	59°C
R494H – CARD9	12R	CGC CTA CCT GCG GTA GTT CT	59°C
<i>rs145562243</i>	2F	TCT TCC CAG ATC CCA CCA CA	59°C
<i>R176L -NCKIPSD</i>	2R	TCC CCT AAC CCT GCC TTC TT	59°C

Fonte: Protocolo padrão do laboratório de Neurologia Aplicada e Experimental (LNAE)

Nota:*F (forward); R (reverse).

5.13 Reação em cadeia de Polimerase (PCR)

Para realização da PCR foi utilizado o kit da enzima Platinum™ Taq DNA Polymerase (Invitrogen) e o protocolo utilizado para sua realização está representado na Tabela 2, seguido do perfil térmico (Tabela 3), que foi utilizado para todas as regiões do exon 12 do gene CARD9 e exon 2 do gene NCKIPSD.

Tabela 2: Protocolo de PCR

<i>Éxon / Reagentes</i>	1x
<i>H₂O free Dnase (μL)</i>	34,9
<i>10 x PCR Buffer (μL)</i>	5,0
<i>dNTPs (μL/200 mM)</i>	5,0
<i>Primer F (10 μM/μL)</i>	1,0
<i>Primer R (10 μM/μL)</i>	1,0
<i>MgCl₂ (μL/50mM)</i>	1,5
<i>Platinum™ Taq DNA Polymerase (5U/μL)</i>	0,6
<i>DNA (20ng/μL)</i>	1,0

Fonte: Protocolo padrão do laboratório de Neurologia Aplicada e Experimental (LNAE)

Tabela 3: Perfil térmico da PCR

<i>Temperatura</i>	<i>Tempo</i>	<i>Ciclos</i>
95°C	5'	
95°C	30"	35X
<i>T.A</i> *	30"	
72°C	45"	
72°C	10'	
4°C	∞	

Fonte: Protocolo padrão do laboratório de Neurologia Aplicada e Experimental (LNAE)

Nota: *T.A. Temperatura de Anneling: Está representada na Tabela1

5.14 Reação de Sequenciamento

As amostras foram preparadas com o kit de reação BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems) na placa MicroAmp® Optical 96-Well. O protocolo e o perfil térmico utilizado para realização da reação encontram-se nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4: Protocolo da PCR de sequenciamento

Reagentes	Volume
H ₂ O	5,5 µl
Buffer	2,0 µL
BigDye Terminator v3.1	1,0 µL
Primer F/R	0,5 µL
Produto PCR	1,0 µL
Volume final	10,0 µL

Fonte: Protocolo padrão do laboratório de Neurologia Aplicada e Experimental (LNAE)

Tabela 5: Perfil térmico da PCR de sequenciamento

<i>Temperatura</i>	<i>Tempo</i>	<i>Ciclos</i>
96°C	2'	
96°C	30"	} 33X
50°C	15"	
60°C	4'	
72°C	7'	
4°C	∞	

Fonte: Protocolo padrão do laboratório de Neurologia Aplicada e Experimental (LNAE)

5.15 Precipitação e purificação da Reação de Sequenciamento

O produto da reação de PCR de sequenciamento foi precipitado adicionando-se a cada poço uma mistura de 1,5 µl de EDTA mais 1,0 µl de acetato de sódio. Após leve homogeneização foi adicionado 30 µl de etanol 100% e, em seguida a placa foi levemente agitada no vórtex e incubada por 15 minutos a temperatura ambiente sob proteção da luz. Após centrifugação por 30 minutos a 3.000 RPM (Centrífuga Sigma 2-6), o sobrenadante foi descartado em papel limpo e, posteriormente, o precipitado foi lavado com 35 µl de etanol 70% a 4°C. Imediatamente após essa etapa, a placa foi submetida a centrifugação de 2.500 RPM por 15 minutos para precipitação dos fragmentos. O etanol foi removido por um leve *spin* em papel limpo e depois submetido a evaporação no termociclador a 95°C por 5 minutos. O precipitado foi ressuspensionado com 10 µL de formamida, em seguida desnaturado a 95°C por 5 minutos e logo depois, colocado no gelo por no mínimo 2 minutos. Em seguida a placa foi colocada no equipamento ABI PRISM 3500 XL (Applied Biosystems®).

5.16 Análise das sequências

As imagens dos eletroferogramas e a sequência dos nucleotídeos foram analisadas através de dois programas, o Sequencing Analysis Software 6 (Applied Biosystems) e do 4Peaks (versão 1.7.1)

5.17 Nomenclatura

Todas as alterações encontradas no presente trabalho, foram nomeadas de acordo com as diretrizes da Human Genome Variation Society (HGVS) (ANTONARAKIS, 1998). A localização dos nucleotídeos será baseada na sequência de referência: rs145562243 para NCKIPSD e rs149308743 para CARD9.

Além disso, foi utilizada uma ferramenta de bioinformática, disponível online, que foi projetada para confirmar as descrições das variantes levando em consideração as normas da HGVS chamada Mutalyzer (WILDEMAN; OPHUIZEN; DUNNEN; TASCHNER *et al.*, 2008).

5.18 Banco de dados e sites utilizados

Tabela 6: Banco de dados e sites utilizados

SEQUÊNCIA	https://genome.ucsc.edu/
	http://www.genatlas.org/
	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/
	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/
	http://www.ensembl.org/index.html
NOMENCLATURA	http://varnomen.hgvs.org/
	https://mutalyzer.nl/
DOENÇA/MUTAÇÃO	http://www.omim.org/
	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/
	http://www.hgmd.org

Fonte: Banco de dados e sites utilizados pelo Laboratório de Neurologia Aplicada e Experimental – FMRP/USP

5.19 Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Fundação de Dermatologia Tropical e Venereologia Alfredo da Matta (FUAM) sob o CAAE 37036620.7.1001.0002.

5.20 Análise Estatística

As comparações de frequências alélicas dos polimorfismos dos genes promotores NCKIPSD e CARD9 entre os grupos serão realizados pelo Teste-t de Student. O Equilíbrio de Hardy-Weinberg para o Polimorfismos dos promotores NCKIPSD e CARD9 na população foi testada pelo teste do χ^2 . As variáveis contínuas serão apresentadas como média e desvio padrão utilizando-se um intervalo de confiança de 95%. O teste Mann-Whitney foi utilizado para as comparações entre as variáveis contínuas. As frequências foram comparadas utilizando o teste do Chi-quadrado ou o teste exato de Fisher quando um campo da tabela for menor que 5. Foi considerado $p < 0,05$ como estatisticamente significativo e todos os testes serão bicaudais. Os dados foram analisados com o uso do programa STATA 14.0.

6 Resultados

Foram avaliados 33 pacientes com o diagnóstico de hanseníase, sendo 15 pacientes provenientes da Fundação de Medicina Tropical Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) e 18 da Fundação de Dermatologia Tropical e Venereologia Alfredo da Matta (FUAM). Foram estudados 18 pacientes do sexo masculino e 15 pacientes do sexo feminino. A média de idade durante a avaliação foi 41.6 anos, com dois pacientes com idade inferior a 18 anos, ambos do sexo feminino, com 16 e 17 anos de idade.

Houve predomínio de formas disseminadas de hanseníase em 17 pacientes representando 51.5% da amostra estudada, sendo expressa por dez (30.3%) pacientes com a forma virchowiana e sete (21.2%) pacientes com a forma dimorfa virchowiana. Apenas três (9.1%) pacientes com a forma indeterminada da doença, representando forma inicial de apresentação da doença. A maioria (81.8%) dos pacientes não se apresentava com formas reacionais da doença.

Ao se avaliar o grau de incapacidade funcional, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2021), os pacientes foram caracterizados predominantemente como grau 0 (48.5%) e grau 1 (39.4%). Todavia, quatro (12.1%) pacientes já se apresentavam à avaliação com incapacidade funcional grau 2. O tempo médio entre os primeiros sintomas apresentados pelo paciente e o diagnóstico estabelecido da doença foi 26.4 meses.

Dos pacientes avaliados, nove apresentavam-se como contatos intradomiciliares de casos previamente diagnósticos com hanseníase. Um dos pacientes tinha o diagnóstico estabelecido de

infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), caracterizando coinfeção pela doença (Tabela 7).

Tabela 7: Aspectos epidemiológicos dos pacientes com hanseníase

Pacientes com Hanseníase	n = 33
Gênero	
Masculino	18 (54.5%)
Feminino	15 (45.4%)
Idade	
	41.6 (\pm 14.3)
Classificação Cutânea (Ridley e Jopling, 1966)	
Indeterminada (I)	3 (9.1%)
Tuberculóide (TT)	5 (15.2%)
Dimorfa Tuberculóide (DT)	5 (15.2%)
Dimorfa Dimorfa (DD)	3 (9.1%)
Dimorfa Virchowiana (DV)	7 (21.2%)
Virchowiana (VV)	10 (30.3%)
Reação Hansênica	
Ausente	27 (81.8%)
Tipo 1	2 (6.1%)
Tipo 2	4 (12.1%)
Incapacidade Funcional (OMS)	
Grau 0	16 (48.5%)
Grau 1	13 (39.4%)
Grau 2	4 (12.1%)
Tempo entre o início dos sintomas até o diagnóstico (Meses \pm SD)	
	26.4 \pm 18.1
Baciloscopia positiva	
	8 (24.2%)
Contato prévio com doentes com hanseníase	
	9 (27.3%)
Coinfeção HIV	
	1 (3%)

Fonte: O autor

À caracterização clínica através de exame físico, atestou-se o acometimento predominantemente da sensibilidade (93.9%), notadamente com sinais negativos expressos por hipostesia tátil e dolorosa em 28 (84.8%) pacientes. Apenas um (3.0%) paciente apresentou exclusivamente sinais sensitivos positivos expressos por hiperestesia. O padrão intradérmico de acometimento sensitivo denotando acometimento assimétrico no nervo mediano foi observado 13 (39.4%) dos pacientes. Foram observados em 8 (24.2%) pacientes espessamento de nervo periférico à palpação. O sítio mais comum de acometimento foi o nervo ulnar no cotovelo, seguido dos nervos fibular na cabeça da fíbula e radial superficial no dorso da mão.

Quanto à avaliação funcional resultante do acometimento motor e sensitivo do sistema nervoso periférico, avaliada através do INCAT, observou-se um índice global de 1.3. Houve maior acometimento relativo nos segmentos superiores quando comparado aos inferiores, com índices de 0.9 e 0.4, respectivamente. Foram obtidos índices maiores no INCAT sensitivo (2.6) quando comparado ao motor (Tabela 8).

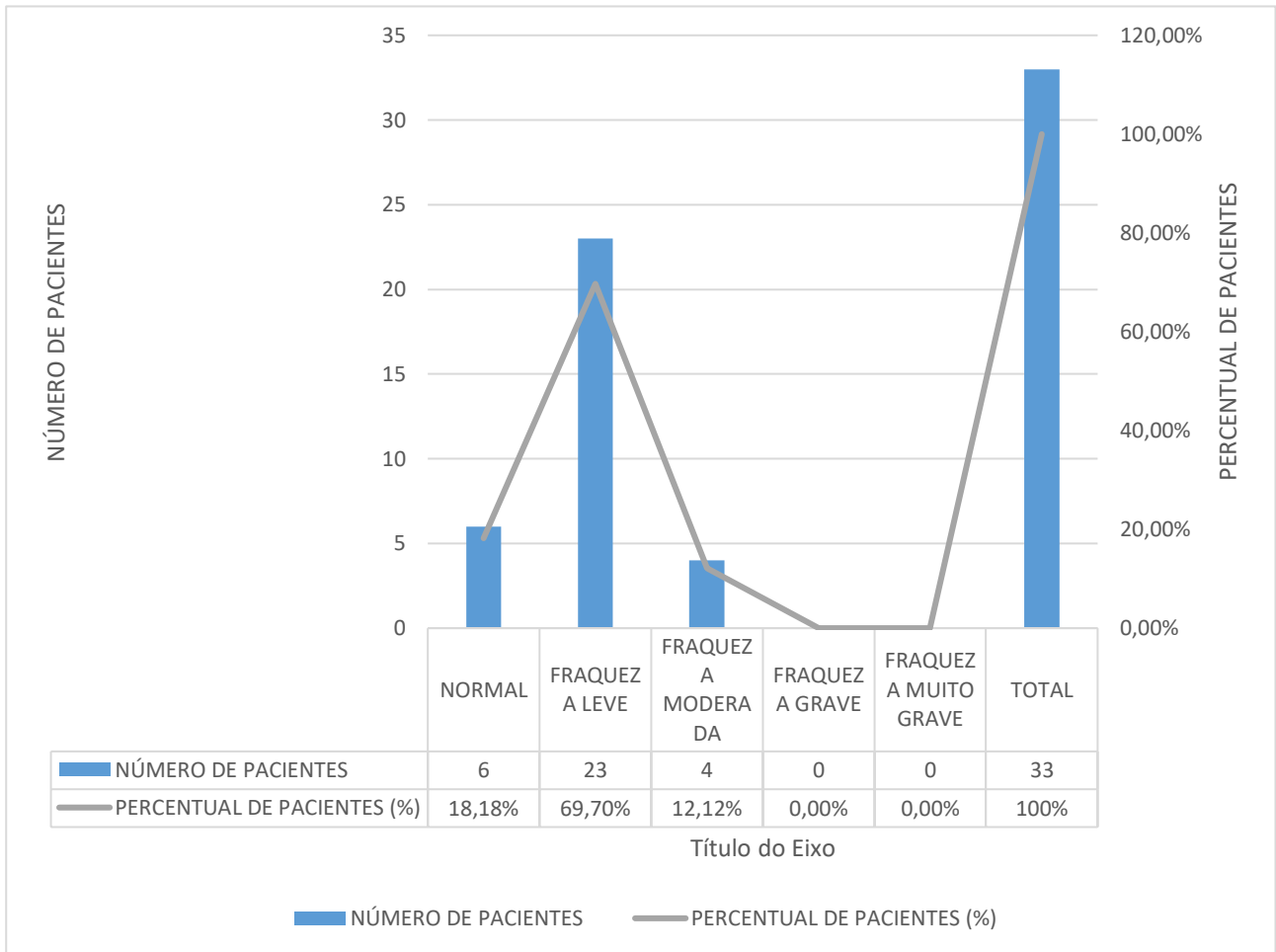
Tabela 8: Características clínicas dos pacientes com hanseníase

Pacientes com Hanseníase	n = 33
Sintomas sensitivos	31 (93.9%)
Negativos	28 (84.8%)
Negativos e Positivos	2 (6.0%)
Positivos	1 (3.0%)
Sintomas motores (fraqueza muscular e atrofia)	27 (81.8%)
Espessamento de nervo	8 (24.2%)
Ulnar	4 (12.1%)
Ulnar e Fibular	3 (9.1%)
Radial	1 (3.0%)
Acometimento assimétrico no nervo mediano	13 (39.4%)
INCAT	
Global	1.3 (\pm 1.3)
MMSS	0.9 (\pm 1.2)
MMII	0.4 (\pm 0.5)
Sensitivo	2.6 (\pm 2.0)
MRC Sum Score Modificado	54.9 (\pm 5.2)

Fonte: O autor

Aproximadamente 81.82% (27/33) dos pacientes, 27 dos pacientes avaliados, apresentaram algum grau de fraqueza muscular e/ou atrofia muscular. Aplicando-se o MRC Sum Score Modificado a média da pontuação foi 54.9. Observa-se um predomínio de um grau leve de fraqueza muscular na população estudada com neuropatia hanseniana (Gráfico 1).

Gráfico 1: Distribuição da fraqueza muscular na população com neuropatia hansênica.



Fonte: O autor

Quanto ao padrão neurofisiológico observado à eletroneuromiografia, foi atestado predomínio do padrão da neuropatia sensitiva e motora assimétrica com alentecimento da velocidade de condução (60.6%) (Figura 6 e 7). Neste caso comumente associado a componentes mielínicos expressos por dispersão temporal patológica em sítios não suscetíveis à compressão (Figura 8). Secundariamente, a neuropatia sensitiva e motora, axonal e assimétrica (24.2%) (Tabela 9).

Tabela 9: Características eletroneuromiográficas dos pacientes com hanseníase

Pacientes com Hanseníase	n = 33
Padrão neurofisiológico	
Normal	3 (9.1%)
Mononeuropatia Sensitiva Axonal	0 (0.0%)
Mononeuropatia Sensitiva e Motora com alentecimento da VC	1 (3.0%)
Neuropatia Sensitiva Axonal Assimétrica	1 (3.0%)
Neuropatia Sensitiva e Motora Axonal e Assimétrica	8 (24.2%)
Neuropatia Sensitiva e Motora Assimétrica com alentecimento da VC	20 (60.6%)
<hr/>	
Anormalidade no protocolo + 4cm distal	32 (97.0%)
<hr/>	
Anormalidade isolada no protocolo + 4cm distal	3 (9.1%)
<hr/>	
Distribuição do acometimento de nervos periféricos	
Sensitivo	
Mediano	24 (72.7%)
Ulnar	23 (69.7%)
Radial	15 (45.5%)
Fibular Superficial	23 (69.7%)
Sural	18 (54.5%)
Motor	
Mediano	2 (6.1%)
Ulnar	15 (45.5%)
Fibular	14 (42.4%)
Tibial	9 (27.3%)
<hr/>	
Distribuição do acometimento de nervos periféricos no protocolo + 4cm distal	
Mediano	15 (45.5%)
Ulnar	14 (42.4%)
Fibular	21 (63.6%)
Tibial	23 (69.7%)

Fonte: O autor

Foi observado que os indivíduos com hanseníase nas formas multibacilares na apresentaram tempo maior entre o início dos sintomas até o diagnóstico quando comparados aos indivíduos com as formas paucibacilares (Tabela 10).

Tabela 10: Comparação de aspectos clínicos e funcionais da neuropatia hansênica entre as formas de hanseníase multibacilares versus paucibacilares.

	Multibacilares	Paucibacilares	<i>p</i>
Idade (anos)	42.9	39.6	0.86
Tempo entre o início dos sintomas até o diagnóstico (Meses)	37.3	9.6	<0.0001
Incapacidade Funcional (OMS)			
Grau 0	8	8	0.29
Grau 1 ou 2	12	5	
MRC Sum Score	56.3	53.9	0.39
INCAT Global	1.5	0.9	0.12
INCAT Sensitivo	2.7	2.6	0.59
Espessamento de nervo	7	1	0.10

Fonte: O autor

Figura 6: Condução motora do padrão da neuropatia sensitiva e motora assimétrica com alentecimento da velocidade de condução.

ESTUDO DE CASO DA CONDUÇÃO NERVOSA MOTORA

Sítio	Lat.	Dur.	Amp.	Área	Segmento	Distância	Intervalo	VCN	VCC	D.N.	Temp.
Median Left											
Wrist	2.8ms	6.9ms	9.7mV	43.4mVms	*Wrist		2.8ms			-	
Wrist +4	3.5ms	6.7ms	9.6mV	44.0mVms	Wrist- Wrist +4	40mm	0.8ms	53.3m/s		-	
Elbow	7.1ms	6.3ms	9.5mV	37.3mVms	Wrist +4- Elbow	210mm	3.6ms	59.2m/s		-	
Axillia	8.4ms	6.6ms	9.2mV	37.5mVms	Elbow- Axillia	100mm	1.4ms	74.1m/s		-	
Median Right											
Wrist	3.1ms	6.5ms	11.2mV	49.1mVms	*Wrist		3.1ms			-	
Wrist +4	3.9ms	6.3ms	10.9mV	44.5mVms	Wrist- Wrist +4	40mm	0.8ms	53.3m/s		-	
Elbow	7.2ms	6.5ms	10.7mV	41.9mVms	Wrist +4- Elbow	190mm	3.4ms	56.7m/s		-	
Axillia	8.6ms	6.6ms	10.3mV	44.7mVms	Elbow- Axilliz	80mm	1.4ms	59.3m/s		-	
	8.9ms	6.3ms	10.7mV	44.9mVms							
Ulnar Left											
Wrist	2.5ms	6.6ms	6.0mV	20.0mVms	*Wrist		2.5ms			-	
Wrist+4	3.2ms	6.6ms	5.9mV	22.4mVms	Wrist- Wrist +4	40mm	0.7ms	57.1m/s		-	
Below Elbow	6.6ms	6.8ms	5.8mV	22.0mVms	Wrist +4- Below Elbow	190mm	3.4ms	56.7m/s		-	
Above Elbow	8.4ms	7.2ms	5.1mV	19.5mVms	Below Elbow - Above Elbow	100mm	1.9ms	54.1m/s		-	
Axilla	9.3ms	7.5ms	5.0mV	17.4mVms	Above Elbow - Axilla	50mm	0.9ms	58.8m/s		-	
Ulnar Right											
Wrist	1.9ms	5.8ms	9.5mV	25.8mVms	*Wrist		19.ms			-	
Below Elbow	3.2ms	5.5ms	8.9mV	25.0mVms	Wrist- Below Elbow	40mm	1.4ms	29.6m/s		-	
Above Elbow	6.7ms	6.3ms	7.8mV	24.8mVms	Below Elbow - Above Elbow	200mm	3.5ms	58.0m/s		-	
Axilla	8.5ms	6.6ms	7.3mV	22.8mVms	Above Elbow - Axilla	100mm	1.8ms	55.6m/s		-	
Erb	9.3ms	7.7ms	6.5mV	21.6mVms	Axilla- Erb	50mm	0.8ms	62.5m/s		-	

Peroneal Left

Ankle	2.9ms	7.9ms	7.9mV	22.1mVms	*Ankle		2.9ms			-
Ankle +4	6.3ms	5.6ms	7.1mV	19.6mVms	Ankle- Ankle +4	40mm	3.4ms	11.8m/s		-
Head Of Fibula	11.6ms	6.9ms	7.0mV	20.9mVms	Ankle +4- Head Of Fibula	280mm	5.3ms	53.3m/s		-
Popliteal	14.1ms	6.6ms	5.8mV	17.0mVms	Head Of Fibula - Popliteal	70mm	2.5ms	28.0m/s		-

Peroneal Right

Ankle	5.8ms	8.1ms	4.1mV	17.7mVms	*Ankle		5.8ms			-
Ankle +4	7.8ms	7.7ms	4.1mV	16.8mVms	Ankle- Ankle +4	40mm	2.0ms	20.5m/s		-
Head Of Fibula	14.0ms	8.5ms	4.0mV	17.4mVms	Ankle +4- Head Of Fibula	280mm	6.3ms	44.8m/s		-
Popliteal	15.5ms	8.8ms	4.0mV	16.9mVms	Head Of Fibula - Popliteal	70mm	1.5ms	46.7m/s		-

Tibial Left

Ankle	4.6ms	5.9ms	6.2mV	13.3mVms	*Ankle		4.6ms			-
Ankle +4	5.4ms	6.4ms	5.9mV	13.1mVms	Ankle - Ankle +4	40mm	0.8ms	50.0m/s		-
Popliteal	12.6ms	7.0ms	5.5mV	13.8mVms	Ankle +4- Popliteal	360mm	7.2ms	50.0m/s		-

Tibial Right

Ankle	6.0ms	7.9ms	2.0mV	8.3mVms	*Ankle		6.0ms			-
Ankle +4	7.6ms	10.4ms	1.4mV	7.8mVms	Ankle- Ankle +4	40mm	1.7ms	24.2m/s		-
Popliteal	15.6ms	17.0ms	460.0uV	4.6mVms	Ankle +4- Popliteal	370mm	8.0ms	49.3m/s		-

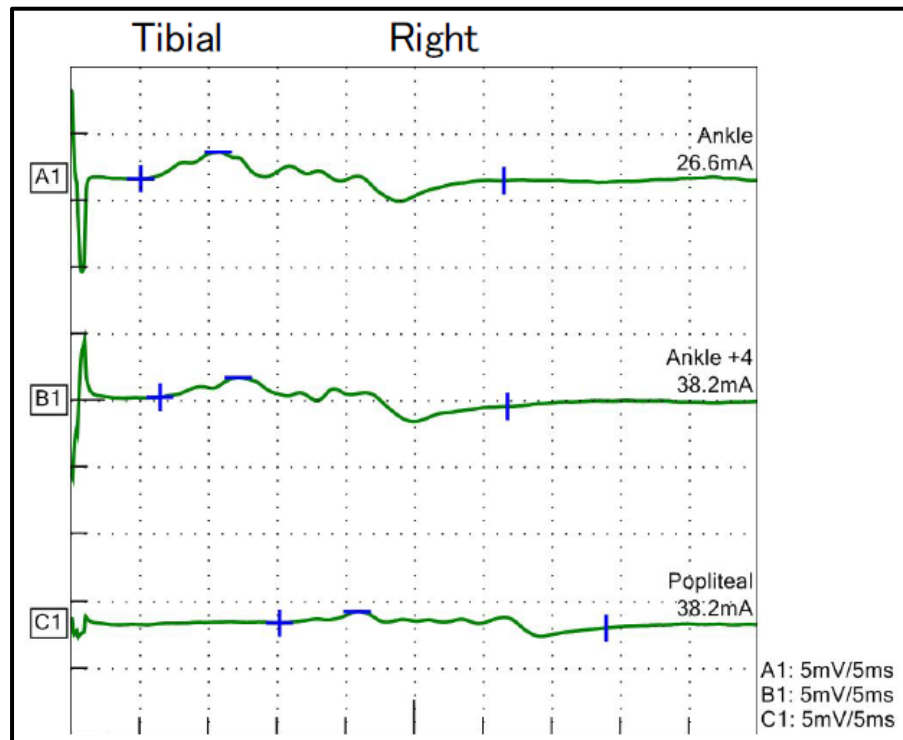
Fonte: O autor

Figura 7: Condução sensitiva do padrão da neuropatia sensitiva e motora assimétrica com alentecimento da velocidade de condução.

ESTUDO DA CONDUÇÃO NERVOSA SENSITIVA								
Sítio	Lat. 1	Lat. 2	Amp.	Área	Segmento	Distância	Intervalo	VCN
Median Left								
dedo 1	2.4ms	4.3ms	5.0uV	7.0uVms	dedo 1	120mm	2.4ms	50.0m/s
dedo 2	2.8ms	4.5ms	24.0uV	19.8uVms	dedo 2	140mm	2.8ms	50.4m/s
dedo 3	2.7ms	3.6ms	32.0uV	2.6uVms	dedo 3	150mm	2.7ms	54.7m/s
Median Right								
dedo 1	2.5ms	3.3ms	15.0uV	4.1uVms	dedo 1	120mm	2.5ms	48.4m/s
dedo 2	3.3ms	5.8ms	11.0uV	14.0uVms	dedo 2	140mm	3.3ms	42.7m/s
dedo 3	3.0ms	4.9ms	16.0uV	17.6uVms	dedo 3	150mm	3.0ms	50.3m/s
Ulnar Left								
Wrist-Finger			ND		Wrist-Finger			
					Wrist-Palm			
Ulnar Right								
Wrist-Finger	2.4ms	3.1ms	3.0uV	0.3uVms	Wrist-Finger	120mm	2.4ms	50.8m/s
					Wrist-Palm			
Radial Left								
Forearm			ND		Forearm			
Radial Right								
Forearm	2.3ms	3.0ms	4.9uV	0.2uVms	Forearm	100mm	2.3ms	43.9m/s
Sural Left								
Leg			ND		Leg			
Sural Right								
Leg			ND		Leg			
Superticial Peroneal Left								
Leg	3.1ms	4.3ms	3.2uV	0.3uVms	Leg	120mm	3.1ms	38.7m/s
Superticial Peroneal Right								
Leg			ND		Leg			

Fonte: O autor

Figura 8: Caracterização da dispersão temporal patológica em sítio não suscetível à compressão focal.



Fonte: O autor

Excetuando-se um paciente, os 32 (97.0%) pacientes avaliados apresentaram-se com alteração ao estudo de condução nervosa através do protocolo + 4 cm. Em três pacientes (9.1%), a eletroneuromiografia se apresentou normal considerando o protocolo tradicional, sendo observado alteração neurofisiológica somente com a adição do protocolo de + 4 cm distal no estudo de condução motor (Figura 9 e 10).

Figura 9: Condução motora normal com alteração exclusiva no protocolo + 4 centímetros distal.**ESTUDO DA CONDUÇÃO NERVOSA MOTORA**

Sítio	Lat.	Dur.	Amp.	Área	Segmento	Distância	Intervalo	VCN	VCC	D.N.	Temp.
Median Left											
Wrist	3.7ms	6.5ms	9.8mV	32.7mVms	*Wrist		3.7ms			-	
Wrist +4	4.5ms	6.5ms	9.7mV	32.2mVms	Wrist-Wrist +4	40mm	0.8ms	50.0m/s		-	
Elbow	8.3ms	6.6ms	9.7mV	33.2mVms	Wrist +4- Elbow	210mm	3.8ms	56.0m/s		-	
Axilla	9.7ms	6.6ms	9.2mV	31.0mVms	Elbow - Axilla	100mm	1.4ms	71.4m/s		-	
Median Right											
Wrist	4.5ms	5.5ms	12.9mV	41.2mVms	*Wrist		4.5ms			-	
Wrist +4	5.2ms	5.6ms	11.6mV	38.3mVms	Wrist-Wrist +4	40mm	0.7ms	57.1m/s		-	
Elbow	8.6ms	5.8ms	11.5mV	39.7mVms	Wrist +4- Elbow	200mm	3.5ms	58.0m/s		-	
Axilla	10.3ms	5.9ms	11.4mV	38.8mVms	Elbow-Axilla	100mm	1.7ms	58.8m/s		-	
Ulnar Left											
Wrist	2.4ms	6.2ms	10.0mV	30.1mVms	*Wrist		2.4ms			-	
Wrist +4	3.1ms	6.1ms	10.3mV	30.7mVms	Wrist-Wrist +4	40mm	0.7ms	57.1m/s		-	
Below Elbow	6.3ms	6.3ms	10.1mV	30.4mVms	Wrist +4- Below Elbow	200mm	3.3ms	61.5m/s		-	
Above Elbow	8.0ms	6.5ms	9.7mV	30.0mVms	Below Elbow - Above Elbow	100mm	1.7ms	58.8m/s		-	
Axilla	9.0ms	6.5ms	9.1mV	27.5mVms	Above Elbow - Axilla	60mm	1.0ms	60.0m/s		-	
Ulnar Right											
Wrist	2.5ms	7.0ms	7.2mV	30.0mVms	*Wrist		2.5ms			-	
Wrist +4	3.3ms	7.1ms	7.1mV	31.1mVms	Wrist-Wrist +4	40mm	0.8ms	50.0m/s		-	
Below Elbow	6.6ms	7.2ms	6.7mV	31.0mVms	Wrist +4- Below Elbow	200mm	3.4ms	59.7m/s		-	
Above Elbow	8.3ms	7.2ms	6.5mV	30.0mVms	Below Elbow - Above Elbow	100mm	1.7ms	58.8m/s		-	
Axilla	9.2ms	7.3ms	6.3mV	28.5mVms	Above Elbow - Axilla	50mm	0.9ms	58.8m/s		-	
Peroneal Left											
Ankle	4.5ms	6.4ms	5.6mV	19.0mVms	*Ankle		4.5ms			-	
Ankle +4	5.4ms	6.7ms	5.5mV	19.2mVms	Ankle-Ankle +4	40mm	0.9ms	44.4m/s		-	
Head Of Fibula	11.5ms	7.0ms	5.1mV	18.6mVms	Ankle +4- Head Of Fibula	250mm	6.1ms	41.0m/s		-	
Popliteal	13.0ms	7.1ms	5.0mV	18.2mVms	Head Of Fibula - Popliteal	60mm	1.5ms	41.4m/s		-	
Peroneal Right											
Ankle	4.6ms	7.4ms	6.1mV	22.2mVms	*Ankle		4.6ms			-	
Ankle +4	6.0ms	7.1ms	5.6mV	20.8mVms	Ankle-Ankle +4	40mm	1.4ms	29.6m/s		-	
Head Of Fibula	11.7ms	7.8ms	5.6mV	21.9mVms	Ankle +4- Head Of Fibula	260mm	5.8ms	45.2m/s		-	

Popliteal	13.1ms	7.7ms	5.2mV	20.9mVms	Head Of Fibula - Popliteal	70mm	1.4ms	50.0m/s		-
-----------	--------	-------	-------	----------	-------------------------------	------	-------	---------	--	---

Tibial Left

Ankle	5.3ms	7.4ms	12.4mV	36.1mVms	*Ankle		5.3ms			-
Ankle +4	6.8ms	7.3ms	10.2mV	31.9mVms	Ankle-Ankle +4	40mm	1.6ms	25.8m/s		-
Popliteal	13.7ms	8.5ms	8.5mV	32.3mVms	Ankle +4- Popliteal	350mm	6.9ms	50.7m/s		-

Tibial Right

Ankle	5.5ms	7.3ms	14.0mV	44.0mVms	*Ankle		5.5ms			-
Ankle +4	6.4ms	7.7ms	13.2mV	40.8mVms	Ankle-Ankle +4	40mm	1.0ms	42.1m/s		-
Popliteal	14.8ms	7.6ms	10.3mV	32.0mVms	Ankle +4- Popliteal	350mm	8.4ms	41.7m/s		-

Fonte: O autor

Figura 10: Condução sensitiva normal com alteração exclusiva no protocolo + 4 centímetros distal.

ESTUDO DA CONDUÇÃO NERVOSA SENSITIVA								
Sítio	Lat. 1	Lat. 2	Amp.	Área	Segmento	Distância	Intervalo	VCN
Median Left								
dedo 1	2.5ms	4.0ms	15.0uV	9.4uVms	dedo 1	130mm	2.5ms	52.0m/s
dedo 2	2.9ms	4.6ms	18.0uV	10.7uVms	dedo 2	145mm	2.9ms	50.3m/s
dedo 3	3.0ms	4.7ms	23.0uV	16.3uVms	dedo 3	150mm	3.0ms	50.0m/s
Median Right								
dedo 1	2.7ms	4.2ms	26.0uV	17.6uVms	dedo 1	125mm	2.7ms	47.0m/s
dedo 2	3.1ms	5.4ms	23.0uV	24.6uVms	dedo 2	145mm	3.1ms	46.2m/s
dedo 3	3.2ms	5.5ms	32.0uV	38.4uVms	dedo 3	150mm	3.2ms	46.6m/s
Ulnar Left								
Wrist-Finger	2.6ms	4.2ms	29.0uV	26.2uVms	Wrist-Finger	130mm	2.6ms	50.8m/s
					Wrist-Palm			
Ulnar Right								
Wrist-Finger	2.6ms	3.7ms	25.0uV	1.7uVms	Wrist-Finger	130mm	2.6ms	50.8m/s
					Wrist-Palm			
Radial Left								
Forearm	1.5ms	2.0ms	28.0uV	1.3uVms	Forearm	100mm	1.5ms	68.5m/s
Radial Right								
Forearm	1.6ms	2.1ms	29.0uV	0.8uVms	Forearm	100mm	1.6ms	62.5m/s
Sural Left								
Leg	2.2ms	3.2ms	16.7uV	1.4uVms	Leg	120mm	2.2ms	54.5m/s
Sural Right								
Leg	2.7ms	3.6ms	20.0uV	0.9uVms	Leg	120mm	2.7ms	43.8m/s
Superticial Peroneal Left								
Leg	2.4ms	3.2ms	18.0uV	0.5uVms	Leg	120mm	2.4ms	50.4m/s
Superticial Peroneal Right								
Leg	2.4ms	3.2ms	17.0uV	1.0uVms	Leg	120mm	2.4ms	50.8m/s

Fonte: O autor

Analisando a distribuição dos nervos periféricos comprometidos caracterizou-se o maior acometimento dos nervos sensitivos. O nervo mediano foi o mais acometido, observando alteração em 24 (72.7%) pacientes; seguindo-se dos nervos ulnar e fibular superficial, 23 (69.7%) pacientes. Ratificando e ampliando a percepção clínica de acometimento assimétrico foi observado um aumento de aproximadamente 50% quando no âmbito neurofisiológico se estudou a condução sensitiva distalmente nos quirodáctilos um, dois e três, todos estes inervados pelo nervo mediano.

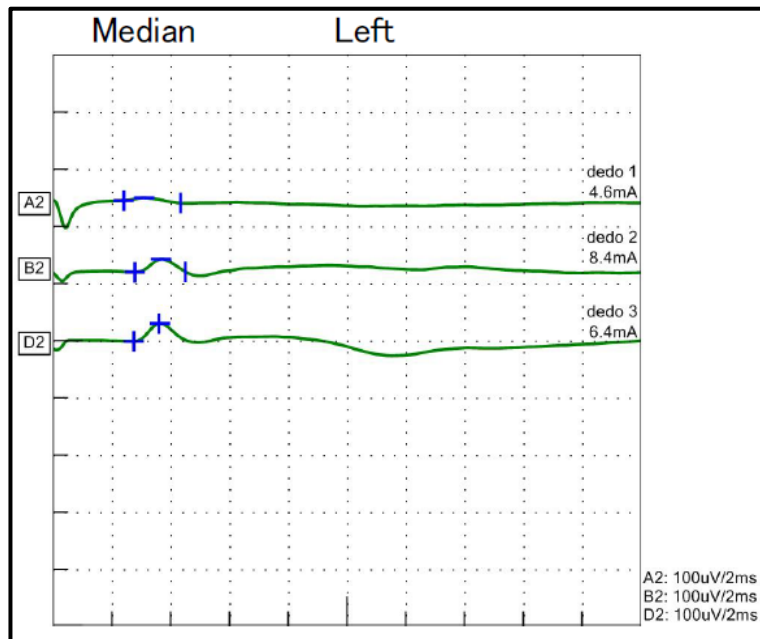
Tal distribuição foi observado em 24 (72.7%) dos pacientes, denotando o acometimento assimétrico dos ramos interdigitais no nervo mediano (Figura 11 e 12).

Figura 11: Caracterização neurofisiológica ao estudo de condução do acometimento intrafascicular assimétrico no nervo mediano.

ESTUDO DA CONDUÇÃO NERVOSA SENSITIVA								
Sítio	Lat. 1	Lat. 2	Amp.	Área	Segmento	Distância	Intervalo	VCN
Median Left								
dedo 1	2.4ms	4.3.ms	5.0uV	7.0uVms	dedo 1	120mm	2.4ms	50.0m/s
dedo 2	2.8ms	4.5ms	24.0uV	19.8uVms	dedo 2	140mm	2.8ms	50.4m/s
dedo 3	2.7ms	3.6ms	32.0uV	2.6uVms	dedo 3	150mm	2.7ms	54.7m/s
Median Right								
dedo 1	2.5ms	3.3ms	15.0uV	4.1uVms	dedo 1	120mm	2.5ms	48.4m/s
dedo 2	3.3ms	5.8ms	11.0uV	14.0uVms	dedo 2	140mm	3.3ms	42.7m/s
dedo 3	3.0ms	4.9ms	16.0uV	17.6uVms	dedo 3	150mm	3.0ms	50.3m/s
Ulnar Left								
Wrist-Finger			ND		Wrist-Finger			
					Wrist-Palm			
Ulnar Right								
Wrist-Finger	2.4ms	3.1ms	3.0uV	0.3uVms	Wrist-Finger	120mm	2.4ms	50.8m/s
					Wrist-Palm			
Radial Left								
Forearm			ND		Forearm			
Radial Right								
Forearm	2.3ms	3.0ms	4.9uV	0.2uVms	Forearm	100mm	2.3ms	43.9m/s
Sural Left								
Leg			ND		Leg			
Sural Right								
Leg			ND		Leg			
Superficial Peroneal Left								
Leg	3.1ms	4.3ms	3.2uV	0.3uVms	Leg	120mm	3.1ms	38.7m/s
Superficial Peroneal Right								
Leg			ND		Leg			

Fonte: O autor

Figura 12: Caracterização gráfica neurofisiológica do acometimento intrafascicular assimétrico no nervo mediano

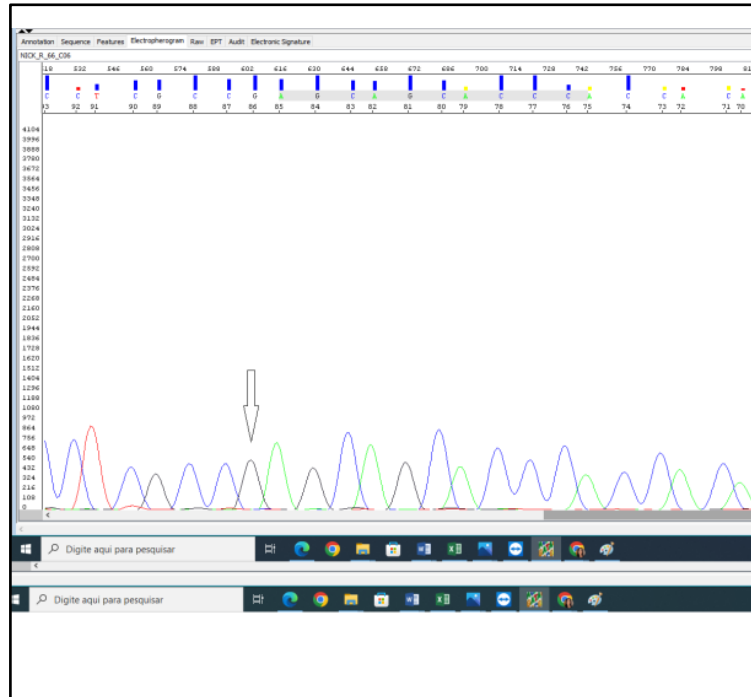


Fonte: O autor

Quanto ao acometimento de nervo motor os nervos ulnar e fibular foram os mais acometidos, 45.5% e 42.5%, respectivamente. Considerando o protocolo de + 4 cm distal no estudo de condução motora notou-se o maior acometimento nos segmentos inferiores, tendo o nervo tibial configurado com o maior percentual (69.7%).

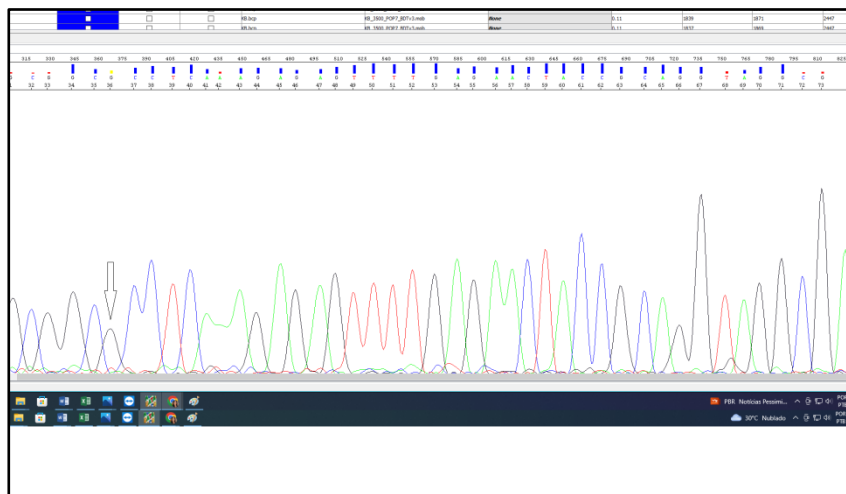
Foi realizado o sequenciamento genético das variantes polimórficas nos genes NCKIPSD - rs145562243 (p.Arg176Leu / c.527G>T) e CARD9- rs149308743 (p.Arg494Hist / c.1481G>A) . Embora previamente descritas como determinantes de maior suscetibilidade à infecção pelo *M. leprae* não se identificou tais variantes na nossa presente população amazônica com neuropatia hansênica estudada (Figura 13 e 14).

Figura 13: Sequenciamento genético da variante NCKIPSD - rs145562243 na população amazônica com neuropatia hansênica



Fonte: O autor

Figura 14: Sequenciamento genético da variante CARD9- rs149308743 na população amazônica com neuropatia hansênica



Fonte: O autor

7 Discussão

A distribuição da amostra avaliada em relação ao sexo se mostrou com discreto predomínio do sexo masculino, com as mulheres representando aproximadamente 45% dos pacientes. Analisando-se os dados provenientes de casos novos, através da Boletim da Estratégia Global para Hanseníase da OMS (OMS, 2021), observa-se um percentual inferior da população feminina, 38.9%; assim como, a partir do estudo de coorte INFIR (VAN BRAKEL, W.H. *et al*, 2005) que analisou indivíduos com neuropatia na hanseníase, onde as mulheres representaram apenas 29.7% da população avaliada. Assim como em nível nacional, no período compreendido entre 2011 e 202, em todas as faixas etárias, as taxas de detecção do sexo masculino (55%) foram superiores às do sexo feminino, exceto na faixa etária de 0 a 4 anos (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO HANSENÍASE, 2022).

A média de idade foi 41.6 (± 14.3) anos, de forma similar a estudos que avaliaram o acometimento de neuropatia periférica no contexto da hanseníase com manifestações cutâneas ou na forma neural primária, 32.8 anos (12-60) e 42.9 (± 17.3), respectivamente (VAN BRAKEL, W.H. *et al*, 2005). Considerando o período entre 2016 e 2020, a taxa de diagnóstico ocorreu com maior frequência nos indivíduos entre 50 e 59 anos (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO HANSENÍASE, 2022).

Diversa à epidemiologia observada onde se predomina as formas paucibacilares (tuberculóide, dimorfa tuberculóide) (VAN BRAKEL, W.H. *et al*, 2005), no presente estudo verificou-se predomínio das formas multibacilares (virchowiana e dimorfa virchowiana), 51.5%. Todavia, assim como observado pelos referidos pesquisadores, notou-se uma minoria dos indivíduos da amostra que se apresentavam com formas reacionais (VAN BRAKEL, W.H. *et al*, 2005). Um dado importante relativo as formas de hanseníase e sua relação com o dano ao nervo periférico advém de uma coorte na qual pacientes com hanseníase paucibacilar e com perda de função nervosa clinicamente detectável que receberam tratamento padrão por um período de 2 anos têm um risco de cerca de 15% para desenvolver mais prejuízo. Risco ainda maior, em torno de 65%, de acometimento da função nervosa adicional é observado em pacientes com hanseníase multibacilar e acometimento clínico da função nervosa. Outro fator de risco independente para neuropatia é a presença de lesões cutâneas sobre os troncos nervosos (WILDER-SMITH; VAN BRAKEL, 2005). Em nosso estudo, diante da majoritária predominância das formas multibacilares (dimorfa virchowiana e virchowiana) foram observados que os indivíduos com tais apresentações

clínicas apresentavam-se com maior grau de incapacidade funcional considerando os critérios do ministério da saúde e a escala INCAT.

Condizente a epidemiologia global de casos diagnosticados com menor grau de incapacidade funcional, também no presente estudo se observou tal tendência expressa por aproximadamente metade dos pacientes com incapacidade funcional grau 0 (zero) e majoritariamente a outra metade com predomínio de grau 1 (WORLD HEALTH ORGANIZATION 2021-2030, 2021). Observa-se relação direta proporcional de maior grau de incapacidade quanto mais tardio é o diagnóstico (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022).

Caracterizou-se, ainda, baixas taxas de positividade à baciloscopia (24.2%), comum a outros estudos (31.1%) (INFIR). Enquanto estudos de hanseníase neural primária na qual a baciloscopia foi realizada em biópsia de nervo periférico os índices foram ainda inferiores, <10% (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022).

O relato de conhecimento de contato prévio com indivíduos sabidamente portadores de hanseníase foi de 27.3%, quando comparado a demais estudos observa-se a tendência de exposição aproximadamente em um terço dos pacientes estudados (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022; SANTOS; MENDONÇA; ANTUNES *et al*, 2017). Somente um paciente apresentou coinfeção de hanseníase com HIV. Estudos mostraram que não há aumento de casos de hanseníase na presença de infecção pelo HIV, bem como não há diferença significativa nas lesões dérmicas ou neurológicas da hanseníase (KHADILKAR; PATIL; SHETTY, 2021). Em relação ao caso do nosso estudo com coinfeção hanseníase e HIV, a paciente era do sexo feminino, com 40 anos de idade e o diagnóstico foi realizado com 10 meses de início de sintomas. Aditivamente, o diagnóstico de hanseníase sucedeu-se ao diagnóstico de HIV, a qual se encontrava em terapia antirretroviral de alta eficácia. A paciente não apresentava déficit motor, o INCAT global era zero, assim como o grau de incapacidade funcional (zero).

Entre 12% e 55% dos novos casos de hanseníase apresentam sinais e sintomas clínicos de neuropatia ao diagnóstico (WILDER SMITH; VAN BRAKEL, 2008). Nossa casuística é diferente, pois a presença de neuropatia foi critério de inclusão. A neuropatia hanseníase geralmente se apresenta com sintomas sensitivos negativos como dormência, anidrose, feridas indolores, anestesia e hipoestesia. Menos comumente estão presentes os sintomas sensitivos positivos como parestesias (alfinetadas e agulhadas), dores (alodínea e disestesias) (KHADILKAR; PATIL; SHETTY, 2021). Afirmativa essa corroborada na literatura sobretudo quando se refere a neuropatia no contexto da

hanseníase neural primária onde se observa nítido predomínio dos sintomas deficitários sensitivos. Tomaselli descreve alteração sensitiva em 91.2% dos pacientes como manifestação inicial, com 35.4% referindo hipostesia com parestesia tipo formigamento; 29.4% com hipostesia; 8.8% com parestesia tipo formigamento e dor; enquanto apenas 5.9% referiram dor (TOMASELLI, 2014). Também nossa casuística se mostrou como manifestação clínica as queixas sensitivas (93.4%), notadamente como sintomas negativos (84.8%). Apesar da baixa frequência de sintomas sensitivos positivos expresso como alodínea ou hiperestesia como expressão de dor neuropática o referido tema tem sido objeto de estudo na hanseníase. Garbino e colaboradores evidenciaram a existência de correlação entre a presença de ondas A ao estudo eletrofisiológico e a dor neuropática em pacientes com hanseníase, sobretudo nas formas reacionais tipo 2. A partir desse achado discutem o mecanismo de disfunção sobre as fibras nervosas periféricas finas seja através de desmielinização, edema intraneural e brotamento axonal na gênese da dor neuropática nos pacientes com hanseníase (GARBINO; NAAFS; SALGADO; URA; VIRMOND; SCHESTATSKY, 2011).

A presença de sintomas motores é menos frequente e mais tardia na apresentação da doença, assim como o envolvimento exclusivo de nervos puramente motores é extremamente incomum (KHADILKAR; PATIL; SHETTY, 2021; TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022). Esta característica também foi observada em nossa população, no entanto, se mostrou com alta frequência (81.8%). Possivelmente, a alta prevalência das queixas motoras encontram-se substrato no perfil da população estudada, maior número de casos de longa duração sintomática e formas multibacilares, como atestado nos estudos citados acima.

O espessamento do nervo periférico é uma manifestação tardia da neuropatia hansênica (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022). A prevalência, segundo alguns autores em âmbito nacional, é de: 58.6% (SANTOS; MENDONÇA; ANTUNES *et al*, 2017), 52% a 83.5% a depender da temporalidade ao diagnóstico na neuropatia hansênica (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022), entre 40 e 75% dos indivíduos afetados em áreas endêmicas (DE FREITAS; NASCIMENTO; QUAGLINO; OLIVEIRA; HAHN, 2003). Enquanto a nossa casuística mostra uma prevalência menor de espessamento nervoso (24.2%), tendo o nervo ulnar como sítio nervoso mais acometido.

De significado importante, é avaliação quanto ao padrão de distribuição do acometimento sensitivo na neuropatia hansênica. Em estudo recente analisando a hanseníase neural primária, analisando-se o acometimento intradérmico foi observado sua presença isoladamente entre 8.8% e 9.6%, enquanto quando associada ao padrão de acometimento truncal nervoso determinando um

padrão mista a variação foi entre 32.9% e 54.1%. Portanto, determinando a presença de acometimento nervoso intradérmico, isoladamente ou misto, esteve presente entre 42.5% e 62.9% (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al.*, 2022).

No presente estudo, ao se avaliar o acometimento assimétrico do nervo sensitivo mediano através da análise dos dedos um, dois e três observou-se 72.7% da amostra com alteração ao estudo neurofisiológico. Tais alterações neurofisiológicas caracterizando o comprometimento assimétrico entre os ramos interdigitais I, II e III no nervo mediano já encontrava substrato em estudos nacionais ao abordar a neurofisiologia dos pacientes com hanseníase, demonstrando-se uma técnica com alta sensibilidade diagnóstica aditiva aos protocolos tradicionais de estudo de condução sensitiva na eletroneuromiografia (FARIA; SILVA, 1999; Marques, 2017).

Como métrica de avaliação da funcionalidade, optou-se pela utilização da escala INCAT devido a pontuação possuir excelentes propriedades métricas clínicas, incluindo alta validade, confiabilidade e capacidade de resposta. É aplicada comumente nas neuropatias inflamatórias (BREINER; BARNETT; BRIL, 2014). Consiste, ainda, em uma escala compacta e de rápida aplicação. Avalia-se atividades de importância prática para a vida diária tanto no âmbito de musculatura proximal quanto distal nos segmentos superiores, assim como a capacidade de andar para os segmentos inferiores (Anexo 1).

Panaite e colaboradores avaliaram um grupo de 20 pacientes com Polirradiculoneuropatia Inflamatória Desmielinizante Crônica (PIDC) em atividade com intuito de comparar e estabelecer a correlação entre diversas escalas para neuropatia periférica, dentre as quais uma era a escala INCAT. Observou-se pontuação global média de 1.6, com desvio padrão entre zero e oito. A amostra era composta majoritariamente de indivíduos com idade acima de 40 anos (85%), do sexo masculino (75%), com fraqueza muscular distal e proximal, assim como déficits sensitivos (PANAITE, 2013). Apesar da neuropatia hansênica expressar-se em caráter multifocal e, predominantemente, com sintomatologia sensitiva e motora distal quando comparada à PIDC foi observado valores similares (1.3) entre as duas condições. Portanto, denota-se que há importante limitação funcional resultante da neuropatia hansênica, sobretudo considerando o perfil dos pacientes avaliados no presente estudo, quando comparado a outra neuropatia periférica crônica e de caráter potencialmente grave e limitante. Tornando-se aceitável inferir que em ambas as neuropatias quanto mais precoce instituído o diagnóstico e o tratamento apropriado menor o grau de incapacidade a ser desenvolvido.

Marques e colaboradores de forma similar ao estudado nesse trabalho desenvolveram uma modificação na avaliação no estadiamento de fraqueza muscular utilizando a graduação MRC (Medical Research Council). A partir de intervalos da soma de graduação MRC em cada grupamento muscular estudado se estabeleceu a gravidade do acometimento motor na população com Doença de Charcot-Marie-Tooth 1A. Foi observado alta prevalência de sintomas motores (84%), com maior acometimento distalmente nos membros inferiores quando comparado aos segmentos proximais e membros superiores (MARQUES, 2005). Considerando, os dados nossa casuística, observa-se que a despeito da alta prevalência de déficits motores expressos por fraqueza ou atrofia muscular, atestou-se que de forma mais frequente o grau de fraqueza foi leve (69.7%) denotando-se assim ausência comprometimento motor grave a despeito do tempo médio prolongado ao diagnóstico da neuropatia hansênica.

Num estudo de hanseníase, ao se utilizar a avaliação voluntária de força para determinar o acometimento motor nos músculos de inervação do nervo ulnar em 11% dos pacientes. Denotou-se que poucos foram os casos de identificação de novas perdas motoras identificadas pela avaliação voluntária de força, nos quais em sua maioria já apresentavam alteração no estudo de condução nervosa motora mais de 6 meses antes ou à época do diagnóstico (VAN BRAKEL *et al*, 2005). Reafirmado em estudo de base nacional que evidenciou acometimento motor como primeira queixa à apresentação em apenas 3.6% dos casos; assim como a maior prevalência de sintomas motores expressos por fraqueza muscular e/ou atrofia muscular quanto mais tardio o diagnóstico, denotando, portanto, maior tempo de atividade de doença (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022). Todavia no presente estudo observou-se uma alta prevalência de sintomas motores expressos por algum grau de fraqueza e/ou atrofia muscular, provavelmente justificados pelo alto número de casos multibacilares inferindo-se assim um longo tempo de evolução da doença. Conforme, observado em nossa casuísta, houve predomínio na distribuição multifocal (assimétrica) e de predomínio distal no âmbito do comprometimento motor.

Em estudo nacional de hanseníase neural primária ratificou-se como observado na presente tese o padrão de neuropatia sensitiva e motora assimétrica com redução da velocidade de condução em sítios não compressivos como principal manifestação neurofisiológica à avaliação eletroneuromiográfica, sobretudo quando se estabeleceu o diagnóstico mais tardiamente (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022).), sendo ratificado por outros estudos sobre a hanseníase (MARAHAHTTA, 2017; SANTOS; MENDONÇA; ANTUNES *et al*, 2017). Enquanto em um dos estudo iniciais em âmbito nacional para avaliar a

neuropatia hansênica, a redução da amplitude do potencial tanto sensitivo quanto motor foi o achado mais frequente, portanto, divergindo que a redução da velocidade de condução como alteração mais comum (FARIA, 1990). No âmbito neurofisiológico outro padrão frequentemente estabelecido foi o de mononeuropatia axonal sensitiva assim como atestado no presente trabalho, sendo observado nas apresentações diagnósticas mais precoces (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022; KHADILKAR; PATIL; SHETTY, 2021; TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022).

A eletroneuromiografia exerce papel não apenas diagnóstica, mas também de monitorização da resposta terapêutica. Alguns autores descrevem que os achados neurofisiológicos não são específicos para neuropatia hansênica (KHADILKAR; PATIL; SHETTY, 2021; TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022). Todavia, assumimos que os achados de uma mononeuropatia múltipla expressa pelo acometimento sensitivo e motor com características desmielinizantes expressas por alentecimento focal da velocidade de condução em sítio não compressivos, mediante inúmeras descrições, constituem sim padrões não apenas altamente sensíveis, mas também específicos da neuropatia HANSÊNICA (FARIA, 1990; (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022).

Reafirmando a assertiva acima o presente estudo demonstrou que 97% (32/33) dos pacientes apresentaram alguma alteração ao se utilizar o protocolo de + 4 centímetros. Em três pacientes (9,1%) só se obteve alteração neurofisiológica com o referido protocolo, assim permitindo o diagnóstico subsequente da hanseníase; e constituindo, portanto, expressão de neuropatia hansênica. Marques (2017) já havia evidenciado que o protocolo utilizado no presente estudo aumentou a sensibilidade na detecção de desmielinização em relação ao protocolo eletroneuromiográfico convencional nos pacientes com hanseníase, permitindo assim um diagnóstico mais preciso e precoce da neuropatia hansênica.

Reiteradamente, os estudos demonstram o maior acometimento no âmbito neurofisiológico dos potenciais sensitivos quando comparado aos potenciais motores, de forma similar ao observado clinicamente (ANDRADE, 2010; VAN BRAKEL, 2005). Embora num estudo unicêntrico nacional, observou-se maior acometimento dos nervos nos pacientes avaliados, em frequência: nervo ulnar no segmento do cotovelo, fibular comum na cabeça da fíbula, ulnar sensitivo, fibular sensitivo e, posteriormente, o sural (SANTOS; MENDONÇA; ANTUNES *et al*, 2017). O estudo INFIR (VAN BRAKEL, 2005) demonstrou maior acometimento dos potenciais sensitivos, em ordem decrescente de frequência, nos nervos sural, radial, ulnar e mediano; enquanto no âmbito motor os nervos foram

o ulnar, o fibular e o mediano. Em estudo multicêntrico nacional os nervos ulnares e fibulares foram os que mais apresentaram alterações à eletroneuromiografia (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022).

Andrade demonstrou maior frequência de acometimento o sensitivo no nervo ulnar seguido pelos nervos fibular superficial, sural e mediano; enquanto no âmbito motor predominou o nervo ulnar, seguido pelos nervos fibular e mediano (ANDRADE, 2010).

As distribuições supracitadas diferem a encontrada no âmbito do presente do estudo considerando que o nervo mais acometido foi o nervo mediano. Tal disparidade pode ser justificada possivelmente pelo protocolo de estudo no qual houve a avaliação dos dedos um, dois e três de ambas as mãos. Assumindo-se como alteração neurofisiológica assimetrias entre os potenciais sensitivos adquiridos nos dedos quando a diferença na amplitude fosse superior a 50%, caracterizando o acometimento assimétrico dos ramos distais do nervo mediano, característica altamente sugestiva da hanseníase. A seguir a distribuição se expressa de forma similar à literatura com o acometimento em igual frequência dos nervos ulnar e fibular superficial, seguido do nervo sural.

Enquanto no âmbito dos potenciais motores se observou similaridade à literatura utilizando o protocolo de avaliação neurofisiológica com citado acima (ANDRADE, 2010; VAN BRAKEL, 2005; TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022). Todavia, quando são avaliados os dados provenientes do protocolo distal + 4 centímetros, proposto por Marques em sua tese de doutorado (2017), notaram-se maior acometimento nos membros inferiores expressos pelo prejuízo nos potenciais motores dos nervos tibial e fibular, seguido dos membros superiores, expresso pelos nervos mediano e ulnar, em ordem decrescente de frequência. Dados estes ainda não descritos na literatura até o momento avaliada. Portanto, necessitando reprodução em estudos vindouros para validação do achado.

Há uma extensa e recente ebulição de estudo de associação de polimorfismos genéticos em uma plêiade de genes relacionados notoriamente à imunidade contra a infecção pelo *M. leprae* (ALTER, 2008; LIU, 2013; SALES MARQUES, 2013; WANG, 2015; ALVARADO-ARNEZ, 2015; AREESHI, 2017; LIU, 2017). Apesar das evidências denotando que as variantes, embora raras e de baixa frequência, NCKIPSD - rs145562243 e CARD9- rs149308743, sejam potenciais determinantes de maior suscetibilidade à infecção pelo *M. leprae*, no presente estudo não se observou a presença dos referidos polimorfismos na nossa população amazônica com neuropatia hansênica caracterizada ao longo do presente estudo. Portanto, assume-se que possivelmente as

variantes supracitadas não exerçam um papel relevante no aumento da suscetibilidade ao comprometimento do nervo periférico na hanseníase.

Todavia, deve-se considerar de forma substancial que há alguns fatores relevantes limitantes no presente estudo. Inicialmente o tamanho da população da amostra não permite uma análise robusta da associação. Secundariamente, tornar-se-ia relevante considerar a análise das mesmas variantes genômicas na mesma base populacional que não expressasse comprometimento clínico evidente de neuropatia pela hanseníase. Aditivamente, a reprodução dos resultados encontrados em outras populações em âmbito nacional e internacional poderá contribuir na ratificação, bem como na retificação da percepção acima enunciada.

8 Conclusões

1. Os sintomas sensitivos notadamente os negativos expressos por hipostesia tátil e dolorosa predominam na neuropatia hansênica;
2. O acometimento motor expresso por fraqueza muscular e atrofia muscular é tardio e de menor intensidade quando comparado ao acometimento sensitivo;
3. Os espessamentos de nervo periférico a despeito de alta prevalência de forma multibacilares e de longa evolução é relativamente baixo;
4. As formas multibacilares de hanseníase apresentaram maior tempo entre o início dos sintomas até o diagnóstico.
5. O acometimento assimétrico dos ramos interdigitais I, II e III do nervo mediano, tanto ao exame físico quanto à eletroneuromiografia, é um achado de extrema relevância para a suspeição diagnóstica de neuropatia hansênica;
6. A neuropatia sensitiva e motora assimétrica com evidência de componentes mielínicos expressos seja por alentecimento focal da velocidade de condução ou dispersão temporal patológica em sítios não suscetíveis à compressão focal é a manifestação neurofisiológica característica da neuropatia hansênica;
7. O protocolo eletroneuromiográfico com estudo de condução motora distal (+ 4 centímetros) se mostrou altamente sensível para a identificação da neuropatia hansênica;
8. Embora haja evidências de que as variantes NCKIPSD - rs145562243 e CARD9- rs149308743, sejam potenciais determinantes de maior suscetibilidade à infecção pelo *M. leprae*, no presente estudo não se observou a presença dos referidos polimorfismos na nossa população amazônica com neuropatia hansênica. Sugerindo que possivelmente não sejam fatores de maior suscetibilidade ao comprometimento do nervo periférico pelo *M. leprae*;
9. O diagnóstico da neuropatia hansênica continua sendo um obstáculo na identificação precoce da condição e, conseqüentemente, do tratamento precoce;
10. Há necessidade de se ampliar estudos com o fulcro de se identificar marcadores de suscetibilidade ao comprometimento do nervo periférico pela *Mycobacterium leprae*.

Referências

- AJITH, C.; GUPTA, S.; RADOTRA, B. D.; ARORA, S.K.; KUMAR, B.; DOGRA, S.; KAUR, I. Study of apoptosis in skin lesions of leprosy in relation to treatment and lepra reactions. **Int J Lepr.**, n. 73, p. 269-276, 2005.
- A.L.; A. E. *et al.* **Tratado de leprologia**. Lepra SN. Rio de Janeiro; 1950.
- ALTER, A.; ALCAÏS, A.; ABEL, L.; SCHURR, E. Leprosy as a genetic model for susceptibility to common infectious diseases, v. 123, **Human Genetics**, p. 227–35, 2008.
- ALVARADO-ARNEZ, L.E.; AMARAL, E. P.; SALES-MARQUES, C.; DURÃES, S. M. B.; CARDOSO, C. C.; SARNO, E. N. *et al.* Association of IL10 polymorphisms and leprosy: A meta-analysis. **PLoS One**, v. 10, n.9, p. 1–13, 2015.
- ANDRADE, G.B. **Aspectos neurofisiológicos da hanseníase**. (Dissertação). Ribeirão Preto (SP): Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (SP), Universidade de São Paulo, 2010.
- ANTONARAKIS, S. E. Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations. Nomenclature Working Group. **Hum Mutat**, n. 11, p. 1–3, 1998.
- AREESHI, M.Y.; MANDAL, R.K.; DAR, S.A.; JAWED, A.; WAHID, M.; LOHANI, M. *et al.* Impact of TNF -308 G>A (rs1800629) gene polymorphism in modulation of leprosy risk: A reappraise meta-analysis of 14 case–control studies. **Biosci Rep.**, v.37, n.5, p. 1–15, 2017.
- BARTON, R.P.E. A clinical study of the nose in lepromatous leprosy. **Lepr. Rev.**, v. 45 1974.
- BRAKEL, Wim H. van; NICHOLIS, Peter G.; WILDER-SMITH, Einar P.; DAS Loretta; BARKATAKI, Pramila; LOCKWOOD, Diana N.J. Early diagnosis of neuropathy in leprosy: comparing diagnostic tests in a large prospective study (the ENFIR Cohort Study). **PLoS neglected tropical diseases**, v.2, n. 4, 2008.
- BREINER, A.; BARNETT, C.; BRIL, V. Incat disability score: a critical analysis of its measurement properties. **Muscle and Nerve.**, v.50, n. 2, p. 164–9, 2014.
- BHATTACHARYYA, S.; BORTHAKUR, A.; TYAGI, S.; GILL, R.; CHEN, M. L., Dudeja PK, *et al.* B-cell CLL/lymphoma 10 (BCL10) is required for NF- κ B production by both canonical and noncanonical pathways and for NF- κ B-inducing kinase (NIK) phosphorylation. **J Biol Chem.**, v. 285, n.1, p. 522–30, 2010.
- CABRAL, Dilma. **Lepra: medicina e políticas de saúde no Brasil (1894- 1934)**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. 2013.
- CONFERÊNCIA Nacional dos bispos do Brasil. Bíblia Sagrada. **Livro de Levíticos**, cap. 13, VS 3-8, 15. ed. Brasília, DF: Editora Canção Nova, [s.d].

CUNHA, C.; PEDROSA, V.L.; DIAS, L.C.; BRAGA, A.; CHRUSCIAK-Talhari, A.; SANTOS, M. *et al.* A historical overview of leprosy epidemiology and control activities in amazonas, brazil [Internet], v. 48, **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 2015. p. 55–62. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0103-2013>.

CUNHA, Vivian da Silva. Isolados “como nós” ou isolados “entre nós”? a polêmica na Academia Nacional de Medicina sobre o isolamento compulsório dos doentes de lepra. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, v.17, n.4, p.939-954. 2010.

CHAUDHURY, S.; HAZRA, S.; SAHA, B.; MAZUMDER, B.; BISWAS, P.; CHATTOPADHYA, D.; SAHA, K. An eight-year Weld trial on antileprosy vaccines among high-risk household contacts in the Calcutta metropolis. **Int J Lepr Other Mycobact Dis.**, n. 62, p.389–394, 1994.

CONVIT, J.; SAMPSON, C.; ZUNIGA, M.; PLATA, J.; SILVA, J.; MOLINA, J.; PINARDI, M. E. ; SALGADO, A.; SMITH, P. G. Bloom BR Immunoprophylactic trial with combined Mycobacterium leprae/BCG vaccine against leprosy: preliminary results. **The Lancet**, n. 339, p. 446–450, 1992.

DE FREITAS, M. R. G.; NASCIMENTO, O. J. M.; QUAGLINO, E. A. M.; OLIVEIRA, A.; HAHN, M. D. Small-fiber polyneuropathy in leprosy without skin changes: Study of 17 cases. **Arq Neuropsiquiatr.**, v. 61, n.3 A, p. 542–6, 2003.

DEPS, P. D.; LOCKWOOD, D.N.J. Leprosy occurring as immune reconstitution syndrome. **Trans R Soc Trop Med Hyg.**, v.102, n.10, p. 966–8, 2008.

D. E., SALES; MARQUES, C.; BRITO-DE-SOUZA, V. N.; GUERREIRO, L.T.A.; MARTINS, J. H.; AMARAL, E. P.; CARDOSO, C. C. *et al.* Toll-like receptor 1 N248s single-nucleotide polymorphism is associated with leprosy risk and regulates immune activation during mycobacterial infection. **J Infect Dis.**, v.208, n.1, p.120–9, 2013.

DEMANGEL, C.; BRITTON, W. J. Interaction of dendritic cells with mycobacteria: where the action starts. **Immunol Cell Biol**, n. 78, p. 318-324, 2000.

EICHELMANN K, GONZÁLEZ SE, SALAS-ALANIS JC, Ocampo-Candiani J. Leprosy. An Update: Definition, Pathogenesis, Classification, Diagnosis, and Treatment. **Actas Derm-Sifiliográficas** (English Ed [Internet], v.104, n.7, p. 554–63, 2013.. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.adengl.2012.03.028>.

FARIA, L. de; CASTRO, Santos L. A. A hanseníase e sua história no Brasil: A história de um “flagelo nacional.” **Hist Ciências, Saude – Manguinhos**, v. 22, n.4, p. 1491–5, 2015.

FARIA, Carlos R. de; SILVA, Ilma M. São Paulo. Electromyographic diagnosis of leprosy. **Arq Neuro-Psiquiat**, v. 48, n. 4, p. 403-413, 1999.

GARBINO, J.A.; NAAFS, B; SALGADO, M.H.; URA, S; VIRMOND, M.C.L; SCHESTATSKY, P. Association Between Neuropathic Pain and A-Waves in Leprosy Patients With Type 1 and 2 Reactions. **J Clin Neurophysiol**, v. 28, p. 329-332, 2011.

GHORPADE, Inoculation (tattoo) leprosy: a report of 31 cases, **J. Eur. Acad. Dermatol.**, v. 16, n. 5, p. 494–499, 2002.

GRZYBOWSKI, A.; NITA, M. Leprosy in the Bible. **Clin Dermatol**, v.34, n. 1, p. 3–7, 2016.

GRZYBOWSKI, A.; SAK, J.; PAWLIKOWSKI, J.; NITA, M. Leprosy: Social implications from antiquity to the present. **Clin Dermatol.**, v.34, n.1, p. 8–10, 2016.

GUPTE, M.; VALLISHAYEE, R.; ANANTHARAMAN, D. ; NAGARAJU, B.; SREEVATSA., BALASUBRAMANYAM, S.; DE BRITTO, R.; ELANGO, N.; UTHAYAKUMARAN, N.; MAHALINGAM, V.; LOURDUSAMY, G.; RAMALINGAM, A.; KANNAN, S.; AROK-IASAMY, J. Comparative leprosy vaccine trial in south India. **Indian J Lepr** 70:369–388, 1998.

HARA, H.; SAITO, T. CARD9 versus CARMA1 in innate and adaptive immunity. **Trends Immunol.**, v.30, n. 5, p. 234–42, 2009.

HASHIMOTO, K.; MAEDA, Y.; KIMURA, H.; SUSUKI, K.; MASUDA, A.; MATSNOKA, M.; MAKINO, M. Mycobacterium leprae infection in monocyte-derived dendritic cells and its influence on antigen-presenting function. **Infect Immun.**, n. 70, p. 5167-5176, 2002.

HERNANDEZ, M.O.; NEVES, I.; SALES, J. S.; CARVALHO, D. S.; SARNO, E. N.; SAMPAIO, E.P. In- duction of apoptosis in monocytes by My- cobacterium leprae in vitro: a possible role for tumour necrosis factor-alpha. **Immunology**, n. 1091, p. 156-164, 2003.

INTEGRATED Taxonomic Information System-ITIS. Mycobacterium leprae (HAUSEN, 1880; LEHMANN and NEUMANN, 1896). disponível em: (https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=963824#null). Acesso em 28/12/2022.

KHADILKAR, S. V.; PATIL, S.B.; SHETTY, V.P. Neuropathies of leprosy. **J Neurol Sci** [Internet]. 2021;420 (December 2020):117288. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.117288>.

LAURENT, Abel; VU DINH, Lap; OBERTI, Jean; VAN THUC, Nguyen; CUA, Van Van; GUILLOUD-BATAILLE, MICHEL; SCHURR, ERWIN; LAGRANGE, PHILIPPE H. Complex Segregation Analysis of Leprosy in Southern Vietnam. **Genetic Epidemiology**, n. 12, p. 63-82, 1995.

LETURIONDO, A. L.; NORONHA, A. B.; MENDONÇA, C. Y. R.; FERREIRA, C. de O.; ALVARADO-Arnez, L. E.; MANTA, F. S. de N., *et al.* Association of nod2 and ifng single nucleotide polymorphisms with leprosy in the amazon ethnic admixed population. **PLoS Negl Trop Dis.**, v.14, n.5, p. 1–13, 2020.

LIM, C.S.; PARK, E. S.; KIM, D. J.; SONG, Y. H.; EOM, S. H.; CHUN, J. S. *et al.* SPIN90 (SH3 Protein Interacting with Nck, 90 kDa), an Adaptor Protein That Is Developmentally regulated during cardiac myocyte differentiation. **J Biol Chem** [Internet], v. 276, n.16, p. 12871–8, 2001. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M009411200>.

LIU, H.; BAO, F.; IRWANTO, A.; FU, X.; LU, N.; YU, G., *et al.* An association study of TOLL and CARD with leprosy susceptibility in Chinese population. **Hum Mol Genet**, v. 22, n.21, p. 4430–7, 2013.

LIU, H.; WANG, Z.; LI Y, Yu G, Fu X, Wang C, *et al.* Genome-Wide Analysis of Protein-Coding Variants in Leprosy. **J Invest Dermatol.**, v.137, n.12, p. 2544–51, 2017.

LOCKWOOD, D. N. J. Leprosy. In: BURNS, D. A.; BREATHNACH, S. M.; COX, N.H. V. Griffiths CEM, editors. **Rook's textbook of dermatology**, v. 2, 7. ed., p. 29. Oxford7 Blackwell Publishing; 2004.

MAEDA, Y.; GIDOH, M.; ISHII, N.; MUKAI, C.; MAKINO, M. Assessment of cell mediated immunogenicity of Mycobacterium leprae- derived antigens. **Cell Immunol.**, n. 222, p. 69-77, 2003.

MACIEL, Laurinda Rosa; OLIVEIRA, Maria Leide Wand-del-Rey de; GALLO, Maria Eugênia N.; DAMASCO, Mariana Santos. Memória e história da hanseníase no Brasil através de depoentes (1960-2000). **História, Ciências, Saúde Manguinhos**, Rio de Janeiro, v. 10 (suppl. 1), p.308-35, 2003.

MARAHATTA, Suchana; BHATTARAI, Sabina; PAUDEL, Bishnu Hari. Electrophysiological profiles of leprosy neuropathy. **Lepr Rev.**, n. 88, p. 373–380, 2017.

MARQUES, Vanessa Daccach. **Contribuição do estudo da condução nervosa no diagnóstico da neuropatia hanseniana**. 2017. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

MARQUES JR, Wilson; FREITAS, Marcos R.; NASCIMENTO, Osvaldo J.M.; OLIVEIRA, Acary B.; CALIA, Leandro; MELO, Ailton; LUCENA, Rita; ROCHA, Vera; BARREIRA, Amilton A. 17p duplicated Charcot-Marie-Tooth 1A: characteristics of a new population. **J Neurol**, n. 252, p.972–979, 2005. DOI 10.1007/s00415-005-0797-9 original communication.

MAURANO, F. História da lepra no Brasil e sua distribuição geográfica. In: **Tratado da Lepra**, p. 26.

M.E., Duncan; R. Melsom; J.M. Pearson; S. Menzel; R. Barnetson. A clinical and immunological study of four babies of mothers with lepromatous leprosy, two of whom developed leprosy in infancy. **Int. J. Lepr.** v.51, n.1, p. 7–17, 1983.

MINISTÉRIO da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico**. 2022.

MINISTÉRIO da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia prático sobre a hanseníase**. 2017.

MOET, F. J.; PAHAN, D.; SCHURING, R. P.; OSKAM, L.; RICHARDUS, J. H. Physical distance, genetic relationship, age, and leprosy classification are independent risk factors for leprosy in contacts of patients with leprosy. **J Infect Dis** [Internet]. v.193, n.3, p. 346–53, 2006 Available from: <https://academic.oup.com/jid/article/193/3/346/2191578>.

MONTEIRO, Yara Nogueira. Profilaxia e exclusão: o isolamento compulsório dos hansenianos em São Paulo. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, v.10, n.1, p.95-121, 2003.

- MUNGROO, M.R.; KHAN, N. A.; SIDDIQUI, R. Mycobacterium leprae: Pathogenesis, diagnosis, and treatment options. **Microb Pathog.**, n.149, June, 2020.
- N.G. V.; ZANAZZI, G.; TIMPL, R.; TALTS, J.F.; SALZER, J. L.; BRENNAN, P. J. *et al.* Role of the cell wall phenolic glycolipid-1 in the peripheral nerve predilection of Mycobacterium leprae. **Cell.**, v.103, n3, p. 511–24, 2000.
- ORGANIZAÇÃO Mundial da Saúde (OMS). Estratégia Global de Hanseníase 2021-2030 - “Rumo à zero hanseníase.” **World Health Organization**, n.1, p. 1–30, 2021.
- PATTYN, S. R. Bacteriology of Mycobacterium leprae. **Lepr Rev.**, n. 1983, p. 54 (Spec. Iss.):17–22. Wallace L. Percepções da lepra na Antiguidade. 2013;
- PINHEIRO, R. O.; DE SOUZA, Salles J.; SARNO, E. N.; SAMPAIO, E. P. Mycobacterium leprae-host-cell interactions and genetic determinants in leprosy: An overview. **Future Microbiol.**, v.6, n. 2, p. 217–30, 2011.
- RADA, E.; ARANZAZU, N. Convit J. Respuesta inmunitaria de la enfermedad de Hansen. **Revisión. Invest Clin.**, v.50, n. 4, p. 513–27, 2009.
- RADA, E.; CONVIT, J.; ULRICH, M.; GALLINOTO, M. E.; ARANZAZU, N. Immunosuppression and cellular immunity reactions in leprosy patients treated with a mixture of Mycobacterium leprae and BCG. **Int J Lepr.**, n. 55, p. 646-650, 1987.
- RADA, E.; ULRICH, M.; ARANZAZU, N.; RODRÍGUEZ, V.; CENTENO, M.; GONZÁLEZ, I.; SANTAELLA, C.; RODRÍGUEZ, M.; CONVIT, J. A follow-up study of multibacillary Hansen’s disease patients treated with multidrug therapy (MDT) or MDT + immunotherapy (IMT). **Int J Lepr**, n. 65, p. 320-327, 1997.
- RAMBUKKANA, J.L.; SALZER, P.D.; YURCHENCO, E.I. Tuomanen. Neural targeting of Mycobacterium leprae mediated by the G domain of the laminin- α 2 chain, **Cell**, v. 88, n. 6, p. 811–821, 1997.
- RAMBUKKANA, A.; YAMADA, H.; ZANAZZI, G.; MATHUS, T. J.L.; SALZER, J. L.; YURCHENCO, P. D.; CAMPBELL, K. P.; FISCHETTI, V. A. Role of α -dystroglycan as a Schwann cell receptor for Mycobacterium leprae. **Science**, v. 282, n. 5396, p. 2076–2079, 1998.
- RAMBUKKANA, A. Molecular basis for the peripheral nerve predilection of Mycobacterium leprae, *Curr. Opin. Microbiol.*, v.4 , n. 1, p. 21–27, 2001.
- RODRIGUES, Nuno Simões. **Percepções da lepra na antiguidade**. Lisboa: Centro de História da Faculdade de Letras da Universidade de Lisboa, 2013.
- ROSA, Maciel L.; OLIVEIRA, M.L.W.; DEL, R.; GALLO, M.E.N.; DAMASCO, M.S. Memories and history of Hansen’s disease in Brazil told by witnesses (1960-2000). **Hist Cienc Saude Manguinhos**, v.10, Suppl 1, p. 308–35, 2003.

SALES-Marques, C.; SALOMÃO, H.; MEDEIROS, Fava V.; ELENA, Alvarado-Arnez L.; PINHEIRO, Amaral E.; CHESTER, Cardoso C. *et al.* NOD2 and CCDC122-LACC1 genes are associated with leprosy susceptibility in Brazilians. **Hum Genet.**, n.133, p.1525–32, 2014.

SASAKI, S.; TAKESHITA, F.; OKUDA, K.; Lshil' N. Mycobacterium leprae and Leprosy: A Compendium, Microbiol. **Immunol.**, v.45, 2001.

SANTOS, D. F. dos; MENDONÇA, M. R.; ANTUNES, D. E.; SABINO, E.F.P.; PEREIRA, R. C.; GOULART, L.R. *et al.* Revisiting primary neural leprosy: Clinical, serological, molecular, and neurophysiological aspects. **PLoS Negl Trop Dis.** v.11, n.11, p.1–14, 2017.

SERVIÇO Nacional de lepra. **Tratado de leprologia**, 2.ed., v.1. Rio de Janeiro, 1950.

SHEPARD Cc. The experimental disease that follows the injection of human leprosy bacilli into foot-pads of mice. **J exp Med**, n. 112, p. 445-54, 1960.

SHIELDS, E. D.; RUSSELL, D.A.; PERICAK-VANCE, M. A. Genetic epidemiology of the susceptibility to leprosy. **J Clin Invest.**, v.79, n.4, P. 1139-43, 1987. Doi: 10.1172/JCI112930. PMID: 3549780; PMCID: PMC424295.

SCHWEICKARDT, J. C.; DE XEREZ, L.M. A hanseníase no Amazonas: Política e institucionalização de uma doença. **Hist Ciências, Saude – Manguinhos**, v.22, n.4, p.1–16, 2015.

SILVA, G.A.V.; SANTOS, M.P.; MOTA-Passos, I., BOECHAT, A. L.; MALHEIRO, A.; NAVECA, F.G. *et al.* IFN- γ +875 microsatellite polymorphism as a potential protection marker for leprosy patients from Amazonas state, Brazil. **Cytokine** [Internet], v. 60, n.2, p. 493–7, 2012. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2012.04.043>.

SINGH, P.; COLE, S.T. Mycobacterium leprae: Genes, pseudogenes and genetic diversity. **Future Microbiol.**, v. 6, n.1, p. 57–71, 2011.

TALHARI, S. Contribuição ao estudo da Hanseníase na região do Alto Solimões (Amazonas-Brasil). **Bol Div Dermat Sanit**, n.1, p. 53-62, 1977.

TALHARI, S.; AGUIAR, A. P.; MATOS, T. T.; SPENER, S.; BORBOREMA, CAT. Hanseníase no Estado do Amazonas. Histórico e desativação do Leprosário. **An Bras Dermatol.**, v. 56, p. 179-84, 1981.

TAVARES, Tomázia. **Antônio Aleixo**: de leprosário a bairro de Manaus. Manaus: Edição do autor, 2011.

TOMASELLI, P. J.; SANTOS, D. F. dos; SANTOS, A.C.J. dos; ANTUNES, D.E.; MARQUES, V.D.; FOSS, NT, *et al.* Primary neural leprosy: clinical, neurophysiological and pathological presentation and progression. **Brain**, v.145, n.4, p. 1499–506, 2022.

TOMASELLI, P. J. Hanseníase forma neural pura: aspectos clínicos e eletroneuromiográficos dos pacientes avaliados no serviço de doenças neuromusculares do HCRP da USP no período de março

de 2001 a março de 2013. Tese [Doutorado]. Ribeirão Preto-SP:Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2014.

UCHOA, Samuel. **Um ano de campanha**: relatório do Serviço de Saneamento e Profilaxia Rural do Amazonas. Belém: Casa Editora A Semana, 1922.

VAN BRAKEL, W.H. *et al.* The INFIR Cohort Study: investigating prediction, detection and pathogenesis of neuropathy and reactions in leprosy. Methods and baseline results of a cohort of multibacillary leprosy patients in north India. **Lepr Ver.**, n. 76. p. 14–34, 2005.

WALKER, S. L.; LOCKWOOD, D. N. J. **Leprosy**. **Clin Dermatol.**, v.25, n.2, p. 165–72, 2007.

WANG, D.; XU L, L.V. L.; SU, L.Y.; FAN. Y.; ZHANG, D.F. *et al.* Association of the LRRK2 genetic polymorphisms with leprosy in Han Chinese from Southwest China. **Genes Immun.**, v.16, n.2, p. 112–9, 2015.

WILDER-Smith, E.P.; VAN BRAKEL, W. H. Nerve damage in leprosy and its management. **Nat Clin Pract Neurol.**, v. 24, n.12, p. 656–63, 2008.

WALSH DS, LANE JE, ABALOS RM, MYINT KS. TUNEL and limited immunophenotypic analyses of apoptosis in paucibacillary and multibacillary leprosy lesions. **FEMS Immunol Med Microbiol** n. 41, p. 265-269, 2004.

WILDEMAN, M.; VAN OPHUIZEN, E.; DEN DUNNEN, J. T.; TASCHNER, P. E. Improving sequence variant descriptions in mutation databases and literature using the Mutalyzer sequence variation nomenclature checker. **Hum Mutat.**, n. 29, p. 6–13, 2008.

YUAN, Y.; YOU, Y.; WEN, Y.; LIU J, LI H, ZHANG Y, et al. Identification of novel genetic loci GAL3ST4 and CHGB involved in susceptibility to leprosy. **Sci Rep** [Internet]. 2017;7(1):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-16422-1>

ANEXO 1: PROTOCOLO GENÉTICA E HANSENÍASE

Nome:

Nº de inscrição no estudo:

Instituição de origem e registro:

Sexo: Feminino Masculino

Idade: _____ anos

Diagnóstico

Classificação cutâneas: TT BT BB BV VV Indeterminado

Reação: tipo 1 tipo 2

Diagnóstico: Baciloscopia Biópsia de Pele

Escalas de avaliação

Graduação de força				
Músculo	Lateralidade	Graduação (0-5)	Graduação de força (MRC)	
Extensor próprio do indicador Abdutor curto do polegar 1º interósseo dorsal	Esquerda		<ul style="list-style-type: none"> • 0: contração muscular não visível • 1: contração muscular visível com ou sem indício de movimento • 2: movimentos dos membros, mas não em relação à gravidade • 3: movimento do membro contra a gravidade, mas sem resistência • 4: movimento do membro em relação a pelo menos alguma resistência imposta pelo examinador • 5: força normal 	
	Direita			
Bíceps braquial Tríceps braquial Deltóide	Esquerda			
	Direita			
Dorsiflexão do pé Flexão plantar dos dedos Dorsiflexão do hálux	Esquerda			
	Direita			
Quadríceps femoral Ileopsoas Isquiotibiais	Esquerda			
	Direita			
Total (máx. 60 pt)				

INCAT: Impacto funcional**Membros Superiores**

Função	Não afetado	Afetado parcialmente	Impossibilitado
Vestir as peças relativas a porção superior (excluídos zíper e botão)			
Lavar e pentear cabelos			
Abrir fechaduras com chave			
Uso de talheres			
Abrir e fechar de zíper e botões			

0= sem atingimento do membro superior

1= Sintomas num/ou em ambos os MS, não afetando a execução de qualquer das seguintes funções;

2= Sintomas, num/ou em ambos os MS, com impacto funcional, mas não impedindo a execução de qualquer uma das funções acima mencionadas;

3= Sintomas, num/ou em ambos os MS, impedindo uma ou duas das funções supracitadas.

4= Sintomas, num/ou em ambos os MS, impedindo três ou todas as funções supracitadas.

5= Incapacidade de usar ambos os braços em qualquer movimento voluntário.

Incapacidade MS (0-5): _____

Função	Sim	Não	Não se aplica
Você tem algum problema em caminhar?			
Você utiliza algum auxílio para caminhar?			
Como você anda 10 metros?			
Sem auxílio			
Com 1 bengala ou muleta ou se apoiando no braço de alguém			
Com 2 bengalas ou muletas ou com 1 bengala ou muleta e se apoiando no braço de alguém			
Com cadeira de rodas			
Se usa cadeira de rodas, consegue levantar-se e andar com auxílio			
Se restrito ao leito, consegue realizar movimentos voluntários			

0= marcha não afetada

1= marcha afetada, mas possível de forma independente.

2= uso frequente unilateral de auxiliares de marcha

3= uso frequente bilateral de auxiliares de marcha

4= uso frequente de cadeira de rodas, mas capaz de se levantar e dar alguns passos com ajuda

5= Preso a cadeira de rodas, sendo incapaz de se levantar e/ou dar alguns passos com ajuda

Incapacidade MI (0-5): _____

Incapacidade global (Incapacidade MS + Incapacidade MI): _____

INCAT: impacto sensitivo Regiões examinadas e Grau correspondente

Picada		Vibração		Discriminação 2 pontos
Braços	Pernas	Braços	Pernas	Dedo Indicador K
0 Sensibilidade Normal No dedo indicador A	0 Sensibilidade Normal no hálux F	0 Sensibilidade Normal no dedo indicador A	0 Sensibilidade Normal no hálux F	0 Sensibilidade Normal < 4 mm
Sensibilidade Alterada	Sensibilidade Alterada	Sensibilidade Alterada	Sensibilidade Alterada	Sensibilidade Alterada
1, no dedo indicador B	1, no hálux G	1, no dedo indicador B	1, no hálux G	1, 5-9 mm
2, no Punho C	2, no tornozelo H	2, no Punho C	2, no tornozelo H	2, 10-14 mm
3, no Cotovelo D	3, no joelho I	3, no Cotovelo D	3, no joelho I	3, 15-19 mm
4, no ombro E	4, na virilha J	4, no ombro E	4, na virilha J	4, > 20 mm

A, B: Dedo indicador (articulação interfalângica distal face dorsal); **C:** apófise estilóide cubital; **D:** epicôndilo medial umeral; **E:** Articulação acromioclavicular; **F, G:** Hálux (articulação interfalângica distal face dorsal); **H:** Maléolo medial; **I:** Rótula; **J:** Espinha íliaca antero-superior; **K:** dedo indicador (face ventral: falange distal)

INCAT Sensitivo (0-20 pontos): _____

Nervos	Lateralidade	Lesão (Sim/Não)	Protocolo +4cm (Sim/Não)
Ulnar_sensitivo	Esquerda		
	Direita		
Mediano_sensitivo	Esquerda		
	Direita		
Radial_sensitivo	Esquerda		
	Direita		
Sural_sensitivo	Esquerda		
	Direita		
Fibular_sensitivo	Esquerda		
	Direita		
Ulnar_motor	Esquerda		
	Direita		
Mediano_motor	Esquerda		
	Direita		
Tibial_motor	Esquerda		
	Direita		
Fibular_motor	Esquerda		
	Direita		



ANEXO 2: PROTOCOLO DE NEUROPATIA PERIFÉRICA



1. IDENTIFICAÇÃO

Nº. DO PRONTUÁRIO AAL/HUGV: _____ DATA ____/____/____

NOME: _____

SEXO: MASCULINO FEMININO

IDADE: _____

PROFISSÃO: _____

2. ANAMNESE

QUEIXA PRINCIPAL: _____

DURAÇÃO: _____

HISTÓRIA DA DOENÇA ATUAL:

PARESTESIAS

DOR NEUROPÁTICA

ANESTESIA

HIPOSTESIA

CÃIBRAS

FASCICULAÇÃO ATROFIA FRAQUEZA

GATROPRESIA

HIPOSENSIBILIDADE POSTURAL

DISFUNÇÃO ERÉTIL

DISFUNÇÃO URINÁRIA OU FECAL

COMORBIDADES:

HAS DIABETES ARTRITE REUMATÓIDE LES

VASCULITE HIV HEPATITE B HEPATITE C

SE SIM (VASCULITE), QUAL?

EXPOSIÇÃO A TOXINAS/METAIS: _____

ETILISMO:

TIPO/QUANTIDADE/PERIODICIDADE _____

HANSENÍASE:

FORMA/TRATAMENTO/TEMPO _____

INFECÇÃO

PRECEDENTE O QUADRO

ATUAL:

ESPECIFICAR,

IVAS

GECA

OUTRA,

QUAL?

CIRURGIA, ESPECIFICAR? _____

OUTRA, ESPECIFICAR? _____

HISTÓRIA FAMILIAR DE NEUROPATIA:

NÃO SIM, QUAL? _____

MEDICAÇÕES EM USO:

3. EXAME FÍSICO

3.1 GERAL,

ESPECIFICAR

ALTERAÇÃO RELEVANTE?

UNHAS _____ OLHOS _____ BOCA _____

ORGANOMEGALIA

_____ PELE

ESCOLIOSE

_____ DEDOS EM MARTELO

_____ PÉS CAVOS

OUTROS _____

3.2 NEUROLÓGICO

MARCHA _____

REFLEXOS OSTEOTENDINOSOS PROFUNDOS

	DIREITA	ESQUERDA
BICIPITAL		
TRICIPITAL		
ESTILORRADIAL		
PATELAR		
AQUILEU		

REFLEXOS SUPERFICIAIS:

CREMASTÉRICO _____ COSTOABDOMINAIS _____

CUTÂNEO-PLANTAR _____

FORÇA (GRADUAÇÃO MRC)

	DIR	ESQ		DIR	ESQ
1° ID			FLEX. ANTEBRAÇO		
APB			EXT. ANTEBRAÇO		
EIP			ROTAÇÃO INTERNA BRAÇO		
ABD 5°			ROTAÇÃO EXTERNA		
FLEX. RAD CARPO			ROTAÇÃO INTERNA		
FLEX. ULNAR CARPO			ADUÇÃO BRAÇO		
EXT. DOS DEDOS			ABDUÇÃO <15° BRAÇO		
EXT. RADIAL CARPO			ABDUÇÃO >15° BRAÇO		
PRONAÇÃO MÃO			ELEVAÇÃO OMBROS		
SUPINAÇÃO MÃO			ROTAÇÃO CEFÁLICA		
	DIR	ESQ		DIR	ESQ
DORSIFLEX HÁLUX			EXTENSÃO PERNA		
FLEXÃO DOS DEDOS			FLEXÃO PERNA		
DORSIFLEX PÉ			ADUÇÃO COXA		

FLEXÃO PLANTAR PÉ			ABDUÇÃO COXA		
INVERSÃO PÉ			EXTENSÃO COXA		
EVERSÃO PÉ			FLEXÃO COXA		

GRADUAÇÃO: NORMAL / HIPOTONIA / HIPERTONIA ELÁSTICA (ESPASTICIDADE) / HIPERTONIA PLÁSTICA (RIGIDEZ)

TÔNUS: MMSS DIR _____ ESQ _____ MMII DIR _____ ESQ _____

TROFISMO: MMSS DIR _____ ESQ _____ MMII DIR _____ ESQ _____

GRADUAÇÃO: NORMAL: 0 / DIMINUIÇÃO LEVE: + / DIMINUIÇÃO MODERADA: ++ / DIMINUIÇÃO GRAVE: +++

COORDENAÇÃO:

	DIREITA	ESQUERDA
ÍNDIX-NARIZ		
CALCANHAR-JOELHO		
DIADOCINESIA		
TREMOR DE INTENÇÃO		
PROVA DO RECHAÇO		
DECOMPOSIÇÃO DO MOVIMENTO		

NERVOS

I OLFATÓRIO NORMAL ANORMAL (HIPO/HIPER) _____

II ÓPTICO:

FUNDO DE OLHO _____

ACUIDADE VISUAL: DIREITA _____ ESQUERDA _____ CAMPIMETRIA

VISUAL: DIREITA _____ ESQUERDA _____

REFLEXO FOTOMOTOR DIRETO E CONSENSUAL: D _____ E _____

III, IV, VI (MOTRICIDADE OCULAR EXTRÍNSECA):

RETO MEDIAL _____ RETO LATERAL _____ RETO SUPERIOR _____

RETO INFERIOR _____ OBLÍQUO SUPERIOR _____ OBLÍQUO INFERIOR _____

ACOMODAÇÃO (MOTRICIDADE INTRÍNSECA):

V TRIGÊMEO

SENSITIVO: V1 _____ V2 _____ V3 _____

MOTOR: _____

VII FACIAL

SENSITIVO: _____

MOTOR: DIREITA _____ ESQUERDA _____

VIII VESTIBULO-COCLEAR

VESTIBULAR _____

COCLEAR (ACUSIA) DIREITA _____ ESQUERDA _____

IX, X: GLOSSOFARÍNGEO, VAGO

XI: ACESSÓRIO

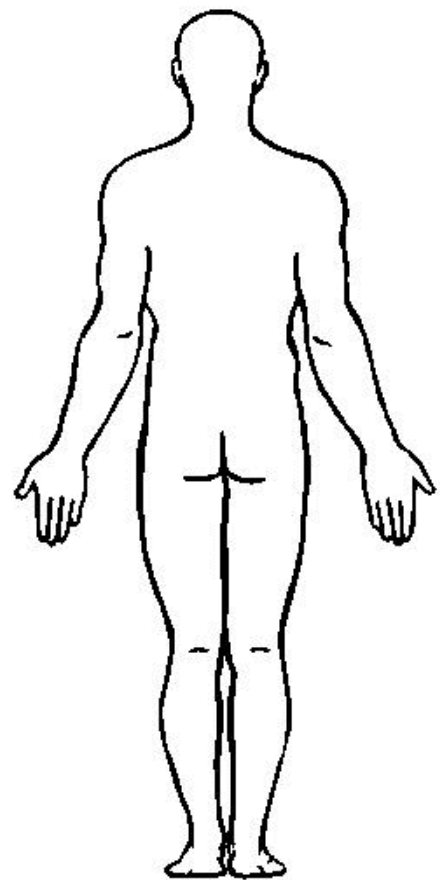
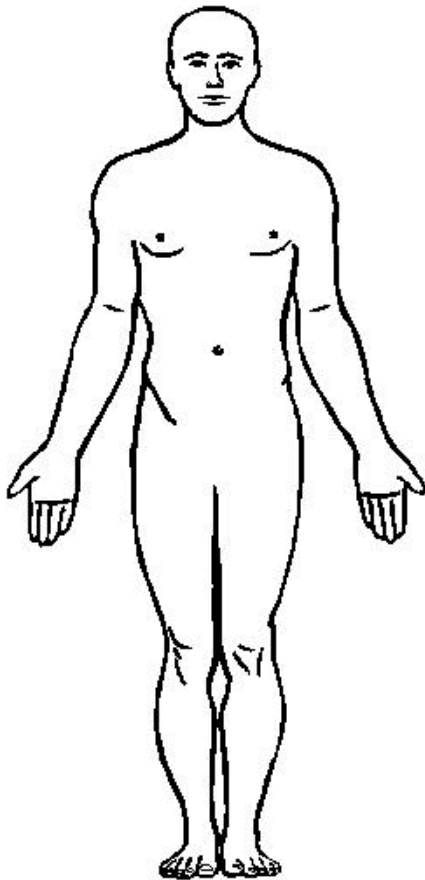
TRAPÉZIO DIREITO _____ ESQUERDO _____

ESTERNOCLEIDOMASTÓIDEO DIREITO _____ ESQUERDO _____

XII: HIPOGLOSSO

LÍNGUA: _____

SENSIBILIDADE



SUPERFICIAL: TÁTIL, DOLOROSA, TEMPERATURA

- PADRÃO: ANESTESIA, HIPOSTESIA, HIPERTESIA, ALODÍNEA

PROFUNDA: PROPRIOCEPÇÃO (CINÉTICO-POSTURAL)

- PALESTESIA (VIBRAÇÃO)

- DIAPASÃO RYDEL-SEIFFER: TEMPO
- DEMAIS DIAPASÕES: APALESTESIA, HIPOPALESTESIA (DESCREVER + LEVE / ++ MODERADA / +++ GRAVE)

EXAMES COMPLEMENTARES:

- ELETRONEUROMIOGRAFIA

PAMC	MEDIANO	ULNAR	FIBULAR	TIBIAL	
AMP					
LAT DISTAL					
VEL DE COND					

OBS:

PAS	MEDIANO	ULNAR	RADIAL	SURAL	FIB SUP
AMP					
VEL DE COND					

OBS:

AGULHA:

CONCLUSÃO:

- LÍQUOR:

- IMAGEM:

- SÉRICO:

- GENÉTICA:

- BIÓPSIA DE NERVO

CAPACIDADE FUNCIONAL:

GRADUAÇÃO: 0 = INCAPAZ DE REALIZAR / 1= CAPAZ DE REALIZAR COM DIFICULDADE / 2 = CAPAZ DE REALIZAR FACILMENTE

ATIVIDADE	GRADUAÇÃO
FOLHEAR UM JORNAL/LIVRO	
COMER	
ESCOVAR OS DENTES	
LAVAR A PARTE SUPERIOR DO CORPO	
SENTAR NO VASO SANITÁRIO	
PREPARAR UM SANDUÍCHE	
VESTIR A PARTE SUPERIOR DO CORPO	
LAVAR A PARTE INFERIOR DO CORPO	
MOVER UMA CADEIRA	
TRANCAR A FECHADURA COM UMA CHAVE	
IR AO MÉDICO	
TOMAR BANHO	
LAVAR A LOUÇA	
REALIZAR AS COMPRAS DE CASA	
APANHAR UM OBJETO (EX: BOLA)	
CURVAR-SE E PEGAR UM OBJETO	
SUBIR UM ANDAR DE ESCADAS	
LOCOMOVER-SE COM TRANSPORTE PÚBLICO	
ANDAR E ULTRAPASSAR OBSTÁCULOS	
ANDAR NA RUA < 1 KM	
SEGURAR E COLOCAR NO CHÃO UM OBJETO PESADO	
DANÇAR	
FICAR DE PÉ POR HORAS	
CORRER	
TOTAL	

CLASSIFICAÇÃO:

- | | | |
|--------------------------|------------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> MONONEUROPATIA POLINEUROPATIA |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> AXONAL | <input type="checkbox"/> MONONEUROPATIAMÚLTIPLA |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> ADQUIRIDA | <input type="checkbox"/> DESMIELINIZANTE |
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> HERANÇA: | <input type="checkbox"/> HEREDITÁRIA |

HIPÓTESE DIAGNÓSTICA

- SÍNDROMES: _____
- TOPOGRAFIA: _____
- ETIOLOGIA: _____

PROPEDÊUTICA

CONDUTA TERAPÊUTICA

Aluno/Residente

Médico Assistente/Professor



**ANEXO 3: COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - FUNDAÇÃO DE DERMATOLOGIA TROPICAL
E VENEREOLOGIA ALFREDO DA MATTA
MANAUS – AM – BRASIL**

Disciplina de Neurologia-Neurocirurgia da UFAM/Serviço de Neurologia do HUGV-UFAM

Pesquisador Responsável: Pablo Vinícius Silveira Feitoza

Colaborador: Prof. Dr. Wilson Marques Junior

Endereço: Rua Afonso Pena, Centro

CEP 69020-160 – Manaus – AM

Fone: (92) 3305-4950

E-mail: pvsfeitoza@ufam.edu.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa “*Aumento da susceptibilidade ao acometimento do sistema nervoso periférico associado ao polimorfismo do gene humano NCKIPSD e CARD9 na Hanseníase.*” O presente estudo será desenvolvido pelo pesquisador responsável Pablo Vinícius Silveira Feitoza, Médico, Professor de Neurologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e pelo Prof. Dr. Wilson Marques Junior, Professor Titular de Neurologia do Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP USP). Neste estudo pretendemos determinar a maior susceptibilidade ao dano nervoso periférico na Hanseníase em associação à presença o polimorfismo do gene humano NCKIPSD e CARD9.

O motivo que nos leva a estudar é que até o momento da realização deste projeto de pesquisa e considerando à crescente e relevante importância do gene NCKIPSD e CARD9 em relação às infecções micobacterianas, sobretudo a Hanseníase, assim como a escassez de estudos recentes torna-se fundamental avaliar a associação dos polimorfismos genéticos no referido gene em relação a maior susceptibilidade do acometimento do sistema nervoso periférico pela Hanseníase. Tal hipótese assume caráter inédito na literatura, não se tendo nenhum relato até o presente momento.

Para este estudo adotaremos os seguintes procedimentos:

I. Metodologia: Será realizada avaliação neurológica através de exame clínico assim como aplicação de uma escala de funcionalidade denominada INCAT durante a entrevista do paciente de curta duração. Após realizaremos o exame de eletroneuromiografia de quatro membros através de protocolo estabelecido na pesquisa e se coletará amostra sanguínea para avaliação genética de possíveis polimorfismo no gene NCKIPSD e CARD9 que estejam associados ao maior acometimento do sistema nervoso periférico pela Hanseníase. O exame de eletroneuromiografia consistirá apenas em uma fase que será realizada com estímulo elétrico sobre o nervo e captação na pele com eletrodos de superfície. A coleta de sangue será realizada com intuito de análise do material genético conforme objetivo da pesquisa.

II. Riscos: Durante à entrevista clínica poderá ocorrer desconforto em compartilhar informações pessoais ou confidenciais. Nessa situação o voluntário não precisará responder a qualquer pergunta ou parte de informações obtidas em debate/entrevista/pesquisa, se sentir que ela é muito pessoal ou sentir desconforto em falar. Quanto ao procedimento de coleta de amostra sanguínea, esta será realizada através de punção venosa periférica a qual poderá determinar dor à punção, sangramento local ou necessidade de repunção venosa em caso de erro durante as tentativas de acesso venoso. Nessas situações será fornecido cuidados médicos assistenciais para redução da dor com prescrição de medicações analgésicas se necessário, em caso de sangramento devido este se constituir em sítio compressivo para resolução da complicação será utilizado tal método. Em caso de necessidade de repunção venosa será solicitado autorização do paciente para realização dela. Efetuar-se-á, ainda, a eletroneuromiografia a qual se constituída de exame de condução nervoso sensitivo e motor através de estimulação elétrica superficial em nervos periféricos. Exame que pode determinar dor durante sua realização. Em qualquer momento do procedimento o voluntário poderá solicitar interrupção do procedimento.

III. Benefícios: poderá não ocorrer benefícios diretos aos voluntários da pesquisa. Todavia, a geração do conhecimento a partir da pesquisa poderá propiciar e facilitar a identificação de alterações genéticas que determinam maior susceptibilidade ao acometimento do sistema nervoso periférico pela Hanseníase. A Hanseníase é uma infecção granulomatosa crônica que afeta a pele e o nervo periférico causada pelo bacilo intracelular obrigatório *Mycobacterium leprae*. A magnitude e o alto poder incapacitante mantêm a doença como um problema de saúde pública. Em 2016, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 143 países relataram 214.783 casos novos de hanseníase, o que representa uma taxa de detecção de 2,9 casos por 100 mil habitantes. No Brasil,

no mesmo ano, foram notificados 25.218 casos novos, perfazendo uma taxa de detecção de 12,2/100 mil/hab. Esses parâmetros classificam o país como de alta carga para a doença, sendo o segundo com o maior número de casos novos registrados no mundo (Boletim epidemiológico, 2018).

IV. Ressarcimento: Caso o voluntário tenha qualquer despesa decorrente da participação na pesquisa, haverá ressarcimento na forma de recompensação por dinheiro para garantia de reposição de custos com alimentação, transporte, medicação ou qualquer condição resultante diretamente da pesquisa ao qual se submete. De igual maneira, caso ocorra algum dano decorrente da sua participação no estudo, o voluntário será devidamente indenizado, conforme determina a lei.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido (a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador.

O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo.

Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão.

O (A) Sr (a) não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você. Caso haja danos decorrentes dos riscos previstos, o pesquisador assumirá a responsabilidade pelos mesmos.

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado (a) dos objetivos do estudo "*Aumento da susceptibilidade ao acometimento do sistema nervoso periférico associado ao polimorfismo do gene humano NCKIPSD e CARD9 na Hanseníase.*" de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Manaus, _____ de _____ de _____.

Nome Assinatura participante Data

Nome Assinatura pesquisador Data

Nome Assinatura testemunha Data

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar:

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - FUNDAÇÃO ALFREDO DA MATTA

Rua Codajás, 24 – Cachoeirinha Manaus - AM CEP 69065-130

Fone: (92) 3632-5800 Fax: (92) 3632-5802

Site: www.fuam.am.gov.br E-mail: fuam@fuam.am.gov.br

ANEXO 4: ARTIGO

Clinical and electroneuromyography characterization of an Amazonian population with leprosy neuropathy and the association with genetic susceptibility variants in the *NCKIPSD* and *CARD9* genes.

ABSTRACT

Introduction: Leprosy is a chronic granulomatous disease caused by *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), mainly affecting the skin and the peripheral nerves. *M. leprae* presents tropism for the peripheral nerve, generating an inflammatory process that culminates in leprosy neuropathy, the leading cause of morbidity and responsible for most disabilities and deformities exhibited by many patients. **Objectives:** First, clinical and neurophysiological characterization of an Amazonian population with leprosy neuropathy. Second, to investigate if the presence of polymorphisms associated with increased susceptibility to *M. leprae* infection in the *NCKIPSD* and *CARD9* genes have a special importance to the development of peripheral neuropathy. **Patients and methods:** Observational, bicentric, cross-sectional study of patients diagnosed with leprosy with clinical, electroneuromyography (EMG), and genotypic characterization through the *NCKIPSD* and *CARD9* genes. **Results:** Out of 33 patients, 18 were male and 15 were female. Their mean age 41.6 years old, two of them under 18 years. The average time between the first symptoms presented by the patient and the established diagnosis of the disease was of 26.4 months. Sensory symptoms were predominant, notably the negative manifestations (84.8%). In electroneuromyography, there was a predominance of asymmetrical sensory and motor neuropathy with myelin components expressed by focal slowing of conduction velocity and abnormal temporal dispersion. Sensory nerves were the most affected: median, ulnar and superficial peroneal. The EMG protocol for the motor evaluation of the distal segment was sensitive (97.0%), and in three cases, peripheral neuropathy and leprosy could only be confirmed by using this method. **Conclusion:** In the Amazonian population studied with leprosy neuropathy the predominant manifestation was an asymmetrical predominant sensory and non-length-dependent neuropathy with focal nerve conduction slowing

Keywords: 1. leprosy neuropathy. 2. electroneuromyography. 3. *NCKIPSD* and *CARD9* genes.

INTRODUCTION

Leprosy is a chronic granulomatous infection caused by an obligate intracellular microorganism called *Mycobacterium leprae* (*M. Leprae*) (LOCKWOOD, 2004). The disease predominantly affects the skin and peripheral nerves. Complications secondary to peripheral neuropathy can result in deformity and functional disability. Therefore, still determining stigmas related to the disease (WALKER, 2007).

Leprosy neuropathy has a peculiar phenotype compared to other peripheral neuropathies, either concerning the distribution of affected nerves or its pathophysiological process (KHADILKAR, 2021). It predominantly affects thin fibers in a non-contiguous manner, determining an exclusively or predominantly non-length-dependent sensory neuropathy. In addition, there is a predominance of negative sensory symptoms in the initial presentation of the disease. Motor involvement, peripheral nerve thickening, and abnormalities in osteotendinous reflexes are more frequently observed in patients with a longer clinical evolution. Data is corroborated by the higher prevalence of patients with grade 2 functional disability in later forms of leprosy (TOMASELLI, 2022).

There is an extensive and recent ebullition of studies on the association of genetic polymorphisms in a plethora of genes notoriously related to immunity against *M. leprae* infection (ALTER, 2008; LIU, 2013; SALES MARQUES, 2013; WANG, 2015; ALVARADO-ARNEZ; 2015; AREESHI, 2017; LIU, 2017). However, so far, it has not been possible to establish well-defined risk factors, whether clinical, genetic, or immunological, that determine greater susceptibility to peripheral nerve impairment and, consequently, greater clinical severity due to leprosy (WILDER-SMITH, 2008; KHADILKAR, 2021). Therefore, searching for factors that may contribute to the characterization of the phenotype of leprosy neuropathy in terms of its distribution and clinical severity becomes fundamental in advancing knowledge about the disease, which is still endemic at both the global and local levels.

PATIENTS AND METHODS

Subjects

Thirty-three individuals diagnosed with leprosy from January 2020 to December 2021 were treated at the Alfredo da Matta Foundation for Tropical Dermatology and Venereology (FUAM) or Heitor Vieira Dourado Foundation of Tropical Medicine (FMT-HVD), both at Manaus, AM, Brazil. Patients with leprosy neuropathy enrolled in the study fulfilled the following criteria: 1) diagnosis of leprosy established by skin

smear microscopy, skin or nerve biopsy, or genetic evaluation by protein-polymerase chain (PCR) of skin or nerve and 2) clinical and neurophysiological evaluation with electroneuromyography of four limbs showing peripheral neuropathy, following a specific protocol specified elsewhere. Additionally, all patients in the study should undergo a genotypic evaluation to determine the presence of NCKIPSD - rs145562243 and CARD9-rs149308743 polymorphisms.

Clinical characterization

Patients were evaluated for epidemiological and clinical (dermatology and neurology assessment) data. The degree of functional disability was graded according to the WHO disability scale, where grade 2 is expressed by visible deformities, such as bone resorption, claw hand, atrophy, and muscle contractures (BRANDSMA, 2003).

The peripheral nervous system was evaluated through a comprehensive and systematic neurological examination (supplementary material). Muscle strength was graded bilaterally from 0 to 5 according to the Medical Research Council (MRC) scale. The abductor pollicis brevis (APB), first dorsal interosseous, finger flexors, and extensors defined the upper extremity distal group. In contrast, the first-foot extensors, foot dorsiflexors, and plantar flexors defined the lower extremity distal group. Muscles included in the proximal group were biceps, triceps, and shoulder flexors and extensors in the upper extremity, quadriceps, hamstrings, and hip flexors and extensors in the lower extremities. According to previous study of our group (MARQUES *et al*, 2005), for each muscle group defined above, the MRC quantification was summed and used to characterize muscle performance as follows: 60 = normal strength, 59 to 50 = mild weakness, 49 to 40 = moderate weakness, 39 to 30 = severe weakness, and ≤ 30 = very severe weakness.

Nerve conduction study

Neurophysiology assessment was performed on the MEB 4200K (NIHON-KODHEN) machine. The following sensory nerves were evaluated bilaterally: median, ulnar, radial, sural, and superficial fibular, as well as the motor nerves: median, ulnar, posterior tibial, and peroneal.

In addition to the usual segments evaluated in motor conduction studies, we included a distal segment defined by a stimulus position localized 4 centimeters proximal to the wrist in the upper limbs (wrist + 4 cm) and to the ankle in the lower limbs (ankle + 4 cm) (Marques *et al*,). Sensory conduction assessment was performed using the antidromic technique with proximal stimulation and distal uptake. In the evaluation of the median nerves, we have always evaluated conduction at digits 1, 2, and 3. We also included the palm-wrist stimulation to check the presence of carpal tunnel syndrome.

Genotypic evaluation

We have also studied, by Sanger sequencing, the presence of polymorphisms at genes NCKIPSD – ENST00000294129.7 (rs145562243 – R176L / c.527 G>T) and CARD9 – ENSG00000289701 (rs149308743 – R494H / c.1481G>A), previously described as susceptible variants to the development of leprosy infection. Primers and PCR conditions are available on request. The electropherogram images and the nucleotide sequence were analyzed using two programs, Sequencing Analysis Software 6 (Applied Biosystems) and 4Peaks (version 1.7.1).

In addition, a bioinformatics tool, available online, was used, which was designed to confirm the variant descriptions taking into account the HGVS standards called Mutalyzer (WILDEMAN *et al.*, 2008).

Ethics statement

The Ethics Committee of the Alfredo da Matta Foundation for Tropical Dermatology and Venereology (FUAM) under CAAE 37036620.7.1001.0002. Written informed consent was obtained from all participants. Two participants were minors and their parents provided written consent on behalf of them.

Statistical analysis

Descriptive statistics was carried out referring to the evaluated data of the studied population. Continuous and dichotomous variables were applied to evaluate differences of clinical and laboratory factors among groups. The Shapiro Wilk test was applied to verify data normality prior to applying parametric or non-parametric analyses. The Wilcoxon-Mann-Whitney U Test was carried out to compare differences between independent groups when the dependent variables were not normally distributed. The Binomial Test was applied to evaluate dichotomous variables. The statistical software used was Stata 14, and all tests presenting a probability below 5% were considered significant.

RESULTS

Out of 33 patients, 18 were male, and 15 were female. Their average age was 41.6 (\pm 14.3) years old, two of them under 18 years. The average time between the first symptoms presented by the patient and the established diagnosis of the disease was 26.4 months (Table 1).

There was a predominance of disseminated forms of leprosy in 51.5% (17/33), of which 30.3% (10/33) patients with the lepromatous leprosy form and 21.2% (7/33) patients with the borderline leprosy form. Only three (9.1%) patients had the indeterminate form, representing the initial presentation of the disease. Most (81.8%) of the patients did not present with reactional forms at the time of evaluation. Slit skin smear bacilloscopic of the six sites (ear lobes, elbows, and knees) was positive in 24.2% (8/33) patients.

When assessing the degree of functional disability, according to the World Health Organization (WHO), patients were characterized predominantly as grade 0 (48.5%) and grade 1 (39.4%). However, four (12.1%) patients already presented with grade 2 functional disability for assessment.

Of the evaluated patients, nine (27.3%) were home contacts of previously diagnosed leprosy cases. In addition, one of the patients had an established diagnosis of infection with the acquired immunodeficiency virus (HIV), characterizing co-infection with the disease.

Table 1. Epidemiological aspects of patients with leprosy.

Patients with Leprosy	n = 33
Gender	
Male	18 (54.5%)
Female	15 (45.4%)
Age (years ± SD)	41.6 (±14.3)
Ridley e Jopling Classification, 1966	
Indeterminate	3 (9.1%)
TT	5 (15.2%)
BT	5 (15.2%)
BB	3 (9.1%)
BL	7 (21.2%)
LL	10 (30.3%)
Reacional episodes	
Absent	27 (81.8%)
Type 1	2 (6.1%)
Type 2	4 (12.1%)
WHO leprosy-related impairment	
Grade-0 disability	16 (48.5%)
Grade-1 disability	13 (39.4%)
Grade-2 disability	4 (12.1%)
Average time from first complaint to diagnosis (months ± SD)	26.4 ± 18.1
Positive slit skin smear bacilloscopy	8 (24.2%)
Known previous contact with leprosy case	9 (27.3%)
HIV coinfection	1 (3%)

The clinical characterization through physical examination confirmed the involvement of predominantly sensory signals in 93.9% (31/33), notably with negative signs expressed by tactile and painful hypoesthesia in 84.8% (28/33) patients. Asymmetric involvement in the median nerve territory was observed in 39.4% (13/33) patients. Peripheral nerve thickening on palpation was observed in 24.2% (8/33) of patients, mainly at the ulnar nerve.

As for the functional assessment, assessed using the INCAT scale, a global index of 1.3 was observed. There was greater relative involvement in the upper segments compared to the lower ones, with rates of 0.9 and 0.4, respectively. Higher indexes were observed for the INCAT sensory index (2.6) compared to the motor index.

Approximately 81.82% (27/33) of patients had some degree of muscle weakness and/or muscle atrophy. Applying the Modified MRC Sum Score, the mean score was 54.9. Although frequent, weakness was mild in most patients (Table 2).

Table 2. Clinical characteristics of leprosy patients.

Patients with Leprosy	n = 33
<i>Sensory symptoms</i>	31 (93.9%)
Negatives	28 (84.8%)
Negatives and positives	2 (6.0%)
Positives	1 (3.0%)
<i>Motor symptoms</i> (muscle weakness and atrophy)	27 (81.82%)
Nerve thickening	8 (24.2%)
Ulnar	4 (12.1%)
Ulnar and fibular	3 (9.1%)
Radial	1 (3.0%)
<i>Asymmetry at median nerve sensory territory</i>	13 (39.4%)
<i>INCAT scale</i>	
Global	1.3 (\pm 1.3)
Upper limbs	0.9 (\pm 1.2)
Lower limb	0.4 (\pm 0.5)
Sensory	2.6 (\pm 2.0)
MRC Sum Score Modified	54.9 (\pm 5.2)
<i>Grade of muscle weakness</i>	
Normal strength	6 (18.2%)
Mild weakness	23 (69.7%)
Moderate weakness	4 (12.1%)
Severe weakness	0 (0.0%)
Very severe weakness	0 (0.0%)

The most common (60.6%) neurophysiological pattern observed was an asymmetrical sensory and motor neuropathy with myelin components expressed by focal slowing of the conduction velocity (Table 3). This pattern was usually accompanied by an abnormal temporal dispersion (Figure 1).

Table 3. Nerve conduction studies of patients with leprosy.

Patients with Leprosy	n = 33
<i>Neurophysiological pattern</i>	
Normal	3 (9.1%)
Axonal sensory mononeuropathy	0 (0.0%)
Sensory-motor mononeuropathy with focal slowing of CV	1 (3.0%)
Asymmetrical sensory axonal	1 (3.0%)
Asymmetrical Sensory-motor axonal neuropathy	8 (24.2%)
Asymmetrical sensory-motor neuropathy with focal slowing of the CV	20 (60.6%)
Abnormal + 4cm distal protocol	32 (97.0%)
Isolated abnormal + 4cm distal protocol	3 (9.1%)
<i>Affected nerve</i>	
Sensory	
Median	24 (72.7%)
Ulnar	23 (69.7%)
Radial	15 (45.5%)
Superficial fibular	23 (69.7%)
Sural	18 (54.5%)
Motor	
Median	2 (6.1%)
Ulnar	15 (45.5%)
Fibular	14 (42.4%)
Posterior tibial	9 (27.3%)
Affected nerve in + 4cm distal protocol	
Median	15 (45.5%)
Ulnar	14 (42.4%)
Fibular	21 (63.6%)
Tibial	23 (69.7%)

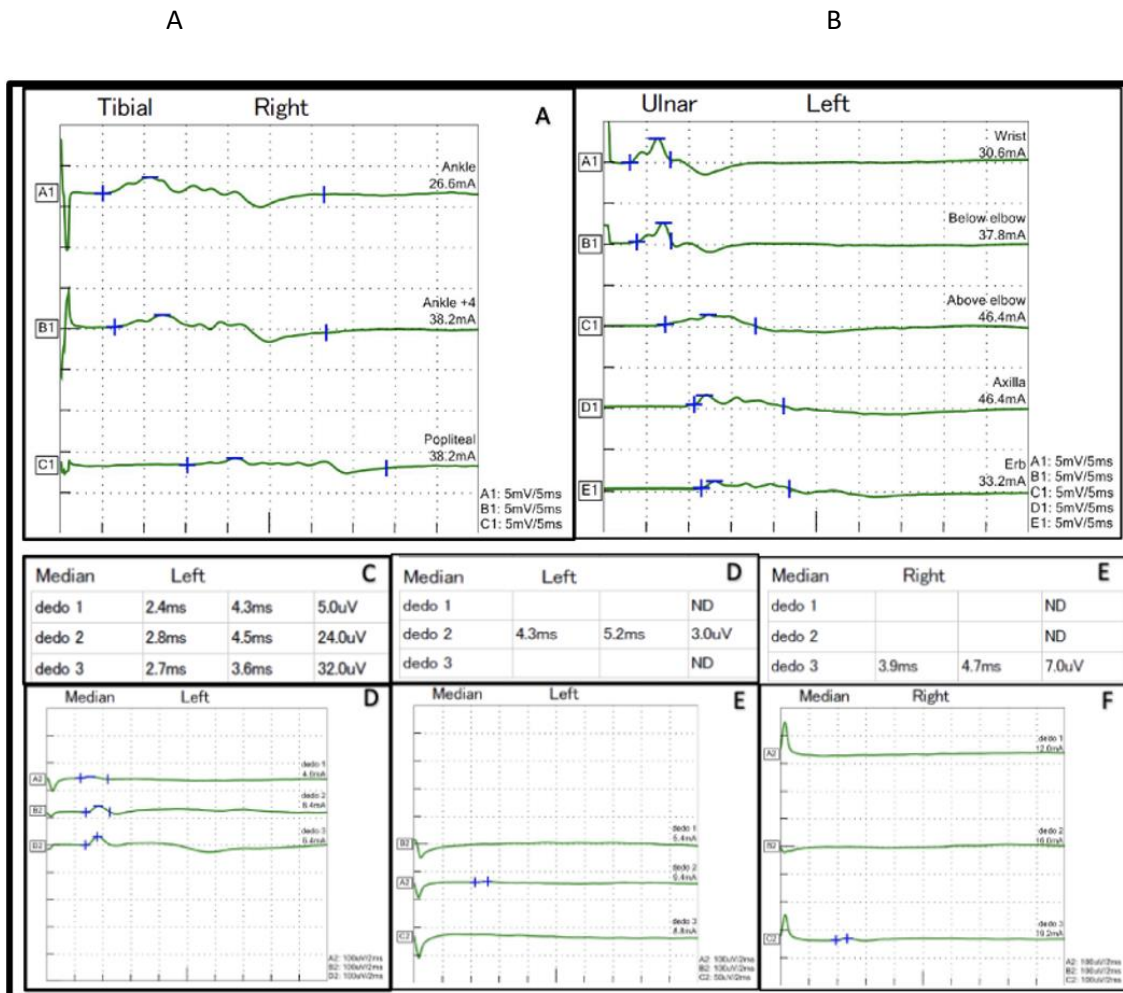


Figure 1. Abnormalities in nerve conduction studies: temporal dispersion (A and B) and asymmetric involvement of the digital branches of the median nerve (C, D and E)

The median sensory nerve was the most affected. Abnormalities were detected in 24 (72.7%) patients, followed by the ulnar and superficial peroneal nerves in 23 (69.7%) patients. Of 33 patients, 24 (72.7%) showed asymmetric involvement in the median nerve (Figure 1).

Although previously described as determinants of greater susceptibility to *M. leprae* infection, the variants c.527G>T at gene NCKIPSD and c. 1481G>A at gene CARD9- rs149308743 were not identified in our current Amazonian population with leprosy neuropathy studied.

DISCUSSION

We have analyzed in this study 33 patients with leprosy neuropathy. We observed a mild predominance of males (55%). This type of distribution seems to be a usual finding. According to the WHO Global Leprosy Strategy Bulletin 2021-2030, women represented only 38.9% of the new cases registered. At the INFIR cohort study, that analyzed individuals with leprosy neuropathy, only 29.7% were women. At the Brazilian level, in the period between 2011 to 2020, in all age groups, the detection rates for females was (45%), except for the 0-4 age group (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO HANSENÍASE, 2022).

The mean age of neuropathy onset was 41.6 (± 14.3) years, similar to other studies that evaluated the involvement of peripheral neuropathy in the context of leprosy with cutaneous manifestations or in the primary neural form, 32.8 years (12-60) and 42.9 (± 17.3), respectively (VAN BRAKEL, W.H. *et al.*, 2005).

In the present study, multibacillary forms (lepromatous and borderline leprosy) were predominant - 51.5%. These patients should be followed closely. According to the INFIR study the risk of a patient with multibacillary leprosy and clinical nerve impairment develop a new nerve damage is around 65%, paucibacillary patients have a 15% risk. Another independent risk factor for neuropathy is the presence of skin lesions over the nerve trunks (WILDER-SMITH, 2008).

Consistent with the global epidemiology, most cases presented a low degree (0 or 1) of functional disability (Epidemiological Bulletin, Global Leprosy Strategy), suggesting these patients had an early diagnosis, as has been demonstrated the existence of a directly proportional relationship between the greater degree of disability with a late diagnosis is (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al.*, 2022).

Low rates of positivity also characterized the bacilloscopy (24.2%) of this group of patients, in agreement to other studies (31.1%) (VAN BRAKEL, W.H. *et al.*, 2005). This seems to be even worse in patients with primary neural leprosy (<10%) (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al.*, 2022).

Interestingly, only 27.3% of our patients reported previous contact with leprosy patients. This seems to be a constant finding (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al.*, 2022) highlighting then fact that this information is not relevant for the diagnosis of leprosy in most patients. Only one patient had a co-infection of leprosy with HIV. Studies have shown no increase in cases of leprosy in the presence of HIV infection, as well as no significant difference in dermal or neurological lesions of leprosy (KHADILKAR, 2020).

Between 12% and 55% of new leprosy cases show clinical signs and symptoms of neuropathy at diagnosis (WILDER-SMITH, 2008). Leprosy neuropathy usually presents with negative sensory symptoms. Commonly, numbness, anhidrosis, painless wounds, anesthesia, and hypoesthesia are the sensory manifestation. Less commonly, positive sensory symptoms are present. In this case, paresthesias (pins and

needles) and pains (allodynia and dysesthesias) (KHADILKAR, 2020). This assertion is corroborated in the literature, mainly when referring to neuropathy in the context of primary neural leprosy, where there is a clear predominance of sensory deficit symptoms. Tomaselli *et al* (2022) described sensory abnormalities in 91.2% of patients as an initial manifestation. In decrescent ordering: 35.4% referred the presence of hypoesthesia with tingling-like paresthesia; 29.4% with hypoesthesia; 8.8% with tingling and pain-like paresthesia; while only 5.9% referred to pain (TOMASELLI, 2014). Motor manifestations usually appear later, and the exclusive involvement of purely motor nerves is highly uncommon (KHADILKAR, 2020; TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022).

Peripheral nerve thickening is a late manifestation of leprosy neuropathy. The prevalence, according to some authors nationwide, is 58.6% (HNP PLOS), 52% to 83.5% depending on the timing of diagnosis in leprosy neuropathy (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022), between 40 and 75% of affected individuals in endemic areas (FREITAS, 2003).

A leprosy study assessing voluntary strength observed that 11% of patients showed ulnar motor involvement. Therefore, it was denoted that the voluntary strength assessment identified few cases of new motor losses. However, the majority already presented alterations in the motor nerve conduction study more than six months before or at the time of diagnosis (VAN BRAKEL, W.H. *et al.*, 2005). In a Brazilian study that showed motor involvement as the first complaint at presentation in only 3.6% of cases, as well as the higher prevalence of motor symptoms expressed by muscle weakness or muscle atrophy, the later the diagnosis, denoting, therefore, longer duration of disease activity (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022). However, in the present study, a high prevalence of motor symptoms expressed by some degree of weakness or muscle atrophy was observed, probably justified by the high number of multibacillary cases, thus inferring a long time of disease evolution.

In primary and non-primary neural leprosy studies, the most common neurophysiologic pattern is an asymmetric sensory and motor neuropathy with reduced conduction velocity in non-compressive sites, especially in later diagnosis (TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022; MARAHATTA, 2017). However, in another study, the pattern of asymmetrical demyelinating sensory and motor neuropathy (SANTOS; MENDONÇA; ANTUNES *et al*, 2017) was more frequently observed. While in one of the initial national studies to evaluate leprosy neuropathy, the reduction in both sensory and motor potential amplitude was the most frequent finding, diverging from the reduction in conduction velocity as the most common abnormality (FARIA, 1990).

Electroneuromyography plays a role not only in diagnosis but also in monitoring the therapeutic response. Some authors describe that the neurophysiological findings are not specific to leprosy neuropathy (KHADILKAR, 2021). However, we assume that the findings of multiple mononeuropathies with sensory and motor involvement, with demyelinating characteristics: and focal slowing of conduction velocity in non-

compressive sites constitute patterns that are not only highly sensitive but also specific to leprosy neuropathy (FARIA, 1990; SANTOS; MENDONÇA; ANTUNES *et al*, 2017; TOMASELLI; SANTOS; SANTOS; ANTUNES; MARQUES; FOSS *et al*, 2022).

The present study demonstrated that 97% (32/33) of the patients presented some abnormality when using the +4 cm protocol. In addition, in three patients (9.1%), neurophysiological abnormalities were only found using this protocol, highlighting its importance.

Despite the evidence showing that the variants NCKIPSD - rs145562243 and CARD9- rs149308743 are potential determinants of greater susceptibility to *M. leprae* infection, in the present study we did not observe any positive association. However, this data should be carefully analyzed. This is a small population and we do not know about the distribution of these variants in the Amazonian population (ALTER, 2008; LIU, 2013; SALES MARQUES, 2013; WANG, 2015; ALVARADO-ARNEZ; 2015; AREESHI, 2017; LIU, 2017). Further and larger studies should be carried on to solve the important information about leprosy susceptibility and the susceptibility of leprosy patients to develop relevant neuropathy.

The diagnosis of leprosy neuropathy remains an obstacle in the early identification of the condition and, consequently, early treatment. There is a need to expand studies with the fulcrum of identifying markers of susceptibility to peripheral nerve involvement to *M. leprae*. However, this study has shown that leprosy neuropathy has a very suggestive and similar pattern in different populations. Recognizing this picture is of extreme importance to achieve an early diagnosis and early treatment.

References

1. ALTER, A.; ALCAÏS, A.; ABEL, L.; SCHURR, E. Leprosy as a genetic model for susceptibility to common infectious diseases, v. 123, **Human Genetics**, p. 227–35, 2008.
2. ALVARADO-ARNEZ, L.E.; AMARAL, E. P.; SALES-MARQUES, C.; DURÃES, S. M. B.; CARDOSO, C. C.; SARNO, E. N. *et al*. Association of IL10 polymorphisms and leprosy: A meta-analysis. **PLoS One**, v. 10, n.9, p. 1–13, 2015.
3. AREESHI, M.Y.; MANDAL, R.K.; DAR, S..A.; JAWED, A.; WAHID, M.; LOHANI, M. *et al*. Impact of TNF -308 G>A (rs1800629) gene polymorphism in modulation of leprosy risk: A reappraise meta-analysis of 14 case–control studies. **Biosci Rep.**, v.37, n.5, p. 1–15, 2017.
4. FARIA, Carlos R. de; SILVA, Ilma M. São Paulo. Electromyographic diagnosis of leprosy. **Arq Neuro-Psiquiat**, v. 48, n. 4, p. 403-413, 1999.
5. LIU, H.; BAO, F.; IRWANTO, A.; FU, X.; LU, N.; YU, G., *et al*. An association study of TOLL and CARD with leprosy susceptibility in Chinese population. **Hum Mol Genet**, v. 22, n.21, p. 4430–7, 2013.
6. LIU, H.; WANG, Z.; LI Y, Yu G, Fu X, Wang C, *et al*. Genome-Wide Analysis of Protein-Coding Variants in Leprosy. **J Invest Dermatol.**, v.137, n.12, p. 2544–51, 2017

7. LOCKWOOD, D. N. J. Leprosy. In: BURNS, D. A.; BREATHNACH, S. M.; COX, N.H. V. Griffiths CEM, editors. **Rook's textbook of dermatology**, v. 2, 7. ed., p. 29. Oxford: Blackwell Publishing; 2004.
8. KHADILKAR, S. V.; PATIL, S.B.; SHETTY, V.P. Neuropathies of leprosy. **J Neurol Sci** [Internet], n. 420, p. 117288, 2021. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.117288>.
9. MARAHATTA, Suchana; BHATTARAI, Sabina; PAUDEL, Bishnu Hari. Electrophysiological profiles of leprosy neuropathy. **Lepr Rev.**, n. 88, p. 373–380, 2017.
10. MINISTÉRIO da saúde. S de V em. M da S do B. **Boletim Epidemiológico**. 2022.
11. ORGANIZAÇÃO Mundial da Saúde (OMS). Estratégia Global de Hanseníase 2021-2030 - "Rumo à zero hanseníase." **World Heal Organ.**, n.1, p. 1–30, 2021.
12. SALES-Marques, C.; SALOMÃO, H.; MEDEIROS, Fava V.; ELENA, Alvarado-Arnez L.; PINHEIRO, Amaral E.; CHESTER, Cardoso C. *et al.* NOD2 and CCDC122-LACC1 genes are associated with leprosy susceptibility in Brazilians. **Hum Genet.**, n.133, p.1525–32, 2014.
13. SANTOS, D. F. dos; MENDONÇA, M. R.; ANTUNES, D. E.; SABINO, E.F.P.; PEREIRA, R. C.; GOULART, L.R. *et al.* Revisiting primary neural leprosy: Clinical, serological, molecular, and neurophysiological aspects. **PLoS Negl Trop Dis**. v.11, n.11, p.1–14, 2017.
14. TOMASELLI, P. J.; SANTOS, D. F. dos; SANTOS, A.C.J. dos; ANTUNES, D.E.; MARQUES, V.D.; FOSS, NT, *et al.* Primary neural leprosy: clinical, neurophysiological and pathological presentation and progression. **Brain**, v.145, n.4, p. 1499–506, 2022.
15. TOMASELLI, P. J. Hanseníase forma neural pura: aspectos clínicos e eletroneuromiográficos dos pacientes avaliados no serviço de doenças neuromusculares do HCRP da USP no período de março de 2001 a março de 2013. Tese [Doutorado]. Ribeirão Preto-SP:Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2014.
16. VAN, Brakel W.H. *et al.* The INFIR Cohort Study: investigating prediction, detection and pathogenesis of neuropathy and reactions in leprosy. Methods and baseline results of a cohort of multibacillary leprosy patients in north India. **Lepr Ver.**, n. 76. p. 14–34, 2005.
17. WALKER, S. L.; LOCKWOOD, D. N. J. **Leprosy**. **Clin Dermatol.**, v.25, n.2, p. 165–72, 2007.
18. WANG, D.; XU L, L.V. L.; SU, L.Y.; FAN. Y.; ZHANG, D.F. *et al.* Association of the LRRK2 genetic polymorphisms with leprosy in Han Chinese from Southwest China. **Genes Immun.**, v.16, n.2, p. 112–9, 2015.

19. WANG, D.; XU L, L.V. L.; SU, L.Y.; FAN. Y.; ZHANG, D.F. *et al.* Association of the LRRK2 genetic polymorphisms with leprosy in Han Chinese from Southwest China. **Genes Immun.**, v.16, n.2, p. 112–9, 2015.
20. WILDER-Smith, E.P.; VAN BRAKEL, W. H. Nerve damage in leprosy and its management. **Nat Clin Pract Neurol.**, v. 24, n.12, p. 656–63, 2008.