

## O uso da expressão de CD64 nos neutrófilos como marcador de severidade do eritema nodoso hansênico

The use of CD64 expression in neutrophils as a marker of leprosy erythema nodosum severity

El uso de la expresión de CD64 en los neutrófilos como marcador de severidad del eritema nodoso hansênico

Caroline Baima de Melo<sup>1</sup>, Elaine Ferreira do Nascimento<sup>2</sup>, Jéssica Pereira Santos<sup>3</sup>, Filipe Aníbal Carvalho Costa<sup>4</sup>, Dilbert Silva Velôso<sup>5</sup>, Euzenir Nunes Sarno<sup>6</sup>

### RESUMO

**Objetivos:** Revisar na literatura científica as atualizações sobre a escala de classificação do eritema nodoso hansênico, bem como sobre o uso de CD64 como marcador de gravidade dessa reação. **Métodos:** Revisão integrativa realizada na Biblioteca Virtual em Saúde e no Pubmed com os descritores eritema nodoso, hanseníase, CD4, neutrófilos e severidade, onde foram selecionados 23 estudos. **Resultados:** Uma escala de classificação do eritema nodoso hansênico já foi validada e contém 10 itens, sendo capaz de diferenciar os quadros leves dos moderados/graves e o CD64 nos neutrófilos se encontra elevado nos pacientes com eritema nodoso hansênico, estando possivelmente relacionado a severidade do quadro. **Conclusão:** A nova escala de severidade facilitará a avaliação dos pacientes, bem como a realização de novas pesquisas. A determinação da expressão de CD64 nos neutrófilos pode ser um novo método para mensurar o prognóstico desses pacientes, embora mais estudos ainda sejam necessários.

**Palavras-chave:** eritema nodoso; hanseníase; CD64; neutrófilos; severidade.

### ABSTRACT

**Objectives:** To provide updated information on the new classification scale of erythema nodosum leprosum, as well as on the use of CD64 as a marker of the severity of this reaction. **Methods:** An integrative review was performed in the Virtual Health Library and Pubmed with the descriptors erythema nodosum, leprosy, CD4, neutrophils and severity, where 23 studies were selected. **Results:** A classification scale of erythema nodosum leprosum was validated and contains 10 items, being able to differentiate mild to moderate / severe and CD64 expression in neutrophils is elevated in patients with erythema nodosum leprosum, possibly related to the severity of the disease. **Conclusion:** The new severity scale will facilitate patient evaluation as well as new research. Determination of CD64 expression on neutrophils may be a new method for measuring the prognosis of these patients, although more studies are still needed.

**Keywords:** Erythema nodosum; leprosy; CD64; neutrophils; severity.

<sup>1</sup> Médica Dermatologista, Mestranda em Medicina Tropical pela Fundação Oswaldo Cruz, Teresina-PI.

<sup>2</sup> Assistente Social, Doutora em Ciências; Pesquisadora da Fundação Oswaldo Cruz.

<sup>3</sup> Mestre em Medicina Tropical pela Fundação Oswaldo Cruz.

<sup>4</sup> Doutor em Medicina Tropical, Pesquisador da Fundação Oswaldo Cruz.

<sup>5</sup> Biomédico, Mestrando em Medicina Tropical pela Fundação Oswaldo Cruz.

<sup>6</sup> Médica Patologista, Pesquisadora da Fundação Oswaldo Cruz.

DOI: 10.25248/REAS100\_2017

Recebido em: 9/2017

Aceito em: 10/2017

Publicado em: 11/2017

## RESUMEN

**Objetivos:** Traer información actualizada sobre la nueva escala de clasificación del eritema nodoso hansénico, así como sobre el uso de CD64 como marcador de gravedad de esa reacción. **Métodos:** Revisión bibliográfica realizada en la Biblioteca Virtual en Salud y en el Pubmed con los descriptores eritema nodoso, lepra, CD4, neutrófilos y severidad, donde se seleccionaron 23 estudios. **Resultados:** Una escala de clasificación del eritema nodoso hansénico ya ha sido validada y contiene 10 ítems, siendo capaz de diferenciar los cuadros leves de los moderados / graves y el CD64 en los neutrófilos se encuentra elevado en los pacientes con eritema nodoso hansénico, estando posiblemente relacionado con la severidad del mismo, **Conclusión:** La nueva escala de severidad facilitará la evaluación de los pacientes, así como la realización de nuevas investigaciones. El CD64 en los neutrófilos puede ser un nuevo método para medir el pronóstico de estos pacientes, aunque se necesitan más estudios.

**Palabras clave:** Eritema nodoso; lepra; CD64; neutrófilos; severidad.

---

## INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença granulomatosa infecciosa que acomete a pele e nervos periféricos, causada pela bactéria *Mycobacterium leprae*. Manifesta-se com um espectro de apresentações clínicas e histopatológicas definidas de acordo com o perfil imunológico do paciente. O polo tuberculóide (TT) se caracteriza por imunidade celular eficiente, enquanto no polo virchowiano (VV) se encontram os pacientes com resposta imunológica predominantemente humoral. Muitos indivíduos apresentam características intermediárias entre os polos, sendo classificados como *borderline* tuberculóide (BT), *borderline borderline* (BB) e *borderline* virchowiano (BV).

Além desse espectro de apresentação, a doença pode causar reações imunológicas agudas chamadas reações hansênicas. O eritema nodoso hansênico (ENH), ou reação hansênica tipo 2, é uma complicação que pode acometer pacientes no polo virchowiano da doença. Clinicamente, se manifesta com nódulos eritematosos e dolorosos, além de febre, mal-estar e outros sinais e sintomas sistêmicos. Os pacientes geralmente são tratados com imunomoduladores, os quais também podem causar complicações. A compreensão da fisiopatogenia das reações hansênicas é fundamental para o desenvolvimento de novos tratamentos.

O eritema nodoso hansênico tem sido classificado, quanto à severidade, em leve, moderado ou grave, de maneira subjetiva, levando em conta suas manifestações dermatológicas e sistêmicas. No entanto, tendo em vista a importância dessa classificação para realização de pesquisas clínicas, manejo terapêutico dos pacientes e avaliação de prognóstico, é necessária uma escala padronizada e objetiva.

O CD64 é um receptor de alta afinidade para IgG1 e IgG3, expresso normalmente por fagócitos mononucleares e que se encontra em baixos níveis nos neutrófilos. Pelo estímulo de IFN- $\gamma$  e GM-CSF, a expressão desse marcador nos neutrófilos pode ser aumentada, o que ocorre em infecções bacterianas (CID et al., 2010). Em estudos prévios, já foi mostrado que IFN- $\gamma$  e GM-CSF estão elevados no sangue e nas lesões de pacientes com eritema nodoso hansênico (KAHAWITA e LOCKWOOD, 2008) (LEE et al., 2010) (MARTINIUK et al., 2012). Sendo assim, no eritema nodoso hansênico poderia ocorrer elevação dos níveis de CD64 nos neutrófilos.

Considerando o exposto acima, o objetivo desta revisão é trazer informações atualizadas sobre o eritema nodoso hansênico, sua classificação da severidade e a importância do CD64 nos neutrófilos de pacientes com esse quadro reacional.

## METODOLOGIA

Trata-se de um estudo bibliográfico, de caráter integrativo, realizado por meio de revisão da literatura científica. Foram selecionados estudos a partir da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), tendo como base de dados a Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e a Medline, bem como o PubMed, no período de 5 de julho de 2017, na busca pelos descritores “eritema nodoso”, “hanseníase”, “CD64”, “neutrófilos” e “severidade” (*erythema nodosum*, *leprosy*, *CD64*, *neutrophils* e *severity*) Para selecioná-los de acordo com a temática da pesquisa, utilizou-se dos seguintes critérios de inclusão: “texto completo” disponível; idiomas português, inglês ou espanhol; ano de publicação de 2007 a 2017; pesquisas em humanos e que abordassem assuntos principais como eritema nodoso hansênico, CD64 neutrofílico e escalas de severidade do eritema nodoso hansênico. Foram enquadrados 11 estudos para análise, pois efetivamente respondiam as perguntas do estudo Utilizamos ainda a base de dados online do Ministério da Saúde e da Organização Mundial de Saúde (WHO).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta revisão integrativa foram incluídos 23 artigos. Nas bases de dados foram encontrados 970 artigos, destes, 154 foram no PubMed, 109 na LILACS e 707 na MEDLINE. Excluiu-se 959 por não atenderem aos critérios propostos, conforme descrito acima.

O **Quadro 1** mostra um resumo sinóptico dos estudos selecionados para a amostra contendo a identificação do artigo, metodologia, objetivo, principais resultados e conclusão.

### ***Hanseníase e eritema nodoso hansênico***

A hanseníase é uma doença crônica infectocontagiosa causada pela bactéria *Mycobacterium leprae*, a qual é um bacilo álcool-ácido resistente, parasita intracelular obrigatório, com tropismo para pele e nervos periféricos. Em 2014, segundo a Organização Mundial de Saúde, foram 213.899 novos casos da doença (WHO, 2015). O Brasil ocupa o segundo lugar mundial em número de casos, e registrou 20.702 novos casos em 2015 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

A hanseníase apresenta alta contagiosidade, porém baixa patogenicidade. De acordo com a resposta imunológica do indivíduo, a doença apresenta um espectro de apresentações clínicas, baciloscópicas e histopatológicas, como demonstrado por Ridley e Jopling em 1966. Num polo da doença se encontram os pacientes com imunidade celular eficiente, os quais apresentam a forma tuberculóide (TT). No polo oposto se encontram aqueles que não tem resposta imune celular contra o bacilo, forma virchowiana (VV). Entre os dois polos, se encontram pacientes com resposta imunológica intermediária, que apresentam formas conhecidas como *borderline* tuberculóide (BT), *borderline borderline* (BB) e *borderline* virchowiana (BV). Existem ainda as reações agudas, responsáveis por importante morbidade e piora da condição clínica dos pacientes, chamadas reações hansênicas, que podem ser do tipo 1 (reação reversa) ou tipo 2 (eritema nodoso hansênico). A tipo 1 acomete pacientes com as formas do polo tuberculóide e a tipo 2 os pacientes do polo virchowiano da hanseníase. Walker et al (2015) realizaram estudo multicêntrico com 292 pacientes com ENH e mostraram que 76% tinham hanseníase virchowiana e 22,3% tinham hanseníase *borderline* virchowiana. Outro estudo realizado com 42 pacientes com eritema nodoso hansênico mostrou que 92,85% dos pacientes tinham a forma virchowiana e 7,15% tinham a forma *borderline* virchowiana (PUTINATTI et al.,2014). Balagon et al. (2011) demonstraram, num estudo de coorte com 296 pacientes, que o índice baciloscópico inicial alto aumentou significativamente a chance de desenvolver ENH.

Quadro 1 - Caracterização dos estudos da revisão integrativa

Autores/Ano	Periódico	Objetivo	Resultados	Conclusão
Walker SL et al; 2015	PLOS Negl Trop Dis	Descrever os achados clínicos de ENH, a severidade dos sintomas e o tratamento, para formular uma escala de severidade dessa reação	Pacientes com ENL crônico foram mais propensos a serem avaliados como tendo ENL grave. A dor, o sintoma mais freqüente, foi pior em indivíduos com ENL grave.	Descrição dos achados clínicos do eritema nodoso hansênico ajudarão na elaboração de escala de severidade.
CID J, AGUINACO R, SANCHEZ R, et al; 2010	Journal of Infectology	Avaliar a precisão diagnóstica da expressão de CD64 em neutrófilos polimorfonucleares (PMN) como marcador de infecção bacteriana.	Sensibilidade combinada e a especificidade para a expressão de CD64 em PMNs foram de 79% (IC 95%: 70-86%) e 91% (IC 95%: 85-95%), respectivamente.	A expressão de CD64 em PMNs pode ser um útil parâmetro de diagnóstico de células de infecções bacterianas.
Balagon M, Saunderson PR, Gelber RH; 2011	Lepr Rev.	Comparar a ocorrência, duração e severidade de enh em pacientes tratados com 12 ou 24 meses de PQT-MB	ENH não foi mais comum, mas foi mais severo e duradouro nos pacientes tratados por 12 meses. Um alto índice baciloscópico inicial aumentou significativamente o risco de desenvolver ENH severo.	Um índice baciloscópico inicial alto é um fator chave para ENH. Sugere que a diferença entre os grupos possa ser pela dose de Clofazimina recebida durante o tratamento, porém mais estudos são necessários para testar essa hipótese.
Kaur I, Dogra S, Narang T, De D; 2009	Australas J Dermatol	Comparar a eficácia e segurança da talidomida e prednisolona oral no tratamento do ENH moderado a severo	Talidomida induziu resposta clínica mais rápida tanto cutânea como sistêmica comparada a prednisolona.	Pacientes tomando talidomida tiveram menos recaídas e um período mais longo de remissão do que os que tomaram prednisolona.
Schmitz V, Prata RB, Barbosa MG et al; 2016	Plos Negl Trop Dis	Investigar a expressão de CD64 durante o ENH e se talidomida modula essa expressão.	Tratamento com talidomida reduziu a expressão de CD64 e os infiltrados de neutrófilos; os neutrófilos expressavam exclusivamente CD64 na superfície celular; A classificação do paciente com base em sintomas clínicos encontrou que ENL grave apresentou altos níveis de CD64 nos neutrófilos.	Os neutrófilos de pacientes com ENH expressam CD64 e provavelmente isso contribui na imunopatogênese da doença.
HAWKER, G.A. et al; 2011	Arthritis Care Research	Revisão de questionários aplicáveis para avaliar a dor de pacientes reumáticos	Descreve os detalhes de cada escala.	Cada escala tem suas peculiaridades e cabe ao médico escolher qual a mais adequada a sua prática diária.
KAHAWITA, I.P.; LOCKWOOD, D.N.J; 2008	Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.	Entender a etiopatogenia do eritema nodoso hansênico	O principal subtipo de célula T em ENL é a célula CD4. As citocinas TNF $\alpha$ e IL-6 são muito encontradas, enquanto a IL-4 é baixa ou ausente em lesões de ENL, indicando uma resposta de tipo T(H)1.	O ENL é uma reação de imunidade celular e humoral.
WALKER, SL. et al; 2014	PLOS Neglected Tropical Diseases.	Avaliar a mortalidade por ENH	8 pacientes com eritema nodoso leproso morreram em comparação com 2 diagnosticados com reação de tipo 1. Essa diferença é estatisticamente significativa.	Os resultados adversos observados são em grande parte atribuíveis à administração crônica de corticosteróides orais no tratamento da reação.
WALKER, SL, KNIGHT KL, PAI VK et al; 2016	Leprosy Review	Desenvolver uma escala de severidade para o ENH	Uma escala final de 16 itens - a escala de gravidade ENLIST ENL foi acordada pela reunião.	Desenvolvida uma nova medida de gravidade para ENL que será validada posteriormente.
WALKER SL, SALES AM, BUTLIN RC et al; 2017	PLOS Neglected Tropical Diseases	Validar escala de gravidade ENLIST ENL de 16 itens, recentemente criada	A escala de gravidade ENLIST ENL teve boa consistência interna e esta melhorou após a remoção de seis itens para dar um alfa de Cronbach de 0,77.	A Escala de Gravidade ENLIST ENL de 10 itens é a primeira medida válida, confiável e responsiva da gravidade de ENL.
WANG, X. et al; 2015	Critical Care	Avaliar a exatidão da expressão de CD64 nos neutrófilos para o diagnóstico de sepse em pacientes adultos criticamente doentes.	A sensibilidade e a especificidade agrupadas foram de 0,76 (IC 95% [IC], 0,73-0,78) e 0,85 (IC 95%, 0,82-0,87), respectivamente.	A expressão de nCD64 é um marcador útil para o diagnóstico precoce da sepse em pacientes criticamente doentes, mas os resultados não devem ser interpretados sozinhos.

Há anos o eritema nodos hansênico tem sido considerado uma exacerbação da imunidade humoral, sendo reação do tipo III de Gel e Coombs, isto é, causada pelo depósito de complemento e imunocomplexos nas áreas de infiltrado polimorfonuclear na derme dos pacientes, mas Kahawita e Lockwood (2008) publicaram uma revisão bibliográfica que indicou que a imunidade celular também participa da patogênese do eritema nodoso hansênico, com altos valores de TNF- $\alpha$ , IL-6 e GM-CSF, além de IL-4 ausente ou em baixa quantidade. Posteriormente, foi demonstrado o papel da IL-1 $\beta$  juntamente com o IFN- $\gamma$  no aumento da expressão de E-selectina nos neutrófilos, o que causa sua adesão ao endotélio nas lesões do ENH, bem como o envolvimento dos linfócitos T helper 17 (TH17) na patogênese do eritema nodoso hansênico (MARTINIUK, 2012). Sendo assim, concluímos que essa reação é causada por uma combinação de resposta celular e humoral.

Clinicamente, a reação hansênica do tipo 2 se manifesta principalmente por nódulos cutâneos eritematosos, dolorosos, mais palpáveis que visíveis. Podem ocorrer ainda lesões ulceradas, pustulosas, bolhosas, necróticas e eritema multiforme-*like*. Apesar de raro, já foram encontrados nódulos até na glândula (KOTHIWALA et al., 2015). Frequentemente há envolvimento extra cutâneo, cursando com febre, mal-estar, anorexia, perda de peso, neurite, edema, dactilite, artrite, hepatite, orquite, nefrite, linfadenite, rinite e inflamação ocular (WALKER et al., 2015). Em 2008, Rathinam et al. relataram o caso de um paciente com eritema nodoso grave, que teve uveíte e evoluiu com perfuração do globo ocular, sendo submetido a enucleação. Achados laboratoriais incluem leucocitose e aumento de velocidade de hemossedimentação e proteína C reativa, indicando intensa atividade inflamatória. A depender do quadro, é necessária internação hospitalar. Em casos graves, pode haver desfecho fatal, ou pela própria reação ou por complicações relacionadas ao tratamento.

Histologicamente, nas lesões agudas, ocorre intenso infiltrado perivascular neutrofílico na derme e subcutâneo, algumas vezes formando micro abscessos, com ou sem alterações típicas de vasculite, como necrose fibrinóide da parede dos vasos, edema e formação de trombos intravasculares (MASSONE et al., 2015). A medida que a lesão vai se tornando crônica, diminui o número de neutrófilos e aumenta o de linfócitos, plasmócitos e histiócitos.

A reação hansênica tipo 2 pode acontecer antes, durante ou após término da poliquimioterapia, que é realizada com Rifampicina, Clofazimina e Dapsona por 12 meses, nos casos multibacilares. O tratamento de primeira linha do eritema nodoso hansênico é a Talidomida, em doses de 100 a 400 mg/dia, por causar diminuição do TNF- $\alpha$ , embora o mecanismo exato de ação ainda não seja completamente compreendido. Mahajan et al. (2011), publicaram um caso de ENH necrótico grave após suspensão abrupta da Talidomida, concluindo que a droga tem efeito supressivo sobre o sistema imune e que sua descontinuação sem desmame poderia provocar um rebote semelhante ao que ocorre na síndrome de reconstituição imune do HIV. A Talidomida não é usada em vários países devido a sua teratogenicidade, além de seus efeitos colaterais, como neurotoxicidade, náuseas, sonolência e tromboembolismo. Os corticoides sistêmicos também são muito utilizados, principalmente nas mulheres em idade fértil, geralmente em doses altas, cerca de 40 – 60 mg/dia de Prednisolona, e por tempo prolongado, o que acarreta complicações relevantes, visto que causam imunodepressão. Um estudo realizado na Etiópia em 2014 avaliou 99 pacientes com ENH, dos quais 8 foram à óbito, mortalidade estatisticamente maior que a do grupo dos que tinham reação hansênica tipo 1; das oito mortes, quatro foram definitivamente e as outras quatro possivelmente relacionadas ao uso de corticosteroides (WALKER et al., 2014). Um estudo de coorte realizado com 60 pacientes comparou a eficácia da Talidomida com a da Prednisolona no tratamento de eritema nodoso hansênico moderado a grave e mostrou que os pacientes tomando Talidomida tiveram menos recaídas e um período mais longo de remissão (KAUR et al., 2009). Em 2016, Lambert et al. publicaram um ensaio clínico controlado, randomizado, duplo-cego, realizado na Etiópia com 33 pacientes para comparar a eficácia e segurança da Ciclosporina, um imunossupressor, com a Prednisolona no tratamento do eritema nodos hansênico; o grupo 1 recebeu Ciclosporina associada a Prednisolona e o grupo 2 recebeu apenas Prednisolona; o grupo 1

mostrou resultados promissores no controle do ENH agudo, mas não teve efeito significativo no controle do ENH crônico. Outras medicações que já foram usadas em alguns relatos de caso são Pentoxifilina (SALES, 2007), Azatioprina, Metotrexate, Hidroxicloroquina, Infliximabe e Zinco oral, mas não há evidências que apoiem seu uso de modo rotineiro.

Desse modo, concluímos que o eritema nodoso hansênico é importante causa de morbidade e mortalidade nos pacientes com hanseníase, logo, o conhecimento de suas vias de patogênese e o desenvolvimento de instrumentos de avaliação de severidade podem impactar positivamente na terapêutica dos pacientes.

### **Escala de severidade ENLIST**

O desenvolvimento de uma escala que avaliasse a severidade do Eritema Nodoso Hansênico é alvo de estudos há anos, tendo em vista sua importância para realização de ensaios clínicos, isto é, com uma escala validada, os pacientes com quadro semelhante podem ser alocados no mesmo grupo, facilitando a comparação de resultados. Uma medida da severidade do ENH também pode ser utilizada nos protocolos de tratamento, para indicar a necessidade de determinada terapia e também como ferramenta de prognóstico.

O Grupo Internacional de Estudo do Eritema Nodoso Hansênico (*Erythema Nodosum Leprosum International Study* – ENLIST Group) é composto por médicos e cientistas estudiosos da Hanseníase em Centros de Referência ao redor do mundo (Bangladesh, Brasil, Etiópia, Índia, Indonésia, Nepal, Filipinas e Reino Unido). O grupo foi fundado em uma reunião em Cebu em 2012 com os objetivos de melhorar a compreensão dos mecanismos que levam ao Eritema Nodoso Hansênico, reunir evidências para guiar o manejo clínico e facilitar o acesso a tratamentos eficazes. O primeiro projeto do grupo foi a coleta sistemática de dados sobre as características clínicas da ENH, publicado em 2015 por WALKER et al.

Com o objetivo de criar uma escala de gravidade adequada, o ENLIST Group se reuniu em abril de 2015 na Índia (WALKER et al., 2016). Participaram do encontro 16 pesquisadores de oito países diferentes. Nas quatro semanas antes da reunião, três escalas de severidade do eritema nodoso hansênico, “Reaction Severity Assessment” (FEUTH et al., 2008), “escala de Ramu modificada” (KAUR et al., 2009) e uma escala publicada por Haslett et al. em 2005, não validadas, foram aplicadas aos pacientes em centros de referência de hanseníase em cinco países endêmicos da doença (Brasil, Etiópia, Índia, Nepal e Filipinas). As escalas foram escolhidas porque resultaram em uma medida quantitativa e tinha recebido destaque em publicações científicas nos últimos dez anos. Cada paciente a quem as escalas foram aplicadas foi categorizado em ENH leve, moderado ou grave por outro assessor, um médico experiente, que os examinou. Nenhuma tentativa foi feita para padronizar as avaliações de severidade entre avaliadores. A natureza da ENH foi definida como aguda para um único episódio de duração inferior a 24 semanas, recorrente, se um paciente sofreu um segundo ou subsequente episódio de ENH ocorrendo 28 dias ou mais após a interrupção do tratamento para ENH e crônica, se a duração foi maior que 24 semanas. O avaliador que determinou a gravidade da ENL não estava ciente das notas que tinham sido obtidas através da aplicação das escalas. Na reunião, foram discutidos validade, conteúdo e facilidade de aplicação de cada escala. Quarenta e três pacientes foram examinados nessa fase do estudo. A partir daí, foi criada uma escala de gravidade do eritema nodoso hansênico, contendo 16 itens no total (tabela 1), incluindo avaliação de dor por escala visual analógica (HAWKER et al., 2011) e avaliação de bem-estar também por escala visual analógica. A versão preliminar da Escala de Gravidade do ENH foi então utilizada na clínica do Projeto de Hanseníase de Bombaim entre 18 de abril e 2 de julho de 2015, com o objetivo de assegurar que a escala poderia ser aplicada facilmente e esclarecer dúvidas antes de uma validação formal. Foram desenvolvidas pelo grupo notas explicativas para facilitar a aplicação da escala.

Para validar a escala, 447 pacientes foram avaliados em 7 centros especializados em hanseníase, localizados em Bangladesh, Índia, Brasil, Filipinas, Etiópia e Nepal (WALKER et al., 2017). Cada paciente era visto por um profissional de saúde treinado em usar a escala e por um hansenólogo, que, além de usar a escala, também classificava o eritema nodoso hansênico em inativo, leve, moderado ou grave de acordo com sua experiência profissional. Numa segunda visita, a escala era novamente aplicada e tanto o médico quanto o paciente classificavam subjetivamente a reação nas categorias “muito melhor”, “um pouco melhor”, “um pouco pior”, “muito pior” ou “inalterada”. Foi calculado o Cronbach alfa de cada item e da escala como um todo para avaliar sua consistência interna, que foi considerada boa, mas ficou ainda melhor com a exclusão de seis itens (ANEXO). O *cut off* entre ENH leve e moderado/grave foi 9, isto é, indivíduos que somam até 8 pontos tem ENH leve. A diferença mínima significativa para reavaliação foi de 5 pontos. A escala não foi capaz de diferenciar os quadros moderados dos graves. A escala ENLIST é a primeira escala validada e confiável para classificação da severidade e evolução do eritema nodoso hansênico e vai melhorar a capacidade de avaliar e comparar desfechos dessa reação.

### **Expressão de CD64 nos Neutrófilos**

Receptores de superfície celular para a porção Fc (FcR) das imunoglobulinas (Ig) são encontrados em muitas células que participam do sistema imune. Muitas informações podem ser obtidas a partir do tipo de receptor presente em neutrófilos e macrófagos, os quais mediam funções importantes como endocitose, fagocitose e citotoxicidade dependente de anticorpo. O CD64 (FcγRI) é um receptor de alta afinidade para as formas monoméricas IgG1 e IgG3 e normalmente se encontra em grande quantidade na superfície de monócitos, ao contrário do que ocorre nos neutrófilos, nos quais sua quantidade é pequena.

Várias pesquisas têm demonstrado aumento do CD64 nos neutrófilos em vigência de infecções bacterianas. Em 2008, Bandhari et al. realizaram um estudo prospectivo com 163 neonatos portadores de sepse e mostraram que o índice CD64 nos neutrófilos em combinação com a contagem absoluta de neutrófilos teve o valor preditivo negativo mais alto (93%) para descartar sepse e 95% de sensibilidade para o diagnóstico de sepse. Num estudo mais recente, 47 neonatos e crianças internadas em Unidade de Terapia Intensiva tiveram amostras de sangue coletadas para correlacionar a expressão de HLA-DR nos monócitos e expressão de CD64 nos neutrófilos como marcador de infecção e o resultado foi que no momento da suspeita de infecção, os lactentes com infecção demonstraram menor percentagem de monócitos HLA-DR+ , maior porcentagem de neutrófilos CD64+ e níveis mais altos de expressão de CD64 de neutrófilos, todos com significância estatística (JUSKEWITCH et al., 2015). Corroborando esses achados, uma metanálise que avaliou 8 estudos concluiu que a expressão de CD64 nos neutrófilos é um marcador útil para o diagnóstico precoce de sepse em pacientes adultos criticamente doentes, mas não é suficiente para distinguir corretamente todos os pacientes com sepse de pacientes críticos, devendo ser interpretado em combinação com histórico médico, exame físico e outros resultados de testes (WANG et al., 2015). Ressaltamos, no entanto, que foi um estudo com várias limitações, pois foram utilizadas apenas 8 pesquisas, havia muita diferença metodológica entre elas, os critérios para diagnosticar infecção eram diferentes, além do viés de que geralmente as pesquisas com resultado positivo são mais publicadas.

Como mostrado acima, no Eritema Nodoso Hansênico ocorre liberação de IFN- $\gamma$  e GM-CSF, os quais são estimuladores do aumento da expressão de CD64 na superfície dos neutrófilos. O CD64, por sua vez, estimula a liberação de citocinas que estão envolvidas na patogênese do eritema nodoso hansênico. Schmitz et al publicaram, em 2016, um estudo caso-controle realizado com 16 voluntários saudáveis e 62 pacientes com hanseníase, que utilizou citometria de fluxo e RT-PCR para detectar os níveis de CD64 nos neutrófilos desses pacientes; houve aumento de CD64 nos neutrófilos de pacientes com eritema nodoso hansênico, inclusive com índices mais elevados nos pacientes com eritema nodoso grave, bem como sua diminuição após 7 dias de tratamento com Talidomida. Esses dados precisam ser confirmados através de estudos com maior número de participantes, bem como com a utilização da nova escala de severidade do eritema nodoso hansênico.

## CONCLUSÃO

O eritema nodoso hansênico é a principal reação hansênica e pode acarretar quadros graves envolvendo a pele e outros órgãos. Seu tratamento de primeira linha é Talidomida, mas essa medicação tem o uso restrito principalmente por sua teratogenicidade. Ensaios clínicos para otimizar o manejo do eritema nodoso hansênico são fundamentais, mas a subjetividade da classificação clínica dificulta a realização de ensaios clínicos. A escala de severidade ENLIST é capaz de diferenciar os casos leves dos moderados/graves, é de fácil aplicação e a primeira escala validada. Seu uso diminuirá os vieses de avaliação, aumentando a qualidade da evidência alcançada. O CD64 é um receptor de IgG expresso normalmente nos monócitos, mas que está aumentado nos neutrófilos em situações de inflamação ou infecção, como acontece no eritema nodoso hansênico e já foi mostrada sua capacidade como marcador de gravidade dessa reação num estudo com pequeno número de participantes, portanto mais estudos precisam ser realizados afim de confirmar essa hipótese.

## REFERÊNCIAS

- BALAGON M, SAUNDERSON PR, GELBER RH. Does Clofazimina prevent erythema nodosum leprosum (ENL) in leprosy? A retrospective study, comparing the experience of multibacillary patients receiving either 12 or 24 months of WHO-MDT. *Leprosy Review*. 2011 Sep; 82(3): 213-21.
- BHANDARI V, WANG C, RINDER C et al. Hematologic profile of sepsis in neonates: neutrophil CD64 as a diagnostic marker. *Pediatrics*. 2008; 121:129-34.
- CID J, AGUINACO R, SANCHEZ R, et al. Neutrophil CD64 expression as marker of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Infectology*. 2010; 60:313-9.
- FEUTHM. BRANDSMA JW, FABER WR et al. Erythema nodosum leprosum in Nepal: a retrospective study of clinical features and response to treatment with prednisolone or thalidomide. *Leprosy Review*. 2008;79(3):254-69.
- HAWKER, G.A, MIAN S, KENDZERSKA T et al. Measures of adult pain: Visual Analog Scale for Pain (VAS Pain), Numeric Rating Scale for Pain (NRS Pain), McGill Pain Questionnaire (MPQ), Short-Form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ), Chronic Pain Grade Scale (CPGS), Short Form-36 Bodily Pain Scale (SF-36 BPS), and Measure of Intermittent and Constant Osteoarthritis Pain (ICOAP). *Arthritis Care Research* (Hoboken). 2011;63 Suppl 11:S240-52.
- JUSKEWITCH J.E, ABRAHAM RS, LEAGUE SC et al. Monocyte HLA-DR expression and neutrophil CD64 expression as biomarkers of infection in critically ill neonates and infants. *Pediatric Research*. 2015 Dec; 78(6): 683-690.
- KAHAWITA IPLOCKWOOD D.N.J. Towards understanding the pathology of erythema nodosum leprosum. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2008 Apr;102(4):329-37.
- KAUR I, DOGRA S, NARAG T et al. Comparative efficacy of thalidomide and prednisolone in the treatment of moderate to severe erythema nodosum leprosum: a randomized study. *Australasian Journal of Dermatology*. 2009 Aug; 50(3): 181-5.
- KOTHIWALA SK, KHANDPUR S, SINGH MK et al. Erythema nodosum leprosum of glans penis: unusual manifestation of common disease. *International Journal of Dermatology*. 2015 Sep; 54(9): 1060-3.
- LAMBERT SM, NIGUSSE SD, ALEMBO DT et al. Comparison of efficacy and safety of Ciclosporin to Prednisolone in the treatment of erythema nodosum leprosum: two randomised, double blind, controlled pilot studies in Ethiopia. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2016 Feb 26; 10(2):e0004149.
- LEE DJ, LI H, OCHOA MT et al. Integrated pathways for neutrophil recruitment and inflammation in leprosy. *The Journal of Infectious Disease*. 2010 Feb 15;201(4):558-69.
- MAHAJAN VK, CHAUHAN PS, SHARMA NL et al. Severe vasculonecrotic erythema nodosum leprosum following thalidomide withdrawal without tapering doses: do we have something unusual? *Braslian Journal of Infectious Disease*. 2011; 15(1): 90-91.
- MARTINIUK F, GIOVINAZZO J, TAN AU et al. Lessons of leprosy: the emergence of TH17 cytokines during type II reactions (ENL) is teaching us about T-cell plasticity. *Journal of drugs in Dermatology*. 2012 May;11(5):626-30.
- MASSONE C, BELACHEW WA, SCETTINI A. Histopathology of the lepromatous skin biopsy. *Clinical Dermatology*. 2015 Jan-Feb; 33(1): 38-45
- PUTINATTI MS, LASTÓRIA JC, PADOVANI CR. Prevention of repeated episodes of type 2 reaction of leprosy with the use of thalidomide 100 mg/day. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2014 Mar-Apr; 89(2):266-72.
- RATHINAM SR, KHAZAEI HM, JOB CK. Histopathological study of ocular erythema nodosum leprosum and post-therapeutic scleral perforation: a case report. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2008; 56(5): 417-19.
- Registered prevalence of leprosy and number of new cases detected in 102 countries or territories, by WHO Region, 2014. Disponível em :<<http://www.who.int/wer/2015/wer9036.pdf?ua=1>>.
- Registro ativo: número e percentual, Casos novos de hanseníase: número, coeficiente e percentual, faixa etária, classificação operacional, sexo, grau de incapacidade, contatos examinados, por estados e regiões, Brasil., 2015. Disponível em :<<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/julho/07/tabela-geral-2015.pdf>>.
- SALES AM, MATOS HJ, NERY JA et al. Double-blind trial of the efficacy of pentoxifylline vs thalidomide for the treatment of type II reaction in leprosy. *Brazilian Journal of Medical Biological Research*. 2007; 40:243-8.
- SCHMITZ V, PRATA RBS, BARBOSA MGM et al. (2016) Expression of CD64 on Circulating Neutrophils Favoring Systemic Inflammatory Status in Erythema Nodosum Leprosum. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 10(8): e0004955.
- WALKER SL, BALAGON M, DARLONG J et al. ENLIST 1: An International Multi-centre Cross-sectional Study of the Clinical Features of Erythema Nodosum Leprosum. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2015; 9(9): e0004065. doi:10.1371/journal.pntd.0004065.
- WALKERSL, LEBAS E, DONI SN et al. The Mortality Associated with Erythema Nodosum Leprosum in Ethiopia: A Retrospective Hospital-Based Study. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2014; 8(3): e2690.
- WALKERSL, KNIGHT KL, PAI VK et al. The Development of a Severity Scale for Erythema Nodosum Leprosum – the ENLIST ENL Severity Scale. *Leprosy Review*. 2016; 87: 332-346.
- WALKER SL, SALES AM, BUTLIN RC et al. A leprosy clinical severity scale for erythema nodosum leprosum: An international, multicentre validation study of the ENLIST ENL Severity Scale. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2017 Jul 3;11(7):e0005716.
- WANGX, LI ZY, ZENG Let al. Neutrophil CD64 expression as a diagnostic marker for sepsis in adult patients: a meta-analysis. *Critical Care*. 2015; 19(1): 245.