

Valor da biópsia de nervo no diagnóstico da hanseníase - auxílio à clínica nos casos de forma neural pura e reativação

Prof. Dra. Leila Chimelli

Professora Associada do

Departamento de Patologia

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto -

USP

Estrutura normal do nervo periférico

O nervo periférico é composto do endoneuro, perineuro e epineuro.

O **endoneuro** contém as fibras nervosas, compostas de um ou mais axônios, e uma cadeia longitudinal de células de Schwann que formam a bainha de mielina, presente ao redor de alguns axônios (fibras mielínicas). Outros são amielínicos. O espaço entre as fibras nervosas é preenchido por fibras colágenas orientadas longitudinalmente e um material amorfo de matriz extracelular. Este compartimento também contém capilares, fibroblastos, mastócitos, e os corpos de Renaut, que são estruturas alongadas de localização sub-perineural, constituídas de fibrilas colágenas.

Todo o conjunto de fibras nervosas e tecido conjuntivo endoneural é envolto e isolado do circunjacente por uma bainha de múltiplas camadas de células achatadas alternadas com fibras colágenas, que é o **perineuro**, delimitando um fascículo neural. Há junções firmes entre as células do perineuro, constituindo uma barreira que protege o endoneuro do ambiente externo.

O **epineuro** é a camada mais externa do nervo. Consiste de um tecido conjuntivo que envolve todos os fascículos, exercendo uma função de sustentação e proteção das fibras nervosas dos traumas externos.

A vascularização do nervo é feita por vasos regionais que se ramificam no epineuro, penetram o perineuro e se dividem para formar o plexo endoneural. Há junções firmes entre as células endoteliais dos capilares, fornecendo uma segunda e efetiva barreira de proteção ao compartimento endoneural.

As fibras nervosas podem ser mielínicas e amielínicas. A mielina dispõe-se em múltiplas camadas em espiral ao redor do axônio, é

composta de um material proteofosfolipídico, sendo produzida apenas pelas células de Schwann que englobam um único axônio. As fibras amielínicas tem sempre menor diâmetro que as mielínicas e estão contidas em grupos de 8 a 15 dentro da célula de Schwann, chamada nesta situação, de célula de Remak. O axônio é contínuo enquanto que a bainha de mielina é segmentada e as suas interrupções formam os nodos de Ranvier. O segmento da fibra situado entre dois nodos de Ranvier é chamado de internódio. As fibras mielínicas são de grande ou pequeno diâmetro, e quanto maior o diâmetro do axônio, maior a espessura da mielina.

O aspecto normal do nervo periférico

está sumarizado a seguir:

- Epineuro
- Perineuro
- Endoneuro
 - Fibras nervosas - Mielínicas de grande calibre e de pequeno calibre -
 - Amielínicas
 - Células de Schwann
 - Fibroblastos
 - Vasos sanguíneos
 - Mastócitos

Metodologia para a análise do nervo periférico

A biópsia de nervo

O ramo nervoso distal do membro inferior mais biopsiado é o nervo sural, facilmente localizado através de uma incisão longitudinal entre o tendão de Aquiles e o maléolo externo. Excepcionalmente, em casos de neuropatia restrita aos membros superiores, um ramo superficial do nervo radial (no antebraço) ou o ramo dorsal sensitivo do nervo ulnar (no dorso da mão) podem ser biopsiados, o último principalmente na hanseníase. O espécime deve ter pelo menos 2 a 3 cm de comprimento para fornecer tecido suficiente para uma variedade de técnicas histológicas.

A preparação do espécime para avaliação morfológica

Uma parte do nervo deve ser fixada em formol e a outra em glutaraldeído, sendo processado para inclusão em parafina e em resina respectivamente. A inclusão em parafina é importante para o estudo dos fenômenos intersticiais (vasculite, inflamação, amiloidose). As colorações mais usadas são a hematoxilina e eosina, o tricrômico de Gomori, o vermelho-Congo, e, no nosso meio, a coloração para bacilos álcool-ácido-resistentes (método de Faraco), pela frequência de neuropatia por hanseníase. Para a análise das fibras nervosas devem ser realizados cortes semifinos (0.5 a 1 µm de espessura) de material incluído em resina. A coloração habitualmente usada é o azul de toluidina. A inclusão em resina permite também a realização de cortes ultrafinos para estudo ultra-estrutural, quando indicado.

As vezes, além do exame histológico convencional, é necessário lançar mão de métodos complementares para a análise morfológica e quantificação das lesões: 1) a dissociação de fibras isoladas é feita sob lupa com a ajuda de agulhas ou pinças finas. Permite a detecção de desmielinização segmentar e de degeneração Walleriana; 2) a análise morfométrica das fibras nervosas mielínicas e amielínicas em cortes transversais do nervo, realizada em fotografias ou diretamente no analisador de imagens, permite contar ou medir o diâmetro das fibras mielínicas e amielínicas e quantificar perda global das fibras para demonstrar eventual seletividade desta perda; 3) o exame ao microscópio eletrônico de cortes ultrafinos permite, sobretudo, análise satisfatória das fibras amielínicas, do conteúdo axonal, da estrutura da bainha de mielina e das células de Schwann, além da identificação de inclusões citoplasmáticas anormais.

A metodologia para análise do nervo

está resumida a seguir:

- Fixação em formal para inclusão em parafina
 - Colorações de rotina -
 - H&E Tricrômico de Gomori
 - Faraco
 - Vermelho Congo
- Fixação em glutaraldeído a 2.5% para

- inclusão em resina e para dissociação de fibras
 - Cortes semifinos - coloração - Azul de Toluidina
 - Cortes ultrafinos - microscopia eletrônica

A neuropatia na Hanseníase

A *forma lepromatosa (virchowiana)* leva geralmente a uma polineuropatia simétrica com perda sensitiva inicialmente de temperatura e dor. Infiltrados de histiócitos são acompanhados de poucos linfócitos. Muitos bacilos podem ser demonstrados no citoplasma de células de Schwann, especialmente nas adjacentes aos axônios amielínicos e também em macrófagos, células perineurais e endoteliais. Há desmielinização e perda axonal, predominante das fibras mielínicas pequenas e amielínicas, além de densa fibrose endoneural e perineural, e espessamento das paredes capilares.

Na *forma tuberculóide* há mononeuropatia ou mononeuropatia múltipla, granulomas com células epitelióides e células gigantes, células inflamatórias mononucleadas e ocasionalmente necrose caseosa. Os nervos estão parcial ou totalmente destruídos e substituídos por tecido fibroso.

Hanseníase dimorfa ou borderline é caracterizada clínica e patologicamente por uma associação variável dos aspectos encontrados em ambas as formas acima. Esta, e a forma tuberculóide, são responsáveis pela hanseníase neural pura. Nas formas acima há espessamento da membrana basal capilar e abertura das junções endoteliais, modificando a permeabilidade capilar e agravando o dano neural.

Na *forma indeterminada* há mínimo infiltrado inflamatório nos nervos cutâneos e o número de bacilos é pequeno.

No *eritema nodoso* da lepra, lesões arteríticas com envolvimento dos vasos epineurais, podem aumentar o dano neural.

O nervo é lesado não só pela presença do bacilo. A pressão endoneural aumentada, pelo edema e inflamação (principalmente nos surtos reacionais), as lesões vasculares, e a reação granulomatosa com necrose, podem lesar seriamente os nervos.

A biópsia de nervo, geralmente obtida dos nervos sural, radial superficial, ou ramo dorsal do cubital, é um meio importante de diagnosticar hanseníase nas formas neurais

puras, nos casos em que as lesões cutâneas não estão claramente definidas (clínica ou histologicamente), e com o objetivo de avaliar a efetividade do tratamento, já que há casos de regressão da lesão cutânea com persistência das manifestações neurológicas, inclusive com a presença de bacilos viáveis no nervo.

Uma **análise de 53 biópsias de nervos de pacientes com hanseníase** examinados no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense (Uff), de 1986 a 1992, mostrou os seguintes resultados:

Apresentação Clínica da Neuropatia (53 casos)

- Mononeuropatia (MN) 20 (6 c/PN)
- Mononeuropatia múltipla (MM) 20 (2 c/PN)
- Polineuropatia (PN) 21 (6 c/MN e 2 c/MM)

Achados morfológicos (53 casos)

- Inflamação - 40 (75%)
7 com reação granulomatosa
- Fibrose - 35 (66%)
- Neoformação vascular endoneural 7 (13%)
- Neuropatia predominantemente axonal - 44 (83%)
- Neuropatia predominantemente desmielinizante - 9 (17%)

- Os bacilos estavam presentes em células de Schwann, endoteliais, perineurais, e em macrófagos, tendo sido observados em cortes de material incluído em parafina, corados pelo método de Faraco, e em cortes semifinos corados pelo azul de Toluidina. Em alguns casos, submetidos a tratamento prévio, os bacilos não eram visíveis com a coloração de Faraco, mas eram observados em cortes semifinos e confirmados no exame ao microscópio eletrônico.

- As lesões vasculares foram freqüentes, notando-se neoformação vascular, espessamento da membrana basal, abertura das

junções endoteliais, vasculite, tumefação das células endoteliais, inclusive a ocorrência de infarto neural focal. Em todos esses casos o nervo estava intensamente lesado.

Para avaliar o **valor da biópsia do nervo** os casos foram assim classificados:

- Grupo I - O diagnóstico de hanseníase foi feito com a biópsia de nervo.
- Grupo II - O nervo apenas confirmou um diagnóstico prévio de hanseníase baseado na biópsia de pele.
- Grupo III - A biópsia de nervo serviu para avaliar a efetividade do tratamento.
- Grupo IV - O diagnóstico não pode ser confirmado porque não havia bacilos, embora a inflamação e fibrose fossem muito sugestivas de hanseníase.
- Grupo V - A biópsia do nervo sural mostrou alterações inespecíficas porque a neuropatia era nos membros superiores.

Os resultados estão demonstrados a seguir **(53 casos):**

- Grupo I - 15 casos (28%)
- Grupo II - 20 casos (37%) (12 sem e 8 com bacilos)
- Grupo III - 9 casos (17%)
- Grupo IV - 6 casos (11%)
- Grupo V - 4 casos (7.5%)

Esta avaliação permitiu as seguintes **conclusões:**

- As biópsias de nervo são indicadas:
 - para o diagnóstico de hanseníase sem lesões cutâneas clinicamente visíveis. —
 - Para avaliar a efetividade do tratamento
- Nesses casos a ultraestrutura pode ser útil
- Lesões vasculares podem ter um papel importante na progressão do dano neural, incluindo a ocorrência de infartos neurais

Referências Bibliográficas

1. CHIMELLI L. Neuropatias periféricas: aspectos morfológicos e importância da correlação clínico-patológica. *Medicina*, 26: 5-19, 1993.
2. CHIMELLI L., FREITAS M., NASCIMENTO O. Value of nerve biopsy in the diagnosis and follow-up of leprosy: the role of vascular lesions and usefulness of nerve studies in the detection of persistent bacilli. *Journal of Neurology* 244: 318-323, 1997.
3. DYCK P.J., GIANNINI C., LAIS A. Pathological alterations of nerves. In: Dyck P.J., Thomas P.K., Griffin J.W., Low P.A., Poduslo J.F. (eds). *Peripheral Neuropathy* 3rd. ed., Philadelphia, WB Saunders, pp. 514 - 595, 1993.
4. MIDRONI G., BILBAO J.M. In: Biopsy diagnosis of peripheral neuropathy. Butterworth-Heinemann, Boston, 1995.
5. RICHARDSON JR. E.P., DE GIROLAMI U. Pathology of the Peripheral Nerve. In: Li Volsi V (ed.) *Major Problems in Pathology* Vol.32. WB Saunders, Philadelphia, 1995.
6. THOMAS, P.K., LANDON, D.N., KING R.H.M. Diseases of the peripheral nerves. In: Graham DI & Lantos P. (eds). *Greenfield's Neuropathology*, 6th. ed., London, Edward Arnold, Volume II, p. 367-487, 1997.