



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

JULIANNE DE SANTANA CAVALCANTE

**ANÁLISE DE MECANISMOS DE ESCAPE
INTRACELULARES DO *Mycobacterium leprae* EM
PACIENTES COM HANSENÍASE NO ESTADO DE
PERNAMBUCO**

Recife
2025

JULIANNE DE SANTANA CAVALCANTE

**ANÁLISE DE MECANISMOS DE ESCAPE
INTRACELULARES DO *Mycobacterium leprae* EM
PACIENTES COM HANSENÍASE NO ESTADO DE
PERNAMBUCO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Dr. Fabrício Oliveira Souto

Coorientadora: Dra. Patrícia d'Emery
Alves Santos

Recife
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Cavalcante, Julianne de Santana.

Análise de mecanismos de escape intracelulares do *Mycobacterium leprae*
em pacientes com hanseníase no estado de Pernambuco / Julianne de Santana
Cavalcante. - Recife, 2025.

72 : il., tab.

Orientador(a): Fabrício Oliveira Souto

Coorientador(a): Patrícia d Emery Alves Santos

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2025.

Inclui referências, anexos.

1. Hanseníase. 2. Autofagia. 3. Neutrófilos. 4. Quimiocinas. 5.
Mycobacterium leprae. I. Souto, Fabrício Oliveira. (Orientação). II. Santos,
Patrícia d Emery Alves. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

JULIANNE DE SANTANA CAVALCANTE

**ANÁLISE DE MECANISMOS DE ESCAPE INTRACELULARES DO
Mycobacterium leprae EM PACIENTES COM HANSENÍASE NO
ESTADO DE PERNAMBUCO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Aprovada em: 27/03/2025

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **FABRICIO OLIVEIRA SOUTO**
Data: 04/08/2025 16:21:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Oliveira Souto
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Documento assinado digitalmente
 **WERBSON LIMA GUARANA**
Data: 02/08/2025 08:30:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Werbson Lima Guaraná
Hospital Albert Einstein

Documento assinado digitalmente
 **CASSIA GISELLE DE OLIVEIRA NOBREGA**
Data: 30/07/2025 17:09:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dra. Cassia Giselle de Oliveira Nóbrega
Instituto Keizo Asami - UFPE

Dedico este trabalho a todos que acreditaram em mim e me apoiaram nos momentos mais desafiadores. Aos meus pais, pelo suporte inabalável, e aos amigos que estiveram ao meu lado nessa caminhada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, expresso minha sincera gratidão aos meus orientadores, Professor Fabrício e Professora Patrícia, pela orientação contínua, confiança depositada em meu trabalho e apoio ao longo de toda a minha trajetória acadêmica. Agradeço profundamente por sempre estarem presentes, oferecendo apoio e me incentivando a desenvolver mais confiança, perseverança e amadurecimento, tanto no âmbito pessoal quanto profissional. O acolhimento que recebi de ambos, bem como as oportunidades oferecidas para explorar novas áreas de conhecimento, como a Imunologia e a Hanseníase, foram fundamentais para o meu crescimento como pesquisadora.

Agradeço ao iLIKA pela infraestrutura essencial para a realização deste trabalho, e aos médicos do Hospital das Clínicas da UFPE, do Centro de Referência em Hanseníase e Tuberculose Prof. Nilda Buarque, no Cabo de Santo Agostinho e da Unidade Sentinela de Referência para Resistência à Multidrogaterapia em Hanseníase, em Caruaru, pela colaboração fundamental ao longo de toda a pesquisa. Agradeço também aos pacientes, que generosamente contribuíram para o andamento deste estudo.

Sou igualmente grata ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica, que permitiu minha dedicação integral ao projeto, contribuindo para o desenvolvimento das minhas habilidades e conhecimentos acadêmicos.

Agradeço imensamente à minha família, especialmente aos meus pais, pelo apoio incondicional, carinho e dedicação que foram fundamentais para que eu chegasse até aqui. Letícia, com sua luz e força diante dos desafios, me inspira todos os dias e foi através dela que meu olhar se voltou para a área da saúde. Com ela, aprendo sobre resiliência, amor e persistência a cada dia. Sou igualmente grata aos meus amigos Ana Eliza, Patrick, Francisco e Kamile por compartilharem comigo essa jornada acadêmica, permitindo-me crescer e aprender com cada um deles. Agradeço também a Seithi, pelo amor e apoio emocional, especialmente neste último ano, quando sua presença constante me deu forças para seguir em frente. E, por fim, a Camila, por me ajudar a lidar com os desafios emocionais que surgiram ao longo dessa jornada.

Não poderia deixar de agradecer aos meus amigos que, embora não façam parte diretamente da graduação, sempre estiveram torcendo por mim à distância. Obrigada!

“As grandes coisas não são feitas por impulso,
mas por uma soma de pequenas coisas
reunidas.” (*Vincent van Gogh*)

CAVALCANTE, Julianne de Santana. **Análise de Mecanismos de Escape Intracelulares do *Mycobacterium leprae* em Pacientes com Hanseníase no Estado de Pernambuco**. 2025. 72 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

RESUMO

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae* ou *Mycobacterium lepromatosis*, que afeta a pele e os nervos periféricos. Seu espectro clínico e imunopatológico depende da resposta imune do hospedeiro e da capacidade de evasão do parasita. Nesse contexto, este estudo investigou mecanismos de escape intracelulares do *M. leprae*, com ênfase na modulação da autofagia e da resposta inflamatória em pacientes infectados. Os participantes foram recrutados em consultas dermatológicas nos centros de referência para hanseníase localizados nos municípios de Recife, Cabo de Santo Agostinho e Caruaru no estado de Pernambuco. Foram incluídos 14 participantes: 6 com reação tipo 1 (RT1), 4 com reação tipo 2 (RT2) e 4 controles negativos, todos testados previamente para hanseníase e tuberculose com PPD e IGRA. As faixas etárias foram de 25–44 anos no grupo controle, 46–73 anos em RT1 e 44–51 anos em RT2. A coleta foi realizada utilizando dois tubos por paciente: um com anticoagulante EDTA e outro com ativador de coágulo. A extração de RNA foi realizada a partir do sangue total coletado em EDTA, que posteriormente foi convertido em cDNA e submetido à qPCR para quantificação da expressão dos genes *NLRP3* (formação do inflamassomo), *LC3B* (autofagia e processo de NETose), *IL1B* (inflamação), *S100A8* e *S100A9* (proteínas de alarme e recrutamento celular), *ARG1* (regulação da resposta imune) e *REG3G* (defesa antimicrobiana). A dosagem de quimiocinas foi feita utilizando o soro obtido do tubo com ativador de coágulo, por meio de citometria de fluxo com o kit BD Cytometric Bead Array (CBA). Os dados foram analisados no software GraphPad Prism, sendo considerados significativos os valores de $p < 0,05$. Na dosagem de quimiocinas, os níveis séricos de MIG (CXCL9) foram significativamente maiores em RT1 em comparação ao controle ($p < 0,05$), enquanto IL-8 (CXCL8), importante para o recrutamento de neutrófilos, esteve significativamente aumentada em RT2 tanto em relação a RT1 ($p < 0,05$) quanto ao controle ($p < 0,01$). As demais quimiocinas (IP-10, MCP-1 e RANTES) apresentaram variações entre os grupos, mas não atingiram significância estatística. Observou-se aumento significativo da expressão de *IL1B*, *S100A8*, *S100A9* e *REG3G* no grupo RT1 em comparação ao grupo controle ($p < 0,01$). *S100A9* também foi significativamente maior em RT1 em relação ao controle. A expressão de *ARG1* foi mais elevada em RT1, mas sem significância estatística. Em RT2, *LC3B* apresentou uma tendência de aumento, embora sem diferença significativa, enquanto *NLRP3* mostrou-se mais elevado em RT1, também sem significância estatística. Em conclusão, os resultados sugerem que a resposta inflamatória no grupo RT1 envolve ativação do inflamassomo e maior expressão de genes associados à imunidade inata, como *S100A8*, *S100A9* e *REG3G*. Já em RT2, o aumento de IL-8 e a tendência de elevação de *LC3B* podem refletir um perfil imunológico distinto, possivelmente relacionado à NETose e à regulação da autofagia.

Palavras-chave: Hanseníase. Autofagia. Neutrófilos. Quimiocinas. *Mycobacterium lepra*

CAVALCANTE, Julianne de Santana. **Analysis of Intracellular Evasion Mechanisms of *Mycobacterium leprae* in Leprosy Patients from the State of Pernambuco**. 2025. 72 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

ABSTRACT

Hansen's disease is a chronic infectious condition caused by *Mycobacterium leprae* or *Mycobacterium lepromatosis*, affecting the skin and peripheral nerves. Its clinical and immunopathological spectrum depends on the host immune response and the pathogen's evasion capacity. In this context, this study investigated intracellular escape mechanisms of *M. leprae*, with emphasis on autophagy modulation and the inflammatory response in infected patients. Participants were recruited from dermatology consultations at reference centers for Hansen's disease located in the cities of Recife, Cabo de Santo Agostinho, and Caruaru, in the state of Pernambuco, Brazil. A total of 14 participants were included: 6 with type 1 reaction (T1R), 4 with type 2 reaction (T2R), and 4 negative controls, all previously tested for Hansen's disease and tuberculosis using PPD and IGRA. Age ranges were 25–44 years in the control group, 46–73 years in T1R, and 44–51 years in T2R. Blood collection involved two tubes per patient: one containing EDTA and the other with a clot activator. RNA extraction was performed from whole blood collected in EDTA, followed by cDNA synthesis and qPCR analysis for the expression of *NLRP3* (inflammasome formation), *LC3B* (autophagy and NETosis), *IL1B* (inflammation), *S100A8* and *S100A9* (alarmins and cell recruitment), *ARG1* (immune response regulation), and *REG3G* (antimicrobial defense). Chemokine quantification was performed using serum from the clot-activator tube, analyzed by flow cytometry with the BD Cytometric Bead Array (CBA) kit. Data were analyzed using GraphPad Prism, with $p < 0.05$ considered statistically significant. In chemokine quantification, serum levels of MIG (CXCL9) were significantly higher in the T1R group compared to controls ($p < 0.05$), while IL-8 (CXCL8), important for neutrophil recruitment, was significantly elevated in the T2R group compared to both T1R ($p < 0.05$) and controls ($p < 0.01$). Other chemokines (IP-10, MCP-1, and RANTES) showed variation among groups but did not reach statistical significance. A significant increase in the expression of *IL1B*, *S100A8*, *S100A9*, and *REG3G* was observed in T1R compared to the control group ($p < 0.01$). *S100A9* was also significantly higher in T1R compared to controls. *ARG1* expression was higher in T1R but without statistical significance. In T2R, *LC3B* showed a trend toward increased expression, although not statistically significant, while *NLRP3* was more expressed in T1R, also without statistical significance. In conclusion, the results suggest that the inflammatory response in the T1R group involves inflammasome activation and increased expression of genes associated with innate immunity, such as *S100A8*, *S100A9*, and *REG3G*. In T2R, the increase in IL-8 and the trend toward elevated *LC3B* may reflect a distinct immunological profile, possibly related to NETosis and autophagy regulation.

Key words: Hansen's disease. Autophagy. Neutrophils. Chemokines. *Mycobacterium leprae*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: BAAR do <i>M. leprae</i> isolado e agrupado em globi.....	16
Figura 2: Distribuição geográfica de novos casos de hanseníase em 2023	17
Figura 3: Lesão característica de hanseníase tuberculoide.....	19
Figura 4: Lesões cutâneas em hanseníase tuberculoide	19
Figura 5: Forma lepromatosa da hanseníase	20
Figura 6: Hanseníase lepromatosa com espessamento difuso e nódulos confluentes	21
Figura 7: Espectro imunológico da hanseníase e mecanismos de dano neural.....	23
Figura 8: Placas eritematosas bem delimitadas, características da RT1 em pacientes com hanseníase	24
Figura 9: Mecanismo de ativação de macrófagos e diferenciação de células T na resposta imune contra o <i>M. leprae</i>	25
Figura 10: Paciente apresentando múltiplos nódulos eritematoso (A) e úlceras (B) característico do eritema nodoso hansênico.....	26
Figura 11: Representação esquemática da resposta inflamatória na RT2	27
Figura 12: Tipos de processos autofágicos.....	31
Figura 13: Modulação da autofagia por citocinas pró e anti-inflamatórias	32
Figura 14: Esquema da ativação do inflamossomo NLRP3 e maturação da IL-1 β ...33	
Figura 15: Análise das quimiocinas CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1 e CXCL10/IP-10 no soro de pacientes com reação tipo 1 (RT1), reação tipo 2 (RT2) e controle. Os gráficos representam a média dos níveis detectáveis em pg/mL por grupos e $p < 0,05$	41
Figura 16: Expressão relativa de <i>NLRP3</i> , <i>LC3B</i> e <i>IL1B</i> nos grupos Controle, RT1 e RT2. Os dados são apresentados como média $\pm$ SEM. Diferenças estatisticamente significativas foram indicadas por $p < 0,05$	42
Figura 17: Expressão relativa de <i>S100A9</i> , <i>S100A8</i> , <i>ARG1</i> e <i>REG3G</i> nos grupos Controle, RT1 e RT2. Os dados são apresentados como média $\pm$ SEM. Diferenças estatisticamente significativas foram indicadas por $p < 0,05$	43

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

BAAR	Álcool-ácido resistente
BB	Borderline
BL	Borderline-virchowiano
BT	Borderline-tuberculoide
ENH	Eritema Nodoso Hansênico
IFN- γ	Interferon-gama
IGRA	Interferon-Gamma Release Assay
HI	Hanseníase Indeterminada
IB	Índice Bacteriológico
LAMP-1	Proteína de Membrana Associada ao Lisossomo 1
LAMP-2	Proteína de Membrana Associada ao Lisossomo 2
LL	Lepromatoso/Virchowiano
MB	Multibacilar
NETs	Armadilhas Extracelulares Neutrófilicas
NLRs	Receptores Semelhantes a NOD
PB	Paucibacilar
PPD	Teste Tuberculínico
PQT	Poliquimioterapia
PRRs	Receptores de Reconhecimento de Padrões
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
RR	Reação Reversa
RT1	Reação do Tipo 1
RT2	Reação do Tipo 2
SEM	Erro Padrão da Média
TRL	Receptores Toll-like
TT	Tuberculoide

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 Hanseníase	15
2.1.1 Epidemiologia.....	16
2.1.2 Classificação e Imunopatologia.....	18
2.1.3 Reações ao <i>M. leprae</i>	23
2.1.4 Diagnóstico e Tratamento	27
2.2 Autofagia.....	29
2.3. Resposta Inflamatória na Hanseníase.....	34
2.3.1. Arginase como biomarcador de proteção	34
2.3.2. Proteínas S100A8/A9 e REg3g.....	34
3. OBJETIVOS.....	36
3.1 OBJETIVO GERAL.....	36
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	36
4. METODOLOGIA	36
4.1 POPULAÇÃO, LOCAL DE ESTUDO E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	36
4.1.1 População e Local de Estudo	36
4.1.2 Obtenção das Amostras.....	38
4.2 COMITÊ DE ÉTICA.....	38
4.3 EXTRAÇÃO DE RNA COM TRIZOL®.....	38
4.4 SÍNTESE DE CDNA	39
4.5 PCRE EM TEMPO REAL.....	39
4.6 DOSAGEM DE QUIMIOCINAS.....	39
4.7 ANÁLISE DE DADOS.....	40
5. RESULTADOS.....	40

6. DISCUSSÃO.....	43
7. CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS	50
ANEXOS	59
ANEXO A – Cópia do parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.....	59
ANEXO B – Cópia do parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas (HC-UFPE)	65

1. INTRODUÇÃO

A hanseníase, também conhecida como lepra, é uma doença infecciosa crônica causada pelo parasita intracelular *Mycobacterium leprae* e pelo mais recentemente descoberto *Mycobacterium lepromatosis*, afetando os humanos há mais de 4.000 anos e ainda hoje sendo estigmatizada (HAN; SILVA, 2014). Apesar dos avanços no tratamento e nas perspectivas para os pacientes desde a introdução da poliquimioterapia (PQT) nos anos 1980, continua a ocorrer um número significativo de novos casos em diversas regiões mundiais, como Sudeste Asiático, América, África, Pacífico Oriental e Mediterrâneo Ocidental. A Índia, Brasil e Indonésia respondem por aproximadamente 80% dos novos casos globais, colocando o Brasil como o segundo país com maior número absoluto de casos, logo atrás da Índia (WHITE & FRANCO-PAREDES, 2015; SARODE *et al.*, 2020; WHO, 2022).

O *M. leprae* é um bacilo intracelular obrigatório, gram-positivo, álcool-ácido resistente (BAAR) que possui crescimento lento e tropismo predominantemente por células fagocíticas como os macrófagos, e por células de Schwann (RÖLTGEN *et al.*, 2020). A resposta imune inata desempenha um papel fundamental na defesa contra *M. leprae*, sendo a primeira linha de proteção contra este bacilo intracelular. A interação inicial entre o *M. leprae* e os componentes do sistema imunológico inato é determinante para ativar uma resposta antimicrobiana eficaz. Essa interação influencia o direcionamento da imunidade adaptativa, contribuindo para a geração de células efectoras com perfis polarizados, como Th1 ou Th2, que estão associadas às diferentes formas clínicas da hanseníase. Nesse contexto, os macrófagos desempenham uma função central, reconhecendo e fagocitando o bacilo, apresentando seus antígenos às células T e liberando citocinas que orquestram a resposta imune, além de produzir espécies reativas de oxigênio e nitrogênio cruciais no combate à infecção (MODLIN, 2010).

Para avaliar a apresentação clínica da hanseníase e orientar o manejo e tratamento, dois sistemas principais de classificação são utilizados. O primeiro é o sistema de Ridley-Jopling, que emprega o índice bacteriológico (IB) e a histopatologia para categorizar os pacientes em diferentes formas, como tuberculoide (TT) e virchowiana (LL), além de subgrupos intermediários entre esses polos, como borderline-tuberculoide (BT), borderline (BB) e borderline-virchowiana (BL) (RIDLEY; JOPLING, 1966). O segundo sistema, desenvolvido pela Organização Mundial de

Saúde (OMS), classifica os pacientes com base no IB ou no número de lesões cutâneas, categorizando-os como paucibacilares (PB), com poucas lesões cutâneas, ou multibacilares (MB), com mais de cinco lesões cutâneas (WHO, 1998).

Esses perfis clínicos distintos da hanseníase estão diretamente relacionados à diferenciação dos macrófagos, cuja polarização fenotípica desempenha um papel fundamental na resposta imune do hospedeiro ao patógeno. A polarização dos macrófagos determina a predominância de respostas inflamatórias ou supressoras, influenciando diretamente o curso da doença (SUGAWARA-MIKAMI et al., 2022).

Sendo assim, a reação do tipo 1, ou reação reversa (RR), está associada ao aumento da resposta imune celular contra o antígeno do *M. leprae*, resultando na infiltração de linfócitos T CD4+ e macrófagos CD163+. Essa reação ocorre com maior frequência em pacientes com formas paucibacilares (PB), mas também podem afetar indivíduos com padrões borderline (BB) e borderline-virchowiana (BL). Já a reação do tipo 2, denominada eritema nodoso hansênico (ENH), envolve uma intensificação da resposta imune humoral, com deposição de complexos imunes nos tecidos e infiltração de neutrófilos, sendo mais comum em pacientes com as formas BL e virchowiana (LL) (CERQUEIRA et al., 2023).

Apesar dos avanços no entendimento da hanseníase, ainda existem lacunas significativas sobre os mecanismos moleculares e celulares envolvidos na modulação da resposta imune, especialmente durante os estados reacionais. Evidências apontam que o *M. leprae* é capaz de manipular vias intracelulares do hospedeiro para favorecer sua sobrevivência, inclusive modulando processos como a autofagia e a inflamação. Essas estratégias de escape permitem ao bacilo persistir no interior das células fagocíticas, contribuindo para a cronicidade da infecção e para a diversidade do espectro clínico da doença (KIM et al., 2019).

Nesse contexto, a investigação de moléculas envolvidas na modulação da resposta imune e nos mecanismos de evasão intracelular do *M. leprae* é essencial para ampliar a compreensão sobre a patogênese da hanseníase. Biomarcadores como *NLRP3*, *LC3B*, *IL1B*, *S100A8/A9*, *ARG1* e *REG3G* têm emergido como potenciais alvos de interesse por seu papel na ativação do inflamassomo, na regulação da autofagia e na mediação de processos inflamatórios.

Diante disso, este trabalho tem como objetivo analisar a expressão gênica e o perfil de quimiocinas em amostras de sangue de pacientes com hanseníase atendidos em serviços de referência no estado de Pernambuco. A proposta busca identificar

padrões de regulação imune relacionados aos mecanismos de escape intracelular do *M. leprae*, com foco nas reações do tipo 1 e 2, contribuindo para o avanço do conhecimento sobre a imunopatogênese da doença e para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

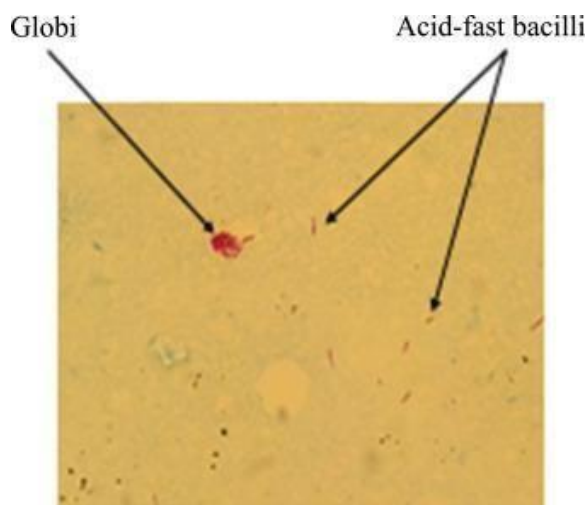
2.1 Hanseníase

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica conhecida há mais de quatro mil anos, causada pelo complexo *Mycobacterium leprae*, que inclui as espécies *Mycobacterium leprae* e *Mycobacterium lepromatosis*. Apesar de sua longa história, foi apenas no século XIX que a doença foi identificada e descrita pelo médico norueguês Gerhard Armauer Hansen, razão pela qual o agente etiológico leva seu nome (REIBEL; CAMBAU; AUBRY, 2015).

O *M. leprae* é um bacilo álcool-ácido resistente (BAAR), intracelular obrigatório e de crescimento lento. Em termos morfológicos, eles são levemente curvados, medindo entre 1-8µm de comprimento e 0,3µm de diâmetro. Taxonomicamente, pertence à ordem *Actinomycetales* e à família *Mycobacteriaceae* (EICHELMANN et al., 2013).

Essa bactéria apresenta predileção por macrófagos, células endoteliais e células de Schwann, onde se replica por fissão binária. Durante esse processo, os bacilos podem se agrupar em estruturas chamadas globi, que abrigam centenas de organismos (figura 1). Seu tempo de replicação estimado em cerca de 14 dias é longo, quando comparado ao *Mycobacterium tuberculosis*, que tem um tempo de replicação de aproximadamente 20 horas. Uma de suas características marcantes é a incapacidade de ser cultivado *in vitro*. Além disso, trata-se de um microrganismo microaerófilo, que se desenvolve melhor em temperaturas mais baixas, variando entre 27°C a 30°C, o que justifica sua preferência por áreas mais frias do corpo, como a pele, mucosa nasal e orelhas (MAYMONE et al., 2020a).

Figura 1: BAAR do *M. leprae* isolado e agrupado em globi



Fonte: REIBEL; CAMBAU; AUBRY, 2015

Embora ainda não se conheçam todos os detalhes sobre as vias de transmissão da hanseníase, a forma mais comum de disseminação é por meio de gotículas expelidas por pacientes infectados, já que a bactéria é eliminada principalmente pelo trato respiratório, especialmente pelo nariz. Vários fatores de risco podem contribuir para o aumento dos casos da doença incluindo predisposição genética, indivíduos imunocomprometidos ou em uso de medicamentos imunossupressores além do contato contínuo e próximo com pessoas infectadas que não estão em tratamento (ALREHAILI, 2023). Indivíduos diagnosticados com a forma multibacilar da hanseníase também representam um risco maior de transmissão, devido à maior quantidade de bacilos presentes (HAMBRIDGE et al., 2021).

Os principais sintomas da hanseníase que podem levar ao diagnóstico clínico envolvem a presença de pelo menos um dos seguintes sinais: perda de sensibilidade em uma mancha hipopigmentada ou avermelhada na pele, que é um dos primeiros indicativos da doença; espessamento ou aumento de um nervo periférico, que pode ser acompanhado de perda de sensibilidade ou fraqueza muscular, afetando a função dos nervos (SUGAWARA-MIKAMI et al., 2022).

2.1.1 Epidemiologia

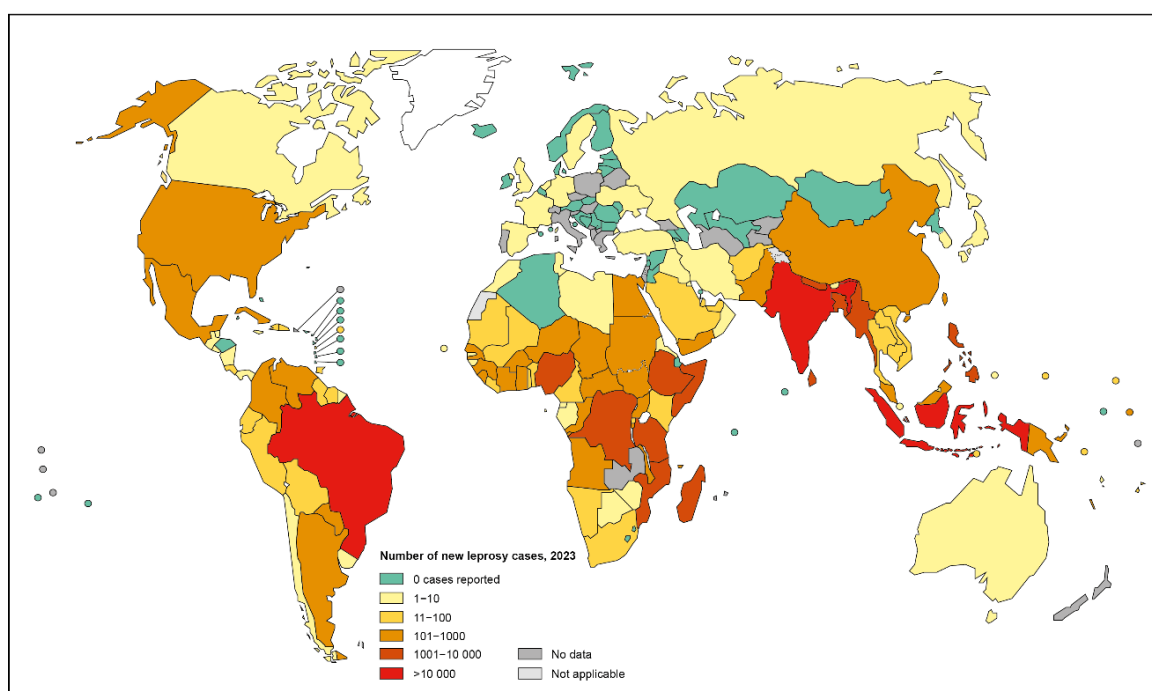
A Hanseníase é considerada uma doença tropical negligenciada que ainda afeta muitos países ao redor do mundo. Embora tenham ocorrido avanços

significativos no tratamento, a transmissão persiste em algumas regiões, especialmente na Índia, no Brasil e na Indonésia. Juntos, esses três países registram anualmente mais de 10 mil novos casos, representando aproximadamente 80% de todas as notificações globais (WHO, 2024).

Em 2023, foram reportados cerca de 182 mil novos casos de hanseníase no mundo, evidenciando que a doença continua sendo um problema de saúde pública em diversas regiões. Na América, cerca de 13% dos casos globais foram registrados, e o Brasil se destaca como o país mais impactado da região, sendo responsável por quase 90% desse total (figura 2) (WHO, 2024).

Figura 2: Distribuição geográfica de novos casos de hanseníase em 2023

Geographical distribution of new leprosy cases, 2023



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. © WHO 2024. All rights reserved.

Data Source: World Health Organization
Map Production: Control of Neglected
Tropical Diseases (NTD)
World Health Organization



Fonte: WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024

Em relação aos dados nacionais, o Brasil registrou, em 2022, 18.552 novos casos de hanseníase (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023), sendo que a proporção de casos novos multibacilares aumentou 26,1% desde 2013, passando de 64,4% para 81,2% nesse período (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024). Entre os estados brasileiros, Pernambuco destacou-se entre os seis com as maiores taxas de detecção da doença,

com 15,99 novos casos por 100 mil habitantes, significativamente acima da média nacional de 8,58 — conforme dados do Ministério da Saúde publicados no Boletim Epidemiológico de 2023. Em 2020, apesar da pandemia de COVID-19 ter impactado o diagnóstico e acompanhamento dos casos de hanseníase no Brasil, informações preliminares indicavam que Pernambuco estava entre os estados com maior número total de novos casos, especialmente entre crianças menores de 15 anos (Ministério da Saúde, 2021).

Pernambuco ocupou a terceira posição entre os estados com maior número de casos de hanseníase, registrando 1774 novos casos em 2023 (Ministério da Saúde, 2024). Esse alto número de casos é ainda mais alarmante quando se observa que, em 2024, foi evidenciado um aumento de 36,6% no número de novos casos, especialmente em pessoas com menos de 15 anos, indicando que há uma cadeia de transmissão ativa da doença no estado (Ministério da Saúde, 2024). Esse dado ressalta a urgência de fortalecer as ações de vigilância, ampliar o acesso ao diagnóstico precoce e garantir o tratamento adequado, buscando conter a transmissão da doença e minimizar seu impacto no estado.

2.1.2 Classificação e Imunopatologia

A hanseníase pode ser classificada de duas formas. Existe a classificação de Ridley-Jopling, que se baseia em manifestações clínicas, características histopatológicas e índice bacteriológico (IB), possuindo dois polos: a hanseníase tuberculoide (TT) e a hanseníase lepromatosa ou virchowiana (LL). Entre esses polos, encontram-se os estados intermediários ou limítrofes que incluem a hanseníase tuberculoide borderline (BT), borderline (BB) e hanseníase lepromatosa borderline (BL), sendo a classificação do paciente dependente do tipo de resposta imune que ele apresentar (RIDLEY; JOPLING, 1966). Além disso, existe também a hanseníase indeterminada (HI) que representa o estágio inicial da doença, progredindo posteriormente em direção a algum polo (MAYMONE et al., 2020a). O outro sistema de classificação utilizado é o da Organização Mundial de Saúde (OMS) que se organiza de acordo com a quantidade de lesões cutâneas, sendo considerada a forma paucibacilar (PB) quando o número de lesões é menor ou igual a cinco, e a forma multibacilar (MB) quando tiver mais do que 5 lesões cutâneas (WHO, 1998).

O polo tuberculoide da hanseníase caracteriza-se por uma resposta imune celular robusta (Th1), o que resulta em uma forma mais branda da doença. Os estados

intermediários, como BT e BB também podem apresentar essas características. As principais manifestações clínicas incluem lesões cutâneas, com máculas anestésicas hipopigmentadas e bordas bem definidas (figuras 3 e 4). Essas lesões são secas, escamosas e sem pelos, podendo apresentar bordas elevadas ou infiltradas. Além disso, pode ocorrer dano nos nervos devido à liberação de produtos inflamatórios, o que pode causar edema e inflamação dolorosa ao redor das lesões, levando à perda sensorial e motora em estágios mais avançados (MAYMONE et al., 2020a). No polo tuberculoide (TT), o bacilo geralmente não é detectado na baciloscopia, e há a formação de granulomas (EICHELMANN et al., 2013).

Figura 3: Lesão característica de hanseníase tuberculoide.



Fonte: EICHELMANN et al., 2013

Figura 4: Lesões cutâneas em hanseníase tuberculoide.



Fonte: MAYMONE et al., 2020a

Já a hanseníase lepromatosa (LL), assim como os casos de BL, caracterizam-se por uma resposta imune celular deficiente e pela ausência de granulomas, o que permite disseminação do *M. leprae* pelo organismo. Como consequência, a doença

tende a progredir mais rapidamente e apresenta maior risco de incapacidade (FONSECA et al., 2017).

As lesões cutâneas são numerosas e disseminadas, podendo variar a quantidade entre 20 e 100, geralmente sendo bilaterais e simétricas. Essas lesões, conhecidas como lepromas, podem evoluir para pápulas ou nódulos de cor de cobre, com bordas indefinidas, sem perda de sensibilidade, e se espalham pelo corpo, principalmente na face. Esse acometimento fácil pode levar ao surgimento das fáceis leoninas, caracterizada pelo espessamento da pele e deformidade dos traços (figura 5). Além disso, também pode haver envolvimento dos lóbulos das orelhas, dedos das mãos e dos pés (EICHELMANN et al., 2013). Outra complicação comum da hanseníase lepromatosa é o acometimento ocular, seja por invasão direta do bacilo ou por lesão do nervo ocular, podendo levar problema de visão e até cegueira. Como é uma forma mais sistêmica da doença, outros órgãos e estruturas também podem ser afetados, como os testículos, tornando seu controle e tratamento mais desafiador (MAYMONE et al., 2020a).

Figura 5: Forma lepromatosa da hanseníase



Fonte: EICHELMANN et al., 2013

Figura 6: Hanseníase lepromatosa com espessamento difuso e nódulos confluentes



Fonte: WHITE; FRANCO-PAREDES, 2015

A classificação da hanseníase decorre de acordo com a resposta imune do hospedeiro, o que influencia diretamente a manifestação clínica da doença (MODLIN, 1994). A resposta imune à infecção pelo *M. leprae* inicia-se com a ativação da imunidade inata, principalmente por meio da atuação dos macrófagos. Após a introdução do bacilo no corpo, o glicolípido fenólico (PGL-1), um componente da parede celular do *M. leprae*, desempenha um papel crucial na evasão do sistema imune inato, pois se liga à fração C3 do complemento por meio de receptores, desencadeando sua fagocitose (FROES; SOTTO; TRINDADE, 2022). Esse processo resulta na liberação de citocinas inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina 1 β , além da produção de óxido nítrico que contribuem para a morte de organismos invasores (WYNN; CHAWLA; POLLARD, 2013).

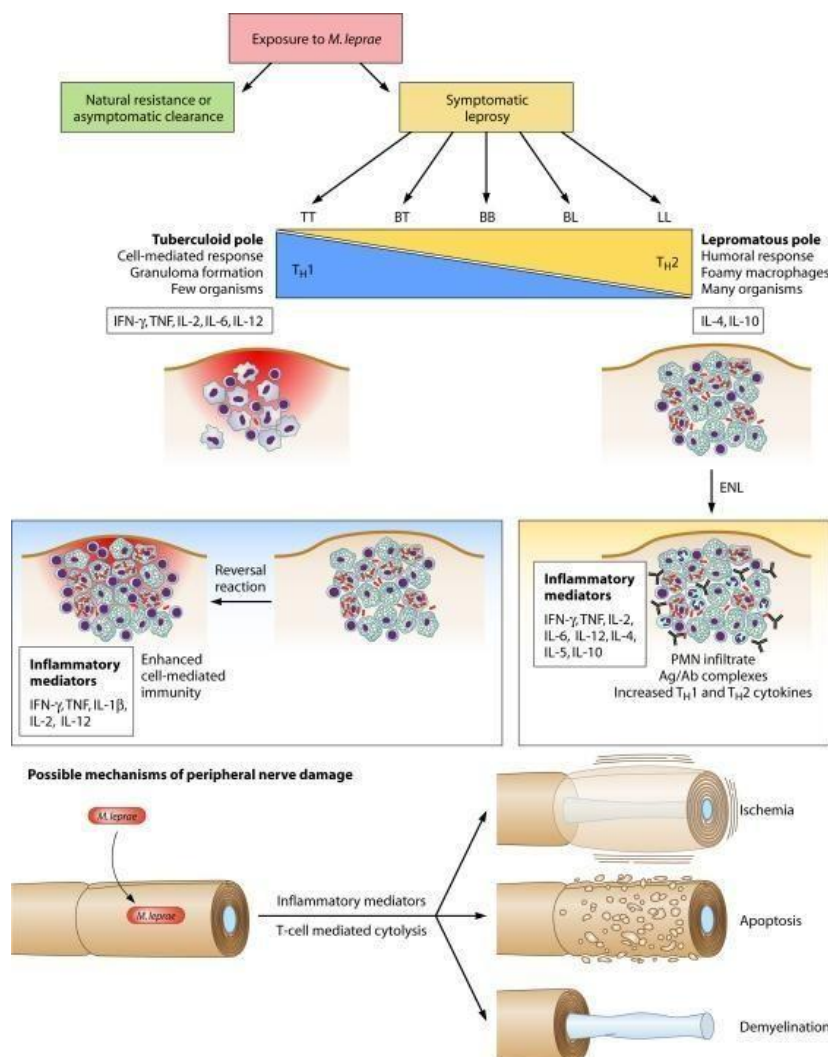
Paralelamente, os macrófagos e as células dendríticas também desempenham um papel essencial na ativação da resposta imune adaptativa, sinalizando a presença do patógeno para os linfócitos T CD4⁺ (SUGAWARA-MIKAMI et al., 2022). Além disso, os receptores toll-like 2 e 4 (TLRs), encontrados em monócitos e em células dendríticas, são fundamentais no reconhecimento do bacilo e na liberação da IL-12, que é crucial para diferenciação das respostas mediadas por células (Th1) e resposta humoral (Th2) (KAPSENBERG, 2003).

Pacientes com hanseníase no polo TT desenvolvem uma resposta imunológica do tipo Th1, caracterizada por uma forte resposta celular, que impede a proliferação

do *M. leprae* e limita a disseminação da infecção. Essa resposta envolve uma predominância de linfócitos T CD4+ e a produção de citocinas inflamatórias, como interferon-gama (IFN- γ), IL-2, IL-15 e fator de necrose tumoral (TNF), que desempenham um papel essencial na ativação e recrutamento dos macrófagos (MI; LIU; ZHANG, 2020). Simões Quaresma e colaboradores (2009) demonstraram que pacientes com a forma TT apresentam um número significativamente maior de células de langerhans em comparação com aqueles com a forma LL. Como essas células são fundamentais para apresentação de antígenos e ativação de linfócitos T, sua maior presença pode estar diretamente relacionada à resposta Th1 mais intensa nesses pacientes, resultando na predominância de célula T CD4+ e na maior produção de citocinas inflamatórias. Esses achados ajudam a explicar o controle mais eficaz do bacilo na hanseníase tuberculóide, em contraste com a forma lepromatosa, onde a resposta imune celular é menos eficiente.

Em pacientes com a forma lepromatosa (LL), a resposta imune é predominantemente do tipo Th2, caracterizada por uma forte ativação da resposta humoral. Nessa forma clínica, há um predomínio de linfócitos T CD8+ e a produção de citocinas anti-inflamatórias, como IL-4 e IL-10 (FROES; SOTTO; TRINDADE, 2022). Além disso, a ativação de células T reguladoras FoxP3+ (Tregs) contribui para a supressão da resposta celular através de citocinas inibitórias, como IL-10 e TGF- β (SADHU et al., 2016). Isso resulta em uma produção robusta de anticorpos e na formação de complexos imunes, porém, sem eficácia na eliminação do *Mycobacterium leprae*. Como consequência, há uma falha na contenção do crescimento bacteriano, permitindo a disseminação do bacilo e a progressão da doença (FROES; SOTTO; TRINDADE, 2022).

Figura 7: Espectro imunológico da hanseníase e mecanismos de dano neural



Fonte: MISCH et al., 2010

2.1.3 Reações ao *M. leprae*

As reações hansênicas ocorrem devido à resposta imunológica aguda a fragmentos do bacilo do *M. leprae* e podem ocorrer tanto em casos paucibacilares quanto multibacilares. Diversos fatores podem desencadear esses episódios reacionais, como gravidez, parto, estresse físico ou emocional e doenças intercorrentes. No entanto, geralmente ocorrem após o início do tratamento poliquimioterápico para hanseníase (BRITO et al., 2008). Essas reações inflamatórias podem agravar o quadro clínico, levando a complicações neurológicas e cutâneas, que, em alguns casos, se desenvolvem rapidamente e configuram uma emergência médica (SOUZA, 2010). Estima-se que aproximadamente 30% a 50% dos pacientes diagnosticados com a doença desenvolvam esse tipo de resposta imunológica

(SCOLLARD et al., 2006).

A reação do tipo 1 (RT1), também conhecida como reação reversa (RR), ocorre principalmente em pacientes com as formas TT, BT e BL da hanseníase, podendo também estar presente, embora com menor frequência, em pacientes com a forma LL. A principal característica da RR é o aumento da inflamação em lesões preexistentes na pele e nos nervos periféricos, que se tornam vermelhas e edematosas, sendo uma das principais causas de dano neural na doença (figura 6) (MAYMONE et al., 2020b). Esse processo inflamatório pode levar ao desenvolvimento de edema, especialmente em mãos e pés, e ao comprometimento dos nervos periféricos, que podem resultar em neurite, parestesia, paralisia facial, mão em garra ou queda do pé (NERY et al., 2013). Quando o diagnóstico e o tratamento da neuropatia são tardios, o dano neural pode se tornar irreversível, comprometendo permanentemente a função do nervo afetado (LEON et al., 2016).

Figura 8: Placas eritematosas bem delimitadas, características da RT1 em pacientes com hanseníase

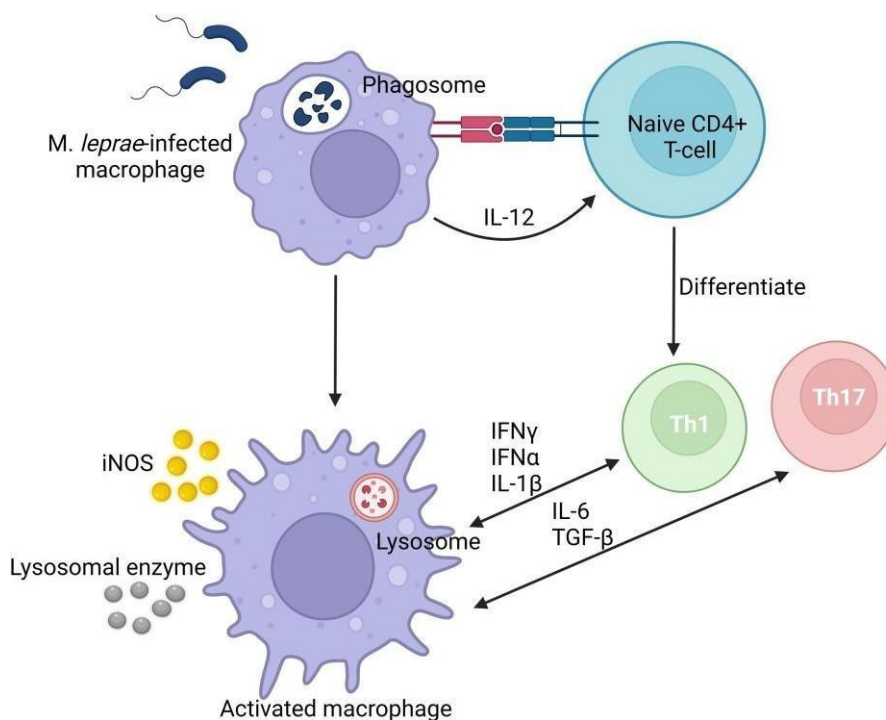


Fonte: MAYMONE et al., 2020b

As lesões observadas na RT1 estão associadas a uma reação de hipersensibilidade do tipo IV, também conhecida como hipersensibilidade tardia, que são mediadas por células T. Essa resposta inflamatória envolve um aumento significativo de linfócitos T CD4+ e uma ativação exacerbada da resposta imune Th1. Nas lesões cutâneas e no sangue periférico, observa-se um perfil inflamatório acentuado, com níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, como IFN- γ , TNF- α e IL-1 β (figura 7) (FONSECA et al., 2017). O IFN- γ , em particular, estimula a produção da quimiocina CXCL10/IP-10 que, junto com a proteína quimioatraente de monócitos-1 (CCL2/MCP-1), atua como um potente mediador da quimiotaxia de monócitos e

linfócitos T para os locais de inflamação tecidual (LUO et al., 2021).

Figura 9: Mecanismo de ativação de macrófagos e diferenciação de células T na resposta imune contra o *M. leprae*



Fonte: DEWI et al., 2023

O tratamento da RT1 envolve o uso de prednisolona em doses que variam entre 20 e 60mg. No entanto, seu uso prolongado não é recomendado devido aos efeitos colaterais dos corticosteroides. Além disso, a clofazimina pode ser associada à prednisolona, sendo administrada em doses iniciais 300mg, podendo progredir até 500mg, para auxiliar na supressão da resposta inflamatória (MUNGROO; KHAN; SIDDIQUI, 2020).

Já a reação do tipo 2 (RT2) ou eritema nodoso hansênico (ENH) é uma reação inflamatória sistêmica que afeta cerca de 50% dos pacientes LL e 10% dos pacientes BL, podendo causar morbidade e mortalidade se não for tratada (NEGERA et al., 2017). Os sintomas clínicos são aparecimento de nódulos dolorosos e eritematosos na face, tronco e extremidades superiores e inferiores, sem predileção por lesões preexistentes (figura 8) (MAYMONE et al., 2020b). O curso da RT2 é de dias para semanas, havendo múltiplas recorrências ao longo de vários meses (SCOLLARD et al., 2006).

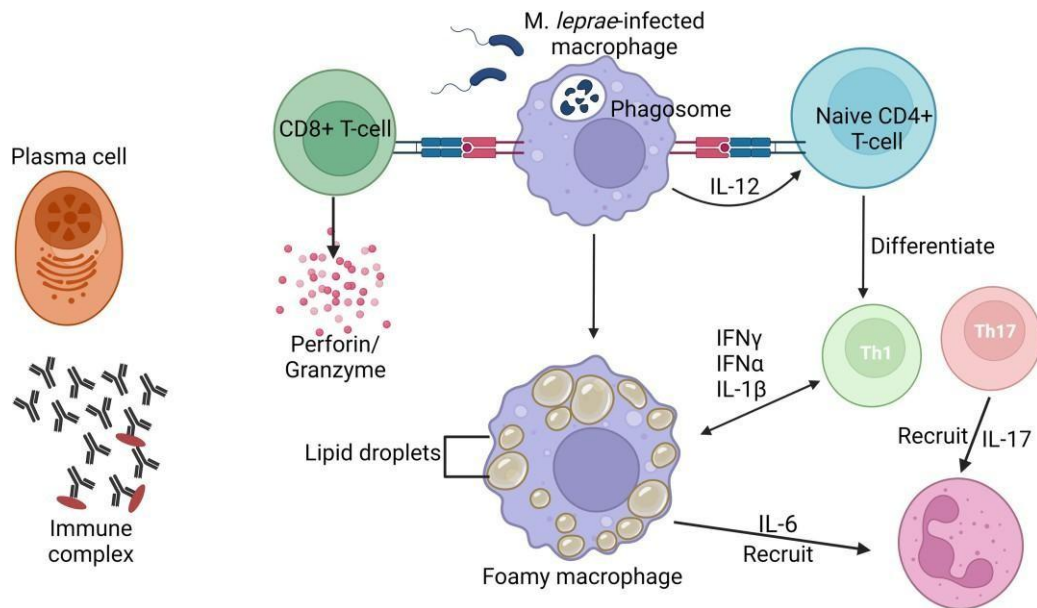
Figura 10: Paciente apresentando múltiplos nódulos eritematosos (A) e úlceras (B) característico do eritema nodoso hansênico



Fonte: MAYMONE et al., 2020b

A RT2 é caracterizada por uma resposta imune celular reduzida, mas com manutenção da resposta imune humoral. Como consequência, há uma maior suscetibilidade a reações de hipersensibilidade do tipo III, caracterizadas pela deposição de complexos imunes (complexo antígeno-anticorpo), o que intensifica o processo inflamatório e promove o recrutamento de leucócitos, principalmente neutrófilos (LUO et al., 2021). Além disso, ocorre uma predominância de linfócitos T CD8+ associados a uma resposta imune do tipo Th2, levando à secreção de citocinas como IL-4, IL-5, IL-10, IFN- γ e principalmente altos níveis de TNF- α , que desempenham um papel central na inflamação e no agravamento da resposta imunológica (figura 9) (FROES; SOTTO; TRINDADE, 2022).

Figura 11: Representação esquemática da resposta inflamatória na RT2



Fonte: DEWI et al., 2023

O tratamento para a RT2 em casos mais avançados consiste no uso da talidomida, com uma dose inicial de 300 a 400mg por dia para controle dos sintomas agudos nos primeiros dias. Após essa fase inicial, é necessário ajustar a dose para um regime de manutenção, pois, em muitos casos, a medicação precisa ser utilizada a longo prazo para evitar recorrências (MUNGROO; KHAN; SIDDIQUI, 2020). No entanto, a talidomida apresenta diversos efeitos colaterais significativos, incluindo teratogenicidade, risco de neuropatia periférica e sedação, o que exige um acompanhamento rigoroso dos pacientes. Além disso, seu uso é contraindicado em mulheres em idade fértil sem métodos contraceptivos eficazes, devido ao risco de malformações congênitas graves (PAPASEIT; FARRÉ; GARCIA-ALGAR, 2023).

2.1.4 Diagnóstico e Tratamento

O diagnóstico da hanseníase ainda é um desafio porque os sintomas iniciais podem ser confundidos com outras patologias devido à manifestação clínica variável. Além disso, o estigma da doença e a falta de capacitação dos profissionais de saúde contribuem para erros diagnósticos, levando ao atraso no tratamento e, consequentemente, ao desenvolvimento de sequelas graves aos pacientes. Sendo assim, caso o paciente tenha sintomas clínicos característicos e residir ou estiver voltando de uma viagem em um estado endêmico, deve-se considerar um diagnóstico

de hanseníase. Dessa forma, a investigação da doença deve ser iniciada sempre que houver qualquer sinal cardinal, como lesão hipopigmentada ou eritematosa com perda de sensibilidade, espessamento ou aumento de um nervo periférico associado à fraqueza muscular, esfregaço cutâneo positivo ou presença de bacilos observados em biópsia. A presença de três características cardinais tem 97% de especificidade diagnóstica (WHITE; FRANCO-PAREDES, 2015).

Para o diagnóstico, pode ser realizado o esfregaço de pele em fenda, uma técnica rápida, pouco invasiva e especialmente útil para identificar casos multibacilares devido à alta carga bacilar. O procedimento consiste em pequenas incisões em lesões ativas ou persistentes, com posterior coloração pelo método de Ziehl-Neelsen para a visualização de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR). A análise dos resultados é feita por meio da escala logarítmica de Ridley ou pelo Índice Baciloscópico (IB). Para hanseníase tuberculoide, geralmente o IB é negativo e em caso de hanseníase virchowiana, o IB é sempre positivo (>2+). Apesar de ser um método menos invasivo, sua baixa sensibilidade limita a eficácia no diagnóstico, levando à substituição gradual por outras técnicas mais avançadas (TALHARI; TALHARI; PENNA, 2015).

O método mais utilizado e considerado atualmente o padrão-ouro para o diagnóstico da hanseníase é a biópsia de pele. Nesse procedimento, realiza-se uma coleta com "punch" em locais próximos às lesões, obtendo-se uma amostra que inclui porções da derme e da gordura subcutânea. Os tecidos coletados são corados com hematoxilina-eosina para análise (CHEN et al., 2022). No caso da forma TT, observa-se a ausência de bacilos, sendo caracterizada pela presença de granulomas epitelioides e infiltrados linfocíticos ao redor dos nervos. Já nas formas BL e LL, são encontrados numerosos bacilos, acompanhados de infiltrados inflamatórios (MAYMONE et al., 2020b).

É utilizado também técnicas moleculares como PCR para detecção do DNA do *M. leprae* em biópsias de lesões cutâneas. Isso porque elas apresentam maior quantidade de bacilos. Sendo assim, a sensibilidade da PCR é próxima de 100% para pacientes com a forma virchowiana e entre 40-80% em pacientes com a forma tuberculoide (SARATH; JOSEPH; JAMIR, 2023).

Desde 1981, a Organização Mundial da Saúde estabeleceu a poliquimioterapia (PQT) como tratamento padrão para a hanseníase, combinando dapsona, rifampicina e clofazimina. Essa associação de medicamentos visa reduzir o risco de resistência

do *M. leprae* à dapsona. De acordo com as recomendações da OMS, pacientes diagnosticados com a forma paucibacilar devem seguir esse esquema por 6 meses, enquanto para casos multibacilares, o tratamento deve ser mantido por 12 meses (WHO, 2018).

Como medida de quimioprofilaxia, recomenda-se a administração de uma dose única de rifampicina para contatos domiciliares de pacientes com hanseníase. Essa estratégia tem como objetivo reduzir o risco de desenvolvimento da doença entre aqueles que tiveram exposição próxima e prolongada ao bacilo (DOS SANTOS et al., 2018).

2.2 Autofagia

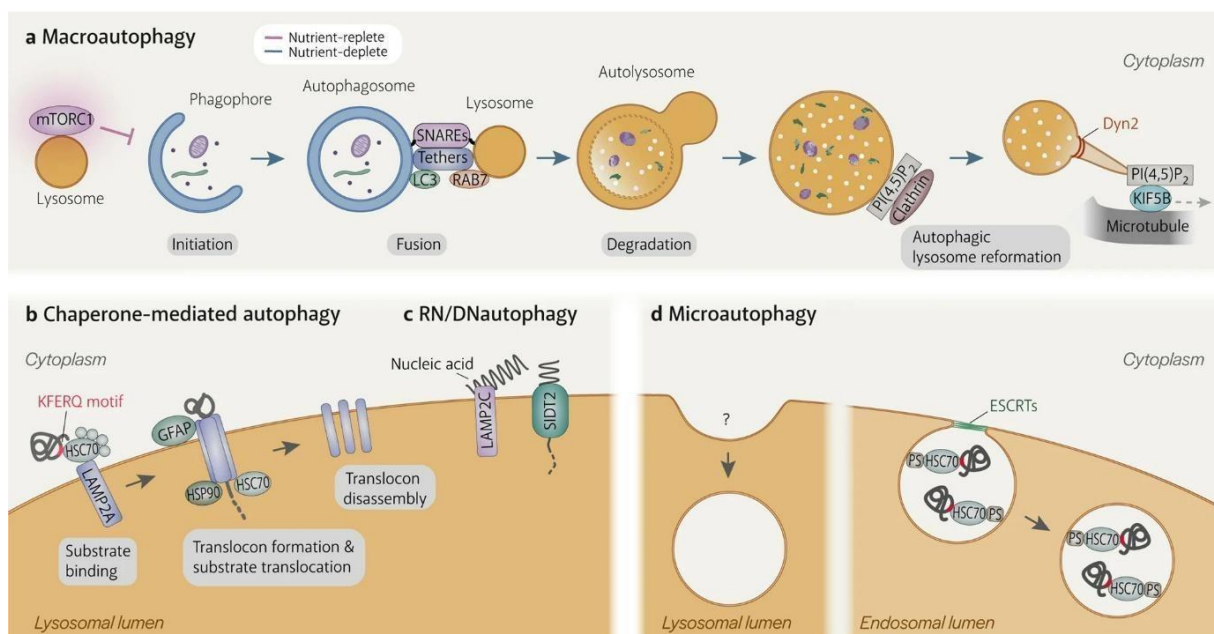
A autofagia é um mecanismo essencial para degradação de materiais citoplasmáticos e a renovação celular. Esse processo permite a eliminação de componentes danificados ou proteínas mal dobradas ou anormais contribuindo para a homeostase celular. Além disso, a autofagia pode ser vista como um mecanismo de prolongamento da longevidade, pois atua tanto em momentos de estresse celular quanto em condições basais não estressantes, regulando a qualidade dos componentes intracelulares (KLIONSKY et al., 2021). Os materiais plasmáticos são transportados ao lisossomo por diferentes vias autofágicas, onde serão degradados e reciclados para suprir as necessidades metabólicas da célula (MIZUSHIMA; KOMATSU, 2011).

Além de sua importância na renovação celular, esse mecanismo está envolvido em várias doenças, como câncer e distúrbios neurodegenerativo como também no contexto imunológico, pois contribui para degradação de patógenos intracelulares, entrega de antígenos endógenos aos MHC classe II, direcionamento de ácidos nucleicos virais para receptores Toll-like e regulação da homeostase das células T (LEVINE; DERETIC, 2007).

A autofagia pode ocorrer por três vias principais em células eucarióticas: macroautofagia, microautofagia e autofagia mediada por chaperona (CMA) (figura 10). A microautofagia é um processo no qual os componentes citosólicos são diretamente absorvidos pelo lisossomo por meio da invaginação ou deformação da sua membrana. Já a CMA, descrita até o momento apenas em células de mamíferos, é altamente específica, pois atua na degradação seletiva de proteínas citosólicas solúveis que

contém uma sequência característica de pentapeptídeo, Lys-Phe-Glu-Arg-Gln (KFERQ) (PARZYCH; KLIONSKY, 2014). Essas proteínas se ligam à Hsc70 (proteína de choque térmico 70), uma chaperona citoplasmática onipresente, e a proteína de membrana associada ao lisossomo 2 (LAMP-2), que facilitam seu desdobramento e translocação através da membrana lisossomal, onde serão finalmente degradadas no lúmen do lisossomo (HUBERT et al., 2022). Alterações na LAMP-2 podem modular a atividade desse processo autofágico, afetando a eficiência da degradação da proteína e a homeostase celular (CUERVO; DICE, 2000).

Por fim, a macroautofagia é um processo celular essencial que envolve a formação de vesículas de dupla membrana, chamadas de autofagossomos, responsáveis por sequestrar componentes ou patógenos intracelulares para posterior degradação nos lisossomos (YORIMITSU; KLIONSKY, 2005). Diferentemente de outros processos vesiculares que ocorrem por brotamento, uma característica importante da macroautofagia é a formação *de novo* dos autofagossomos, que se originam pela expansão de estruturas precursoras chamada fagóforo, cuja origem ainda não é completamente elucidada (YANG; KLIONSKY, 2009). Esse autofagossomo posteriormente vai se fundir com o lisossomo, formando autolisossomos, com objetivo do material ou patógeno intracelular ser degradado (LEVINE; DERETIC, 2007).

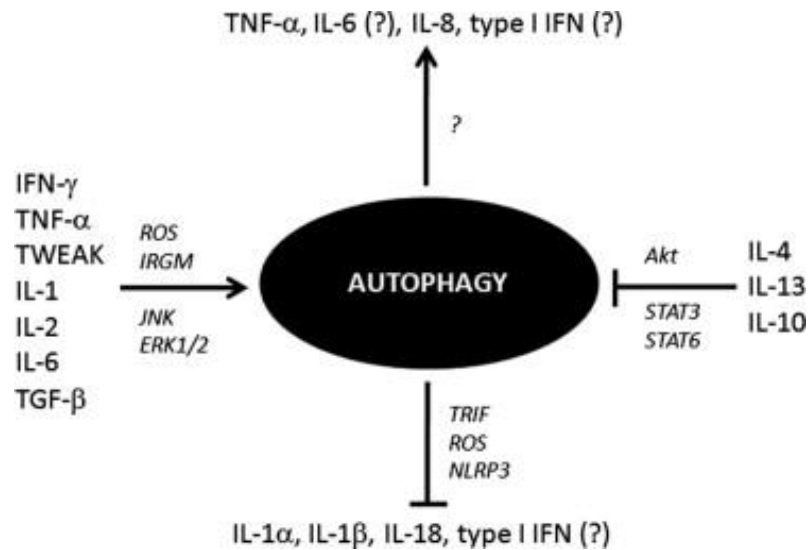
Figura 12: Tipos de processos autofágicos

Fonte: YIM; MIZUSHIMA, 2020

A autofagia está envolvida tanto na imunidade inata quanto na adaptativa, desempenhando um papel fundamental na eliminação de microrganismos intracelulares. Sua ativação pode ocorrer por meio de receptores Toll-like (TLRs), bem como pela ação de citocinas inflamatórias (LEVINE; MIZUSHIMA; VIRGIN, 2011). Entre essas citocinas, destacam-se o IFN- γ e o TNF- α , característicos da resposta imune do tipo Th1, que estimulam de forma significativa o processo autofágico. Por outro lado, citocinas associadas ao perfil Th2, como a IL-10, apresentam efeito inibitório sobre a autofagia, interferindo na maturação do fagossomo e favorecendo a persistência intracelular de bacilos (HARRIS, 2011).

A regulação da autofagia também varia de acordo com o espectro clínico da hanseníase. No polo TT, observa-se uma resposta imune predominantemente do tipo Th1, com altos níveis de IFN- γ , citocina responsável por induzir eficientemente o processo autofágico. Essa ativação contribui para o controle efetivo do *M. leprae* pelas células fagocíticas. Em contraste, no polo LL, os níveis reduzidos de IFN- γ resultam em uma ativação deficiente da autofagia, favorecendo a sobrevivência e persistência do bacilo no interior das células hospedeiras (Silva et al., 2017).

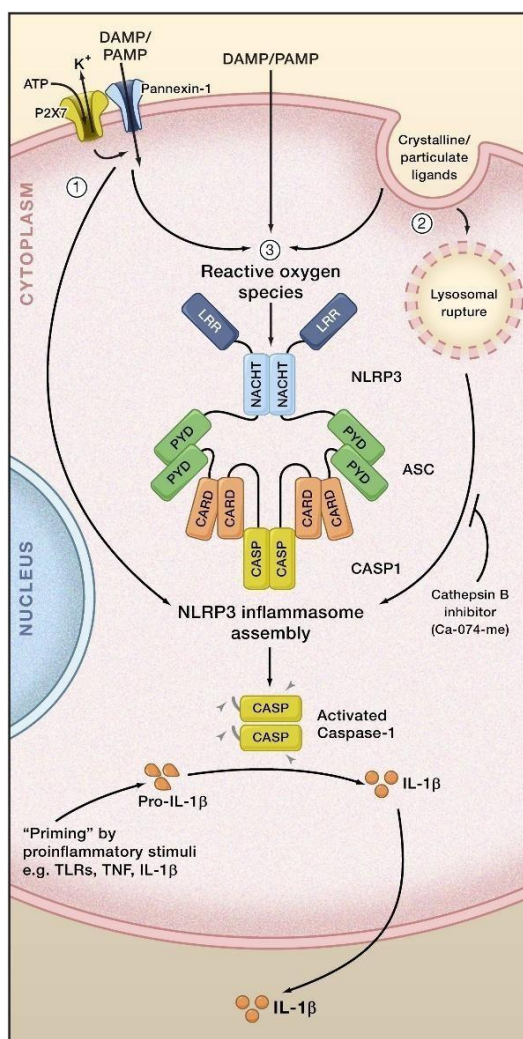
Figura 13: Modulação da autofagia por citocinas pró e anti-inflamatórias



Fonte: HARRIS, 2011

Em contrapartida, a autofagia pode ser negativamente modulada por outros mediadores inflamatórios, como a IL-1B. A liberação dessa citocina está associada à inibição do processo autofágico, estabelecendo um mecanismo de retroalimentação entre inflamação e autofagia (HARRIS, 2011). A IL-1B é um importante mediador da inflamação, cuja maturação depende da ativação do complexo molecular denominado inflamossomo. Os inflamossomos são plataformas multiproteicas formadas no citosol em resposta a estímulos infecciosos ou de estresse celular, que promovem a ativação da caspase-1, sendo ela a responsável por clivar a pro-IL-1B em sua forma ativa. Assim, a ativação do inflamossomo *NLRP3* (uma das famílias mais caracterizadas), e da caspase-1 culmina na secreção de IL-1B, que, por sua vez, exerce efeito inibitório sobre a autofagia (SCHRODER; TSCHOPP, 2010).

Figura 14: Esquema da ativação do inflamossomo NLRP3 e maturação da IL-1 β



Fonte: SCHRODER; TSCHOPP, 2010

Ao analisar a relação entre o processo autofágico e os estados reacionais da hanseníase, nosso grupo de pesquisa publicou uma revisão sistemática que evidenciou, principalmente, a ausência de estudos relacionados à reação do tipo 2. Esse achado destaca a necessidade de investigações adicionais acerca do papel da autofagia, bem como da elucidação dos mecanismos envolvidos na ativação do inflamossomo durante as reações hansênicas (CERQUEIRA et al., 2023).

2.3. Resposta Inflamatória na Hanseníase

2.3.1. Arginase como biomarcador de proteção

No contexto da hanseníase, diferentes moléculas têm sido investigadas como potenciais biomarcadores para o diagnóstico precoce e a previsão do desenvolvimento da doença. Dentre esses, a arginase-1 se destaca pela sua capacidade de modular a resposta imune e de se correlacionar com a carga bacilar dos pacientes.

A arginase-1, derivada do gene *Arg1*, converte arginina em ornitina, etapa essencial para a produção de poliaminas associadas à cicatrização tecidual e a respostas celulares proliferativas (SHIN et al., 2022). Essa enzima exerce papel regulador no sistema imunológico, atuando na modulação da resposta inflamatória e promovendo efeitos imunossupressores importantes no contexto de infecções crônicas, como a hanseníase (MUNDER, 2009).

Em lesões cutâneas de pacientes com hanseníase, observou-se que indivíduos multibacilares apresentam maior expressão de arginase-1 em comparação com os paucibacilares, sugerindo uma associação entre a expressão da enzima e a carga bacilar (DE OLIVEIRA FULCO et al., 2014).

Estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa demonstraram que a atividade de arginase-1 pode ser utilizada para discriminar contatos que efetivamente irão apresentar os sinais clínicos da doença (DA SILVA PRATA et al., 2022). A atividade da arginase-1 em soros de contatos alcança 90% de sensibilidade e 96,7% de especificidade na diferenciação entre aqueles que desenvolvem e não desenvolvem hanseníase (DA SILVA PRATA et al., 2022).

2.3.2. Proteínas S100A8/A9 e REg3g

No cenário das infecções crônicas, proteínas de ligação ao cálcio, como as da família S100, têm ganhado destaque por sua atuação na imunidade inata. As proteínas da família S100 são pequenas proteínas de ligação ao cálcio que desempenham múltiplas funções no sistema imunológico. Extracelularmente, elas podem atuar de maneira semelhante a quimiocinas e citocinas, desencadeando respostas pró e anti-inflamatórias e interagindo com receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) (FOELL et al., 2007).

Algumas isoformas, como S100A8, S100A9 e S100A12, são consideradas padrões moleculares associados a danos (DAMPs), capazes de modular a inflamação ou exercer ação antimicrobiana através de um processo conhecido como imunidade nutricional. Nesse mecanismo, essas proteínas quelam íons metálicos essenciais, como zinco e manganês, nos sítios específicos de ligação a metais, restringindo sua disponibilidade aos patógenos e limitando seu crescimento (XIA et al., 2024; ZACKULAR, CHAZIN e SKAAR, 2015).

Entre os leucócitos, os neutrófilos apresentam níveis particularmente elevados dessas proteínas, sendo que S100A8 e S100A9 representam cerca de 45% das proteínas citoplasmáticas dessa população celular (Wang et al., 2018). Além disso, Yoshioka et al. (2016) demonstraram o acúmulo de neutrófilos S100A9⁺ na região central de granulomas em modelos de tuberculose, sugerindo um papel ativo dessas proteínas na formação e manutenção de estruturas granulomatosas, com possíveis implicações em outras doenças de caráter granulomatoso, como a hanseníase.

Diante desse contexto e considerando a escassez de estudos que explorem o papel das proteínas S100 na hanseníase, especialmente nos estados reacionais, levantamos a hipótese de que essas moléculas possam atuar como importantes moduladoras da resposta imune frente ao *M. leprae*, influenciando a dinâmica inflamatória e a formação de granulomas nos diferentes espectros clínicos da doença.

Além das proteínas S100, outras moléculas com função imunorregulatória têm despertado interesse quanto ao seu potencial papel na resposta contra infecções bacterianas. A Reg3g, homóloga murina da REG3A humana, é uma lectina C-type altamente expressa e secretada no intestino delgado, onde exerce atividade bactericida direta e contribui para a manutenção da barreira físico-imunológica entre a microbiota intestinal e o epitélio do hospedeiro (SHIN et al., 2022).

Apesar de seu papel já estabelecido na defesa mucosa intestinal, a Reg3g ainda não foi explorada no contexto da hanseníase. No entanto, considerando suas propriedades antimicrobianas e sua capacidade de modular a resposta imune inata, levantamos a hipótese de que essa proteína possa atuar como um biomarcador de proteção contra o *M. leprae*.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar, por meio da análise de expressão gênica e de quimiocinas, como o *Mycobacterium leprae* pode modular mecanismos intracelulares relacionados à resposta inflamatória e à sobrevivência bacteriana em amostras de sangue de pacientes com hanseníase, recrutados nos Serviços de Referência para Hanseníase em Pernambuco.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar o perfil inflamatório das reações hansênicas por meio da expressão de quimiocinas nos grupos RT1, RT2 e controle;
- Investigar a regulação da autofagia na hanseníase avaliando a expressão dos genes *NLRP3*, *LC3B* e *IL1B*;
- Avaliar o papel das proteínas S100A8 e S100A9 como biomarcadores inflamatórios e sua possível ação antimicrobiana contra o *M. leprae*;
- Avaliar a expressão dos genes *ARG1* e *REG3G* nos diferentes grupos, explorando seu papel na modulação da resposta imune à infecção.

4. METODOLOGIA

4.1 POPULAÇÃO, LOCAL DE ESTUDO E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

4.1.1 População e Local de Estudo

O estudo fez parte de uma investigação maior conduzida nos Serviços de Referência para Hanseníase localizados nos municípios de Recife, Caruaru e Cabo de Santo Agostinho, em Pernambuco. Esses serviços funcionam como centros de referência estadual, recebendo pacientes provenientes de diversos municípios, o que amplia a abrangência da população atendida e investigada. Para este estudo, foram selecionados dados de 14 participantes, sendo 2 do Cabo de Santo Agostinho e 8 de Recife, além de um participante de cada um dos seguintes municípios: Jaboatão dos Guararapes, Sirinhaém, Carpina e Camaragibe. Dentre os participantes, 4 foram

selecionados como controle, todos sem histórico de hanseníase e previamente testados para tuberculose por meio do Teste Tuberculínico (PPD) e IGRA (Interferon - Gamma Release Assay), com resultados negativos. Além disso, 6 apresentaram Reação do Tipo 1 (RT1) e 4 apresentaram Reação do Tipo 2 (RT2).

Estes pacientes foram recrutados nos serviços de referência durante as consultas com dermatologistas e foram convidados a participar do estudo após serem identificados como elegíveis de acordo com os critérios de inclusão. No grupo controle, há 3 mulheres e 1 homem, com faixa etária de 25 a 44 anos. No grupo RT1, são 4 mulheres e 2 homens, com faixa etária de 46 a 73 anos. Já no grupo RT2, o total é de 3 mulheres e 1 homem, com faixa etária de 44 a 51 anos.

Tabela 1: Distribuição de participantes por grupo (Controle, RT1 e RT2), sexo, idade e cidade.

Código	Sexo	Idade	Cidade	Grupo
FIO 1	Feminino	25	Recife	Controle
FIO 2	Feminino	39	Recife	Controle
FIO 3	Masculino	26	Recife	Controle
FIO 4	Feminino	44	Recife	Controle
CB022	Feminino	66	Cabo de Santo Agostinho	RT1
HC 28	Masculino	61	Recife	RT1
HC 31	Feminino	73	Recife	RT1
HC 34	Feminino	48	Jaboatão dos Guararapes	RT1
HC 37	Feminino	55	Recife	RT1
HC 39	Masculino	46	Sirinhaém	RT1
CB020	Feminino	48	Cabo de Santo Agostinho	RT2
HC 29	Masculino	51	Carpina	RT2
HC 38	Feminino	50	Camaragibe	RT2
HC 40	Feminino	44	Recife	RT2

Fonte: autor (2025)

- Critérios de Inclusão: Os participantes foram recrutados durante consultas com dermatologistas colaboradores, selecionando-se indivíduos de ambos os sexos, com idades entre 25 e 73 anos, diagnosticados com hanseníase pauci ou multibacilar, nas diferentes formas clínicas. Além disso, foram incluídos no estudo indivíduos sem sinais clínicos de hanseníase ou histórico familiar de hanseníase ou tuberculose, que serviram como grupo controle.
- Critérios de Exclusão: Foram excluídos do estudo grávidas, indivíduos imunocomprometidos, pessoas em uso de medicamentos imunossupressores e corticoides em uso prolongado e portadores de doenças autoimunes.

4.12 Obtenção das Amostras

As amostras biológicas utilizadas neste estudo foram previamente coletadas e armazenadas pelo nosso grupo de pesquisa, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelos participantes. Para cada paciente, foram coletados dois tubos de sangue: um tubo com EDTA, utilizado para a extração de RNA e posterior análise da expressão gênica, e um tubo com ativador de coagulação, utilizado para obtenção do soro e análise das quimiocinas. As amostras foram processadas e analisadas no Instituto Keizo Asami (iLIKA).

4.2 COMITÊ DE ÉTICA

O projeto proposto já possuía aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/UFPE), conforme parecer 6.420.432 e número CAAE 50480121.0.0000.5208 (ANEXO A). Além da aprovação do Hospital das Clínicas/UFPE, parecer 6.754.499 e CAAE 50480121.0.3001.8807 (ANEXO B).

4.3 EXTRAÇÃO DE RNA COM TRIZOL®

Para a extração de RNA de sangue total utilizando Trizol®, foram adicionados 300µL de sangue total a 400µL de Trizol® em microtubos tipo eppendorf, seguido de pipetagem repetida para lise celular. A amostra foi incubada à temperatura ambiente por 5 minutos para dissociação proteica, e então foram adicionados 150µL de clorofórmio. Após agitação vigorosa por 20 segundos e uma incubação adicional de 3 minutos em temperatura ambiente, a amostra foi centrifugada a 12.000 rpm por 15

minutos a 4°C. A fase aquosa contendo RNA foi cuidadosamente transferida para um novo eppendorf, evitando o anel de leucócitos. Foram adicionados 375µL de isopropanol a 100%, seguido de incubação à temperatura ambiente por 10 minutos e nova centrifugação a 12.000 rpm por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi removido e o pellet lavado com 750µL de etanol a 75%. Após centrifugação a 7.500 rpm por 5 minutos a 4°C e remoção do sobrenadante, o eppendorf foi deixado aberto para secar à temperatura ambiente por 10 minutos. O pellet foi então ressuspendido em 30µL de RNase free ou solução de SDS 0,5%, seguido de incubação em banho-maria a 55°C por 10-15 minutos. O RNA foi quantificado no Nanodrop e armazenado a -80°C.

4.4 SÍNTESE DE cDNA

A síntese de cDNA foi realizada por meio do kit de síntese de cDNA com inibidor de RNase (Cellco Biotech), seguindo as instruções do fabricante utilizando o termociclador Applied Biosystems Veriti Dx 96 -well. Após transcrição, as amostras foram estocadas em freezer -20°C.

4.5 PCR EM TEMPO REAL

As amostras foram submetidas a análise da expressão gênica através da análise de PCR quantitativo em tempo real (qPCR) utilizando o StepOne™ Real-Time PCR System, com o sistema SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, USA) 2x, primers (concentrados a 100nM) para amplificação do gene de interesse e água para um volume final de 20µl. Foram utilizados primers para identificação dos genes de interesse *NLRP3*, *LC3B*, *IL1B*, *S100A8*, *S100A9*, *ARG1* e *REG3G*, com a β -actina utilizada como gene endógeno. As condições de amplificação foram realizadas de acordo com instruções do fabricante, com o seguinte processo de ciclagem: 50°C por 2 minutos e 95°C por 10 minutos para ativação enzimática, seguidos por 45 ciclos de 95°C por 15 segundos (desnaturação) e 60°C por um minuto (anelamento e extensão).

4.6 DOSAGEM DE QUIMIOCINAS

A dosagem das quimiocinas foi realizada no soro dos participantes através do uso do kit da BD™ Cytometric Bead Array (CBA) Human Chemokine (código

#552990), para detecção sérica de CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1 e CXCL10/IP-10, por meio de citometria de fluxo.

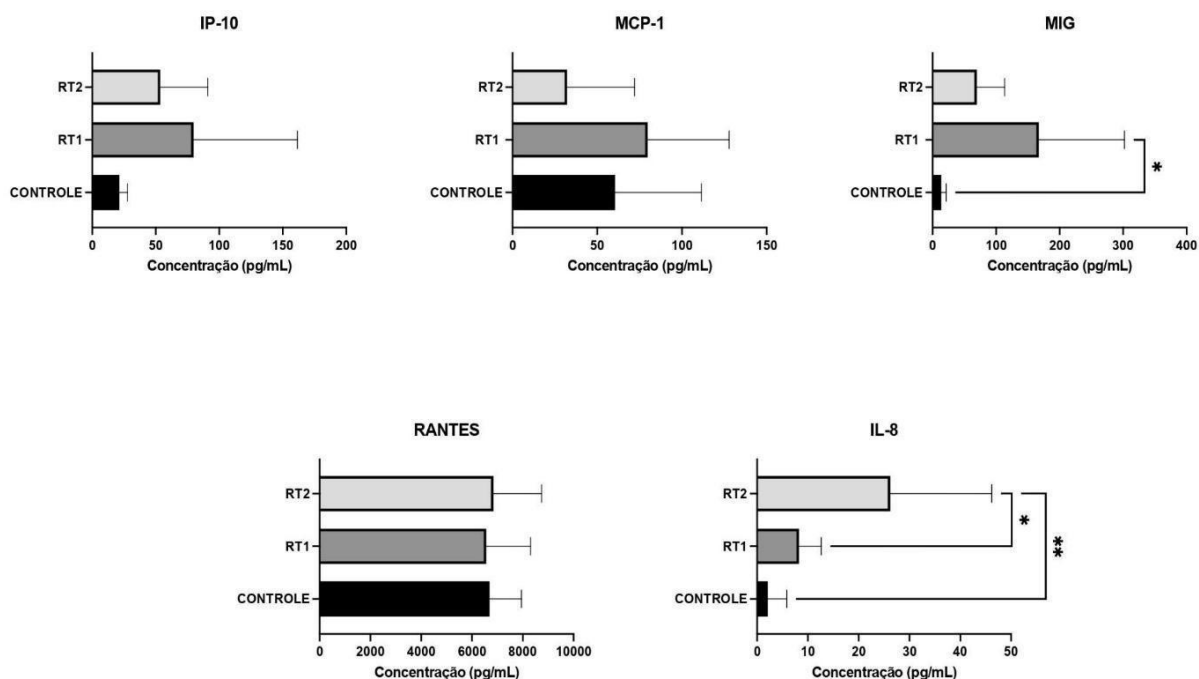
4.7 ANÁLISE DE DADOS

Os ensaios foram realizados em triplicata e repetidos em pelo menos dois experimentos independentes realizados em momentos distintos, mantendo as mesmas condições experimentais. Os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (SEM). A análise estatística foi realizada utilizando o software GraphPad Prism (versão 9). Inicialmente, foi avaliada a homogeneidade das variâncias para determinar a distribuição dos dados, com o teste de Bartlett sendo aplicado para confirmação da homogeneidade. Com base nesses resultados, foi utilizado o teste ANOVA para comparação entre os grupos. Foram considerados significativos os valores de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

Foram quantificados os níveis séricos das quimiocinas CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1 e CXCL10/IP-10 nos três grupos estudados (RT1, RT2 e controle). Os resultados mostraram aumento significativo da concentração de CXCL9/MIG no grupo RT1 em comparação ao grupo controle. Já os níveis de CXCL8/IL-8 foram significativamente mais elevados no grupo RT2 em relação tanto ao grupo RT1 quanto ao grupo controle (Figura 13).

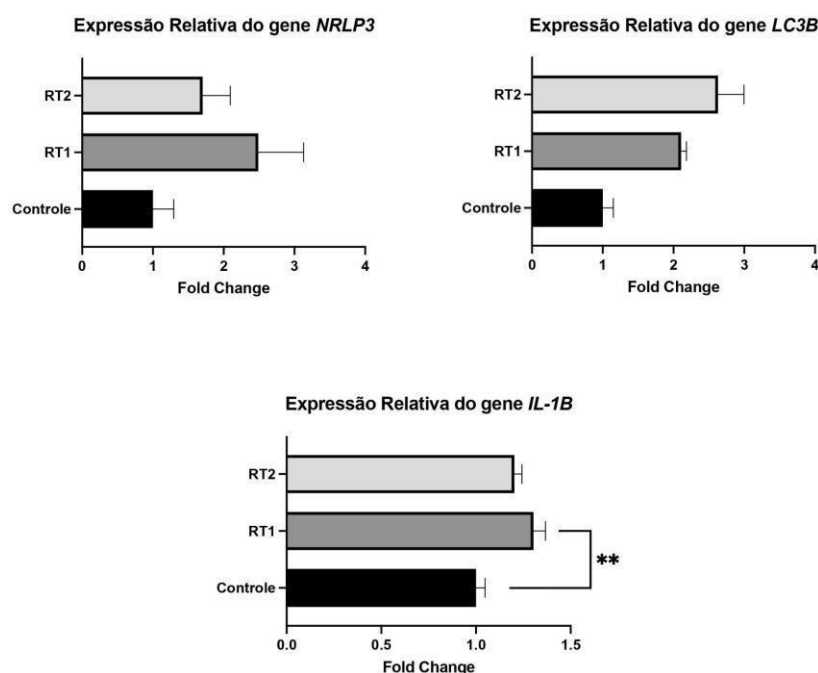
Figura 15: Análise das quimiocinas CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1 e CXCL10/IP-10 no soro de pacientes com reação tipo 1 (RT1), reação tipo 2 (RT2) e controle. Os gráficos representam a média dos níveis detectáveis em pg/mL por grupos e $p < 0,05$.



Fonte: autor (2025)

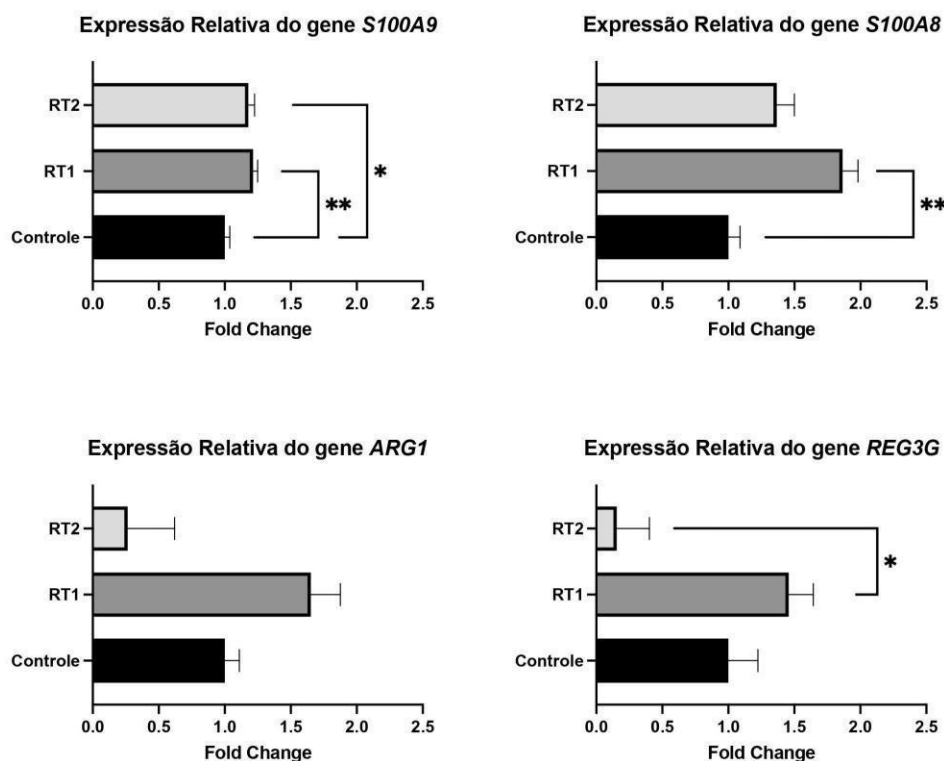
Também foi avaliada a expressão gênica de moléculas associadas à resposta inflamatória e ao processo autofágico. Observou-se uma tendência de aumento da expressão de NLRP3 no grupo RT1, além de um aumento significativo na expressão de IL-1B nesse grupo em comparação ao controle. No grupo RT2, identificou-se uma tendência de aumento da expressão de LC3B quando comparado aos grupos RT1 e controle (Figura 14).

Figura 16: Expressão relativa de *NLRP3*, *LC3B* e *IL1B* nos grupos Controle, RT1 e RT2. Os dados são apresentados como média $\pm$ SEM. Diferenças estatisticamente significativas foram indicadas por $p < 0,05$.



Adicionalmente, avaliou-se a expressão dos genes *S100A8* e *S100A9*, associados à inflamação. Ambos apresentaram níveis aumentados nos grupos reacionais em comparação ao grupo controle, sendo esse aumento mais evidente no grupo RT1. Foi observada, também, uma tendência de aumento na expressão do gene *ARG1* no grupo RT1, além de um aumento significativo na expressão de *REG3G* nesse mesmo grupo em comparação ao RT2. (Figura 15).

Figura 17: Expressão relativa de *S100A9*, *S100A8*, *ARG1* e *REG3G* nos grupos Controle, RT1 e RT2. Os dados são apresentados como média $\pm$ SEM. Diferenças estatisticamente significativas foram indicadas por $p < 0,05$.



6. DISCUSSÃO

Estudos prévios realizados pelo nosso grupo de pesquisa demonstraram uma maior expressão de moléculas associadas ao processo autofágico e à resposta inflamatória, como caspase-1, LC3B, LAMP-1, TLR2 e TLR4, em neutrófilos CD16⁺/CD15⁺/CD66b⁺ isolados de pacientes com hanseníase, especialmente no grupo RT2 em comparação ao grupo RT1 e aos indivíduos controle. Esses achados reforçaram o potencial papel dos neutrófilos na patogênese das reações hansênicas (SCHMITZ et al., 2019). Com base nesses dados, optamos por investigar a expressão de genes relacionados ao processo autofágico e à inflamação, bem como a dosagem de quimiocinas no soro de pacientes, buscando ampliar a compreensão do envolvimento de outras células e mediadores na resposta imune associada aos tipos reacionais da hanseníase.

Os neutrófilos desempenham um papel essencial na resposta imune inata, atuando na contenção de patógenos por meio da fagocitose, liberação de enzimas líticas, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e secreção de proteínas

antimicrobianas (SCHMITZ et al., 2019). Além dessas funções, os neutrófilos também são capazes de liberar armadilhas extracelulares neutrofílicas (NETs), estruturas formadas por cromatina associada a proteínas citotóxicas que atuam na imobilização e eliminação de microrganismos, facilitando sua fagocitose (GALKINA et al., 2020).

Na hanseníase, os neutrófilos têm participação especialmente marcante na RT2, com infiltrado difuso dessas células na derme (SAHU et al., 2021). Estudo de Lee et al. (2010) demonstrou a regulação positiva da E-selectina durante a RT2, favorecendo o recrutamento de neutrófilos. Esses dados reforçam a hipótese de um microambiente inflamatório intensamente neutrofílico durante esse tipo de reação.

Os receptores Toll-like (TLRs), especialmente o TLR2 e o TLR4, também têm papel fundamental na ativação da resposta imune inata frente a micobactérias. Esses receptores reconhecem componentes da parede celular bacteriana e induzem sinalizações pró-inflamatórias (OLIVEIRA-NASCIMENTO; MASSARI; WETZLER, 2012). Carvalho et. al. (2018) demonstrou que a expressão de TLR2 e TLR4 está aumentada em neutrófilos de pacientes com RT2 em comparação a RT1 e controles, sugerindo maior ativação dessas vias na RT2, o que pode contribuir para o perfil clínico mais exacerbado observado nesse grupo.

Esses dados, somados aos achados relacionados à autofagia, fundamentaram nossa decisão de investigar marcadores inflamatórios séricos e de expressão gênica, buscando entender como outros mediadores celulares participam da fisiopatologia das reações hansênicas.

A diferenciação do perfil inflamatório entre os grupos reacionais foi evidenciada pela análise das quimiocinas. O aumento de CXCL9/MIG no grupo RT1 está de acordo com o predomínio de uma resposta imune do tipo Th1 nessa reação, caracterizada pela ativação de linfócitos T CD4⁺ e macrófagos, principalmente em pacientes com formas clínicas paucibacilares (WHITE; FRANCO-PAREDES, 2015). A CXCL9, assim como a CXCL10/IP-10, é uma quimiocina induzida por IFN- γ e atua no recrutamento de células Th1, CD8⁺ e NK para os tecidos inflamatórios, reforçando a natureza celular e localizada da resposta inflamatória na RT1 (PRAKOESWA et al., 2024).

Por outro lado, a elevação significativa dos níveis séricos de CXCL8/IL-8 em pacientes com RT2 está em consonância com a intensa infiltração de neutrófilos observada nesse tipo de reação. A IL-8 é uma quimiocina com potente efeito quimiotático e ativador de neutrófilos (CAMBIER; GOUWY; PROOST, 2023), desempenhando papel central na resposta inflamatória sistêmica característica da

RT2. Pacheco et al. (2020) demonstrou que neutrófilos estimulados com *M. leprae* *in vitro* produzem grandes quantidades de IL-8, o que pode contribuir para a inflamação sistêmica observada no eritema nodoso hansênico (ENH) e possivelmente estar associado à liberação de NETs.

A análise da expressão gênica no sangue total desses pacientes demonstrou uma tendência de aumento da expressão de LC3B no grupo RT2, em comparação aos grupos RT1 e controle. Embora essa diferença não tenha alcançado significância estatística, pode sugerir uma ativação mais pronunciada do processo autofágico em pacientes com RT2.

No entanto, é importante considerar que o aumento de LC3B também pode estar relacionado à NETose. Estudos como o de Guo et al. (2021) demonstraram que a indução da autofagia favorece a liberação espontânea de NETs, sendo a proteína LC3B identificada nessas estruturas. Isso sugere uma possível inter-relação entre os dois processos, o que é relevante ao se considerar que o grupo RT2 apresenta um infiltrado inflamatório predominantemente composto por neutrófilos.

Além disso, da Silva et al. (2019) demonstraram que *M. leprae* é capaz de induzir a formação de NETs *in vitro*, e que pacientes com RT2 apresentam uma formação exacerbada dessas estruturas tanto em lesões cutâneas quanto no sangue periférico. Esse fenômeno foi associado à liberação maciça de bacilos mortos após o início do tratamento, o que contribui para a ativação intensa dos neutrófilos.

Assim, ainda que a tendência de aumento de LC3B possa indicar ativação autofágica, também pode refletir um aumento da NETose em pacientes com RT2, considerando o contexto inflamatório neutrofílico característico dessa reação. Esses achados reforçam a complexidade das vias envolvidas na resposta exacerbada observada nesse grupo.

A ativação da resposta imune inata frente ao *M. leprae* ocorre, em grande parte, por meio do reconhecimento da bactéria por receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), como os receptores semelhantes a NOD (NLRs), especialmente os membros da família NLRP (LATZ; XIAO; STUTZ, 2013). Esses receptores formam inflamassomos, complexos proteicos que, ao detectar sinais de infecção ou dano tecidual, ativam a caspase-1, levando à clivagem da pró-IL-1 β e à liberação da forma ativa da citocina inflamatória IL-1 β (GUO; CALLAWAY; TING, 2015). O NLRP3 é o inflamassoma mais bem caracterizado, e seu papel na resposta inflamatória já foi demonstrado em diferentes doenças infecciosas (HE; HARA; NÚÑEZ, 2016). No

presente trabalho, observamos um aumento significativo da expressão de IL-1B, bem como uma tendência de aumento de NLRP3 no grupo RT1, o que pode indicar um papel ativo desse complexo na fisiopatologia das reações do tipo 1.

No que se refere à ativação do inflamassoma, observamos uma tendência de aumento na expressão de NLRP3 no grupo RT1. Embora a ativação desse complexo inflamatório já tenha sido descrita em formas virchowiana da hanseníase (SILVA et al., 2018), ainda há poucos estudos investigando sua participação nos estados reacionais. A utilização de amostras de sangue total em nosso estudo pode ter influenciado os resultados, já que a ativação do inflamassoma pode ocorrer de forma distinta entre compartimentos teciduais e circulantes. Outros fatores, como o tempo de infecção, variações na resposta imune e comorbidades, também podem interferir na expressão gênica observada. Destaca-se, contudo, que também identificamos um aumento significativo da expressão de IL-1B no grupo RT1 em comparação ao controle. Considerando que IL-1B é um dos principais produtos do inflamassoma ativado, esses dados sugerem que o complexo NLRP3 pode estar funcional nesse grupo, embora a via ainda seja pouco explorada e permaneça controversa no contexto da hanseníase (MENDES et al., 2020). Estudos adicionais comparando tecidos e sangue periférico são necessários para aprofundar esse entendimento.

A família de proteínas S100, especialmente os membros S100A8 e S100A9, tem sido amplamente associada a processos inflamatórios, atuando como importantes reguladores da resposta imune inata. Essas proteínas são liberadas principalmente por neutrófilos e monócitos em contextos de inflamação aguda e crônica, sendo capazes de modular a produção de citocinas inflamatórias, espécies reativas de oxigênio (ROS) e óxido nítrico (NO), além de promover o recrutamento de células do sistema imune para o sítio inflamatório. Em ambientes ricos em cálcio, essas proteínas formam estruturas mais estáveis, como homodímeros e heterodímeros, aumentando sua atividade funcional (WANG et al., 2023).

Além de sua atuação inflamatória, S100A8/A9 também apresenta propriedades antimicrobianas, mediadas por sua capacidade de sequestrar íons metálicos essenciais como Zn^{2+} e Mn^{2+} , restringindo assim a disponibilidade desses nutrientes às bactérias e dificultando sua proliferação. Essa estratégia, conhecida como “imunidade nutricional”, é uma das formas pelas quais o hospedeiro limita o crescimento bacteriano nas fases iniciais da infecção (WANG et al., 2018).

No contexto das reações hansênicas, caracterizadas por intensa ativação do

sistema imune frente ao *M. leprae* (MODLIN, 1994), a maior expressão dessas proteínas nos grupos reacionais pode refletir o estado inflamatório exacerbado nesses pacientes. O aumento mais pronunciado da S100A8 observado no grupo RT1 sugere, além disso, um possível papel dessas proteínas na resposta antimicrobiana frente ao *M. leprae*, aspecto ainda pouco explorado na literatura e que merece ser investigado em estudos futuros.

Além das proteínas S100, outro marcador que pode contribuir para a compreensão dos mecanismos imunológicos associados às reações hansênicas é a arginase-1 (*ARG1*), uma enzima envolvida no metabolismo da L-arginina, com impacto direto na modulação da resposta inflamatória e da função de macrófagos (NIU et al., 2022).

Nosso grupo de pesquisa atualmente conduz um estudo longitudinal com contatos de pacientes com hanseníase, do qual a aluna deste trabalho também faz parte, no qual se investiga a arginase como um potencial biomarcador de proteção. Da Silva Prata et al. (2022), demonstrou que a expressão e a atividade da arginase estão aumentadas em contatos que não desenvolveram a doença, sugerindo um papel protetor contra sua progressão, com sensibilidade de 90% e especificidade de 96,7%.

Com base nesse contexto, avaliamos a expressão do gene *ARG1* nos grupos reacionais e em indivíduos controle e observamos uma tendência de aumento no grupo RT1. Este achado pode estar relacionado ao perfil imunológico da RT1, geralmente marcado por uma resposta celular mais eficiente e inflamatória, que atua no controle da replicação do *M. leprae*, ao contrário do perfil mais supressor observado em outras formas clínicas da doença (DEWI et al., 2023).

Ainda no contexto de marcadores associados à modulação da resposta imune e à contenção da infecção, também investigamos a expressão do gene *REG3G*, que apresentou aumento significativo no grupo RT1 em comparação ao grupo RT2. Embora essa proteína seja amplamente estudada no contexto intestinal, onde atua na defesa contra bactérias gram-positivas e na manutenção da integridade da barreira epitelial (SHIN et al., 2022), sua indução nesse grupo pode estar relacionada à ativação da resposta imune contra *M. leprae*.

A *REG3G* está associada à ativação de vias dependentes de TLR-MyD88, um importante eixo de reconhecimento do bacilo e de ativação da resposta inflamatória (SHIN; BOZADJIEVA-KRAMER; SEELEY, 2023). Nesse sentido, sua elevação na

RT1 pode refletir uma tentativa do sistema imune em controlar a infecção de forma mais eficaz, alinhando-se ao perfil celular dominante nessa forma de reação. Apesar disso, devido ao número limitado de amostras analisadas, é fundamental que estudos futuros explorem mais profundamente o papel da *REG3G* na hanseníase, a fim de compreender melhor sua possível função como modulador imunológico ou biomarcador da resposta inflamatória.

7. CONCLUSÃO

Este estudo teve como objetivo investigar como o *Mycobacterium leprae* pode modular mecanismos intracelulares relacionados à resposta inflamatória e à sobrevivência bacteriana, por meio da análise de expressão gênica e de quimiocinas em amostras de sangue de pacientes com hanseníase. Foram analisados genes e mediadores envolvidos nos processos de autofagia, ativação inflamatória, imunidade inata e regulação metabólica, com ênfase nos grupos reacionais RT1 e RT2, além de indivíduos controle.

Os resultados obtidos reforçam a participação ativa dos neutrófilos na fisiopatologia das reações hansênicas, especialmente na RT2, marcada por um perfil inflamatório sistêmico com elevada expressão de quimiocinas como a CXCL8. A tendência de aumento da expressão de LC3B nesse grupo sugere a ocorrência simultânea de processos autofágicos e de NETose, revelando uma complexa interação entre vias celulares que ainda precisam ser elucidadas.

Na RT1, observamos um perfil inflamatório distinto, com aumento da expressão de IL-1B e tendência de elevação de NLRP3, sugerindo possível ativação do inflamassoma. Adicionalmente, os genes ARG1 e REG3G apresentaram maior expressão nesse grupo, indicando seu potencial papel na modulação da resposta imune e na contenção da infecção pelo *M. leprae*. Ainda que essas vias tenham sido pouco exploradas até o momento no contexto da hanseníase, nossos achados apontam para um possível uso dessas moléculas como biomarcadores inflamatórios ou protetores.

A expressão aumentada de S100A8 e S100A9 nos grupos reacionais também sugere uma contribuição dessas proteínas para o ambiente inflamatório e possivelmente para a defesa antimicrobiana, alinhando-se a achados prévios que destacam sua atuação em doenças infecciosas crônicas. Diante desses dados, este

trabalho contribui para o aprofundamento do conhecimento sobre a imunopatogênese das reações hansênicas, destacando a importância da investigação de novos mediadores celulares além dos macrófagos tradicionalmente estudados.

Como perspectivas futuras, propomos a ampliação do número de amostras analisadas para validação dos biomarcadores identificados e a exploração funcional do papel dos neutrófilos na RT2, especialmente no contexto da NETose. Além disso, a REG3G e a ARG1 demonstraram potencial promissor como biomarcadores terapêuticos, e merecem ser avaliadas em estudos futuros com foco em sua aplicabilidade clínica.

REFERÊNCIAS

- ARMSTRONG, J. A.; HART, P. D. Response of cultured macrophages to *Mycobacterium tuberculosis*, with observations on fusion of lysosomes with phagosomes. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 134, n. 3 Pt 1, p. 713–740, 1 set. 1971.
- ALREHAILI, J. Leprosy Classification, Clinical Features, Epidemiology, and Host Immunological Responses: Failure of Eradication in 2023. **Cureus**, v. 15, n. 9, p. e44767, 6 set. 2023.
- BRITO, M. DE F. DE M. et al. Association between leprosy reactions after treatment and bacterial load evaluated using anti PGL-I serology and bacilloscopy. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, v. 41 Suppl 2, p. 67–72, 2008.
- CAMBIER, Seppe; GOUWY, Mieke; PROOST, Paul. The chemokines CXCL8 and CXCL12: molecular and functional properties, role in disease and efforts towards pharmacological intervention. **Cellular and Molecular Immunology**, v. 20, n. 3, p. 217–251, mar. 2023.
- CARVALHO, J. C. DE et al. Phenotypic and functional features of innate and adaptive immunity as putative biomarkers for clinical status and leprosy reactions. **Microbial Pathogenesis**, v. 125, p. 230–239, 1 dez. 2018.
- CERQUEIRA, D. D. N. et al. Xenophagy as a Strategy for *Mycobacterium leprae* Elimination during Type 1 or Type 2 Leprosy Reactions: A Systematic Review. **Pathogens (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 12, p. 1455, 15 dez. 2023.
- CHEN, K.-H. et al. Leprosy: A Review of Epidemiology, Clinical Diagnosis, and Management. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2022, p. 8652062, 4 jul. 2022.
- COSTA, R. D. et al. Evaluation of the expression of interleukin 1 beta (IL-1 β) and interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra) in leprosy patients. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, p. 99–103, 2008.
- CUERVO, A. M.; DICE, J. F. Regulation of lamp2a levels in the lysosomal membrane. **Traffic (Copenhagen, Denmark)**, v. 1, n. 7, p. 570–583, jul. 2000.
- DA SILVA, C. O. et al. Neutrophil extracellular traps contribute to the pathogenesis of leprosy type 2 reactions. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 13, n. 9, p. e0007368, set. 2019.

DA SILVA PRATA, R. B. et al. Arginase 1 is a marker of protection against illness in contacts of leprosy patients. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 7850, 12 maio 2022.

DE MATTOS BARBOSA, M. G. et al. Autophagy Impairment Is Associated With Increased Inflammasome Activation and Reversal Reaction Development in Multibacillary Leprosy. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1223, 4 jun. 2018.

DEWI, D. A. R. et al. Immunopathogenesis of Type 1 and Type 2 Leprosy Reaction: An Update Review. **Cureus**, v. 15, n. 11, p. e49155, 21 nov. 2023.

DIBBLE, C. C.; CANTLEY, L. C. Regulation of mTORC1 by PI3K Signaling. **Trends in cell biology**, v. 25, n. 9, p. 545–555, set. 2015.

DOS SANTOS, D. S. et al. Chemoprophylaxis of leprosy with rifampicin in contacts of multibacillary patients: study protocol for a randomized controlled trial. **Trials**, v. 19, p. 244, 23 abr. 2018.

EICHELMANN, K. et al. Leprosy. An Update: Definition, Pathogenesis, Classification, Diagnosis, and Treatment. **Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)**, v. 104, n. 7, p. 554–563, 1 set. 2013.

ESKELINEN, E.-L. Roles of LAMP-1 and LAMP-2 in lysosome biogenesis and autophagy. **Molecular Aspects of Medicine**, Autophagy. v. 27, n. 5, p. 495–502, 1 out. 2006.

FOELL, Dirk *et al.* S100 proteins expressed in phagocytes: a novel group of damage-associated molecular pattern molecules. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 81, n. 1, p. 28–37, 1 jan. 2007.

FONSECA, A. B. DE L. et al. The influence of innate and adaptive immune responses on the differential clinical outcomes of leprosy. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 6, n. 1, p. 5, 6 fev. 2017.

FROES, L. A. R.; SOTTO, M. N.; TRINDADE, M. A. B. Leprosy: clinical and immunopathological characteristics. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 97, n. 3, p. 338–347, 2022.

GALKINA, S. I. et al. Cytonemes Versus Neutrophil Extracellular Traps in the Fight of Neutrophils with Microbes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 2, p. 586, 16 jan. 2020.

GUO, Y. et al. Spontaneous formation of neutrophil extracellular traps is associated with autophagy. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 24005, 14 dez. 2021.

GUO, H.; CALLAWAY, J. B.; TING, J. P.-Y. Inflammasomes: Mechanism of Action, Role in Disease, and Therapeutics. **Nature medicine**, v. 21, n. 7, p. 677–687, jul. 2015.

HAN, X. Y.; SILVA, F. J. On the Age of Leprosy. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 2, p. e2544, 13 fev. 2014.

HAMBRIDGE, T. et al. *Mycobacterium leprae* transmission characteristics during the declining stages of leprosy incidence: A systematic review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 5, p. e0009436, 26 maio 2021.

HATO, T.; DAGHER, P. C. How the Innate Immune System Senses Trouble and Causes Trouble. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology : CJASN**, v. 10, n. 8, p. 1459–1469, 7 ago. 2015.

HE, Y.; HARA, H.; NÚÑEZ, G. Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation. **Trends in biochemical sciences**, v. 41, n. 12, p. 1012–1021, dez. 2016.

HESTVIK, A. L. K.; HMAMA, Z.; AV-GAY, Y. Mycobacterial manipulation of the host cell. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 29, n. 5, p. 1041–1050, 1 nov. 2005.

HOSSAIN, MD. M.; NORAZMI, M.-N. Pattern Recognition Receptors and Cytokines in Mycobacterium tuberculosis Infection—The Double-Edged Sword? **BioMed Research International**, v. 2013, p. 179174, 2013.

HU, W.; SPAINK, H. P. The Role of TLR2 in Infectious Diseases Caused by Mycobacteria: From Cell Biology to Therapeutic Target. **Biology**, v. 11, n. 2, p. 246, 5 fev. 2022.

HUBERT, V. et al. Modulating Chaperone-Mediated Autophagy and Its Clinical Applications in Cancer. **Cells**, v. 11, n. 16, p. 2562, 17 ago. 2022.

HUYNH, K. K. et al. LAMP proteins are required for fusion of lysosomes with phagosomes. **The EMBO Journal**, v. 26, n. 2, p. 313–324, 24 jan. 2007.

HUYNH, K. K.; GRINSTEIN, S. Regulation of Vacuolar pH and Its Modulation by Some Microbial Species. **Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR**, v. 71, n. 3, p. 452–462, set. 2007.

KAPSENBERG, M. L. Dendritic-cell control of pathogen-driven T-cell polarization. **Nature Reviews Immunology**, v. 3, n. 12, p. 984–993, dez. 2003.

KIM, Y. S. et al. Autophagy-activating strategies to promote innate defense against mycobacteria. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 51, n. 12, p. 1–10, 1 dez. 2019.

KLIONSKY, D. J. et al. Autophagy in major human diseases. **The EMBO Journal**, v. 40, n. 19, p. e108863, 1 out. 2021.

LAPLANTE, M.; SABATINI, D. M. mTOR signaling in growth control and disease. **Cell**, v. 149, n. 2, p. 274–293, 13 abr. 2012.

LATZ, E.; XIAO, T. S.; STUTZ, A. Activation and regulation of the inflammasomes. **Nature reviews. Immunology**, v. 13, n. 6, p. 10.1038/nri3452, jun. 2013.

LEE, D. J. et al. Integrated pathways for neutrophil recruitment and inflammation in leprosy. **The Journal of infectious diseases**, v. 201, n. 4, p. 558–569, 15 fev. 2010.

LEON, K. E. et al. Delayed Diagnosis, Leprosy Reactions, and Nerve Injury Among Individuals With Hansen's Disease Seen at a United States Clinic. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 3, n. 2, p. ofw063, 25 mar. 2016.

LEVINE, B.; DERETIC, V. Unveiling the roles of autophagy in innate and adaptive immunity. **Nature Reviews. Immunology**, v. 7, n. 10, p. 767–777, 2007.

LEVINE, B.; MIZUSHIMA, N.; VIRGIN, H. W. Autophagy in immunity and inflammation. **Nature**, v. 469, n. 7330, p. 323–335, jan. 2011.

LUO, Y. et al. Host-Related Laboratory Parameters for Leprosy Reactions. **Frontiers in Medicine**, v. 8, 22 out. 2021.

NEGERA, E. et al. Clinico-pathological features of erythema nodosum leprosum: A case-control study at ALERT hospital, Ethiopia. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 10, p. e0006011, 13 out. 2017.

NERY, J. A. DA C. et al. Understanding the type 1 reactional state for early diagnosis and treatment: a way to avoid disability in leprosy. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 88, n. 5, p. 787–792, 2013.

MARTINON, F.; BURNS, K.; TSCHOPP, J. The Inflammasome: A Molecular Platform Triggering Activation of Inflammatory Caspases and Processing of proIL- β . **Molecular Cell**, v. 10, n. 2, p. 417–426, 1 ago. 2002.

MAYMONE, M. B. C. et al. Leprosy: Clinical aspects and diagnostic techniques. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 83, n. 1, p. 1–14, 1 jul. 2020a.

MAYMONE, M. B. C. et al. Leprosy: Treatment and management of complications. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 83, n. 1, p. 17–30, 1 jul. 2020b.

MENDES, A. L. G. et al. Expression of NLRP3 inflammasome in leprosy indicates immune evasion of Mycobacterium leprae. **Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 115, p. e190324, 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (2021). **Boletim Epidemiológico Hanseníase 2021**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/especiais/2021/boletim-hansenia-se_-25-01.pdf/view>. Acesso em: 11 dez. 2024.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (2023). **Casos novos de hanseníase por estados, regiões e Brasil - 2010 – 2023**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/h/hansenia-se/situacao-epidemiologica/dados-epidemiologicos/casos-novos-de-hansenia-se-por-estados-regioes-e-brasil-2010-2023/view>>. Acesso em: 7 mar. 2025.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Hanseníase no Brasil – Indicadores em menores de 15 anos, 2024**. Disponível em: <<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrljoiZjk4MGYwODctOGQxZC00MWJjLWI2ZTI0OTMxZDVmMTUzMGIxliwidCI6IjIhNTU0YWQzLWI1MmItNDg2Mi1hMzZmLTg0ZDg5MWU1YzdwNSJ9>>. Acesso em: 7 mar. 2025.

MI, Z.; LIU, H.; ZHANG, F. Advances in the Immunology and Genetics of Leprosy. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 16 abr. 2020.

MIZUSHIMA, N.; KOMATSU, M. Autophagy: Renovation of Cells and Tissues. **Cell**, v. 147, n. 4, p. 728–741, 11 nov. 2011.

MODLIN, R. L. Th1-Th2 Paradigm: Insights from Leprosy. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 102, n. 6, p. 828–832, 1 jun. 1994.

MODLIN, R. L. The innate immune response in leprosy. **Current opinion in immunology**, v. 22, n. 1, p. 48–54, fev. 2010.

MUNGROO, M. R.; KHAN, N. A.; SIDDIQUI, R. *Mycobacterium leprae* : Patogênese, diagnóstico e opções de tratamento. **Microbial Pathogenesis**, v. 149, p. 104475, 1 dez. 2020.

NIU, F. Arginase: An emerging and promising therapeutic target for cancer treatment. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 149, p. 112840, 1 maio 2022.

OLIVEIRA-NASCIMENTO, L.; MASSARI, P.; WETZLER, L. M. The Role of TLR2 in Infection and Immunity. **Frontiers in Immunology**, v. 3, p. 79, 18 abr. 2012.

PACHECO, F. S. et al. Erythema Nodosum Leprosum Neutrophil Subset Expressing IL-10R1 Transmigrates into Skin Lesions and Responds to IL-10. **ImmunoHorizons**, v. 4, n. 2, p. 47–56, 8 fev. 2020.

PAPASEIT, E.; FARRÉ, M.; GARCIA-ALGAR, Ó. Thalidomide, the story goes on. **Anales de Pediatría (English Edition)**, v. 98, n.6, p. 490–491, 1 jun.2023.

PARZYCH, K. R.; KLIONSKY, D. J. An Overview of Autophagy: Morphology, Mechanism, and Regulation. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 20, n. 3, p. 460–473, 20 jan. 2014.

PRAKOESWA, Flora Ramona Sigit *et al.* The role of CXCL10 as a biomarker for immunological response among patients with leprosy: a systematic literature review. **PeerJ**, v. 12, p. e17170, 5 abr. 2024.

REIBEL, F.; CAMBAU, E.; AUBRY, A. Update on the epidemiology, diagnosis, and treatment of leprosy. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 45, n. 9, p. 383–393, 1 set. 2015.

RIDLEY, D. S.; JOPLING, W. H. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. **International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases: Official Organ of the International Leprosy Association**, v. 34, n. 3, p. 255–273, 1966.

REIBEL, F.; CAMBAU, E.; AUBRY, A. Update on the epidemiology, diagnosis, and treatment of leprosy. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 45, n. 9, p. 383–393, 1 set. 2015.

RÖLTGEN, K. et al. The immunology of other mycobacteria: *M. ulcerans*, *M. leprae*. **Seminars in Immunopathology**, v. 42, n.3, p. 333–353, 2020.

SAHU, S. et al. Neutrophil NETworking in ENL: Potential as a Putative Biomarker: Future Insights. **Frontiers in Medicine**, v. 8, p. 697804, 14 jul. 2021.

SARATH, I. M.; JOSEPH, N. M.; JAMIR, I. Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction for Detection of *Mycobacterium leprae* DNA in Tissue Specimens from Patients with Leprosy. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 109, n. 2, p. 345–349, ago. 2023.

SARODE, G. et al. Epidemiological aspects of leprosy. **Disease-a-Month**, Leprosy: A special Issue. v. 66, n. 7, p. 100899, 1 jul. 2020.

SAXTON, R. A.; SABATINI, D. M. mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. **Cell**, v. 168, n. 6, p. 960–976, 9 mar. 2017.

SCHMITZ, V. et al. Neutrophils in Leprosy. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 495, 19 mar. 2019.

SCHRODER, Kate; TSCHOPP, Jurg. The Inflammasomes. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 821–832, 19 mar. 2010.

SCOLLARD, D. M. et al. The Continuing Challenges of Leprosy. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 19, n. 2, p. 338–381, abr. 2006.

SCOLLARD, D. M. et al. Increased CXC ligand 10 levels and gene expression in type 1 leprosy reactions. **Clinical and vaccine immunology: CVI**, v. 18, n. 6, p. 947–953, jun. 2011.

SILVA, B. J. A. et al. Autophagy Is an Innate Mechanism Associated with Leprosy Polarization. **PLoS Pathogens**, v. 13, n. 1, p. e1006103, 5 jan. 2017.

SILVA, L. M. et al. The inflammasome in leprosy skin lesions: an immunohistochemical evaluation. **Infection and Drug Resistance**, v. 11, p. 2231–2240, 12 nov. 2018.

SIMÕES QUARESMA, J. A. et al. CD1a and factor XIIIa immunohistochemistry in leprosy: a possible role of dendritic cells in the pathogenesis of *Mycobacterium leprae* infection. **The American Journal of Dermatopathology**, v. 31, n. 6, p. 527–531, ago. 2009.

SINSIMER, D. et al. *Mycobacterium leprae* Actively Modulates the Cytokine Response in Naïve Human Monocytes. **Infection and Immunity**, v. 78, n. 1, p. 293–300, jan. 2010.

SHIN, J. H. et al. The gut peptide Reg3g links the small intestine microbiome to the regulation of energy balance, glucose levels, and gut function. **Cell metabolism**, v. 34, n. 11, p. 1765–1778.e6, 1 nov. 2022.

SHIN, J. H.; BOZADJIEVA-KRAMER, N.; SEELEY, R. J. Reg3γ: current understanding and future therapeutic opportunities in metabolic disease. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 55, n. 8, p. 1672–1677, 1 ago. 2023.

SOUZA, L. W. F. Leprosy reactions in discharged patients following cure by multidrug therapy. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, v. 43, n. 6, p. 737–739, 2010.

SUGAWARA-MIKAMI, M. et al. Pathogenicity and virulence of *Mycobacterium leprae*. **Virulence**, v. 13, n. 1, p. 1985–2011, 31 dez. 2022.

TALHARI, C.; TALHARI, S.; PENNA, G. O. Clinical aspects of leprosy. **Clinics in Dermatology**, Leprosy: I. v. 33, n. 1, p. 26–37, 1 jan. 2015.

VIA, L. E. et al. Arrest of Mycobacterial Phagosome Maturation Is Caused by a Block in Vesicle Fusion between Stages Controlled by rab5 and rab7 *. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 20, p. 13326–13331, 16 maio 1997.

WANG, S. et al. S100A8/A9 in Inflammation. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1298, 2018.

WEICHHART, T. et al. The TSC-mTOR Signaling Pathway Regulates the Innate Inflammatory Response. **Immunity**, v. 29, n. 4, p. 565–577, 17 out. 2008.

WHITE, C.; FRANCO-PAREDES, C. Leprosy in the 21st Century. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 1, p. 80–94, jan. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (1998). **Expert Committee on Leprosy: seventh report**, 1998. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42060/WHO?sequence=1>>. Acesso em: 11 dez. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2018). Diretrizes para o diagnóstico, tratamento e prevenção da hanseníase. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274127/9789290226383-eng.pdf?us=1>. Acessado em: 6 mar. 2025

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2022). **Number of new leprosy cases**. Disponível em: <<https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/number-of-new-leprosy-cases>>. Acesso em: 11 dez. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2024). **Number of new leprosy cases**. Disponível em: <<https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/number-of-new-leprosy-cases>>. Acesso em: 7 mar. 2025.

WYNN, T. A.; CHAWLA, A.; POLLARD, J. W. Origins and Hallmarks of Macrophages: Development, Homeostasis, and Disease. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 445–455, 25 abr. 2013.

XIA, P. Roles of S100A8, S100A9 and S100A12 in infection, inflammation and immunity. **Immunology**, v. 171, n. 3, p. 365–376, 2024.

YIM, W. W. Y.; MIZUSHIMA, N. Lysosome biology in autophagy. **Cell Discovery**, v. 6, p. 6, 11 fev. 2020.

YORIMITSU, T.; KLIONSKY, D. Autophagy: molecular machinery for self-eating. **Cell death and differentiation**, v. 12, n. Suppl 2, p. 1542–1552, nov. 2005.

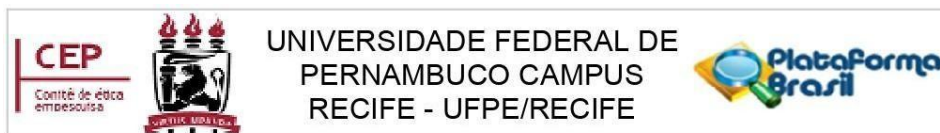
YOSHIOKA, Y. Neutrophils and the S100A9 protein critically regulate granuloma formation. **Blood Advances**, v. 1, n. 3, p. 184–192, 14 dez. 2016.

ZACKULAR, J. P.; CHAZIN, W. J.; SKAAR, E. P. Nutritional Immunity: S100 Proteins at the Host-Pathogen Interface. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 290, n. 31, p. 18991–18998, 31 jul. 2015.

ANEXOS

ANEXO A

Cópia do parecerdo Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Perfil Imunológico, Estratégias de Diagnóstico e Melhoria nos Cuidados aos Pacientes Hansenícos nos Municípios de Caruaru, Cabo de Santo Agostinho e Recife - PE

Pesquisador: PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 50480121.0.0000.5208

Instituição Proponente: LABORATÓRIO DE IMUNOPATOLOGIA KEISO ASAMI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
FUNDAÇÃO DE AMPARO A CIÊNCIA E TECNOLOGIA - FACEPE

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.420.432

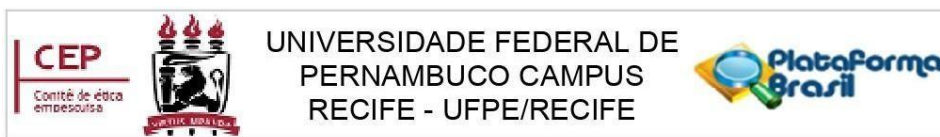
Apresentação do Projeto:

Trata-se de Emenda para a inclusão da cidade do Recife, Hospital das Clínicas - UFPE, a Unidade Sentinela de Referência para Resistência à Multidrogaterapia em Hanseníase do

Estado, localizada no Núcleo de Ciências da Vida – CAA/UFPE em Caruaru. Houve também a inclusão de novos pesquisadores bem como uma solicitação para prorrogação do cronograma de coleta de amostras para março de 2024. Solicita também a inclusão de marcadores da via da autofagia para a análise dos neutrófilos.

O projeto trata de uma pesquisa intitulada Perfil Imunológico, Estratégias de Diagnóstico e Melhoria nos Cuidados aos Pacientes Hansenícos nos Municípios de Caruaru, Cabo de Santo Agostinho e Recife - PE ", à qual será desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde. A responsável principal é a doutora Patrícia dEmery Alves Santos, que será supervisionada pelo Professor Fabrício Oliveira Souto e terá como colaboradores as Professoras Valdênia Maria Oliveira de Souza, Vláudia Maria Assis Costa, Virgínia Maria Barros de Lorena, Michelle Christiane da Silva Rabello e os médicos dermatologistas Francisco Bezerra de Almeida Neto, Mecciene Mendes Rodrigues, Maria de Fátima de Medeiros Brito, Márcia Helena de Oliveira e dra. Aline Mendonça Galvão de Carvalho Aguiar. O projeto foi idealizado com base na hipótese de que a "implementação in loco dos testes de ELISA

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 6.420.432

e qPCR para Hanseníase, além da avaliação da relação de resistência terapêutica com a presença do *Mycobacterium lepromatosis* e a correlação Hanseníase x COVID-19, podem trazer melhorias nos cuidados aos pacientes hansênicos nos municípios de Caruaru, Cabo de Santo Agostinho e Recife – PE.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Implementar in loco os testes diagnósticos para Hanseníase, além de avaliar em pacientes hansênicos, nos municípios de Caruaru, Cabo de Santo Agostinho e Recife – PE, a relação de resistência terapêutica com a presença do *Mycobacterium lepromatosis* e a correlação Hanseníase x COVID-19.

Objetivo Secundário:

1. Padronizar os testes diagnósticos de ELISA e qPCR in loco, objetivando diminuir o tempo de espera de até 8 meses dos resultados, usando como comparativo os resultados emitidos pelos Centros de Referência Nacional para Hanseníase;
2. Identificar por PCR a presença ou não do *Mycobacterium lepromatosis* em amostras de pacientes hansênicos nos municípios de Caruaru, Cabo de Santo Agostinho e Recife - PE, buscando correlacionar sua presença com os casos de resistência ao tratamento;
3. Estabelecer um perfil imunológico nos pacientes hansênicos co-infectados pelo SARS-CoV-2, através da quantificação das citocinas pró- e anti-inflamatórias e presença dos neutrófilos, associando ao desfecho favorável ou negativo (morte) observado.

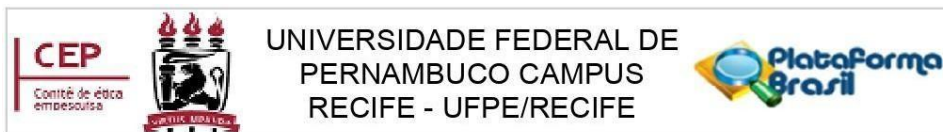
Avaliação dos Riscos e Benefícios:

"Riscos:

Os riscos diretos da sua participação na pesquisa estão relacionados às coletas das amostras, podendo aparecer um hematoma (mancha arroxeadada) no local da coleta do sangue ou um leve sangramento no momento da biópsia, porém todas as etapas serão realizadas por profissionais qualificados minimizando as chances de acontecer qualquer problema. Indiretamente, o fato de que serão coletadas informações suas através do seu prontuário médico, pode lhe causar um certo receio de que você seja identificado em algum momento. Porém, seus dados serão tratados de maneira confidencial, com padrões profissionais de sigilo e precaução por parte de todos os envolvidos neste estudo. Esse trabalho segue as normas éticas das resoluções 466/12 do CNS.

Benefícios:

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 6.420.432

Os benefícios poderão ser diretos e indiretos, caso consigamos implementar os testes diagnósticos no nosso estado Pernambuco, o que acelerará a liberação dos resultados e início dos tratamentos, muito importantes no caso da hanseníase, uma vez que o diagnóstico inadequado ou tardio geralmente leva a complicações graves. Nossos resultados também identificarão se existe a presença do *M. lepromatosis* (outro agente causador da hanseníase, mais recém-descoberto) circulando na nossa região e se ele poderia ser responsável pelos casos de pacientes que não respondem bem ao tratamento, o que direta ou indiretamente ajudará todos os pacientes com hanseníase uma vez que poderemos estabelecer melhores estratégias de tratamentos com base nos resultados que serão obtidos. Além de estudarmos a relação da hanseníase com a COVID-19, duas doenças importantes que precisamos entender melhor, para garantir melhor tratamento e qualidade de vida a você e aos outros pacientes hansenícos."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Será realizado um estudo epidemiológico de corte transversal. Para a validação dos testes diagnósticos de ELISA e qPCR, os pacientes do estudo serão submetidos a dois exames diagnósticos, o que está em estudo neste projeto e o padrão-ouro realizado pelos Serviços de Referência para Hanseníase. O desenho do estudo também permitirá identificar a presença ou não do *Mycobacterium lepromatosis* nas amostras dos pacientes, bem como esclarecer a associação entre a exposição (infecção pelo SARS-CoV-2) e a ocorrência do evento (alteração no perfil de citocinas pró-inflamatórias e neutrófilos) nos paciente hansenícosco-infectados. O estudo será realizado nos municípios de Caruaru, Jaboatão dos Guararapes e Recife-PE

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória foram apresentados.

Recomendações:

Sem Recomendações.

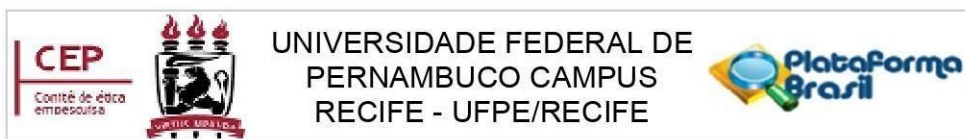
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

A emenda foi avaliada e APROVADA pelo colegiado do CEP.

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br

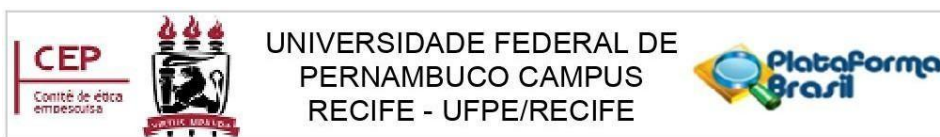


Continuação do Parecer: 6.420.432

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_2224605_E1.pdf	09/10/2023 12:39:17		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	5_Projeto.pdf	09/10/2023 12:38:12	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4c_TALE_Menores_10_a_18_Recife.pdf	09/10/2023 12:37:46	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4c_TALE_Menores_10_a_18_Caruaru.pdf	09/10/2023 12:37:37	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4c_TALE_Menores_10_a_18_Cabo.pdf	09/10/2023 12:37:28	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4b_TCLE_Responsaveis_Menores_10_a_18_Recife.pdf	09/10/2023 12:37:12	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4b_TCLE_Responsaveis_Menores_10_a_18_Caruaru.pdf	09/10/2023 12:36:55	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4b_TCLE_Responsaveis_Menores_10_a_18_Cabo.pdf	09/10/2023 12:36:43	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4a_TCLE_Maiores_18_Recife.pdf	09/10/2023 12:36:29	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4a_TCLE_Maiores_18_Caruaru.pdf	09/10/2023 12:36:18	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4a_TCLE_Maiores_18_Cabo.pdf	09/10/2023 12:36:06	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	05/10/2023 16:09:58	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Solicitação	Justificativa_de_Emenda.pdf	03/10/2023	PATRICIA D EMERY	Aceito

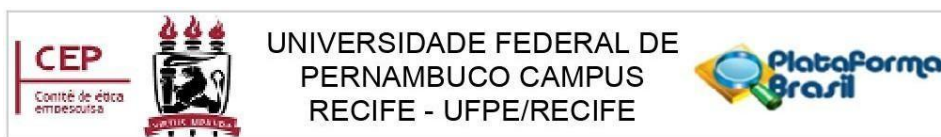
Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 6.420.432

Assinada pelo Pesquisador Responsável	Justificativa_de_Emenda.pdf	11:15:26	ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3k_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Aline_Mendonca_Galvao_de_Carvalho_Aguiar.pdf	03/10/2023 11:14:47	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3j_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Marcia_Helena_de_Oliveira.pdf	03/10/2023 11:14:13	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3i_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Maria_de_Fatima_de_Medeiros_Brito.pdf	03/10/2023 11:13:57	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3h_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Mecciene_Mendes_Rodrigues.pdf	03/10/2023 11:13:27	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	2d_Carta_de_Anuencia_HC.pdf	03/10/2023 11:08:39	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	2c_Carta_de_Anuencia_NCV_CAA_UFPE.pdf	03/10/2023 11:06:28	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Carta_de_Resposta_ao_CEP_UFPE.pdf	02/09/2021 18:21:50	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	7_Declaracao_de_Vinculo.pdf	02/08/2021 16:35:05	Patricia dEmery Alves Santos	Aceito
Declaração de Pesquisadores	6_Termo_Confidencialidade.pdf	02/08/2021 16:34:50	Patricia dEmery Alves Santos	Aceito
Declaração de Pesquisadores	3g_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Michelle_Christiane_da_Silva_Rabello.pdf	02/08/2021 16:32:37	Patricia dEmery Alves Santos	Aceito
Declaração de Pesquisadores	3f_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Virginia_Maria_Barros_de_Lorena.pdf	02/08/2021 16:32:23	Patricia dEmery Alves Santos	Aceito
Declaração de Pesquisadores	3e_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Vludia_Maria_Assis_Costa.pdf	02/08/2021 16:31:53	Patricia dEmery Alves Santos	Aceito
Declaração de Pesquisadores	3d_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Valdenia_Maria_Oliveira_de_Souza.pdf	02/08/2021 16:31:41	Patricia dEmery Alves Santos	Aceito
Declaração de Pesquisadores	3c_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Francisco_Bezerra_de_Almeida_Neto.pdf	02/08/2021 16:31:30	Patricia dEmery Alves Santos	Aceito
Declaração de Pesquisadores	3b_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Fabricio_Oliveira_Souto.pdf	02/08/2021 16:31:15	Patricia dEmery Alves Santos	Aceito
Declaração de Pesquisadores	3a_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Patricia_dEmery_Alves_Santos.pdf	02/08/2021 16:31:04	Patricia dEmery Alves Santos	Aceito

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 6.420.432

Declaração de Pesquisadores	tos.pdf	02/08/2021 16:31:04	Patrícia dEmery Alves Santos	Aceito
Outros	2b_Carta_de_Anuencia_Cabo.jpg	02/08/2021 16:25:24	Patrícia dEmery Alves Santos	Aceito
Outros	2a_Carta_de_Anuencia_Caruaru.pdf	02/08/2021 16:23:45	Patrícia dEmery Alves Santos	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

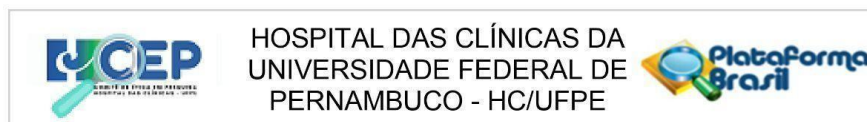
RECIFE, 10 de Outubro de 2023

Assinado por:
LUCIANO TAVARES MONTENEGRO
(Coordenador(a))

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br

ANEXO B

Cópia do parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas (HC-UFPE)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Perfil Imunológico, Estratégias de Diagnóstico e Melhoria nos Cuidados aos Pacientes Hansênicos nos Municípios de Caruaru, Cabo de Santo Agostinho e Recife - PE

Pesquisador: PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 50480121.0.3001.8807

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
FUNDACAO DE AMPARO A CIENCIA E TECNOLOGIA - FACEPE

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.754.499

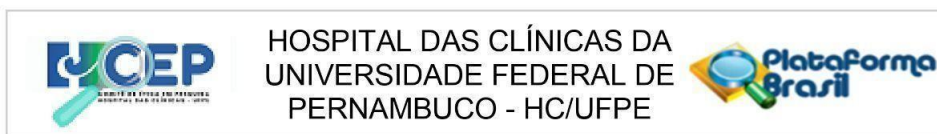
Apresentação do Projeto:

Projeto de Pós-doutorado em Biologia sobre Perfil Imunológico, Estratégias de Diagnóstico e Melhoria nos Cuidados aos Pacientes Hansênicos nos Municípios de Caruaru, Cabo de Santo Agostinho e Recife - PE sob a supervisão de Dr. Fabrício Oliveira Souto.

Introdução:

A hanseníase ou lepra, doença infecciosa crônica causada pelo parasita intracelular *Mycobacterium leprae* e pelo mais recém-descoberto *Mycobacterium lepromatosis*, afeta humanos há mais de 4.000 anos e ainda hoje é uma doença estigmatizada (Han & Silva, 2014). Apesar das melhorias significativas no tratamento da hanseníase e nas perspectivas para os pacientes desde a introdução da poliquimioterapia (PQT) no início dos anos 1980, um número considerável de novos casos ainda está aparecendo em vários países do Sudeste Asiático, América, África, Pacífico Oriental e Mediterrâneo Ocidental. Cerca de 80% dos novos casos globais vêm da Índia, Brasil e Indonésia. Com o Brasil ocupando o segundo lugar em número absoluto de casos, atrás somente da Índia (White & Franco-Paredes, 2015; Sarode et al., 2020).

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, 1235, Bloco C, 3º andar do prédio principal, Ala Norte, 1ª sala à esquerda do
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 **E-mail:** cepsh.hc-ufpe@ebserh.gov.br



Continuação do Parecer: 6.754.499

Metodologia:

Estudo de coorte transversal.

Local do estudo:

O estudo será realizado no município de Caruaru, Cabo de Santo Agostinho e Hospital das Clínicas.

Participantes do estudo:

Todos os pacientes serão recrutados nos Serviços de Referência para Hanseníase dos municípios de Caruaru (Centro de Saúde Amélia de Pontes e Unidade Sentinela de Referência para Resistência à Multidrogaterapia em Hanseníase do Estado), Cabo de Santo Agostinho (Centro de Referência em Hanseníase e Tuberculose Profa. Nilda Buarque) e Recife (Hospital das Clínicas UFPE)- PE.

Critérios de Inclusão e Exclusão

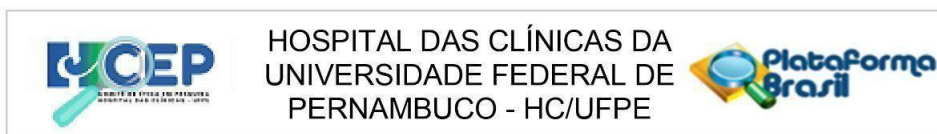
Critérios de Inclusão: pacientes atendidos nos Serviços de Referência para Hanseníase dos municípios de Caruaru e Cabo de Santo Agostinho- PE no período de Outubro/2021-Março/2024, e de Recife- PE entre Abril-Julho/2024, de 10 a 60 anos e de ambos os sexos.

Critérios de Exclusão: gestantes, pacientes que abandonaram o tratamento médico ou com informações incompletas, e pacientes com histórico de co-morbidades.

Instrumento de Coleta de Dados:

Os dados serão obtidos através da análise dos prontuários médicos dos pacientes, bem como serão coletadas amostras de sangue e de biópsia de pele nesses pacientes, com os quais, ocorrerá: 1. Sangue - detecção de anticorpos específicos utilizando leitor de ELISA, e dosagem de citocinas e caracterização celular com citômetro de fluxo. 2. Biópsia de pele e extração de DNA para detecção de M. leprae e pesquisa de M. lepromatosis utilizando termocicladores e

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, 1235, Bloco C, 3º andar do prédio principal, Ala Norte, 1ª sala à esquerda do
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 **E-mail:** cepsh.hc-ufpe@ebserh.gov.br



Continuação do Parecer: 6.754.499

cubas de eletroforese.

Análise dos Dados:

Através do teste de ELISA indireto e serão estimados pela densidade ótica (DO) a 490nm em leitor de ELISA.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral:

Implementar in loco os testes diagnósticos para Hanseníase, além de avaliar em pacientes hansênicos, nos municípios de Caruaru, Cabo de Santo Agostinho e Recife - PE, a relação de resistência terapêutica com a presença do *Mycobacterium lepromatosis* e a correlação Hanseníase x COVID-19.

Objetivos específicos:

1. Padronizar os testes diagnósticos de ELISA e qPCR in loco, objetivando diminuir o tempo de espera de até 8 meses dos resultados, usando como comparativo os resultados emitidos pelos Centros de Referência Nacional para Hanseníase;
2. Identificar por PCR a presença ou não do *Mycobacterium lepromatosis* em amostras de pacientes hansênicos nos municípios de Caruaru, Cabo de Santo Agostinho e Recife - PE, buscando correlacionar sua presença com os casos de resistência ao tratamento;
3. Estabelecer um perfil imunológico nos pacientes hansênicos co-infectados pelo SARS-CoV-2, através da quantificação das citocinas pró- e anti-inflamatórias e

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos diretos aos participantes da pesquisa estão mais relacionados às coletas das amostras, podendo aparecer um hematoma (mancha arroxeadada) no local da retirada do sangue ou um leve sangramento no momento da biópsia, mas todas as etapas serão realizadas por

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, 1235, Bloco C, 3º andar do prédio principal, Ala Norte, 1ª sala à esquerda do
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 **E-mail:** cepsh.hc-ufpe@ebserh.gov.br



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO - HC/UFPE



Continuação do Parecer: 6.754.499

profissionais qualificados minimizando as chances de acontecer qualquer problema. Os pacientes não serão submetidos a entrevistas e, portanto, não haverá desconforto psicológico no levantamento desses dados.

Benefícios:

Os benefícios poderão ser diretos e indiretos, caso consigamos implementar os testes diagnósticos in loco, o que acelerará a liberação dos resultados e início dos tratamentos, muito importantes no caso da hanseníase, uma vez que o diagnóstico inadequado ou tardio geralmente leva a sequelas nervosas progressivas e complicações imunológicas graves.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa de coorte transversal com pacientes hansenícos será realizada nos Centros de Referências através de prontuários e esses dados serão analisados com base no teste de Elisa e a Densidade Ótica (DO) com 490nm. E os resultados contribuirão para discussões e serão utilizados como estratégias para obtenção de novos reagentes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide conclusões ou pendências e lista de inadequações .

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

APROVADO

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2228832.pdf	16/03/2024 16:45:47		Aceito
Parecer Anterior	Parecer_Consubstanciado_Aprovado_2.pdf	16/03/2024 16:44:38	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Parecer Anterior	Parecer_Consubstanciado_Aprovado_1.pdf	16/03/2024 16:44:29	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	Carta_de_Resposta_ao_CEP_HC_UFP	16/03/2024	PATRICIA D EMERY	Aceito

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, 1235, Bloco C, 3º andar do prédio principal, Ala Norte, 1ª sala à esquerda do
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 **E-mail:** cepsh.hc-ufpe@ebserh.gov.br



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - HC/UFPE



Continuação do Parecer: 6.754.499

Outros	E.pdf	16:43:10	ALVES SANTOS	Aceito
Outros	8_Termo_de_Compromisso_e_Confiden cialidade.pdf	16/03/2024 16:42:26	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	7_Declaracao_de_Vinculo_Novo.pdf	16/03/2024 16:41:08	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	5_Projeto_Novo.pdf	16/03/2024 16:38:53	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	5_Projeto_Novo.docx	16/03/2024 16:38:24	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4c_TALE_Menores_10_a_18_Recife_N ovo.pdf	16/03/2024 16:37:48	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4c_TALE_Menores_10_a_18_Recife_N ovo.docx	16/03/2024 16:37:36	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4b_TCLE_Responsaveis_Menores_10_ a_18_Recife_Novo.pdf	16/03/2024 16:37:21	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4b_TCLE_Responsaveis_Menores_10_ a_18_Recife_Novo.docx	16/03/2024 16:37:08	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4a_TCLE_Maiores_18_Recife_Novo.pdf	16/03/2024 16:36:40	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4a_TCLE_Maiores_18_Recife_Novo.doc x	16/03/2024 16:36:08	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3k_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos _Lattes_Aline_Mendonca_Galvao_de_C arvalho_Aguiar_2.pdf	16/03/2024 16:33:00	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3j_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos _Lattes_Marcia_Helena_de_Oliveira_2.p df	16/03/2024 16:32:36	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3i_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos _Lattes_Maria_de_Fatima_de_Medeiros _Brito_2.pdf	16/03/2024 16:32:13	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3h_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos _Lattes_Mecciene_Mendes_Rodrigues 2.pdf	16/03/2024 16:31:57	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, 1235, Bloco C, 3º andar do prédio principal, Ala Norte, 1ª sala à esquerda do
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 **E-mail:** cepsh.hc-ufpe@ebserh.gov.br



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - HC/UFPE



Continuação do Parecer: 6.754.499

Outros	3g_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Michelle_Christiane_da_Silva_Rabello.pdf	16/03/2024 16:29:40	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3f_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Virginia_Maria_Barrois_de_Lorena.pdf	16/03/2024 16:29:26	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3e_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Vlaurdia_Maria_Assis_Costa.pdf	16/03/2024 16:29:01	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3d_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Valdenia_Maria_Oliveira_de_Souza.pdf	16/03/2024 16:28:46	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3c_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Francisco_Bezerra_de_Almeida_Neto.pdf	16/03/2024 16:28:30	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3b_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Fabricao_Oliveira_Souto.pdf	16/03/2024 16:28:13	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3a_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Patricia_dEmery_Alves_Santos.pdf	16/03/2024 16:27:41	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	2g_Carta_de_Anuencia_GEP_HC_UFPE.pdf	16/03/2024 16:27:03	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	2f_Carta_de_Anuencia_NDC_HC_UFPEassinada.pdf	16/03/2024 16:25:38	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	2e_Carta_de_Anuencia_iLIKA.pdf	16/03/2024 16:24:07	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	2d_Carta_de_Anuencia_HC.pdf	16/03/2024 16:23:07	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	5_Projeto.pdf	09/10/2023 12:38:12	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4c_TALE_Menores_10_a_18_Recife.pdf	09/10/2023 12:37:46	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4c_TALE_Menores_10_a_18_Caruaru.pdf	09/10/2023 12:37:37	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4c_TALE_Menores_10_a_18_Cabo.pdf	09/10/2023 12:37:28	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4b_TCLE_Responsaveis_Menores_10_a_18_Recife.pdf	09/10/2023 12:37:12	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, 1235, Bloco C, 3º andar do prédio principal, Ala Norte, 1ª sala à esquerda do
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 **E-mail:** cepsh.hc-ufpe@ebserh.gov.br



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - HC/UFPE



Continuação do Parecer: 6.754.499

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4b_TCLE_Responsaveis_Menores_10_a_18_Caruaru.pdf	09/10/2023 12:36:55	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4b_TCLE_Responsaveis_Menores_10_a_18_Cabo.pdf	09/10/2023 12:36:43	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4a_TCLE_Maiores_18_Recife.pdf	09/10/2023 12:36:29	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4a_TCLE_Maiores_18_Caruaru.pdf	09/10/2023 12:36:18	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4a_TCLE_Maiores_18_Cabo.pdf	09/10/2023 12:36:06	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3k_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Aline_Mendonca_Galvao_de_Carvalho_Aguiar.pdf	03/10/2023 11:14:47	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3j_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Marcia_Helena_de_Oliveira.pdf	03/10/2023 11:14:13	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3i_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Maria_de_Fatima_de_Medeiros_Brito.pdf	03/10/2023 11:13:57	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	3h_Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Mecciene_Mendes_Rodrigues.pdf	03/10/2023 11:13:27	PATRICIA D EMERY ALVES SANTOS	Aceito
Outros	2b_Carta_de_Anuencia_Cabo.jpg	02/08/2021 16:25:24	Patrícia dEmery Alves Santos	Aceito
Outros	2a_Carta_de_Anuencia_Caruaru.pdf	02/08/2021 16:23:45	Patrícia dEmery Alves Santos	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, 1235, Bloco C, 3º andar do prédio principal, Ala Norte, 1ª sala à esquerda do
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 **E-mail:** cepsh.hc-ufpe@ebserh.gov.br



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO - HC/UFPE



Continuação do Parecer: 6.754.499

RECIFE, 09 de Abril de 2024

Assinado por:
Agostinho de Sousa Machado Junior
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, 1235, Bloco C, 3º andar do prédio principal, Ala Norte, 1ª sala à esquerda do
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-901
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-3743 **E-mail:** cepsh.hc-ufpe@ebserh.gov.br