

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde:
Infectologia e Medicina Tropical

YARGOS RODRIGUES MENEZES

**RECEPTORES *TOLL-LIKE 2*: ATIVAÇÃO E REGULAÇÃO DA IMUNIDADE INATA E
ADAPTATIVA EM PACIENTES COM HANSENÍASE**

Belo Horizonte

2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde:
Infectologia e Medicina Tropical

YARGOS RODRIGUES MENEZES

**RECEPTORES *TOLL-LIKE 2*: ATIVAÇÃO E REGULAÇÃO DA IMUNIDADE INATA E
ADAPTATIVA EM PACIENTES COM HANSENÍASE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da UFMG, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Menezes Souza - UFMG

Coorientador: Prof. Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha - UFMG

Linha de pesquisa: Micobacterioses: tuberculose, hanseníase e outras infecções por micobactérias.

Belo Horizonte

2026

M543r Menezes, Yargos Rodrigues.
Receptores Toll-like 2 [recurso eletrônico]: ativação e regulação da imunidade inata e adaptativa em pacientes com hanseníase. / Yargos Rodrigues Menezes. - - Belo Horizonte: 2026.

100f.: il.

Formato: PDF.

Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Daniel Menezes Souza.

Coorientador (a): Manoel Otávio da Costa Rocha.

Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical.

Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Hanseníase. 2. Receptores Toll-Like. 3. Imunidade Inata. 4. Imunidade Adaptativa. 5. Doenças Transmissíveis. 6. Dissertação Acadêmica. I. Souza, Daniel Menezes. II. Rocha, Manoel Otávio da Costa. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: QW 569



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE INFECTOLOGIA E MEDICINA TROPICAL
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos treze dias do mês de fevereiro de dois mil e vinte e seis (13/02/2026), às 14:00 (quatorze) horas, realizou-se a defesa por videoconferência pela plataforma GOOGLE MEET (<https://meet.google.com/ang-wkcu-wps>), sessão pública para a 482ª defesa de dissertação de YARGOS RODRIGUES MENEZES, número de registro 2024665831, graduado no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS DA SAÚDE - INFECTOLOGIA E MEDICINA TROPICAL. A presidência da sessão coube ao professor DANIEL MENEZES SOUZA, orientador. Inicialmente, o presidente fez a apresentação da Comissão Examinadora assim constituída: PROF. DANIEL MENEZES SOUZA - ORIENTADOR (UFMG), PROF. MANOEL OTAVIO DA COSTA ROCHA (UFMG), PROFA. NATALIA SATCHIKO HOJO DE SOUZA (INSTITUTO OSWALDO CRUZ - IOC - FIOCRUZ), PROFA. MARIA APARECIDA DE FARIA GROSSI (SES - MG). Em seguida, o candidato fez a apresentação do trabalho que constitui sua dissertação de Mestrado, intitulada: "*Receptores Toll-like 2: Ativação e regulação da imunidade inata e adaptativa em pacientes com hanseníase*". Seguiu-se a arguição pelos examinadores e, logo após, a Comissão reuniu-se, sem a presença do candidato e do público, e decidiu considerar a dissertação APROVADA. O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato e ao público, pelo presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o presidente encerrou a sessão, sendo lavrada a presente ata que, depois de lida e aprovada, foi assinada eletronicamente por todos os membros titulares da Comissão Examinadora presente através do SEI (Sistema Eletrônico de Informações) do Governo Federal.

Belo Horizonte, 13 de fevereiro de 2026.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por Maria Aparecida de Faria Grossi, Usuário Externo, em 19/02/2026, às 09:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Natália Satchiko Hojo de Souza, Usuária Externa, em 19/02/2026, às 12:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Daniel Menezes Souza, Professor Ensino Básico Técnico Tecnológico, em 19/02/2026, às 14:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Manoel Otavio da Costa Rocha, Professor do Magistério Superior, em 19/02/2026, às 19:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 4942275 e o código CRC E5B85923.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

REITORA: Prof^ª. Dr^ª. Sandra Regina Goulart Almeida

VICE-REITOR: Prof. Dr. Alessandro Fernandes Moreira

PRÓ-REITORA DE PÓS-GRADUAÇÃO: Prof^ª Dra. Isabela Almeida Pordeus

PRÓ-REITOR DE PESQUISA: Prof. Dr. Fernando Marcos dos Reis

FACULDADE DE MEDICINA

DIRETORA: Prof^ª. Dra. Alamanda Kfoury Pereira

VICE-DIRETORA: Prof^ª. Dra. Cristina Gonçalves Alvim

COORDENADORA DO CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO: Prof^ª. Dra. Ana Cristina Simões e Silva

SUBCOORDENADORA DO CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO: Prof^ª. Dra. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Infectologia e Medicina Tropical

COORDENADOR: Prof. Dr. Eduardo Antônio Ferraz Coelho

SUBCOORDENADOR: Prof. Dr. Daniel Vitor de Vasconcelos Santos

MEMBROS DO COLEGIADO

Prof. Dr. Daniel Vitor de Vasconcelos Santos

Prof^ª. Dr^ª. Denise Utsch Gonçalves

Prof. Dr. Eduardo Antônio Ferraz Coelho

Prof^ª. Dr^ª. Maria Auxiliadora Parreiras Martins

Prof^ª. Dr^ª. Mariana Costa Duarte

Prof^ª. Dr^ª. Walderez Ornelas Dutra

Raquel Soares Bandeira Câmara – Representante Discente

COLABORADORES

Profª. MSc. Nathália Chebli de Abreu - UFJF/MG

Profª. Drª. Vanete Thomaz Soccol - UFPR/PR

Profª. Drª. Mariana Costa Duarte - UFMG/MG

Drª. Barbara Proença Nardi Assis - HEM/FHEMIG/MG

Dr. Joao Carlos Minozzo - CPPI/PR

Mestranda Jéssica Marques Macedo - UFMG/MG

APOIO FINANCEIRO

FAPEMIG - Processo APQ-03362-24

CAPES

INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES DO PROJETO

Universidade Federal de Minas Gerais - Belo Horizonte - Minas Gerais

Universidade Federal de Juiz de Fora - Juiz de Fora - Minas Gerais

Hospital Eduardo de Menezes da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG) - Belo Horizonte - Minas Gerais

Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos - Secretaria de Saúde do Paraná.

AGRADECIMENTOS

Certa vez, ouvi dizer que o conhecimento é como um ponto de giz feito num quadro negro: à medida que a circunferência do ponto aumenta, ou seja, quanto maior a sua fronteira com a área escura, maior é a nossa compreensão e, por conseguinte, maior é o nosso contato com o desconhecido. Quanto mais avançamos, mais percebemos a vastidão do que ainda desconhecemos. Esse encontro constante com o novo e o incerto nos move, nos desafia e nos transforma.

Sou grato ao Colégio Técnico da UFMG (COLTEC), que representou um marco transformador em minha trajetória e me ensinou, ainda muito jovem, o peso e a responsabilidade das escolhas que fazemos. À Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), registro meu reconhecimento por ter sido o espaço onde realizei o sonho de me tornar médico e onde pude desenvolver todo o meu potencial como estudante de graduação.

Manifesto minha profunda gratidão à equipe de Dermatologia do Hospital Eduardo de Menezes, que constituiu a base sólida de minha formação como médico especialista. Sinto especial orgulho por integrar um serviço que se dedica desde sua criação a oferecer assistência especializada a pacientes que enfrentam grandes vulnerabilidades, consolidando-se como referência estadual em Dermatologia. Nesse ambiente de cuidado, aprendemos continuamente a nos despir de preconceitos e a reconhecer a dignidade de pessoas frequentemente marginalizadas. Somos confrontados diariamente com realidades marcadas por intensas mazelas sociais, nas quais a fragilidade humana se revela em sua forma desnuda. Ali, compreendemos de maneira inequívoca o impacto dos determinantes sociais no processo saúde-doença.

Ao Professor Daniel Menezes Souza, meu orientador, registro minha profunda gratidão por acreditar neste projeto desde o início. Ao Professor Manoel Otávio da Costa Rocha, manifesto meu mais sincero reconhecimento por sua coorientação inspiradora. Sua sabedoria, generosidade e dedicação foram fundamentais para a consolidação do Programa de Pós-graduação em Infectologia e Medicina Tropical da faculdade de Medicina da UFMG como um dos melhores do país.

Ao meu pai, Orestes, agradeço pela paciência e pelo tempo dedicado a me ensinar física e matemática na infância — sementes que hoje reconheço terem germinado e dado frutos ao longo da minha formação. À minha mãe, Ana Maria, expresso gratidão pelo exemplo de amor à docência e por ser o alicerce firme sobre o qual construí minha existência. Ao meu irmão, Zargos, agradeço por ser tão diferente de mim e, ainda assim, manter-se sempre tão presente.

Ao caro comandante, registro meu reconhecimento por ter me conduzido por um dos processos mais transformadores da minha vida. Nesse percurso, foi preciso me perder e me reencontrar inúmeras vezes, e considero um privilégio ter vivido algo tão genuíno. Carrego comigo a certeza de que me tornei outro homem a partir desse encontro.

“O leproso era marginalizado, devendo viver fora da cidade, longe do convívio social, por motivos higiênicos e religiosos” (Lv 13,45-46).

A hanseníase, uma das enfermidades mais antigas da humanidade, permanece cercada por desafios clínicos e por um estigma social que atravessa séculos. Difundir conhecimento qualificado sobre a doença é mais do que uma ação educativa: é um instrumento de ruptura, capaz de desconstruir preconceitos, ampliar horizontes e transformar o cuidado oferecido aos nossos pacientes – nada disso faria sentido se não fosse por vocês.

RESUMO

A hanseníase é uma doença infectocontagiosa, de curso crônico, causada por uma micobactéria, o *Mycobacterium leprae*. Permanece como importante problema de saúde pública no mundo, incluindo o Brasil, visto que o país é o segundo em maior prevalência da doença no mundo. A doença é passível de cura, mas apresenta grande potencial de geração de sequelas e incapacidades físicas, sendo imprescindíveis o diagnóstico precoce e o tratamento adequado. Devido à sua complexa patogênese e às variadas respostas imunológicas que determinam suas formas clínicas, esse estudo direcionou-se à compreensão de mecanismos da imunidade inata, com foco na via de *Toll-like receptors* (TLRs), especificamente TLR2, e interação com células da imunidade adaptativa, linfócitos TCD4⁺ e CD8⁺. Nesse trabalho investigou-se a expressão e a funcionalidade desses marcadores após a estimulação *in vitro* com antígeno de *M. leprae* em pacientes com hanseníase, categorizados em formas paucibacilares (PB) e multibacilares (MB). Observaram-se diferenças significativas nas respostas imunológicas entre esses pacientes, refletindo a complexidade da resposta do hospedeiro ao patógeno. Houve predominância de respostas mediadas por TLR2, com ativação notável de macrófagos e tendência à polarização T_H1 em pacientes PB. Em contraste, pacientes MB apresentaram resposta mais regulatória, caracterizada por níveis mais altos de IL-10. Esse estudo sublinha o papel fundamental dos TLRs na modulação da resposta imune na hanseníase, fornecendo informações sobre os mecanismos imunológicos que diferenciam as formas clínicas da doença. Além disso, os achados reforçam a necessidade de abordagens terapêuticas inovadoras que considerem a complexidade das interações imunológicas envolvidas. O aprofundamento dessas investigações pode contribuir para o desenvolvimento de diagnósticos mais precisos e tratamentos mais eficazes, com potencial para prevenir a progressão da doença e reduzir a transmissão.

Palavras-chave: hanseníase, *Toll-like receptors*, resposta imune inata, resposta imune adaptativa, formas clínicas.

ABSTRACT

Leprosy is a chronic infectious disease caused by the *Mycobacterium leprae*. It remains a significant public health challenge worldwide, particularly in Brazil, which ranks second in global disease prevalence. Although curable, the disease possesses a high potential for causing physical disabilities and sequelae, making early diagnosis and appropriate treatment essential. Due to its complex pathogenesis and the varied immune responses that determine its clinical forms, this study focused on understanding innate immunity mechanisms, specifically the Toll-like receptor (TLR) pathway—with an emphasis on TLR2 and its interaction with adaptive immune cells, namely CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes. In this study, the expression and functionality of these markers were investigated following *in vitro* stimulation with soluble *M. leprae* antigen in leprosy patients, categorized into paucibacillary (PB) and multibacillary (MB) forms. Significant differences in immune responses were observed between these groups, reflecting the complexity of the host response to the pathogen. There was a predominance of TLR2-mediated responses, with notable macrophage activation and a trend toward a T_H1 polarization in PB patients. In contrast, MB patients exhibited a more regulatory response, characterized by higher levels of IL-10. This study underscores the fundamental role of TLRs in modulating the immune response in leprosy, providing insights into the immunological mechanisms that differentiate the clinical forms of the disease. Furthermore, the findings reinforce the need for innovative therapeutic approaches that account for the complexity of the involved immunological interactions. Furthering these investigations may contribute to the development of more precise diagnostics and effective treatments, with the potential to prevent disease progression and reduce transmission.

Keywords: leprosy, Toll-like receptors, innate immune response, adaptive immune response, clinical manifestations.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Distribuição da hanseníase no mundo.** Fonte: OMS (2024).....25
- Figura 2. Proporção de casos novos de hanseníase por faixa etária e ano de diagnóstico – Brasil, 2013 a 2022.** Fonte: SINAN/SVSA/MS (2024).....26
- Figura 3. Distribuição da taxa de detecção geral de casos novos de hanseníase por município de residência – Brasil, 2013 (A) e 2022 (B).** Fonte: SINAN/SVSA/MS (2024).....27
- Figura 4. Número de casos novos de hanseníase em Minas Gerais, segundo URS. 2019 a 2023.** Fonte: SINAN/CHT/DVCC/SES-MG (2024).....28
- Figura 5. Estrutura esquemática molecular da parede do *M. leprae*.** Fonte: Vissa e Brennan (2001).....30
- Figura 6. Estesiômetro e teste de monofilamento.** Fonte: BRASIL (2008).....35
- Figura 7. Esquema representativo da polarização entre as subpopulações T_H1 e T_H2 na hanseníase.** Fonte: Adaptado de Goulart *et al.*, 2002.....43
- Figura 8. Paradigma imunológico das respostas T_H1 e T_H2 e a participação do NO nas formas polares da hanseníase.** Fonte: adaptado de Sousa *et al.*, 2017.....46
- Figura 9. Análise representativa de fagócitos derivados de monócitos e linfócitos do sangue periférico na população de células avaliada por citometria de fluxo.** A figura A representa a seleção de células isoladas (*singlets*). B representa a população de células vivas (Live/Dead). A figura C representa o perfil celular da população de monócitos e linfócitos, selecionada na janela “gate” em gráfico de tamanho e granulosidade. A figura D representa o perfil de análise da população de macrófagos derivados de monócitos em gráfico de densidade de fluorescência para CD14⁺ (APC-Cy7). A figura E representa o perfil de análise da população de linfócitos em gráfico de densidade de fluorescência para CD3⁺ (FITC).....54
- Figura 10. Análise do perfil fenotípico dos fagócitos derivados de monócitos do sangue periférico após estimulação com antígeno de *M. leprae*.** A representa SSC *versus* densidade de fluorescência para HLA-DR (AF700). B representa SSC *versus* densidade de fluorescência para TLR2⁺ (FITC). C representa SSC *versus* densidade de fluorescência para NF- κ B⁺ (PE-CY7). D e E representam as análises da produção das citocinas IL-12 e IL-1 β , respectivamente.....55
- Figura 11. Análise do perfil fenotípico dos linfócitos do sangue periférico e suas subpopulações, por citometria de fluxo.** A e B representam o perfil das subpopulações de linfócitos CD4⁺ e CD8⁺ e C representa o perfil de linfócitos de memória ativados, selecionados no gate em gráfico de densidade de fluorescência para CD45RO (PerCP-Cy5) *versus* densidade de fluorescência para CD4 (APC-Cy7) ou para CD8 (AF700). D e E representam o perfil de análise da expressão de IFN- γ e IL-10 pelas subpopulações de linfócitos do sangue periférico.....56

Figura 12. Análise de fagócitos derivados de monócitos ativados, positivos para TLR2 e produtores das citocinas IL-12 (CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺) e IL-1β (CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺), expressos em valores percentuais (A e C) e por intensidade média de fluorescência (MFI; B e D), após estímulo com antígeno de Mitsuda. Os resultados estão apresentados como dados de dispersão com sobreposição de gráficos de barra (média±DP).....59

Figura 13. Análise da relação do valor do IB com o a expressão de fagócitos derivados de monócitos ativados, positivos para TLR2 e produtores das citocinas IL-12 (CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺; A) e IL-1β (CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺; C), expressos em valores percentuais e por intensidade média de fluorescência (B e D, respectivamente), após estímulo com antígeno de Mitsuda. Os resultados estão apresentados como dados de dispersão com sobreposição de gráficos de barra (média±DP).....60

Figura 14. Análise do percentual de linfócitos T CD4⁺ ativados e produtores de IFN-γ (A) e IL-10 (C) e da MFI para essas citocinas (B e D, respectivamente), após estímulo com antígeno de Mitsuda. Os resultados foram apresentados como dados de dispersão com sobreposição de gráficos de barra (média±DP).....61

Figura 15. Análise do percentual de linfócitos T CD8⁺ ativados e produtores de IFN-γ (A) e IL-10 (C) e da MFI para essas citocinas (B e D, respectivamente), após estímulo com antígeno de Mitsuda. Os resultados foram apresentados como dados de dispersão com sobreposição de gráficos de barra (média±DP).....62

Figura 16. Razão do percentual de produção das citocinas IFN-γ/IL-10 nas subpopulações de linfócitos T CD4⁺ (A) e T CD8⁺ (C) e suas respectivas intensidades médias de fluorescência – MFI (B e D).....63

Figura 17. Análise da produção de NO de pacientes com hanseníase paucibacilar (PB) e multibacilar (MB) e controles.....66

Figura 18. Correlação negativa entre o índice baciloscópico (IB) e os níveis de óxido nítrico (NO). Valores mais elevados de NO associaram-se a menores valores de IB, indicando uma relação inversa entre a carga bacilar e a produção de NO.....67

Figura 19. Correlação entre a produção de óxido nítrico (NO) e a expressão de IL-12 (A) e IL-1β (C) em células CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺ e seus respectivos valores de MFI (B e D).....68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação e apresentação clínica da hanseníase. Fonte: Adaptado de Maymone <i>et al.</i>, 2020.....	32
Tabela 2. Reconhecimento dos TLR's aos componentes microbianos. Fonte: Akira, S., Uematsu, S., & Takeuchi, O. (2006).....	40
Tabela 3. Distribuição dos pacientes com hanseníase de acordo com as formas clínicas.....	50
Tabela 4. Marcadores utilizados para avaliação do perfil de células do sistema imunológico inato e adaptativo	53
Tabela 5. Razão da produção de citocinas de subpopulação de linfócito T CD4⁺.....	64
Tabela 6. Razão da produção de citocinas de subpopulação de linfócito T CD8⁺.....	64
Tabela 7. Análise de correlação entre IB e subpopulações de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺.....	65
Tabela 8. Análise de correlação entre IB e subpopulações de linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺.....	65
Tabela 9. Análise de correlação entre NO e subpopulações de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺.....	69
Tabela 10. Análise de correlação entre NO e subpopulações de linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺.....	69
Tabela 11. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺.....	70
Tabela 12. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺.....	71
Tabela 13. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺.....	71
Tabela 14. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺.....	72
Tabela 15. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺.....	73

Tabela 16. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺.....	73
Tabela 17. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺.....	74
Tabela 18. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS

ANS: avaliação neurológica simplificada;
AP-1: proteína ativadora-1;
BAAR: bacilos álcool-ácido resistentes;
CEP: Comitê de Ética em Pesquisa;
COLTEC: Colégio Técnico da Universidade Federal de Minas Gerais;
ConA: concanavalina A;
DP: desvio padrão;
ENH: eritema nodoso hansênico;
GM-CSF: fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos;
IB: índice baciloscópico;
ICAM-1: molécula de adesão intercelular 1;
IFN- γ : interferon-gama;
IL-1 β : interleucina 1 beta;
IL-1R: receptor de interleucina 1;
IL-2: interleucina 2;
IL-4: interleucina 4;
IL-5: interleucina 5;
IL-10: interleucina 10;
IL-12: interleucina 12;
IL-12R: receptor de interleucina 12;
IL-13: interleucina 13;
IRF: fator regulador do interferon;
LAM: lipoarabinomanana;
LPS: lipopolissacarídeo;
MB: multibacilar;
MHD: hanseníase dimorfa;
MHDD: hanseníase dimorfa dimorfa;
MHDT: hanseníase dimorfa tuberculoide;
MHDV: hanseníase dimorfa virchowiana;
MHI: hanseníase indeterminada;
MHT: hanseníase tuberculoide;
MHV: hanseníase virchowiana;
MS: Ministério da Saúde;
M. leprae: *Mycobacterium leprae*;
M. tuberculosis: *Mycobacterium tuberculosis*;
NK: células natural killer;
NF- κ B: fator nuclear κ B;
NO: óxido nítrico;
OMS: Organização Mundial da Saúde;
NOS: óxido nítrico sintase
eNOS: óxido nítrico sintase endotelial
iNOS: óxido nítrico sintase induzível
nNOS: óxido nítrico sintase neuronal

PAMPs: Padrões Moleculares Associados a Patógenos;
PB: paucibacilar;
PMBCs: células mononucleares de sangue periférico;
PGL-1: glicolípido fenólico 1;
PRRs: Receptores de Reconhecimento de Padrões;
PQT: poliquimioterapia;
PQT-U: poliquimioterapia única;
RR: reação reversa;
TLRs: *Toll Like Receptors*;
TLR-1: *Toll-Like receptor 1*;
TLR-2: *Toll-Like receptor 2*;
TGF- β 1: fator de crescimento transformador beta 1;
TNF- α : fator de necrose tumoral alfa;
UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais;
UFOP: Universidade Federal de Ouro Preto.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1. Aspectos históricos da hanseníase	21
2.2. Aspectos epidemiológicos da hanseníase	24
2.3. O <i>Mycobacterium leprae</i> : fisiologia do bacilo, estrutura e composição química	28
2.4. Formas clínicas e a classificação da hanseníase	30
2.5. Reações hansênicas	32
2.6. Diagnóstico da hanseníase	33
2.7. Tratamento da hanseníase	36
2.8. Aspectos imunológicos	37
2.8.1. Aspectos imunológicos básicos: Sistema imune inato e sistema imune adaptativo	37
2.8.2. Aspectos imunológicos: Papel dos monócitos e dos macrófagos na hanseníase	37
2.8.3. Aspectos imunológicos: Receptores <i>Toll-Like</i> como mediadores da resposta imune inata	38
2.8.4. Aspectos imunológicos: Receptores <i>Toll-Like</i> na hanseníase	40
2.8.5. Aspectos imunológicos: Participação do sistema imune adaptativo e o papel dos linfócitos na hanseníase	42
2.8.6. Aspectos imunológicos: óxido nítrico e sua participação na hanseníase	44
3. JUSTIFICATIVA	47
4. OBJETIVOS	48
4.1. Objetivo geral	48
4.2. Objetivos específicos	48
5. MATERIAIS E MÉTODOS	49
5.1. Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa, local de estudo e critérios de seleção dos participantes	49
5.2. Cálculo Amostral	50
5.3. Antígeno de <i>M. leprae</i> para ensaios de estimulação <i>in vitro</i>	51
5.4. Obtenção, cultura e estimulação de PBMCs	51
5.5. Avaliação do perfil de expressão de marcadores de superfície celular em macrófagos derivados de monócitos e linfócitos T CD4 ⁺ e CD8 ⁺ após ensaio de estimulação <i>in vitro</i>	51
5.6. Aquisição e estratégia de análise de dados	53
5.6.1. Estratégias de análise para a caracterização das populações de fagócitos derivados de monócitos e dos linfócitos	54
5.6.2. Estratégias de análise para a caracterização das populações de fagócitos derivados de monócitos TLR2 ⁺	55
5.6.3. Estratégias de análise para a caracterização das subpopulações de linfócitos	56
5.7. Quantificação da produção de óxido nítrico (NO) no sobrenadante da cultura	57
5.8. Análise estatística	57
6. RESULTADOS	58

6.1. Pacientes paucibacilares apresentam níveis maiores do percentual de fagócitos derivados de monócitos ativados, positivos para TLR2 (CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺) e produtores das citocinas IL-12 e IL-1β	58
6.2. A estimulação de linfócitos T CD4 ⁺ CD45RO ⁺ de pacientes multibacilares com antígeno de <i>M. leprae</i> resultou em maior produção de IL-10 e menor produção de IFN-γ, quando comparada à resposta observada em pacientes paucibacilares	60
6.3. A estimulação de linfócitos T CD8 ⁺ CD45RO ⁺ de pacientes multibacilares com antígeno de <i>M. leprae</i> resultou em maior produção de IL-10 e menor produção de IFN-γ, quando comparada à resposta observada em pacientes paucibacilares	61
6.4. A razão IFN-γ/IL-10 em linfócitos T CD4 ⁺ CD45RO ⁺ e T CD8 ⁺ CD45RO ⁺ foi maior nos paucibacilares quando comparada à resposta observada em pacientes multibacilares.....	63
6.5. Produção intracelular de óxido nítrico (NO): comparação entre pacientes paucibacilares, multibacilares e indivíduos controle.....	66
6.6. Análise de correlação entre os marcadores de CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ e linfócitos CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺	70
6.6.1. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-12 ⁺ e linfócitos CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺	70
6.6.2. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-12 ⁺ e linfócitos CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺	70
6.6.3. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ e linfócitos CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺	71
6.6.4. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ e linfócitos CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺	72
6.6.5. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-12 ⁺ e linfócitos CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺	72
6.6.6. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-12 ⁺ e linfócitos CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺	73
6.6.7. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ e linfócitos CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺	74
6.6.8. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ e linfócitos CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺	74
7. DISCUSSÃO	76
8. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	91
9. ANEXOS	93
9.1. Anexo I: Aprovação do projeto pelo CEP/UFMG	93
9.2. Anexo II: Aprovação do projeto pelo CEP/FHEMIG	94
10. REFERÊNCIAS.....	95

1. INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença infectocontagiosa de evolução lenta e curso crônico, que se manifesta clinicamente por sinais e sintomas dermatoneurológicos caracterizados, principalmente, por lesões cutâneas e comprometimento dos nervos periféricos. O agente etiológico é o *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), também conhecido como bacilo de Hansen, um patógeno intracelular obrigatório que apresenta tropismo pela pele e nervos periféricos, infectando preferencialmente os macrófagos dérmicos e as células de Schwann. Apesar de ser passível de cura, a hanseníase ainda representa importante desafio para a saúde pública global. O Brasil ocupa a segunda posição mundial em prevalência da doença, ficando atrás apenas da Índia, o que evidencia a necessidade de aprimoramento contínuo nas estratégias de diagnóstico, prevenção, tratamento e acompanhamento prognóstico (BRASIL, 2022).

A implementação gratuita da poliquimioterapia (PQT), conforme preconizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), tem desempenhado papel crucial na transformação da trajetória natural da enfermidade, resultando em notável aumento nas taxas de cura e se estabelecendo como marco significativo na história da abordagem terapêutica dessa condição. Apesar da implementação da PQT, a moléstia mantém um potencial incapacitante considerável, especialmente quando identificada em estádios avançados, sendo a principal causa de neuropatia infecciosa em países localizados em áreas tropicais e subtropicais (BRASIL, 2022).

O *M. leprae* apresenta alta infectividade e baixa patogenicidade, o que significa que, apesar de infectar muitas pessoas, poucas delas adoecem. Sua fisiopatologia é multifatorial, com aspectos genéticos, imunológicos e ambientais determinando a suscetibilidade do indivíduo ao bacilo. Os sujeitos expostos ao patógeno e que desenvolvem a doença exibem uma diversidade marcante de apresentações clínicas. Tais variações fenotípicas são predominantemente influenciadas por fatores genéticos do hospedeiro, bem como pela capacidade do organismo em desenvolver resposta imune eficaz frente aos antígenos do bacilo de Hansen (GOULART; PENNA; CUNHA, 2002).

Ao longo do curso da hanseníase, podem surgir episódios inflamatórios agudos denominados reações hansênicas, ou surtos reacionais. Esses fenômenos podem ocorrer em diferentes momentos: antes do diagnóstico, durante o tratamento ou até mesmo após a finalização da terapia. Aproximadamente metade dos indivíduos acometidos pelo *M. leprae* apresenta tais episódios, os quais também estão intimamente ligados ao perfil de resposta imune do hospedeiro. Destaca-se que as reações hansênicas representam a principal causa das lesões neurais irreversíveis, deformidades físicas e demais sequelas associadas à doença, o que implica na enorme morbidade associada à doença (BRENNAN; SPENCER, 2019).

A importância do sistema imune adaptativo na fisiopatologia da hanseníase e na imunopatogênese dos episódios reacionais já é amplamente reconhecida. Nos últimos anos, têm surgido evidências crescentes sobre o papel do sistema imune inato nesses processos. Apesar dos avanços obtidos, ainda persistem lacunas significativas na compreensão do papel desempenhado pela imunidade inata na imunopatogênese da hanseníase (COLSTON, 1993). A ativação de receptores presentes em células do sistema imune inato constitui passo inicial fundamental na deflagração da resposta imunológica frente a diferentes patógenos. Dentre esses receptores, destacam-se os do tipo *Toll-like receptors* (TLRs) que, ao serem ativados, iniciam vias de sinalização essenciais para a imunidade inata. No contexto das infecções por micobactérias, incluindo o *M. leprae*, certos TLRs têm se mostrado particularmente relevantes na modulação da resposta imune (KRUTZIK; OCHOA; SIELING; UEMATSU *et al.*, 2003). Nesse cenário, o TLR2 emerge como um mediador central, cuja sinalização pode ditar o sucesso ou a falha na contenção da replicação bacteriana (CHEBLI-DE-ABREU, N.; CARVALHO, A.; MENEZES, Y. R.; MACEDO, J. M. *et al.*, 2025).

Em vista desse cenário, a presente investigação justifica-se pela necessidade de aprofundar a compreensão sobre o papel do TLR2 na imunopatogênese da hanseníase por meio de uma abordagem integrativa inédita. O diferencial desse estudo reside na análise da sinalização desse receptor correlacionada à carga bacilar e à produção de óxido nítrico, permitindo mensurar a eficiência microbicida em tempo real. Ademais, o ineditismo da proposta consolida-se ao investigar a interface com a imunidade adaptativa dentro de um ambiente de interação direta com bacilos do *M. leprae*. Essa análise permitirá avaliar, de forma dinâmica, como o reconhecimento inato via TLR2 influencia a ativação e a participação de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ produtores de citocinas do tipo 1 e regulatórias. A elucidação desses mecanismos em um contexto de interação com antígenos do bacilo é crucial para a identificação de biomarcadores de gravidade e para o desenvolvimento de estratégias imunoterapêuticas que visem o controle da carga bacteriana e a prevenção do dano neural.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos históricos da hanseníase

A hanseníase é uma das doenças mais antigas conhecidas pela humanidade. Ao longo da história, foi associada a diversas interpretações equivocadas, sendo considerada condição hereditária, maldição ou até castigo divino. Suas manifestações fenotípicas geravam medo, resultando frequentemente na estigmatização, discriminação e segregação dos pacientes em várias sociedades, desde os tempos bíblicos até períodos mais recentes. O estigma e a exclusão social, portanto, refletiram as complexas percepções culturais e religiosas que cercavam a moléstia em diferentes momentos históricos (COUTO DAL SECCO; FRANÇA; CASTILLO; ALHARBI *et al.*, 2017).

Nos registros históricos, especialmente em textos antigos, não há descrições clínicas detalhadas ou uniformes que permitam identificar claramente o seu início. Essa falta de precisão contribuiu intensamente para interpretações equivocadas e para confusões sobre sua evolução e disseminação em diferentes regiões ao longo do tempo. A ausência de consenso na literatura antiga reflete tanto limitações no conhecimento médico da época quanto dificuldades na tradução e interpretação desses documentos ao longo dos séculos (COUTO DAL SECCO; FRANÇA; CASTILLO; ALHARBI *et al.*, 2017).

Um exemplo dessa dificuldade está relacionado à tradução e ao uso de termos linguísticos. No Antigo Testamento, o vocábulo hebraico “*tsara’ath*” foi traduzido para o grego como “lepra”, mas seu significado original não correspondia a uma doença específica da pele. Pelo contrário, o termo fazia referência a um estado de impureza ritual, conforme os códigos religiosos da época. Além disso, antes do século III a.C., não há evidências documentais que descrevam a hanseníase como condição humana específica nas regiões do Crescente Fértil ou no mundo ocidental, sugerindo que o reconhecimento clínico da doença ocorreu apenas em períodos posteriores (BROWNE, 1975).

Durante o período de formação médica em Alexandria, ocorreram avanços relevantes na diferenciação da hanseníase em relação a outras doenças com manifestações similares. Esse progresso representou marco significativo na medicina da época, permitindo o reconhecimento mais preciso da hanseníase como uma condição distinta. Posteriormente, no início do século IV, sob o governo do imperador Constantino, foi estabelecido em Roma o primeiro hospital especializado no cuidado a pessoas acometidas pela doença. Essa iniciativa pioneira constituiu importante passo na

organização do tratamento e na abordagem institucional de enfermidades crônicas, como a hanseníase (BROWNE, 1975).

Algumas das descrições confiáveis da hanseníase datam do século II d.C., sendo posteriormente difundidas em latim durante a Idade Média, especialmente na Europa Ocidental. Autores como Areteu da Capadócia (séculos II-III d.C.), Bernardus de Gordonio (século XIII) e Hieronymus Cardanus (1501–1576) desempenharam papéis fundamentais na compreensão inicial da doença. Entre as contribuições mais notáveis, destaca-se a obra de François Ranchin, publicada em Lyon em 1640, intitulada *Opuscules, ou traictés divers et curieux en médecine*. Esse trabalho explorava as causas, sinais e possíveis tratamentos da hanseníase em diferentes populações. No século XIX, Daniel Cornelius Danielssen e Carl Wilhelm Boeck avançaram ainda mais o conhecimento científico com a publicação de *Om Spedalskhed* em 1847, em Christiania (atual Oslo), que ofereceu análise detalhada dos aspectos clínicos e epidemiológicos da hanseníase, consolidando-se como referência importante na literatura médica da época. Essas contribuições foram essenciais para o progresso no entendimento e na abordagem da doença ao longo da história (RACHIN, 1640, APUD FURNESS, 1971; DANIELSSEN; BOECK, 1847, APUD FURNESS, 1971).

Em 1869, Gerhard Henrik Armauer Hansen concluiu sua primeira publicação sobre o bacilo relacionado à hanseníase, embora seus métodos de estudo em anatomia patológica fossem ainda rudimentares. No ano seguinte, o pesquisador buscou aprimoramento em técnicas de coloração e análise histopatológica durante período de estudos em Viena. Esse avanço possibilitou, em 1873, a publicação de trabalho pioneiro, no qual identificou o bacilo em amostras de tecido afetado, passo significativo para a compreensão da etiologia bacteriana (HANSEN, 1869, APUD GHOSH; CHAUDHURI, 2015).

Em 1875, Hansen assumiu o cargo de médico-chefe de referência na doença e defendeu a teoria de que microrganismos poderiam ser causadores de doenças em humanos. No entanto, essa hipótese enfrentou críticas intensas de outros pesquisadores, principalmente por não atender aos critérios estabelecidos pelos postulados de Koch, que exigiam evidências experimentais mais rigorosas. Em tentativa extrema de validar sua descoberta, Hansen conduziu um experimento antiético, inoculando material infeccioso no olho de uma paciente, sem consentimento. Esse episódio gerou repercussões negativas e comprometeu sua reputação profissional (GHOSH; CHAUDHURI, 2015).

Em 1879, o bacteriologista Albert Neisser visitou a Noruega para estudar a hanseníase, onde conheceu Hansen. Após retornar à Alemanha, Neisser aprimorou as técnicas de coloração e, em 1880, publicou suas conclusões, reivindicando a descoberta do bacilo. Simultaneamente, Hansen

enfrentava acusações éticas, sendo considerado culpado e afastado do Hospital de Bergen. Apesar da disputa sobre a autoria, a comunidade científica norueguesa apoiou Hansen, reconhecendo-o como o verdadeiro descobridor do *M. leprae*. Em 1885, as autoridades de saúde norueguesas, com base no trabalho de Hansen, implementaram o isolamento de pacientes, o que resultou em diminuição significativa da doença no país (COUTO DAL SECCO; FRANÇA; CASTILLO; ALHARBI *et al.*, 2017; GHOSH; CHAUDHURI, 2015).

O estigma relacionado à hanseníase tem origens históricas profundas, alimentado por interpretações errôneas que remontam a traduções antigas, como as do hebraico para o grego por volta de 300 a.C. Essas traduções contribuíram para a compreensão equivocada da doença, associando-a a impurezas e castigos divinos. Ao longo dos séculos, essa visão distorcida gerou uma cultura de medo e discriminação, resultando no tratamento desumano dos pacientes, que muitas vezes eram rejeitados pela sociedade. Durante a Idade Média, por exemplo, há relatos de execuções em massa de leprosos, evidenciando a intensidade desse estigma (TRAUTMAN, 1984). Esses pacientes carregavam o fardo do isolamento e da exclusão social por grande parte de suas vidas, sendo, em muitos casos, perseguidos e marginalizados. O preconceito enraizado sobre a hanseníase dificultou o acesso a tratamentos adequados e a reintegração desses indivíduos na sociedade, perpetuando o sofrimento e a segregação. A associação com castigos divinos ou impurezas não só agravou a discriminação, mas também tornou a doença um estigma social duradouro, cujas consequências ainda são sentidas em algumas regiões do mundo (TRAUTMAN, 1984).

O estigma relacionado à hanseníase acarreta impacto profundo na vida dos pacientes, afetando não apenas sua saúde física, mas também o bem-estar psicológico, social e econômico. O preconceito dificulta o diagnóstico precoce e contribui para o isolamento social, além de constituir fator que agrava o surgimento de distúrbios psiquiátricos, ainda comuns entre aqueles que convivem com a doença. Historicamente, a hanseníase foi vista como doença associada aos mais pobres, mas, a partir do século XI, especialmente durante as Cruzadas, a percepção da doença começou a mudar, em parte devido ao envolvimento de figuras notórias, como o rei Balduíno IV de Jerusalém, também afetado pela enfermidade. No início do século XIX, o Japão adotou práticas desumanas em relação à hanseníase, tratando-a como uma condição hereditária, o que levou à esterilização forçada de homens e ao aborto de mulheres grávidas (GRZYBOWSKI; SAK; PAWLIKOWSKI; NITA, 2016).

Por muitos séculos, as colônias de leprosos eram tratadas como prisões ou mosteiros, mas, com o tempo, o entendimento da doença melhorou e esses locais foram transformados em hospitais. Felizmente, ao longo dos anos, as atitudes em relação à hanseníase mudaram, com abordagens mais

humanitárias e inclusivas para lidar com a doença e os pacientes afetados por ela (GRZYBOWSKI; SAK; PAWLIKOWSKI; NITA, 2016).

Em 1854, Frederic John Muat introduziu o uso do óleo de chaulmoogra como abordagem terapêutica para o tratamento da hanseníase, detalhando suas observações em artigo publicado nos *“Indian Annals of Medical Science”*. Esse avanço representou uma das primeiras tentativas sistemáticas de tratamento da doença (DOS SANTOS; DE SOUZA; SIANI, 2008). No primeiro Congresso Internacional de Hanseníase, realizado em Berlim em 1897, a doença ainda era considerada incurável. Somente a partir de 1943 o óleo de chaulmoogra foi substituído pelas sulfonas como tratamento padrão, após Guy Henry Faget demonstrar sua eficácia no estudo *“The Promin Treatment of Leprosy: A Progress Report”*, publicado no *Public Health Reports*. Esses avanços representaram marcos significativos no desenvolvimento de terapias mais eficazes contra a hanseníase, que, até a introdução das sulfonas, permanecia sem perspectiva de cura (FAGET; POGGE; JOHANSEN; DINAN *et al.*, 1966; FURNESS, 1971).

O uso das sulfonas revolucionou o tratamento da hanseníase, oferecendo resultados melhores no controle dos sintomas e na diminuição de sua transmissão. Esse avanço contribuiu para mudar a visão sobre a hanseníase, que, até então, era vista como condição sem possibilidade de cura (BROWNE, 1970). Em 1981, a OMS recomendou a PQT como o primeiro tratamento eficaz para a hanseníase, revolucionando a abordagem terapêutica da doença (BRASIL, 2022).

Um exemplo de tentativa de redução do estigma associado à hanseníase ocorreu no Brasil, em 1967, quando o professor Abraão Rotberg propôs a adoção do termo "hanseníase", substituindo "lepra", considerado carregado de conotações negativas. Esse novo termo foi oficialmente adotado no Brasil em 1970, por meio de lei federal, buscando diminuir o preconceito social em torno da doença e melhorar a abordagem médica e social. A mudança de terminologia constituiu passo importante para a reintegração dos pacientes à sociedade, além de promover visão mais neutra e científica sobre a condição (LASTÓRIA; ABREU, 2014).

2.2. Aspectos epidemiológicos da hanseníase

Do ponto de vista epidemiológico, a hanseníase continua configurando importante problema de saúde pública global, gerando preocupação em diversos países. Em 2023, foram notificados 182.815 novos casos, o que corresponde a uma taxa de detecção de 22,7 casos por milhão de habitantes. A Índia (107.851), o Brasil (22.773) e a Indonésia (14.376) concentraram, juntos, 79,3% dos novos casos registrados no mundo (Figura 1)(WHO, 2024). Em comparação a 2022 (174.094 casos), observou-se aumento global de 5% no número de novos casos detectados. Entre 2014 e

2023, houve redução global de 14,6%. No período de 2014 a 2019, essa queda foi de 5,3%. A pandemia de COVID-19 provocou redução significativa, de cerca de um terço, na detecção de casos entre 2019 e 2021. Desde então, verificou-se aumento de aproximadamente 30% na identificação de novos casos. Em 2023, os três países mencionados também apresentaram crescimento na detecção em relação ao ano anterior: Brasil (16%), Indonésia (15,6%) e Índia (3,9%)(WHO, 2024).

Map 1 **Geographical distribution of new leprosy cases, 2023**
Carte 1 **Répartition géographique des nouveaux cas de lèpre en 2023**

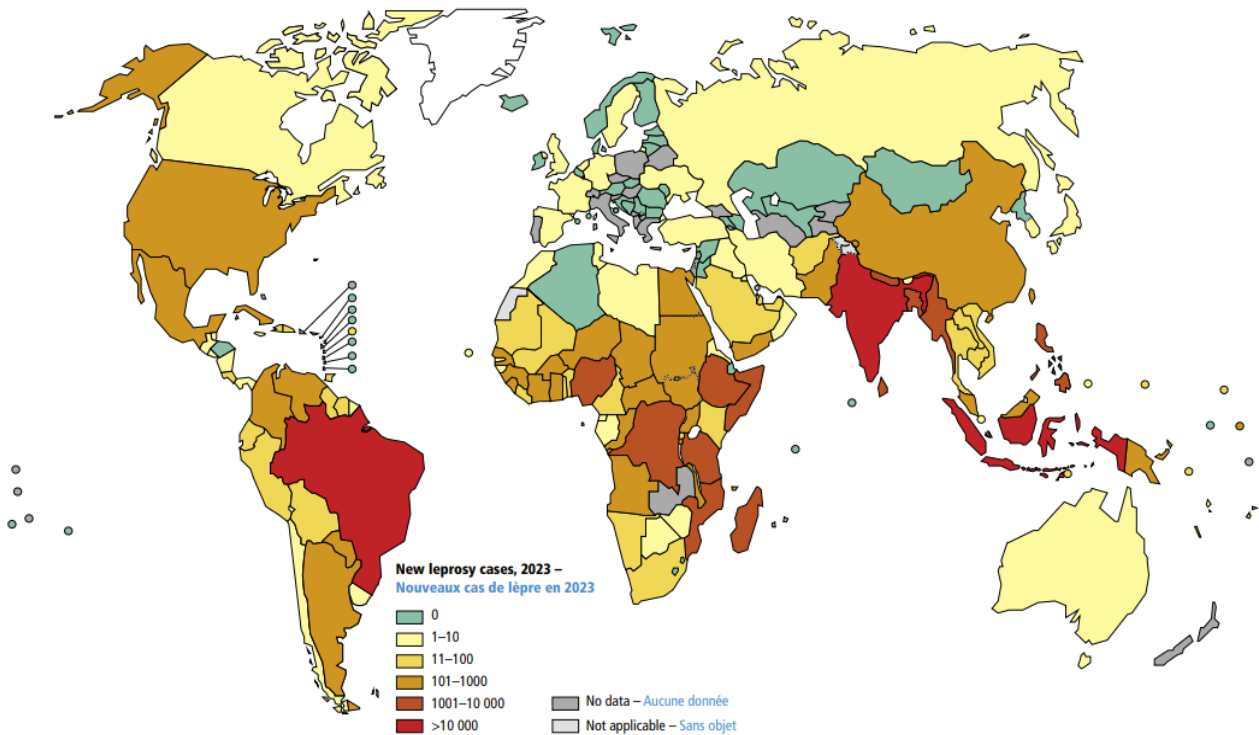


Figura 1. Distribuição da hanseníase no mundo. Fonte: OMS (2024).

Dos 182.815 novos casos de hanseníase registrados no mundo, em 2023, 125.752 (68,8%) foram classificados como multibacilares (MB). Paralelamente, tendo sido identificadas 101 leis discriminatórias contra pessoas afetadas pela hanseníase, têm sido realizados esforços para revogar essas ações por diversos países (WHO, 2024).

A Estratégia Global de Hanseníase 2021-2030 tem como principal objetivo acelerar e intensificar as ações de prevenção, diagnóstico, tratamento e reabilitação necessárias para reduzir a incidência da doença e minimizar suas consequências. A iniciativa enfatiza três metas centrais: zero casos de hanseníase, zero incapacidade relacionada à doença e zero estigma e discriminação contra os indivíduos afetados. Além disso, a estratégia se insere no contexto mais amplo do plano de ação para o combate às doenças tropicais negligenciadas no período de 2021 a 2030, reforçando a integração das políticas de saúde pública, a promoção do acesso equitativo aos serviços de atenção à

hanseníase e a articulação com esforços internacionais para a eliminação da doença como problema de saúde pública (WHO, 2024).

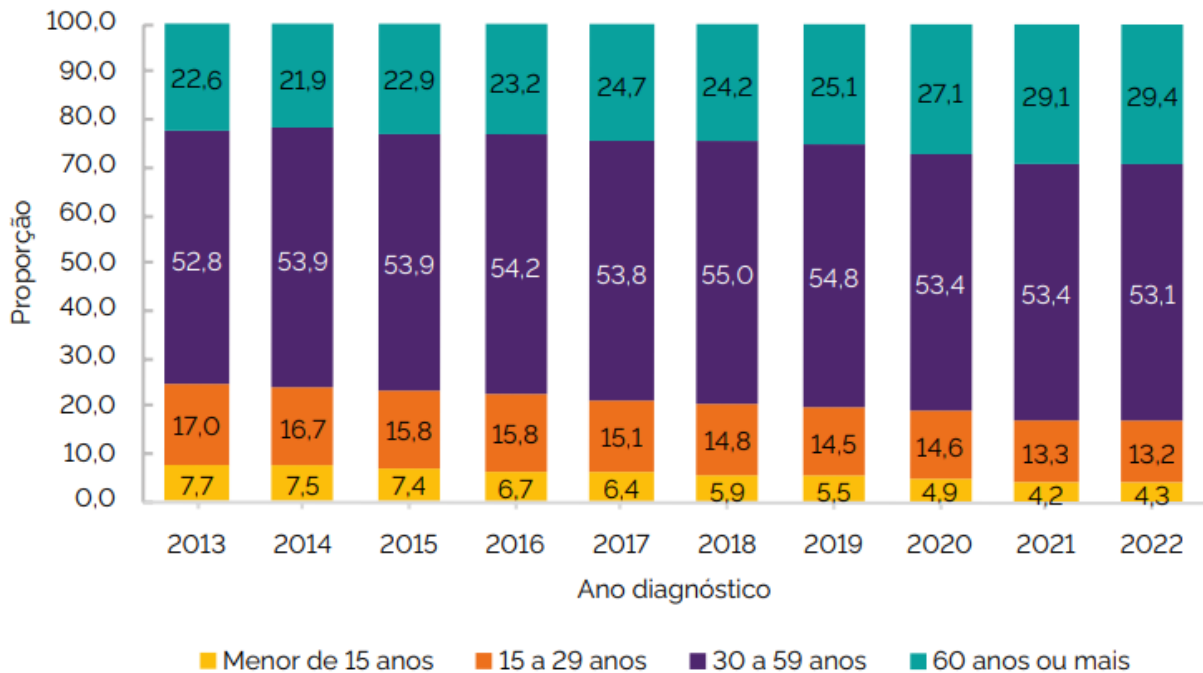


Figura 2. Proporção de casos novos de hanseníase por faixa etária e ano de diagnóstico – Brasil, 2013 a 2022.
Fonte: SINAN/SVSA/MS (2024).

Em relação ao panorama nacional, durante o período de 2013 a 2022 foram notificados 316.182 casos de hanseníase no Brasil. Dos 254.918 casos novos, 141.671 (55,6%) ocorreram em homens. A razão de sexo (M:F) era de 1,2 (12 homens para cada 10 mulheres) em 2013, aumentando para 1,3 (13 homens para cada 10 mulheres) em 2022. Em relação à idade, 137.379 (53,9%) tinham entre 30 e 59 anos, 62.693 (24,6%) 60 anos ou mais, 38.899 (15,3%) 15 a 29 anos, e 15.947 (6,3%) eram menores de 15 anos (Figura 2). A maior redução na proporção de casos novos de hanseníase (44,2%) foi observada na faixa etária “menor de 15 anos”, que passou de 7,7% em 2013 para 4,3% em 2022. Por sua vez, na faixa etária “60 anos ou mais” houve aumento de 30,1%, saindo de 22,6% em 2013 para 29,4% em 2022 (BRASIL., 2024).

A Região Centro-Oeste apresentou taxa de detecção variando de “muito alto” a “hiperendêmico” no período de 2013 a 2022. A maior redução ocorreu na Região Norte, caindo de 35,89 casos novos por 100 mil habitantes em 2013 para 18,53 casos novos por 100 mil habitantes em 2022, o que representa redução de 48,4% (BRASIL., 2024).

Em 2022, a taxa de detecção do Brasil foi de 9,67 casos novos por 100 mil habitantes. Mato Grosso e Tocantins apresentaram as maiores taxas de detecção: 66,20 casos novos por 100 mil habitantes e 50,88 casos novos por 100 mil habitantes, respectivamente, configurando parâmetros

hiperendêmicos. O Rio Grande do Sul apresentou baixa endemicidade, com taxa de 0,81 casos novos por 100 mil habitantes - Figura 3 (BRASIL., 2024).

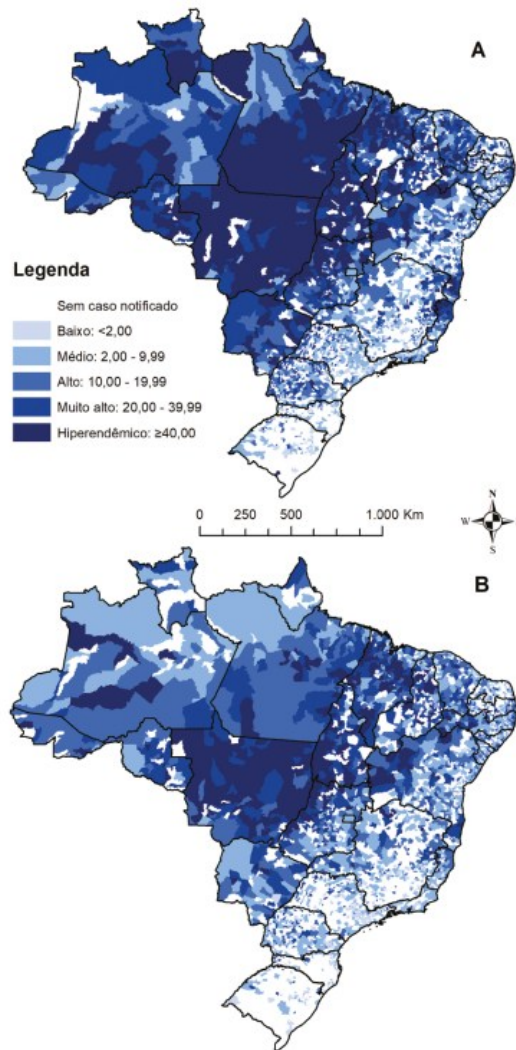


Figura 3. Distribuição da taxa de detecção geral de casos novos de hanseníase por município de residência - Brasil, 2013 (A) e 2022 (B). Fonte: SINAN/SVSA/MS (2024).

Por sua vez, no estado de Minas Gerais, o panorama epidemiológico é marcado por um cenário heterogêneo. Embora a taxa de detecção de casos novos seja inferior à média nacional, a análise regional evidencia áreas com maior concentração da doença, indicando a existência de bolsões de transmissão ativa. Entre 2019 e 2023, o estado contabilizou 6.516 casos de hanseníase, incluindo casos novos, recidivas, transferências e reingressos. A variação nos modos de notificação nesse intervalo explicita, em grande parte, os reflexos da pandemia de COVID-19 sobre os fluxos de diagnóstico e o seguimento dos pacientes, especialmente em 2020 e 2021. No mesmo estado, foram notificados 1.037 casos novos em 2022; já em 2023, esse número aumentou para 1.202, demonstrando a retomada das ações que fortalecem tanto o diagnóstico quanto das ferramentas de vigilância epidemiológica - Figura 4 (FURNESS, 1971; SES-MG, 2024).

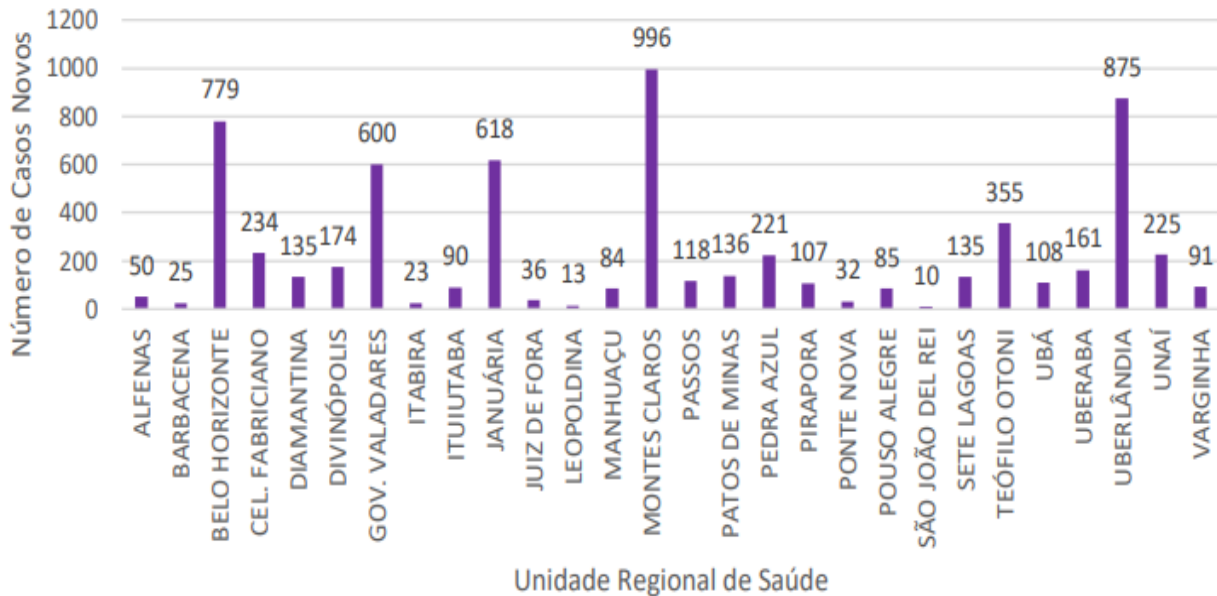


Figura 4. Número de casos novos de hanseníase em Minas Gerais, segundo URS, 2019 a 2023. Fonte: SINAN/CHT/DVCC/SES-MG (2024).

2.3. O *Mycobacterium leprae*: fisiologia do bacilo, estrutura e composição química

A principal via de disseminação do bacilo de Hansen é por meio de indivíduos não tratados, com alta carga bacilar (bacilíferos), que eliminam o *M. leprae* nas gotículas expelidas pelas vias aéreas superiores. Nesse sentido, a transmissão se dá por via respiratória e depende do contato direto entre pessoas, sendo facilitada especialmente quando doentes bacilíferos não tratados convivem com indivíduos suscetíveis. Embora o período de incubação da doença não seja precisamente conhecido, estima-se que tenha duração média de cerca de cinco anos (WHO, 2024).

O *M. leprae* é uma micobactéria não cultivável *in vitro*, sendo considerado parasito específico do homem. Já foram identificados primatas e tatus naturalmente infectados, porém sem relação bem estabelecida quanto à cadeia de transmissão em humanos. O bacilo apresenta tempo de multiplicação lento, de 11 a 16 dias, o que se reflete no tempo prolongado de incubação e na cronicidade da doença. O bacilo apresenta tropismo pelos macrófagos da derme e células de Schwann dos nervos periféricos (BHAT; PRAKASH, 2012; SAMPAIO; RIVITTI; 41:625-51).

O bacilo de Hansen é uma bactéria álcool-ácido resistente (BAAR), em formato de bastonete, medindo entre 1 e 8 μm de comprimento e 0,3 μm de diâmetro. Em termos morfológicos básicos, essas características o aproximam do *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). Diversos estudos envolvendo a ultraestrutura do *M. leprae*, conduzidos a partir de amostras humanas, de camundongos e de tatus, demonstraram que não foram observadas diferenças estruturais marcantes em comparação com outras micobactérias (SUGAWARA-MIKAMI; TANIGAWA; KAWASHIMA; KIRIYA *et al.*, 2022).

A análise comparativa entre os genomas do *M. leprae* e do *M. tuberculosis* revelou um processo acentuado de evolução redutiva no primeiro, com grande parte de seus genes convertida em pseudogenes. Ainda assim, os genes relacionados à biossíntese da parede celular permanecem funcionalmente conservados, permitindo inferências sobre a composição mínima necessária para a estrutura da parede micobacteriana. Essa estrutura é considerada fundamental para a compreensão da fisiologia do bacilo e dos mecanismos patogênicos envolvidos na hanseníase (SUGAWARA-MIKAMI; TANIGAWA; KAWASHIMA; KIRIYA *et al.*, 2022). A base estrutural de sua parede celular segue o padrão micobacteriano, sendo formada por um complexo covalente de peptidoglicano, arabinogalactona e ácido micólico, com algumas modificações específicas da espécie (DAFFÉ; DRAPER, 1998).

Observado por microscopia eletrônica, o *M. leprae* exibe organização de parede celular formada por duas camadas distintas: uma interna, de aspecto eletrodenso, e outra externa, eletrotransparente, as quais recobrem a membrana plasmática. A camada interna é constituída de peptidoglicanos e arabinogalactanas. Por sua vez, a camada externa é composta por cadeias ramificadas de arabinogalactonas esterificadas com longas cadeias de ácidos micólicos (BRENNAN, 2003; VISSA; BRENNAN, 2001).

Ademais, há ainda uma camada mais externa, a qual provavelmente contém diferentes lipoglicanos, polissacarídeos livres, glicolipídeos e fosfolipídeos. Essa é uma espessa parede lipídica, cuja principal composição é o glicolipídeo fenólico 1 (PGL-1). Esse glicolipídeo imunogênico é formado por um trissacarídeo metilado, composto por três açúcares ligados a uma estrutura central de fenol que, por sua vez, se conecta ao fitocérol e aos ácidos micólicos. O PGL-1 é considerado um marcador antigênico específico da espécie *M. leprae* - Figura 5 (HUNTER; FUJIWARA; BRENNAN, 1982; VISSA; BRENNAN, 2001).

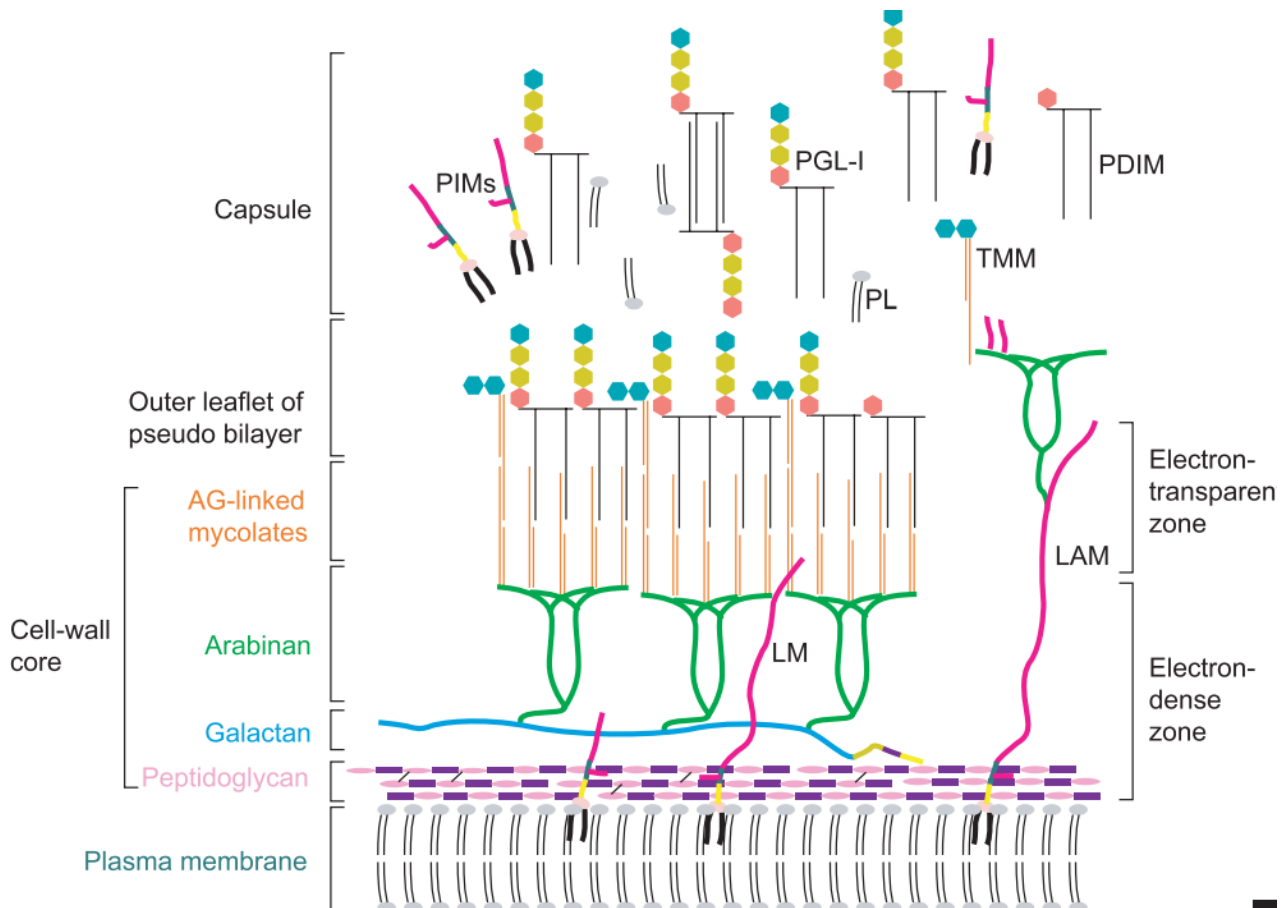


Figura 5. Estrutura esquemática molecular da parede do *M. leprae*. Fonte: Vissa e Brennan (2001).

2.4. Formas clínicas e a classificação da hanseníase

A correta classificação da forma clínica da hanseníase é de grande importância, pois orienta a definição do tempo de tratamento e permite identificar os indivíduos com maior propensão ao desenvolvimento de complicações, por exemplo, neurites e surtos reacionais.

O *M. leprae* tem alta infectividade e baixa patogenicidade, o que significa que, apesar de infectar muitas pessoas, poucas delas adoecem (OLIVEIRA; TALHARI; NEVES; TALHARI, 2006). Sua fisiopatologia é multifatorial, com aspectos genéticos, imunológicos e ambientais determinando a suscetibilidade do indivíduo ao bacilo. Os indivíduos expostos ao bacilo e que desenvolvem a doença exibem uma diversidade marcante de apresentações clínicas, revelando-se muito distintas entre si. Tais variações são predominantemente influenciadas por fatores genéticos do hospedeiro e pela capacidade do organismo em desenvolver uma resposta imune eficaz, tanto no que tange à imunidade inata quanto à imunidade adaptativa frente aos antígenos da micobactéria (BRASIL, 2022; GOULART; PENNA; CUNHA, 2002).

Ao longo dos anos, surgiram diversas classificações da hanseníase, à medida que se ampliava o conhecimento acerca da doença. A OMS adota uma classificação operacional

fundamentada no índice baciloscópio (IB) ou no número de lesões cutâneas. Nessa sistemática, os casos são definidos como paucibacilares (PB) quando apresentam entre uma e cinco lesões cutâneas e baciloscopia necessariamente negativa, e como multibacilares (MB), quando apresentam mais de cinco lesões e/ou baciloscopia positiva (WHO, 2018).

Em 1953, o VI Congresso Internacional de Leprologia, sediado em Madri, estabeleceu a classificação da hanseníase segundo a sua tendência de evoluir em direção a um dos seus polos clínicos opostos, os quais seriam estáveis do ponto de vista da resposta imunológica suscitada no hospedeiro: as formas tuberculoide e virchowiana. Ademais, haveria o grupo interpolar: representado pela forma dimorfa, a qual seria instável do ponto de vista de resposta imunológica, transitando, assim, dentro do espectro clínico entre as formas polares da doença. Adicionalmente, haveria uma forma inicial da doença, a forma indeterminada, que apresentaria discretas manifestações clínicas ([6th International Leprosy Congress], 1953; ARAUJO, 2003).

Por sua vez, a categorização estabelecida por Ridley e Jopling em 1966, amplamente empregada em estudos científicos, mantém os conceitos básicos da classificação de Madri, além de considerar a resposta imunológica do hospedeiro em um contínuo de resistência ao bacilo. O exame histopatológico é imprescindível para a sua aplicação. Dentro deste sistema, são delineadas a forma tuberculoide (MHT) e virchowiana (MHV), os subtipos dimorfo tuberculoide (MHDT), dimorfo dimorfo (MHDD) e dimorfo virchowiano (MHDV) - Tabela 1 (BRASIL, 2022; RIDLEY; JOPLING, 1966). Já a hanseníase indeterminada (MHI) é considerada, por muitos autores, como a forma clínica mais precoce da doença, apresentada por pacientes que ainda não desenvolveram resposta imune celular efetiva ao *M. leprae*, e que podem evoluir para outras formas clínicas, conforme a progressão da resposta imunológica frente aos antígenos da micobactéria (MAYMONE; LAUGHTER; VENKATESH; DACSO *et al.*, 2020).

Clinicamente, os pacientes diagnosticados com MHT, ao manifestarem resposta imune celular robusta contra o *M. leprae*, costumam apresentar lesões de pele localizadas, única ou em pequeno número e geralmente curso menos grave da doença. Do ponto de vista dermatológico, a característica marcante dessa forma clínica é a presença de placa anestésica com contornos bem definidos, coloração eritematosa, com bordas infiltradas, descrita como de aspecto tricofitoide, com acometimento de até um nervo periférico. No polo oposto da doença, os pacientes com MHV por não desenvolverem resposta imune celular eficaz contra o *M. leprae*, cursam com a disseminação do patógeno e com a formação inúmeras lesões papulares e/ou nodulares com componente infiltrativo significativo, que, além de acometerem o tegumento, podem afetar diversos órgãos internos (RIDLEY; JOPLING, 1966).

A hanseníase dimorfa corresponde a um estágio imunológico instável, intermediário entre as formas tuberculóide (MHT) e virchowiana (MHV). Esse espectro inclui as variantes MHDT, MHDD e MHDV, englobando a maior proporção de casos de hanseníase. Clinicamente, observa-se ampla diversidade de lesões elementares, como máculas hipocrômicas ou eritematosas, pápulas, placas e nódulos, refletindo a heterogeneidade morfológica característica das formas dimorfas da doença. O acometimento de nervos periféricos costuma ser intenso, sendo considerada a forma clínica com maior chance de ocorrência de neurites e deformidades (RIDLEY; JOPLING, 1966).

Tabela 1. Classificação e apresentação clínica da hanseníase. Fonte: Adaptado de Maymone *et al.*, 2020.

Ridley-Jopling	TT	DT	DD	DV	VV
Lesões	Máculas/placas bem definidas	Máculas/placas infiltradas	Anulares, bordas indistintas	Hansenomas e anulares	Máculas, pápulas e nódulos infiltrados
Nº de lesões	Única	Poucas	Várias	Numerosas	Muitas
Distribuição	Localizada	Assimétrica	Assimétrica	Simétrica	Simétrica
Superfície	Seca, descamativa	Seca	Levemente brilhante	Brilhante	Brilhante
Pelos	Ausente	Diminuído	Levemente diminuído	Discretamente diminuído	Normal
Sensibilidade	Ausente nas placas	Ausente nas placas	Moderada redução	Leve redução	Preservada no início, difusa depois
Carga bacilar	0	1–10 / 100 campos	1–10 / 10 campos	1–10 / campo	100–1000 / campo
OMS	Paucibacilar	Multibacilar	Multibacilar	Multibacilar	Multibacilar

2.5. Reações hansênicas

Durante o curso da doença, também podem ocorrer episódios conhecidos como reações hansênicas ou surtos reacionais - fenômenos inflamatórios agudos que podem manifestar-se antes mesmo do diagnóstico da hanseníase, durante o tratamento ou mesmo após a conclusão desse. Esses eventos, além de estarem intrinsecamente relacionados à carga bacilar e à resposta imune do hospedeiro, acometem aproximadamente metade dos indivíduos infectados pelo *M. leprae*. Tais reações constituem a principal causa das lesões neurais irreversíveis e das deformidades anatômicas associadas à hanseníase, ressaltando a imperatividade da pronta identificação e do início imediato do tratamento adequado dos quadros reacionais (CARVALHO; ARAUJO; COELHO-DOS-REIS; PERUHYPE-MAGALHAES *et al.*, 2018; MENDONÇA; COSTA; MELO; ANTUNES *et al.*, 2008).

As reações hansênicas são divididas em dois tipos distintos: a reação tipo 1, também conhecida como reação reversa (RR), e a reação tipo 2, sendo representada pelo seu protótipo: o eritema nodoso hansênico (ENH). A reação do tipo 1 ocorre nos pacientes acometidos pela forma tuberculoide e nos dimorfos. Trata-se de uma reação de hipersensibilidade e corresponde ao tipo IV de Gell & Coombs (RAJAN, 2003). Observa-se aumento abrupto da resposta imune T_H1 contra os antígenos do *M. leprae*, resultando na produção local de citocinas como interleucina-1 beta (IL-1 β), TNF- α , IL-2, IFN- γ e IL-12. Clinicamente, essa reação se manifesta como acentuada deterioração das lesões cutâneas existentes e exacerbado envolvimento neural (ARAÚJO, 2003; BRASIL, 2022; CARVALHO; ARAUJO; COELHO-DOS-REIS; PERUHYPE-MAGALHAES *et al.*, 2018; FOSS, 2003).

Por outro lado, a reação tipo 2 ocorre nos indivíduos virchowianos e em alguns dimorfos, especialmente os dimorfo-virchowianos, e é representada pela classificação tipo III de Gell & Coombs (RAJAN, 2003). Em geral, é associada a algum fator precipitante, tais como: infecções, imunizações, gravidez, entre outros, sendo desencadeada pela deposição de imunocomplexos e ativação do Complemento em indivíduos multibacilares, nos quais prevalece a resposta tipo 2. São observados níveis significativamente elevados de TNF- α , IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10, juntamente com infiltrados neutrofílicos e vasculite. Clinicamente, a reação tipo 2 se manifesta como quadro sistêmico caracterizado pelo surgimento de nódulos subcutâneos eritematosos dolorosos, acompanhados por febre, linfadenite, artrite, neurite, orquite, mialgia, irite, iridociclite, entre outros (ARAÚJO, 2003; BRASIL, 2022; CARVALHO; ARAUJO; COELHO-DOS-REIS; PERUHYPE-MAGALHAES *et al.*, 2018; FOSS, 2003).

O manejo das reações hansênicas envolve o uso de medicamentos imunomoduladores e anti-inflamatórios específicos para cada tipo de reação. Nas reações do tipo 1, a prednisona é o fármaco de escolha, atuando como potente agente anti-inflamatório e imunossupressor para controlar a exacerbação da resposta imune celular. Já nas reações do tipo 2 (eritema nodoso hansênico), a talidomida é amplamente utilizada devido ao seu efeito imunomodulador na neutralização da resposta inflamatória mediada por imunocomplexos. Durante esses episódios, recomenda-se manter o esquema de PQT-U caso o paciente ainda não tenha cumprido os critérios de alta por cura (BRASIL, 2022).

2.6. Diagnóstico da hanseníase

O diagnóstico da hanseníase é eminentemente clínico e epidemiológico e, a princípio, a maioria dos casos pode ser reconhecida no âmbito da Atenção Primária à Saúde, a partir da

avaliação dos sinais e sintomas característicos da doença. De acordo com o Ministério da Saúde (MS), define-se como caso de hanseníase aquele que apresenta pelo menos um dos chamados sinais cardinais: (1) lesão(s) ou área(s) de pele com alteração da sensibilidade térmica, dolorosa e/ou tátil; (2) espessamento de nervos periféricos, associado a alterações sensitivas, motoras e/ou autonômicas; ou (3) presença do *M. leprae*, confirmada por baciloscopia de esfregaço intradérmico ou exame histopatológico de biópsia de pele. A adequada identificação desses sinais é fundamental para o diagnóstico precoce e o início oportuno do tratamento, contribuindo para a interrupção da cadeia de transmissão e para a prevenção de incapacidades físicas (BRASIL, 2022).

A avaliação dermatoneurológica, também denominada Avaliação Neurológica Simplificada (ANS) constitui um dos pilares fundamentais no diagnóstico da hanseníase, conforme preconizado pelo MS. A realização desse exame sistemático permite a detecção precoce de alterações na função neural, aspecto essencial para a prevenção de incapacidades físicas. A avaliação inclui anamnese detalhada, inspeção das mãos, pés e face, palpação dos nervos periféricos e testes de sensibilidade e força muscular (BRASIL, 2008)

A investigação da sensibilidade cutânea, abrangendo os estímulos térmicos, táteis e dolorosos, em áreas delimitadas da pele, constitui etapa essencial na detecção precoce do comprometimento neural periférico. Tais alterações sensitivas, que frequentemente antecedem o aparecimento das lesões cutâneas, representam um dos primeiros sinais da neuropatia hanseniana e possuem relevância diagnóstica significativa. A avaliação e o monitoramento dessas alterações são realizados de maneira semiquantitativa por meio da estesiometria com o uso dos monofilamentos de Semmes-Weinstein, técnica padronizada que permite acompanhar a evolução da função neural ao longo do tratamento e do seguimento clínico dos pacientes - Figura 6 (FRADE; ROSA; BERNARDES FILHO; SPENCER *et al.*, 2021).

A sensibilidade tátil é mensurada utilizando-se os monofilamentos de Semmes-Weinstein (estesiômetro) que aplicam uma pressão padronizada sobre a pele, permitindo identificar áreas com perda de sensibilidade protetora. Essa perda de sensibilidade é um indicativo de risco elevado para lesões e deformidades nos membros afetados. Portanto, a realização periódica da avaliação dermatoneurológica, que engloba o uso do estesiômetro, é imprescindível tanto para o diagnóstico precoce quanto para o acompanhamento clínico contínuo dos pacientes, possibilitando intervenções terapêuticas oportunas e contribuindo para a redução da morbidade associada à hanseníase (FRADE; ROSA; BERNARDES FILHO; SPENCER *et al.*, 2021).



Figura 6. Estesiômetro e teste de monofilamento. Fonte: BRASIL (2008).

Apesar de poder ser estabelecido com base em critérios clínicos e epidemiológicos, o diagnóstico da hanseníase pode requerer e ser, em determinadas situações, o auxílio de exames complementares. Métodos propedêuticos auxiliares como o índice baciloscópico obtido por raspado dérmico, a biópsia de pele com estudo histopatológico, a ultrassonografia de nervos periféricos, a eletroneuromiografia, o teste da histamina endógena e exógena, os exames sorológicos e os testes moleculares podem contribuir para o esclarecimento diagnóstico e para a adequada classificação da forma clínica dos casos.

A baciloscopia é um exame laboratorial complementar ao diagnóstico clínico, que busca detectar a presença do *M. leprae* em esfregaços de raspado intradérmico e estimar a carga bacilar apresentada pelo paciente. O número de bacilos em cada esfregaço é calculado de acordo com a escala logarítmica de Ridley, que atribui índices baciloscópicos (IB) que variam de 0 a 6+. A média dos IBs obtidos em cada esfregaço serve como estimativa da carga bacilar do paciente. O exame permanece como um marcador fundamental da carga bacilar e da definição das formas clínicas da hanseníase, apresentando valor complementar à avaliação clínica baseada no número de lesões cutâneas (RIDLEY, 1955).

Entre os exames complementares empregados no diagnóstico da hanseníase, o teste de Mitsuda se destaca por permitir a avaliação da resposta imune celular específica ao *M. leprae*. Essa reação cutânea verifica a capacidade do hospedeiro em reconhecer e responder ao antígeno do bacilo, constituindo importante indicador da efetividade da imunidade adaptativa celular, tendo desempenhado papel histórico na classificação e no prognóstico da doença. Trata-se de uma reação tardia, mediada por linfócitos T, desencadeada após a fagocitose dos bacilos inativados por células do sistema mononuclear fagocitário. A intensidade da resposta obtida reflete o grau de imunidade celular do indivíduo frente ao agente infeccioso, apresentando correlação direta com as diferentes formas clínicas e com a evolução da hanseníase. Embora amplamente utilizada no passado na prática clínica, atualmente sua aplicação se restringe, em grande parte, ao campo da pesquisa,

especialmente em investigações sobre os mecanismos imunológicos e a patogênese da doença (MITSUDA, 1953) (DE SOUZA; MARCOS; URA; OPRMOLLA *et al.*, 2007).

A avaliação histopatológica de biópsias cutâneas, embora não seja imprescindível, é útil no auxílio diagnóstico e na correta classificação da forma clínica da hanseníase, particularmente diante da heterogeneidade de apresentações que caracteriza o espectro da doença. Evidências de estudos de concordância clínico-histopatológica indicam que, embora a avaliação clínica seja indispensável para a identificação inicial dos casos, o exame histopatológico contribui de forma decisiva para a confirmação diagnóstica e para a tipificação das formas clínicas, sobretudo nas apresentações indeterminadas e dimorfas, nas quais os achados clínicos podem ser inespecíficos. A análise tecidual permite a caracterização do infiltrado inflamatório, do comprometimento neural e da presença de bacilos álcool-ácido resistentes, complementando a baciloscopia e a classificação operacional (SINGH; AGARWAL; MISRA; GUPTA *et al.*, 2000).

Assim sendo, a identificação e o diagnóstico precoce da hanseníase constituem etapas essenciais para a implementação de intervenções terapêuticas adequadas e eficazes. Tais procedimentos possibilitam a interrupção da cadeia de transmissão e a prevenção do desenvolvimento de incapacidades físicas permanentes, em consonância com as diretrizes nacionais e internacionais de controle da doença. O diagnóstico oportuno representa fator determinante para a efetividade do tratamento, para a redução da morbidade associada à hanseníase e para o fortalecimento das ações de saúde pública (WHO, 2018).

2.7. Tratamento da hanseníase

A implementação da PQT como estratégia terapêutica da hanseníase foi oficialmente recomendada pela Organização Mundial da Saúde desde 1981, representando avanço significativo no controle dessa enfermidade. No Brasil, o Ministério da Saúde adotou esse regime como protocolo exclusivo a partir de 1990. Desde 2018, a abordagem passou a ser denominada poliquimioterapia única (PQT U), refletindo a estratégia de aplicação de um esquema terapêutico padronizado para todos os casos, independentemente da classificação clínica, diferenciando-se apenas quanto à duração do tratamento. Nos casos paucibacilares, a terapêutica deve durar seis meses, podendo ser concluída em até nove meses, ao passo que nos casos multibacilares o tratamento estende-se por 12 meses, com possibilidade de finalização em até 18 meses. (BRASIL, 2022; WHO, 2018).

O tratamento fundamenta-se na associação de três antimicrobianos, a rifampicina, a dapsona e a clofazimina, administrados em doses supervisionadas e autoadministradas. A dose

supervisionada deve ser administrada na presença de profissional de saúde, constituindo-se em uma única dose mensal de 600 mg de rifampicina, 100 mg de dapsona e 300 mg de clofazimina, enquanto a dose autoadministrada compreende doses diárias de 100 mg de dapsona e 50 mg de clofazimina. Adicionalmente, existem esquemas terapêuticos alternativos com outros antimicrobianos, os quais são indicados em situações de contraindicação e/ou impossibilidade de uso a um ou mais desses fármacos, conforme preconizado nas diretrizes terapêuticas da doença (WHO, 2018).

2.8. Aspectos imunológicos

2.8.1. Aspectos imunológicos básicos: Sistema imune inato e sistema imune adaptativo

O sistema imunológico pode ser didaticamente classificado em dois tipos fundamentais: imunidade inata e adaptativa (ou adquirida). A imunidade inata, tradicionalmente considerada uma resposta imune inespecífica, é caracterizada pela resposta rápida contra patógenos, sendo mediada por células como macrófagos. Em contraste, a imunidade adaptativa, mediada pelos linfócitos T e B clonais, é definida pela especificidade e pela capacidade de gerar memória imunológica. No entanto, descobertas recentes demonstraram que a imunidade inata também pode ter caráter específico, sendo capaz de reconhecer e discriminar patógenos de antígenos próprios. Além disso, a ativação da imunidade inata pode desencadear a ativação subsequente da resposta imune adaptativa, estabelecendo interação dinâmica entre essas duas formas de defesa do hospedeiro (AKIRA; TAKEDA; KAISHO, 2001).

2.8.2. Aspectos imunológicos: Papel dos monócitos e dos macrófagos na hanseníase

Os monócitos são leucócitos derivados da medula óssea que circulam no sangue e atuam na defesa contra patógenos por meio de sua diferenciação em macrófagos e células dendríticas nos tecidos. Apresentam heterogeneidade funcional e fenotípica, sendo classificados em três subconjuntos conforme a expressão de CD14 e CD16: clássicos ($CD14^{++}$, $CD16^{-}$), intermediários ($CD14^{++}$, $CD16^{+}$) e não clássicos ($CD14^{+}$, $CD16^{++}$) (WONG; TAI; WONG; HAN *et al.*, 2011). Os monócitos clássicos, majoritários na circulação (80–95%), destacam-se pela alta capacidade fagocítica. Os intermediários (2–8%) contribuem para a produção de espécies reativas de oxigênio, apresentação de antígenos e ativação de linfócitos T. Já os não clássicos (2–11%) patrulham o endotélio vascular, participam de respostas pró-inflamatórias, secretam citocinas e colaboram na

apresentação antigênica (SAMPATH; MOIDEEN; RANGANATHAN; BETHUNAICKAN, 2018; WONG; YEAP; TAI; ONG *et al.*, 2012).

Durante episódios inflamatórios convencionais, os monócitos da medula óssea migram para os tecidos, onde se transformam em macrófagos especializados. Em condições basais, o endotélio vascular estimula a diferenciação desses monócitos em macrófagos com perfil anti-inflamatório, conhecidos como macrófagos do tipo M2. Por outro lado, a exposição ao interferon-gama (IFN- γ) estimula a polarização para macrófagos microbicidas, também conhecidos como macrófagos do tipo M1. A origem dos macrófagos teciduais é mista, envolvendo tanto células formadas durante o desenvolvimento embrionário quanto monócitos recrutados após o nascimento (PINHEIRO; SCHMITZ; SILVA; DIAS *et al.*, 2018).

Os macrófagos desempenham papel fundamental na hanseníase, atuando diretamente na resposta imune frente aos antígenos do bacilo de Hansen, influenciando, dessa maneira, diretamente na progressão ou não da doença. Após a internalização do *M. leprae*, os macrófagos iniciam uma resposta imune complexa, caracterizada pela produção de diversas citocinas, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 12 (IL-12), interleucina 10 (IL-10) e fator de crescimento transformador beta 1 (TGF- β 1). Essas moléculas não apenas modulam a atividade dos próprios macrófagos, mas também influenciam o perfil funcional das células T, orientando a resposta imunológica adaptativa (CABRAL; DE FIGUEIREDO; GANDINI; DE SOUZA *et al.*, 2022).

Macrófagos ativados no perfil M1 produzem IL-12, que estimula linfócitos T *naive* a se diferenciarem no subtipo T_H1, que secretam IFN- γ , principal ativador dos radicais microbicidas derivados do oxigênio e nitrogênio. O IFN- γ também aumenta a expressão da molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), facilitando a interação entre células apresentadoras de antígeno e linfócitos T. Esses macrófagos liberam TNF- α em um mecanismo autócrino, intensificando sua ativação para eliminar o *M. leprae* e potencializando os efeitos do IFN- γ . Por outro lado, macrófagos do tipo M2 secretam TGF- β 1 e IL-10, citocinas que inibem sua ativação. Essa predominância resulta na proliferação bacteriana e antagoniza a ação do TNF- α , IFN- γ e IL-12, culminando na resposta do tipo 2, enfraquecendo a resposta imune celular e comprometendo a ativação dos macrófagos (GOULART; PENNA; CUNHA, 2002).

2.8.3. Aspectos imunológicos: Receptores *Toll-Like* como mediadores da resposta imune inata

Avanços recentes no campo da imunologia revelaram que a imunidade inata é dotada de mecanismos de reconhecimento altamente específicos, mediados por receptores de reconhecimento

de padrões (PRRs), entre os quais se destacam os receptores *Toll-like* (TLRs). Esses receptores, codificados na linha germinativa, são capazes de detectar estruturas moleculares conservadas presentes em microrganismos, denominadas padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). A ativação dos TLRs desencadeia uma cascata de sinalização intracelular que culmina na produção de citocinas inflamatórias e outros mediadores essenciais para a resposta inicial do hospedeiro frente à infecção (KAWAI; AKIRA, 2010).

Os TLRs são glicoproteínas transmembrana integrais do tipo I, que apresentam domínios extracelulares com repetições de leucina e um domínio intracelular de sinalização, denominado domínio *Toll/IL-1R*, que é homólogo ao receptor de interleucina 1 (IL-1R). Esses domínios são essenciais para o reconhecimento de padrões moleculares e a transdução de sinais celulares (AKIRA; UEMATSU; TAKEUCHI, 2006).

Até o presente momento, foram identificados 10 TLRs funcionais no organismo humano. Esses receptores desempenham papel crucial no reconhecimento de PAMPs, que incluem lipídios, lipoproteínas, proteínas e ácidos nucleicos provenientes de microrganismos diversos, como bactérias, vírus, fungos e parasitos (Tabela 2). A detecção desses PAMPs pelos TLRs ocorre em diferentes compartimentos celulares, como a membrana plasmática, os endossomos, os lisossomos e os endolisossomos, facilitando a ativação das respostas imunológicas apropriadas para defesa do hospedeiro (AKIRA; TAKEDA; KAISHO, 2001; KAWAI; AKIRA, 2010).

Os TLRs estão presentes em diversas células do sistema imunológico, como macrófagos, células dendríticas, células B e tipos específicos de células T, além de serem encontrados em células não-imunes, como fibroblastos e células epiteliais. A expressão desses receptores não é constante, sendo rapidamente ajustada em resposta a infecções, citocinas inflamatórias e estímulos ambientais. Os TLRs podem estar localizados tanto em compartimentos extracelulares e intracelulares das células. Enquanto alguns TLRs, como TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 e TLR6, são expressos na superfície celular, outros, como TLRs 3, 7, 8 e 9, predominam em compartimentos intracelulares, como endossomos. A classificação dos TLRs baseia-se nas suas sequências primárias, com cada subfamília especializada no reconhecimento de diferentes PAMPs. Os TLRs 1, 2 e 6 reconhecem lipídios, enquanto os TLRs 7, 8 e 9 são responsáveis pelo reconhecimento de ácidos nucleicos (AKIRA; TAKEDA; KAISHO, 2001; AKIRA; UEMATSU; TAKEUCHI, 2006; KAWAI; AKIRA, 2010).

Tabela 2. Reconhecimento dos TLR's aos componentes microbianos. Fonte: Akira, S., Uematsu, S., & Takeuchi, O. (2006).

Componentes microbianos	Espécies	Uso de TLR
LPS	Bactérias Gram-negativas	TLR4
Lipopeptídeos diacilados	Mycoplasma	TLR6/TLR2
Lipopeptídeos triacilados	Bactérias e micobactérias	TLR1/TLR2
LTA (ácido lipoteicoico)	Streptococcus do grupo B	TLR6/TLR2
PG (peptidoglicano)	Bactérias Gram-positivas	TLR2
Porinas	Neisseria	TLR2
Lipoarabinomanana	Micobactérias	TLR2
Flagelina	Bactérias flageladas	TLR5
CpG-DNA	Bactérias e micobactérias	TLR9

Brightbill *et al.* (1999) destacam o papel do TLR2, que é ativado por lipoproteínas microbianas, particularmente aquelas presentes na parede celular de diversas bactérias. A ativação do TLR2 resulta na produção de citocinas inflamatórias, como IL-12, que são importantes para a diferenciação das células T para o perfil T_H1, essencial para a resposta celular contra patógenos intracelulares. Além disso, a ativação do TLR2 induz a expressão de óxido nítrico (NO), uma molécula antimicrobiana importante para a eliminação de microrganismos. Esse processo é fundamental para a defesa do hospedeiro contra infecções bacterianas, incluindo aquelas causadas por micobactérias (BRIGHTBILL; LIBRATY; KRUTZIK; YANG *et al.*, 1999).

2.8.4. Aspectos imunológicos: Receptores *Toll-Like* na hanseníase

O reconhecimento de microrganismos por receptores da imunidade inata é um dos primeiros passos na ativação da resposta imune contra patógenos intracelulares. O bacilo de Hansen apresenta, em sua parede celular, o glicolípido lipoarabinomanana (LAM) e, em sua cápsula, o PGL-I, ambos considerados moléculas de superfície fundamentais para o reconhecimento pelo sistema imune. Esses componentes interagem preferencialmente com os TLR's 1 e 2, formando o heterodímero TLR1/2, cuja ativação desencadeia cascatas de sinalização intracelular. Tais vias regulam a disseminação de microrganismos intracelulares e modulam respostas tanto da imunidade inata quanto da adaptativa, evidenciando o papel central desses receptores na defesa contra a infecção (ANTUNES; GOULART; LIMA; ALVES *et al.*, 2019).

Os TLR's dos subtipos TLR1/2, TLR2, TLR4 e TLR6 exercem papel central na detecção dos PAMP's do *M. leprae*. Especificamente, os heterodímeros TLR1/TLR2 são fundamentais para o reconhecimento das lipoproteínas micobacterianas, promovendo a ativação de respostas pró-inflamatórias. Existem evidências de que a expressão de TLR1 e TLR2 seja mais acentuada em

indivíduos com hanseníase tuberculoide em comparação àqueles com hanseníase virchowiana, o que sugere que a ativação desses receptores contribui para uma resposta imunológica mais eficaz contra o bacilo (KRUTZIK; OCHOA; SIELING; UEMATSU *et al.*, 2003; SILVA; SILVA; BRASIL; ALVES *et al.*, 2024).

Underhill *et al.* (1999) demonstraram que o receptor TLR2 é recrutado para os fagossomos de macrófagos após a fagocitose de microrganismos, sendo capaz de discriminar entre diferentes agentes patogênicos com base em seus PAMPs. No estudo, a expressão funcional do TLR2 em células transfectadas resultou em maior produção de citocinas inflamatórias, como TNF- α , em resposta a componentes bacterianos. Esses achados reforçam o papel do TLR2 como importante sensor da imunidade inata, com implicações diretas para a compreensão da resposta inflamatória contra micobactérias (UNDERHILL; OZINSKY; HAJJAR; STEVENS *et al.*, 1999).

Krutzik *et al.* (2003) analisaram a expressão e ativação dos heterodímeros TLR1-TLR2, bem como dos homodímeros TLR1 e TLR2, em pacientes com diferentes formas clínicas da hanseníase, demonstrando que esses receptores podem ter relação com a ativação celular em resposta às lipoproteínas presentes no *M. leprae*. Os autores demonstraram que a expressão dos receptores TLR1 e TLR2 nas lesões cutâneas de pacientes com hanseníase se associa aos diferentes perfis de resistência ou susceptibilidade frente à infecção pelo bacilo de Hansen. Embora a expressão de TLR2 em monócitos circulantes fosse semelhante em todo o espectro clínico da doença, diferenças significativas foram observadas no microambiente das lesões. Em indivíduos com a forma tuberculoide, caracterizada por maior controle imunológico da infecção, TLR1 e TLR2 apresentaram expressão elevada em monócitos e células dendríticas infiltrantes. Em contraste, nas lesões virchowianas, associadas à disseminação bacteriana, esses receptores estavam pouco expressos. Tais variações refletiram o perfil local de citocinas: predomínio de citocinas do tipo 1, como o IFN- γ , IL-12 e fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) na forma tuberculoide, e de citocinas do tipo 2 (IL-4 e IL-10) no polo virchowiano. Em especial, IL-4 foi capaz de reduzir a expressão de TLR2 em nível transcricional e proteico, enquanto IFN- γ e GM-CSF promoveram o aumento da expressão de TLR1. Esses achados sugerem que a modulação local da expressão de TLR2 e TLR1 contribui de maneira importante para o desfecho da resposta imune frente ao patógeno (KRUTZIK; OCHOA; SIELING; UEMATSU *et al.*, 2003).

Bochud e colaboradores (2009) examinaram a relação entre polimorfismos no gene do receptor TLR4 e a proteção conferida contra a hanseníase. O estudo, realizado com uma coorte de 441 pacientes etíopes e 197 indivíduos saudáveis, demonstrou que dois polimorfismos específicos no TLR4 se associam com menor probabilidade de desenvolvimento da doença. Esses resultados indicam que tais variantes genéticas podem modular a ativação do TLR4, influenciando a resposta

imunológica do hospedeiro frente ao *M. leprae* e regulando a produção de mediadores inflamatórios. Ademais, verificou-se que a estimulação de monócitos pelo bacilo pode reduzir parcialmente a resposta subsequente à exposição a lipopolissacarídeo (LPS), sugerindo que *M. leprae* seja capaz de modular o sinal mediado pelo TLR4, afetando a dinâmica da imunidade do hospedeiro (BOCHUD; SINSIMER; ADEREM; SIDDIQUI *et al.*, 2009).

Polimorfismos no gene que codifica o TLR2 têm sido associados à predisposição ao desenvolvimento de reações reversas em indivíduos com hanseníase. Há evidências que variantes específicas de TLR2 possam modular a ativação de vias inflamatórias, influenciando a intensidade da resposta imunológica e aumentando a susceptibilidade a episódios de reação tipo 1 (BOCHUD; HAWN; SIDDIQUI; SAUNDERSON *et al.*, 2008). Esses achados destacam o papel crucial da diversidade genética do TLR2 na regulação da imunidade do hospedeiro e na expressão clínica da doença, evidenciando seu potencial como marcador prognóstico para manifestações imunopatológicas na hanseníase.

2.8.5. Aspectos imunológicos: Participação do sistema imune adaptativo e o papel dos linfócitos na hanseníase

Na imunopatogênese da hanseníase, constata-se a notável participação do sistema imune adaptativo do hospedeiro, revelando, dessa maneira, dois padrões nitidamente divergentes: um de resistência, no qual a resposta imune celular é vigorosa, combatendo a micobactéria, com predominância de linfócitos T CD4⁺ T_H1 e T_H17. Esse perfil é caracterizado pela presença escassa de bacilos e lesões localizadas, delineando o polo tuberculoide. Por outro lado, no polo oposto, emerge um perfil de suscetibilidade, marcado pela ausência de resposta celular específica aos antígenos do *M. leprae*. Nesse contexto, prevalece a resposta mediada por linfócitos T CD4⁺ T_H2 e T_{Reg}, acompanhada por intensificação da resposta humoral. Esse padrão se associa com a produção de anticorpos, que não são efetivos no combate ao patógeno, levando à proliferação bacilar intensiva e à disseminação de lesões, configurando o polo virchowiano (FROES; TRINDADE; SOTTO, 2022).

A resposta imune mediada por células T_H2, típica da forma virchowiana, caracteriza-se pela produção de IL-4, que estimula a ativação das células B para a síntese de anticorpos, induz a produção de IgE e promove a expansão dos linfócitos T CD8⁺. Além disso, a IL-4 exerce efeito inibitório sobre a ativação dos macrófagos e interfere negativamente na imunidade celular ao bloquear a proliferação de células T dependente de IL-2, bem como a ativação dos monócitos induzida por IFN- γ . Em contrapartida, a resposta T_H1, associada à forma tuberculoide, envolve a

liberação de IL-2, responsável pela ativação e proliferação dos linfócitos T $CD4^+$, e a produção de IFN- γ , que potencializa a resposta efetora contra o patógeno, contribuindo para o controle da infecção - Figura 7 (GOULART; PENNA; CUNHA, 2002).

Nas lesões cutâneas da hanseníase, observa-se variação significativa nos subtipos de linfócitos T, refletindo os diferentes padrões imunológicos conforme a forma clínica da doença. Pacientes com a forma tuberculoide apresentam maior proporção de células $CD4^+$ em relação às $CD8^+$, com razão aproximada de 1,9:1, enquanto nas lesões da forma virchowiana, as células $CD8^+$ predominam, com proporção de cerca de 1:0,6. Além disso, em indivíduos com a forma tuberculoide, tanto nas lesões quanto no sangue, predomina a presença de células T $CD4^+$ do tipo memória ($CD45RO^+$), ao passo que, nas lesões da forma virchowiana, há maior frequência de células T-naive. No que diz respeito às células $CD8^+$, as lesões virchowianas são caracterizadas pela predominância de células T supressoras ($CD28^-$), enquanto as lesões da forma tuberculoide exibem maior presença de células T citotóxicas ($CD28^+$). Os marcadores de superfície CD3, CD4, CD8 e CD45RO são essenciais para a identificação e classificação desses linfócitos, evidenciando a complexidade das respostas imunes contra o *M. leprae* (MODLIN, 1994).

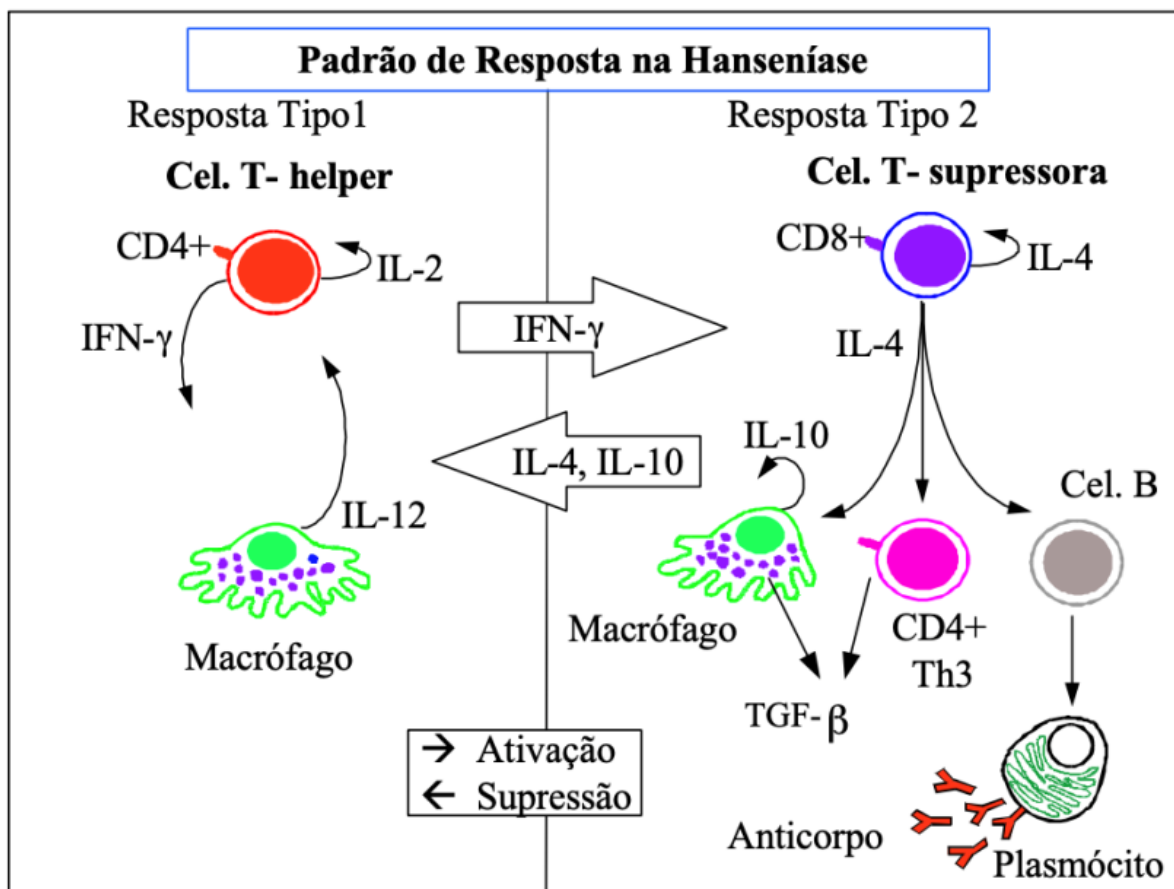


Figura 7: Esquema representativo da polarização entre as subpopulações T_H1 e T_H2 na hanseníase. Fonte: Adaptado de Goulart *et al.*, 2002.

Estudos recentes têm investigado as características fenotípicas e funcionais das células da imunidade inata e adaptativa como potenciais biomarcadores para o *status* clínico e reações hansênicas. Análises *ex vivo* e *in vitro* de monócitos, neutrófilos e linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ revelaram diferenças significativas na expressão de TLRs e na produção de citocinas entre pacientes com hanseníase e controles saudáveis. Particularmente, observou-se que a expressão do TLR4 estava reduzida nos linfócitos T CD4⁺ de pacientes com reação do tipo 1, enquanto a expressão do TLR2 estava aumentada nos linfócitos T CD8⁺ de pacientes com reação do tipo 2. Além disso, níveis elevados de IL-10 foram detectados em ambos os subconjuntos de linfócitos T em pacientes com reações hansênicas, sugerindo uma modulação da resposta imunológica associada à ativação desses receptores (CARVALHO; ARAUJO; COELHO-DOS-REIS; PERUHYPE-MAGALHAES *et al.*, 2018).

2.8.6. Aspectos imunológicos: óxido nítrico e sua participação na hanseníase

O óxido nítrico (NO) é um gás de baixo peso molecular que exerce múltiplas funções na biologia celular. Inicialmente, foi reconhecido como importante agente vasodilatador arterial. No âmbito do sistema imunológico, sua produção foi observada em macrófagos ativado por citocinas ou em resposta a infecções, indicando papel relevante na defesa contra patógenos. Posteriormente, foram identificadas três isoformas específicas da enzima óxido nítrico sintase (NOS) — neuronal (nNOS), induzível (iNOS) e endotelial (eNOS) —, cada uma com padrão próprio de expressão e função tecidual. Atualmente, sabe-se que diversos tipos celulares podem produzir NO através dessas enzimas, com efeitos celulares variados, controlados por mecanismos regulatórios complexos que modulam sua síntese e sinalização (LEE; REY; BESLER; WANG *et al.*, 2017).

Várias células do sistema imune são capazes de gerar NO. Macrófagos, neutrófilos, certas populações de células dendríticas e linfócitos T podem expressar iNOS em resposta a diferentes estímulos inflamatórios ou infecciosos. Nessa perspectiva, o NO atua como um mediador efetor na resposta inflamatória, favorecendo a eliminação de bactérias, além de participar na modulação das respostas imunológicas adaptativas. Sua ação antimicrobiana deve-se, em grande parte, ao efeito tóxico que exerce sobre microrganismos e células-alvo (LEE; REY; BESLER; WANG *et al.*, 2017).

Na hanseníase, o bacilo encontra-se inserido no microambiente dos macrófagos do hospedeiro, que, quando caracterizado por estresse oxidativo e pela produção de óxido nítrico, bem como por outras condições adversas como pH ácido, baixa pressão parcial de oxigênio e alta concentração de dióxido de carbono, atuam de forma conjunta para limitar a proliferação do patógeno. Ademais, sabe-se que a expressão da iNOS e a produção de NO encontram-se

aumentadas em granulomas ricos em macrófagos de pacientes durante a reação reversa, sugerindo sua participação na resposta inflamatória exacerbada característica dessa modalidade de reação hansênica. De forma notável, também se observa a expressão significativa de iNOS e síntese de NO nos nervos periféricos de indivíduos com hanseníase, o que indica um possível papel desse mediador no processo de lesão neural associado à doença (VISCA; FABOZZI; MILANI; BOLOGNESI *et al.*, 2002).

O perfil de resposta tipo 1 caracteriza-se pela produção de TNF- α e IFN- γ , citocinas que ativam os macrófagos e estimulam a expressão da iNOS, promovendo a liberação de radicais livres responsáveis pela destruição do bacilo. Na hanseníase, demonstrou-se que tanto o TNF- α quanto o IFN- γ se ligam aos receptores presentes na superfície dos macrófagos, induzindo a modificação fenotípica dos macrófagos indiferenciados em macrófagos inflamatórios do tipo M1. Esses macrófagos M1 passam a produzir citocinas pró-inflamatórias e enzimas como a iNOS, que promove a síntese de NO e, conseqüentemente, a geração de radicais livres que atuam na eliminação do bacilo (DE SOUSA; SOTTO; SIMÕES QUARESMA, 2017).

Ademais, propõe-se que a micobactéria, nos macrófagos infectados, estimule a produção de duas citocinas com efeitos opostos e que interferem na produção de NO: o TNF- α , que atua como sinal autócrino para potencializar a síntese de NO induzida pelo IFN- γ ; e o TGF- β 1, que funciona como um sinal autócrino capaz de inibir essa produção de NO mediada pelo IFN- γ . O TGF- β 1 exerce efeito supressor sobre os macrófagos, antagonizando a ativação da atividade antimicrobiana mediada pelo NO induzida pelo IFN- γ , além de inibir a produção de TNF- α (figura 8). Dessa forma, esse fator pode contribuir para a manutenção da infecção (GOULART; PENNA; CUNHA, 2002).

Assim, compreender de maneira aprofundada a dinâmica da produção de NO, incluindo a participação potencial da imunidade inata em sua liberação, bem como a complexa interação desse mediador com o *M. leprae*, revela-se imprescindível para a elucidação de mecanismos adicionais que modulam a imunopatogênese da hanseníase. Essa compreensão não apenas contribui para o avanço do conhecimento sobre os processos celulares e moleculares envolvidos na resposta imune contra o patógeno, mas também oferece subsídios fundamentais para a concepção de novas estratégias terapêuticas, desenvolvimento de biomarcadores de monitoramento clínico e aperfeiçoamento das abordagens de prevenção e manejo da doença, promovendo uma visão integrada entre imunidade inata, imunidade adaptativa e patogênese microbiana.

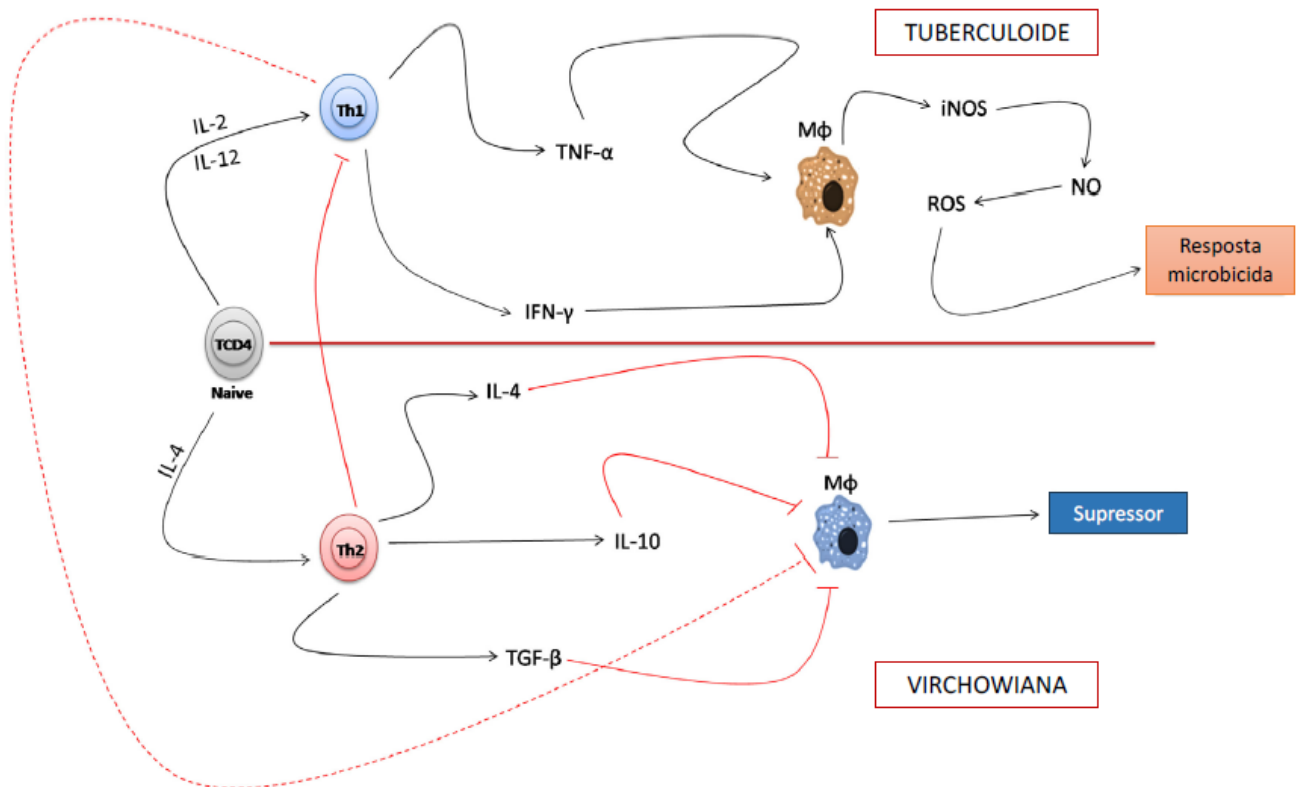


Figura 8. Paradigma imunológico das respostas T_H1 e T_H2 e a participação do NO nas formas polares da hanseníase. Na forma TT, linfócitos T_H1 produzem citocinas como $TNF-\alpha$ e $IFN-\gamma$, promovendo a ativação de macrófagos que expressam iNOS e produzem NO, resultando na destruição do bacilo. Por outro lado, na forma VV, o predomínio da resposta tipo 2 em detrimento da tipo 1 leva à redução da atividade microbicida dos macrófagos, em função de citocinas como IL-4, IL-10 e $TGF-\beta$, que favorecem a sobrevivência do bacilo. Fonte: adaptado de Sousa *et al.*, 2017.

3. JUSTIFICATIVA

A complexidade clínica da hanseníase reflete diretamente a dinâmica da resposta imunológica do hospedeiro frente ao agente etiológico da doença. Essa heterogeneidade decorre da interação entre imunidade inata e adaptativa, que determina a carga bacilar, a extensão das lesões cutâneas e nervosas, bem como a ocorrência de reações imunológicas. Dessa forma, variações na resposta imune explicam a diversidade de apresentações clínicas, que vão desde formas paucibacilares restritas até formas multibacilares disseminadas, evidenciando a importância de compreender os mecanismos imunológicos subjacentes para o diagnóstico, monitoramento e desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes.

O desfecho clínico da hanseníase é determinado em estágios precoces da infecção, no momento do reconhecimento do patógeno por receptores da imunidade inata. Trabalhos anteriores desenvolvidos por este grupo de pesquisa já demonstraram que células expressando o heterodímero TLR1/2 desempenham um papel fundamental no controle da carga bacilar. No entanto, a complexidade da rede imunológica na hanseníase demanda uma investigação mais abrangente (CHEBLI-DE-ABREU, N.; CARVALHO, A.; MENEZES, Y. R.; MACEDO, J. M. *et al.*, 2025). Diferentemente das abordagens prévias focadas em dímeros específicos, este estudo avalia as células TLR2⁺ de forma ampla - contemplando tanto heterodímeros quanto homodímeros - e propõe uma integração inédita desses dados com a carga bacilar e a produção de moléculas efetoras, como o óxido nítrico, em um ambiente de interação direta com o bacilo.

Em vista desse cenário, a investigação justifica-se pela necessidade de elucidar a interface entre as imunidades inata e adaptativa na hanseníase. O diferencial do estudo reside na ampliação da compreensão de como a ativação abrangente do TLR2 em células da imunidade inata se relaciona com o estímulo do sistema imune adaptativo, incluindo subpopulações de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, modulando o equilíbrio entre citocinas do tipo 1, com função efetora, e citocinas regulatórias. Essa abordagem integrada é essencial não apenas para a identificação de biomarcadores de gravidade da doença, mas também para o desenvolvimento de estratégias imunoterapêuticas voltadas ao controle bacteriológico, à mitigação do dano neural e à interrupção da cadeia de transmissão da hanseníase.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Avaliar, de forma integrada, o papel do receptor TLR2 (homodímeros e heterodímeros) como mediador da resposta imune inata e sua influência na ativação da imunidade adaptativa em pacientes com hanseníase, em um ambiente de interação direta com antígenos do *M. leprae*.

4.2. Objetivos específicos

Realizar ensaios de estímulo *in vitro* das PBMCs de pacientes com diferentes formas clínicas da hanseníase utilizando antígenos de *M. leprae* com a finalidade de;

1. Caracterizar a expressão fenotípica ampla do TLR2 em células da imunidade inata, especificamente em macrófagos derivados de monócitos, comparando diferentes grupos clínicos, e correlacionar essa expressão com a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-12 e IL-1 β , por essas células;
2. Caracterizar a expressão fenotípica ampla do TLR2 em células da imunidade inata, especificamente em macrófagos derivados de monócitos, comparando diferentes grupos clínicos, e correlacionar essa expressão com a produção de óxido nítrico e a quantificação da carga bacilar;
3. Analisar a interface imunológica inato-adaptativa, avaliando como a sinalização via TLR2 pode impactar em subpopulações de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ e no perfil das citocinas IFN- γ e IL-10 produzidas (citocina do tipo 1 e regulatória, respectivamente);
4. Caracterizar a razão IFN- γ /IL-10 por subpopulações de linfócitos T CD4⁺ e CD8 avaliando como esse equilíbrio modulador influencia a polarização da resposta imunológica e sua associação com diferentes apresentações clínicas da hanseníase.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa, local de estudo e critérios de seleção dos participantes

O projeto foi aprovado previamente pelos Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) das instituições participantes, conforme documentação apresentada nos Anexos I e II. As aprovações foram concedidas pelo CEP da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG – CAAE: 68583223.2.0000.5149) e pelo CEP da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (HEM/FHEMIG – CAAE: 68583223.2.3001.5124).

A seleção dos participantes ocorreu mediante abordagem direta realizada pelo médico assistente durante as consultas na instituição, ocasião em que eram apresentados os objetivos e procedimentos do estudo, incluindo a coleta sanguínea, e sanadas eventuais dúvidas. Após a entrevista inicial e a manifestação de interesse, a inclusão no estudo foi efetivada mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Indivíduos saudáveis foram recrutados de acordo com os critérios de elegibilidade estabelecidos.

A identificação e o recrutamento dos participantes foram realizados pela equipe médica do Ambulatório de Dermatologia Tropical e Hansenologia do Hospital Eduardo de Menezes, instituição de referência estadual para o diagnóstico, tratamento e reabilitação de pacientes com hanseníase, vinculada à Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais. O diagnóstico foi estabelecido com base em critérios clínicos e epidemiológicos, corroborado por exames complementares, incluindo a determinação do índice baciloscópico e a realização de biópsia cutânea. Foram incluídos indivíduos com idade entre 18 e 60 anos, com diagnóstico confirmado de hanseníase nos 12 meses anteriores à data de recrutamento, caracterizados como casos novos da doença. Nenhum participante apresentava evidências de recidiva ou reinfecção, nem se encontrava em vigência de surto reacional. Todos os pacientes estavam em vigência do tratamento com poliquimioterapia no momento da inclusão no estudo (entre a 1ª e a 12ª dose). A participação foi condicionada à assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Foram excluídos indivíduos em uso recente de imunossupressores (menos de 30 dias antes da coleta) ou com doenças infecciosas ou autoimunes concomitantes.

5.2. Cálculo Amostral

O cálculo amostral foi estabelecido para análises estatísticas baseado na comparação entre mais de duas médias com grupos independentes (ANOVA – Grupos G1-G3). Para o cálculo amostral foi realizado, inicialmente, ensaio piloto de estimulação *in vitro* com antígeno de *M. leprae* de macrófagos derivados de monócitos (CD14⁺), principal célula do sistema imune inato avaliada no presente estudo, de indivíduos sadios e de pacientes com hanseníase (n = 5 por grupo). O percentual dessas células positivas para CD14⁺ foi estabelecido baseado em índice de estimulação (cultura estimulada/cultura não estimulada) avaliado por citometria de fluxo. A partir dos dados de percentual de monócitos positivos estimou-se o desvio padrão (DP) médio dos grupos analisados (DP = 0,126). A diferença mínima a ser detectada foi estimada em 0,21 unidades correspondentes ao percentual de células CD14⁺. Esse valor corresponde a 10% da média do grupo dos pacientes, sendo que, a menor diferença observada em relação ao grupo de sadios foi de 14,2% (0,23 unidades), possibilitando, então, sensibilidade superior à menor diferença detectada no ensaio piloto. O erro alfa foi estabelecido em 5% (0,05), enquanto o erro beta, conforme bem estabelecido no campo da saúde, foi estabelecido em 20%, garantindo então 80% de poder estatístico na detecção de uma diferença entre as médias dos grupos em relação ao percentual de células CD14⁺. O tamanho amostral mínimo estabelecido por grupo (3 grupos) foi de oito indivíduos.

Os pacientes com hanseníase foram estratificados em dois grupos, de acordo com as formas clínicas da doença: Grupo 1 (n = 21), composto por indivíduos com hanseníase paucibacilar, incluindo as formas MHT e MHDT; e Grupo 2 (n = 25), constituído por pacientes com hanseníase multibacilar, englobando as formas MHDD, MHDV e MHV (Tabela 3). Adicionalmente, foi incluído um grupo controle (G3), composto por 31 indivíduos saudáveis, sem histórico de doenças infectocontagiosas ou autoimunes, sem diagnóstico prévio de hanseníase e sem relato de contato conhecido com indivíduos acometidos pela doença. Os participantes do grupo controle apresentavam faixa etária entre 18 e 60 anos e eram funcionários do Laboratório de Análises Clínicas do Colégio Técnico da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Tabela 3. Distribuição dos pacientes com hanseníase de acordo com as formas clínicas.

Grupo	Forma Clínica	Número de Pacientes
PB	MHT	3
	MHDT	18
MB	MHDT	3
	MHDD	2
	MHDV	3
	MHV	17

PB, paucibacilar; MB, multibacilar; MHT, hanseníase tuberculoide; MHDT, hanseníase dimorfa tuberculoide; MHDD, hanseníase dimorfa dimorfa; MHDV, hanseníase dimorfa virchowiana; MHV, hanseníase virchowiana.

5.3. Antígeno de *M. leprae* para ensaios de estimulação *in vitro*

O antígeno empregado nos experimentos de estimulação das PBMCs consistiu em uma suspensão contendo 40.000.000 bacilos de *M. leprae*/mL, fornecida pelo Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos da Secretaria de Estado da Saúde do Paraná. Originalmente preparado para o teste intradérmico de Mitsuda, esse material foi utilizado *in vitro* com o propósito de analisar a resposta imunológica dos leucócitos frente ao estímulo.

5.4. Obtenção, cultura e estimulação de PBMCs

As células mononucleares do sangue periférico foram obtidas a partir de 15 mL de sangue total coletados de cada participante dos grupos G1 a G3, utilizando tubos com heparina sódica como anticoagulante. A separação celular foi realizada por gradiente de densidade com HISTOPAQUE®-1077. Após centrifugação a $1.200 \times g$ por 40 minutos a 25 °C, a interface contendo as PBMCs foi cuidadosamente retirada e transferida para tubos de polipropileno de 50 mL. Em seguida, as células foram submetidas a duas lavagens por centrifugação e ressuspensas em meio RPMI 1640 completo. A contagem e avaliação de viabilidade celular foram efetuadas em Câmara de Neubauer, empregando Azul de Trypan (diluição 1:10). Por fim, a suspensão celular foi ajustada para 1×10^7 células/mL, em conformidade com protocolo previamente descrito (CARVALHO; FERRAZ; HOJO-SOUZA; MEDEIROS *et al.*, 2023).

As PBMC's foram distribuídas em placas de cultura de 96 poços, na concentração de 1×10^6 células por poço, em 200 µL de meio RPMI suplementado com 10% de soro fetal bovino e Pen-Strep. A estimulação celular foi realizada com 1,25 µL do antígeno de Mitsuda, correspondente à proporção de 1:20 entre bacilos e células, seguida de incubação por quatro horas em estufa de CO₂ a 37 °C e 5% de umidade. Como controles positivos de ativação, empregou-se concanavalina A (ConA) para linfócitos e lipopolissacarídeo (LPS) para monócitos. Culturas mantidas nas mesmas condições, porém sem adição de antígeno ou estímulos ConA e LPS, foram utilizadas como controles negativos para o cálculo do índice de estimulação.

5.5. Avaliação do perfil de expressão de marcadores de superfície celular em macrófagos derivados de monócitos e linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ após ensaio de estimulação *in vitro*

Em alíquotas de 200 µL provenientes das culturas preparadas conforme descrito no passo anterior, adicionou-se 20 µL de Brefeldina A (BFA, Sigma-Aldrich) para obtenção de uma

concentração final de 10 µg/mL. As amostras foram mantidas sob incubação adicional por quatro horas nas mesmas condições controladas de estufa previamente estabelecidas. Em seguida, as células foram coradas com o reagente de viabilidade celular "Live/Dead" (MP34955 – Invitrogen) por 20 minutos a 4 °C, processo seguido de centrifugação a 400 × g por cinco minutos também a 4 °C. Após a etapa de marcação para viabilidade, procedeu-se à coloração imunofenotípica com anticorpos monoclonais específicos para a caracterização de monócitos e subpopulações linfocitárias. Para isso, 50 µL de uma solução previamente preparada com anticorpos monoclonais diluídos em tampão FACS foram dispensados em placas de 96 poços com fundo em U (Becton-Dickinson), de acordo com os seguintes painéis:

- Para identificação de macrófagos derivados de monócitos: CD14, HLA-DR e TLR2;
- Para caracterização de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺: CD3, CD4 ou CD8 e CD45RO.

As amostras celulares foram submetidas a incubação inicial de 20 minutos a 4 °C, em ambiente protegido da luz, para favorecer a fixação adequada. Em seguida, adicionou-se 100 µL da solução BD Cytotfix/Cytoperm (Becton-Dickinson) em cada poço, realizando-se leve homogeneização da placa para garantir distribuição uniforme. As amostras permaneceram incubadas por mais 20 minutos nas mesmas condições de temperatura e ausência de luz. Após esse passo, foi realizada centrifugação a 400 × g por cinco minutos a 4 °C, seguida do descarte cuidadoso dos sobrenadantes. As células foram ressuspensas em vórtex e receberam 100 µL da solução BD Perm/Wash (Becton-Dickinson), sendo novamente homogeneizadas e submetidas a nova etapa de lavagem por centrifugação a 400 × g a 4 °C por cinco minutos. Concluídas as etapas de permeabilização e lavagem, procedeu-se à marcação intracelular utilizando anticorpos monoclonais específicos. Para isso, foram dispensados 50 µL de uma mistura de anticorpos previamente preparados em tampão FACS em placas de 96 poços com fundo em U (Becton-Dickinson), com os seguintes marcadores:

- Para fagócitos derivados de monócitos: NF-κB, IL-1β e IL-12;
- Para linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺: IFN-γ e IL-10.

Em seguida, as amostras foram incubadas com a mistura de anticorpos monoclonais por 20 minutos a 4 °C, sob proteção da luz, para permitir a marcação específica das populações celulares de interesse. Após a incubação, procedeu-se à centrifugação a 400 × g por cinco minutos a 4 °C. Os sobrenadantes foram cuidadosamente descartados, e as células ressuspensas e homogeneizadas

por vórtex, sendo então adicionados 200 μ L de solução fixadora (MFF) por poço. Posteriormente, as suspensões celulares foram transferidas para microtubos de poliestireno com capacidade de 500 μ L (Becton Dickinson). A aquisição dos dados foi realizada em um citômetro de fluxo BD LSRFortessa™ (Becton Dickinson), com posterior análise morfométrica e imunofenotípica conduzida no software FlowJo® (versão 10.0). Para a avaliação imunológica em amostras de sangue periférico, empregou-se uma abordagem metodológica voltada à caracterização funcional de monócitos e linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, por meio da detecção de marcadores moleculares de superfície e intracitoplasmáticos (Tabela 4).

Tabela 4. Marcadores utilizados para avaliação do perfil de células do sistema imunológico inato e adaptativo.

Painel de Anticorpos para Citometria de Fluxo				
Anticorpo	Fluorocromo	Clone	Fabricante	Nº de Catálogo
Live/Dead	Acqua	-	ThermoFisher	L34965
CD14	APC-Cy7	HCD14	Biologend	325620
HLA-DR	AF-700	LN3	ThermoFisher	56-9956-42
TLR2	FITC	11G7	ThermoFisher	MA517723
NF-κB	PE-Cy7	K10-895.12.50	BD Bioscience	560335
IL-1b	PE	CRM56	ThermoFisher	12-7018-82
IL-12	eFluor450	eBioHP40	ThermoFisher	48-7235-42
CD3	FITC	OKT3	ThermoFisher	11-0037-42
CD4	APC-Cy7	A161A1	Biologend	357416
CD8	AF-700	SK1	Biologend	344724
CD45RO	PE-Cy5	UCHL1	Biologend	304208
IFN-g	PE	4S.B3	ThermoFisher	12-7319-42
IL-10	eFluor660	JES3-9D7	ThermoFisher	50-7108-42

5.6. Aquisição e estratégia de análise de dados

Para a caracterização celular por citometria de fluxo, foram considerados os parâmetros físicos de tamanho celular (FSC) e complexidade interna ou granulosidade (SSC), além dos sinais fluorescentes gerados pela excitação dos fluoróforos por diferentes fontes de *laser*. Os *lasers* utilizados incluíram: azul (488 nm), com detecção nos canais correspondentes a FITC, PE, PE-Cy5 e PE-Cy7; vermelho (640 nm), para os fluoróforos APC, AF-700 e APC-Cy7; e violeta (405 nm), direcionado para Pacific Blue e Amcyan. A análise das populações celulares de interesse, bem como a determinação de suas respectivas frequências percentuais, foi realizada por meio do *software* FlowJo® (versão X). Foram adquiridos 100.000 eventos, abrangendo as populações de linfócitos e fagócitos derivados de monócitos.

5.6.1. Estratégias de análise para a caracterização das populações de fagócitos derivados de monócitos e dos linfócitos

Para caracterização fenotípica dos fagócitos derivados de monócitos e dos linfócitos cultivados *in vitro*, bem como de suas subpopulações, foram aplicadas estratégias de *gating* sequencial na análise citométrica. Inicialmente, elaborou-se um gráfico de dispersão frontal (*forward scatter*, FSC-A \times FSC-H; Figura 9A) para a seleção de eventos correspondentes a células únicas (*singlets*). Em seguida, aplicou-se um *gate* específico para excluir células inviáveis, selecionando a população de células viáveis negativas para o corante de morte celular (Live/Dead; Figura 9B). Posteriormente, com base na dispersão lateral (*Side Scatter*, SSC) versus dispersão frontal (FSC), definiu-se um *gate* abrangendo as populações de monócitos e linfócitos (Figura 9C). Para a caracterização específica, foram aplicados *gates* adicionais: macrófagos derivados de monócitos foram identificados como CD14⁺ (APC-Cy7; Figura 9D) e linfócitos T como CD3⁺ (FITC; Figura 9E).

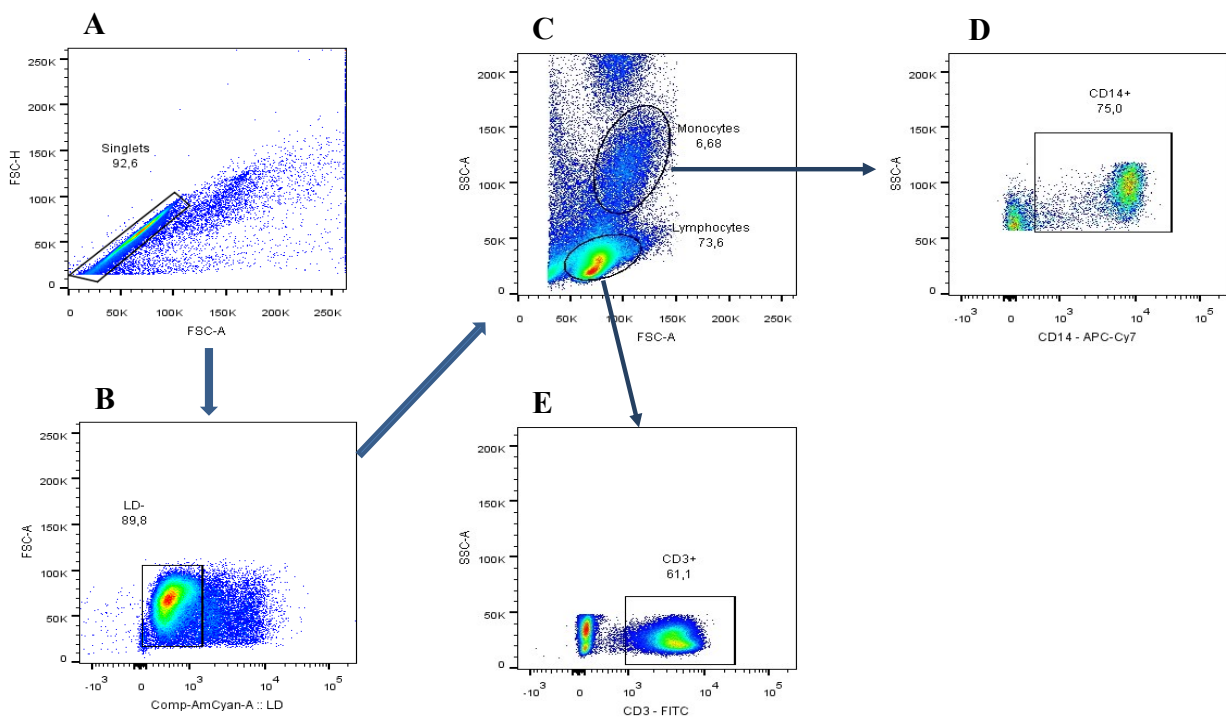


Figura 9. Análise representativa de fagócitos derivados de monócitos e linfócitos do sangue periférico na população de células avaliada por citometria de fluxo. A figura A representa a seleção de células isoladas (*singlets*). B representa a população de células vivas (Live/Dead⁻). A figura C representa o perfil celular da população de monócitos e linfócitos, selecionada na janela “*gate*” em gráfico de tamanho e granulosidade. A figura D representa o perfil de análise da população de macrófagos derivados de monócitos em gráfico de densidade de fluorescência para CD14⁺ (APC-Cy7). A figura E representa o perfil de análise da população de linfócitos em gráfico de densidade de fluorescência para CD3⁺ (FITC).

5.6.2. Estratégias de análise para a caracterização das populações de fagócitos derivados de monócitos TLR2⁺

Após a definição inicial da população de células CD14⁺ (Figura 9D), foi gerado um gráfico de dispersão lateral (SSC) em relação à intensidade de fluorescência para o marcador HLA-DR (AF700; Figura 10A). A partir desse *gate* previamente estabelecido, aplicaram-se de forma sequencial as seguintes estratégias analíticas: (i) SSC versus fluorescência para TLR2 (FITC; Figura 10B); e (ii) SSC versus fluorescência para NF-κB (PE-CY7 e Figura 10C). Em sequência, procedeu-se à avaliação da expressão de citocinas intracelulares, com gráficos SSC versus intensidade de fluorescência para IL-12 (eFluor450 e Figura 10D) e IL-1β (PE; Figura 10E). Todas as análises foram conduzidas para determinação tanto do percentual de células positivas quanto da intensidade média de fluorescência (MFI), por meio de gráficos do tipo histograma.

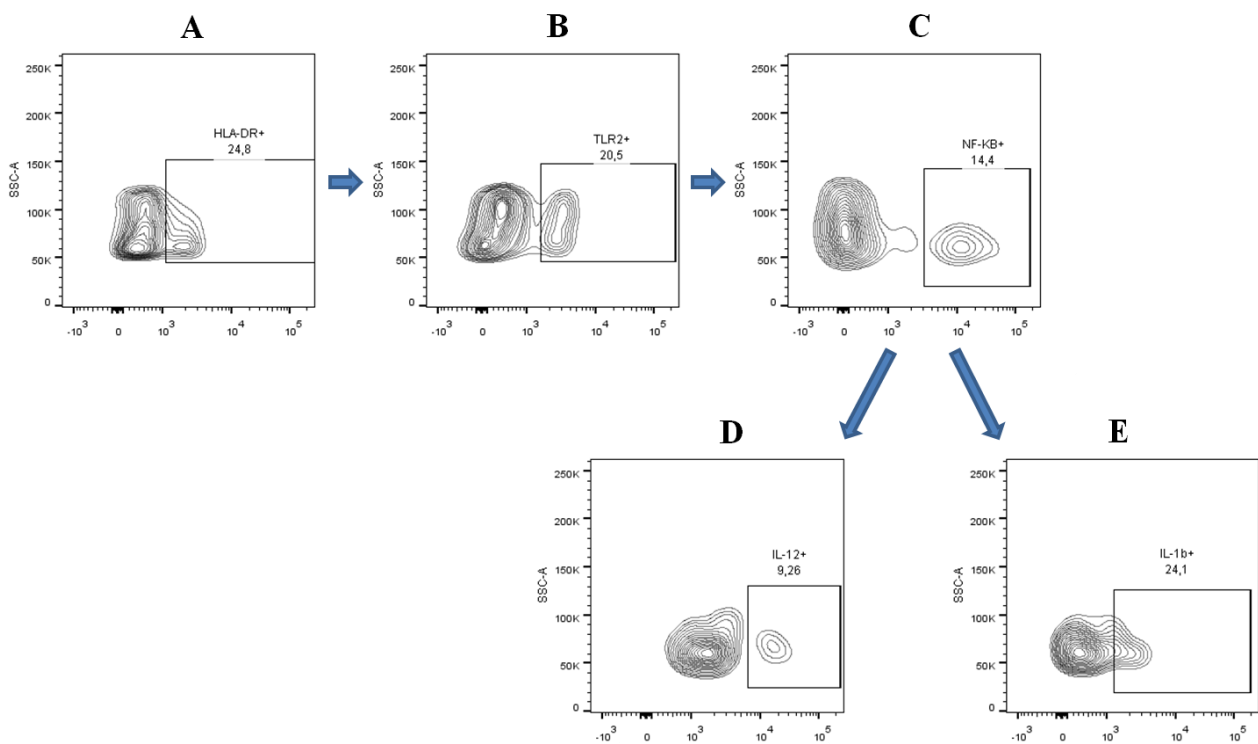


Figura 10. Análise do perfil fenotípico dos fagócitos derivados de monócitos do sangue periférico após estimulação com antígeno de *M. leprae*. **A** representa SSC versus densidade de fluorescência para HLA-DR (AF700). **B** representa SSC versus densidade de fluorescência para TLR2⁺ (FITC). **C** representa SSC versus densidade de fluorescência para NF-κB⁺ (PE-CY7). **D** e **E** representam as análises da produção das citocinas IL-12 e IL-1β, respectivamente.

5.6.3. Estratégias de análise para a caracterização das subpopulações de linfócitos

Para a caracterização fenotípica dos linfócitos circulantes e de suas subpopulações, iniciou-se a análise com a construção de um gráfico de dispersão frontal (*forward scatter*, FSC) em relação à intensidade de fluorescência para CD3 (FITC), permitindo a seleção da população total de linfócitos por meio de um *gate* específico. Em seguida, foram aplicadas estratégias direcionadas à identificação das subpopulações T: para os linfócitos T CD4⁺, foi gerado um gráfico FSC versus fluorescência para CD4 (APC-Cy7); para os linfócitos T CD8⁺, utilizou-se um gráfico FSC versus fluorescência para CD8 (AF700). Após a definição dessas subpopulações, procedeu-se à análise de memória, criando gráficos de fluorescência para CD45RO (PerCP-Cy5) em relação a CD4 (APC-Cy7) ou CD8 (AF700). Por fim, investigou-se o perfil funcional dessas subpopulações linfocitárias por meio da detecção intracelular das citocinas IFN- γ e IL-10 (Figura 11). Todas as análises foram realizadas considerando tanto o percentual de células positivas quanto MFI, utilizando gráficos do tipo histograma para visualização dos dados.

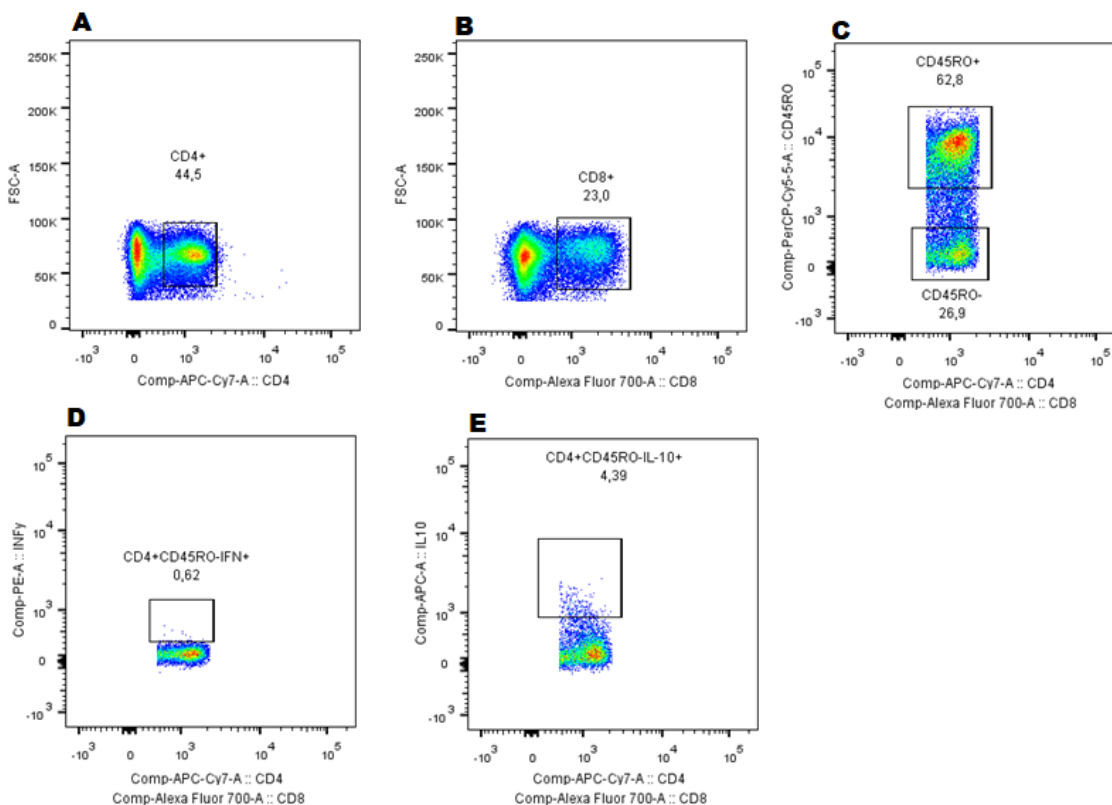


Figura 11. Análise do perfil fenotípico dos linfócitos do sangue periférico e suas subpopulações, por citometria de fluxo. **A** e **B** representam o perfil das subpopulações de linfócitos CD4⁺ e CD8⁺ e **C** representa o perfil de linfócitos de memória ativados, selecionados no *gate* em gráfico de densidade de fluorescência para CD45RO (PerCP-Cy5) versus densidade de fluorescência para CD4 (APC-Cy7) ou para CD8 (AF700). **D** e **E** representam o perfil de análise da expressão de IFN- γ e IL-10 pelas subpopulações de linfócitos do sangue periférico.

5.7. Quantificação da produção de óxido nítrico (NO) no sobrenadante da cultura

25 µL do sobrenadante de cada cultura foram incubados com a mesma quantidade de reagente de Griess (Sigma-Aldrich) por 30 minutos em temperatura ambiente. A absorbância foi medida a 540 nm utilizando um leitor de microplacas EMax. A concentração de óxido nítrico foi calculada por meio de uma curva padrão de NaNO₂, conforme descrito anteriormente (MOURA; CARVALHO; BRITO; ROATT *et al.*, 2024).

5.8. Análise estatística

Os testes estatísticos foram realizados com o apoio instrumental do *software* GraphPad Prism 8.00 (Prism Software, Irvine, EUA). A normalidade dos dados foi demonstrada pelo teste Kolmogorov-Smirnoff. As comparações entre os grupos experimentais foram realizadas por meio de análise de variância (ANOVA), seguida de correção para múltiplas comparações pelo teste de Turkey para dados paramétricos. Para dados não paramétricos foi utilizado o teste Kruskal-Wallis seguido pelo pós-teste de Dunn. Em relação as análises de correlações, o teste de Pearson foi utilizado para dados paramétricos enquanto o teste de Spearman para os não-paramétricos. Os dados obtidos foram considerados estatisticamente significativos quando o valor de p foi menor do que 0,05 ($p < 0,05$).

6. RESULTADOS

6.1. Pacientes paucibacilares apresentam níveis maiores do percentual de fagócitos derivados de monócitos ativados, positivos para TLR2 (CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺) e produtores das citocinas IL-12 e IL-1β

Os fagócitos CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺ de pacientes paucibacilares apresentaram maior percentual de células positivas para IL-12 quando comparados aos indivíduos saudáveis ($p = 0,0105$; aumento de 1,4 vezes) e aos pacientes multibacilares ($p < 0,0001$; aumento de 1,8 vezes). Apesar do aumento na frequência de células produtoras de IL-12 observado nos pacientes paucibacilares em comparação aos controles e aos pacientes multibacilares, não se identificaram diferenças na intensidade média de fluorescência (MFI) dessa citocina entre os grupos analisados (Figura 12).

Em relação à IL-1β, o percentual de células positivas para essa citocina foi significativamente mais elevado no grupo paucibacilar quando comparado aos indivíduos do grupo controle ($p = 0,0013$; aumento de 1,7 vezes) e aos pacientes multibacilares ($p < 0,0001$; aumento de 2,1 vezes), não sendo observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos multibacilar e controle. Quanto à MFI de IL-1β, verificou-se aumento significativo nos pacientes paucibacilares em relação ao grupo controle ($p = 0,0361$; aumento de 1,4 vezes), não se detectando diferença significativa entre os grupos paucibacilares e multibacilares (Figura 12).

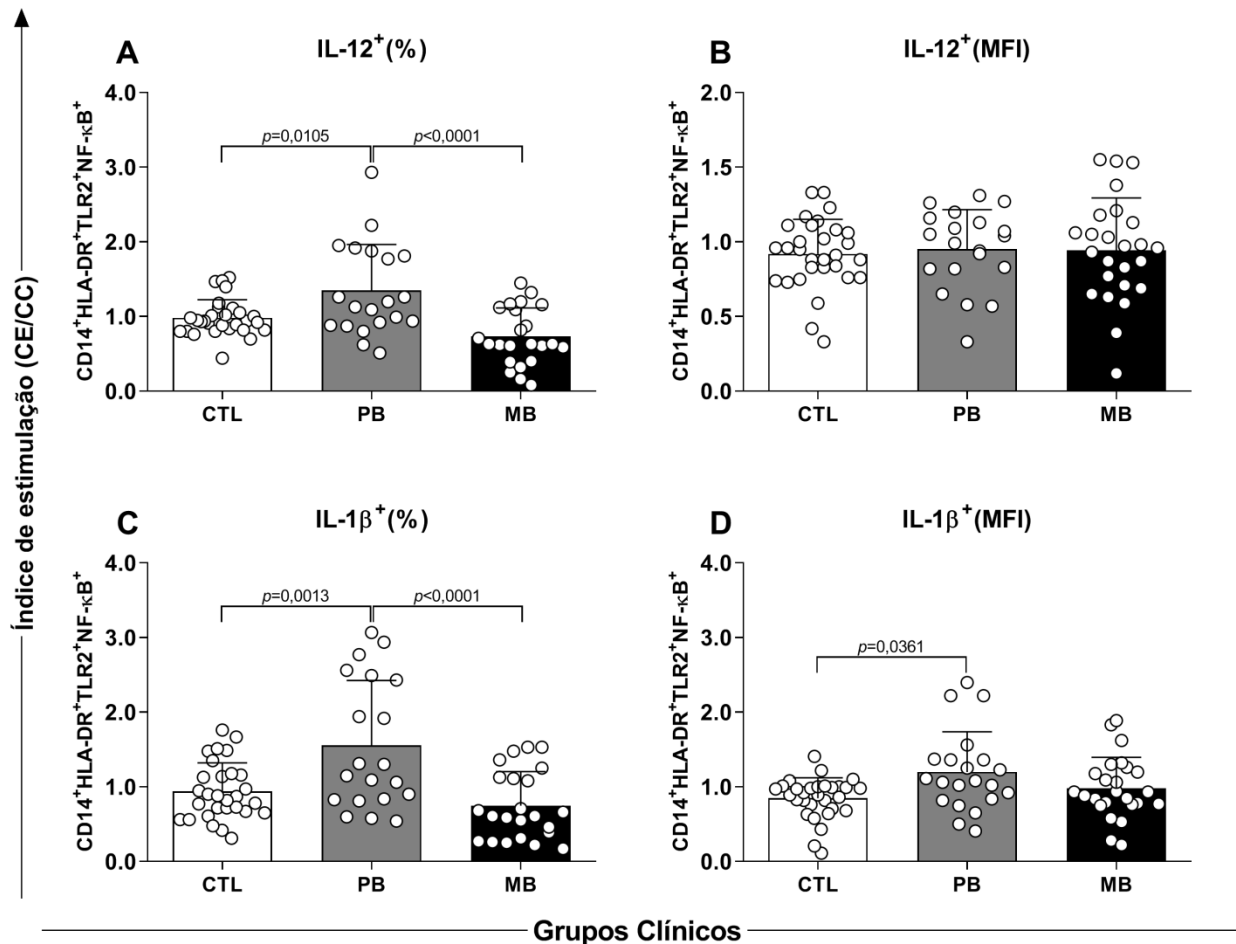


Figura 12. Análise de fagócitos derivados de monócitos ativados, positivos para TLR2 e produtores das citocinas IL-12 (CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺; A) e IL-1β (CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺; C), expressos em valores percentuais (A e C) e por intensidade média de fluorescência (MFI; B e D), após estímulo com antígeno de Mitsuda. Os resultados estão apresentados como dados de dispersão com sobreposição de gráficos de barra (média±DP).

Observou-se correlação negativa moderada entre o índice bacilosκόpio e o percentual de células CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ ($r = -0,4664$; $p = 0,0014$), indicando que maiores valores de IB se associaram a menores frequências desse subgrupo celular. Não foi observada correlação estatisticamente significativa entre o índice bacilosκόpio e a MFI de células CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ ($r = -0,1700$; $p = 0,2641$; Figura 13).

Verificou-se correlação negativa moderada entre o índice bacilosκόpio e o percentual de células CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ ($r = -0,4433$; $p = 0,0026$), indicando que maiores valores de IB se associaram a menores frequências desse subgrupo celular. Observou-se correlação negativa fraca, porém significativa, entre o índice bacilosκόpio e a MFI de células CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ ($r = -0,2959$; $p = 0,0459$; Figura 13).

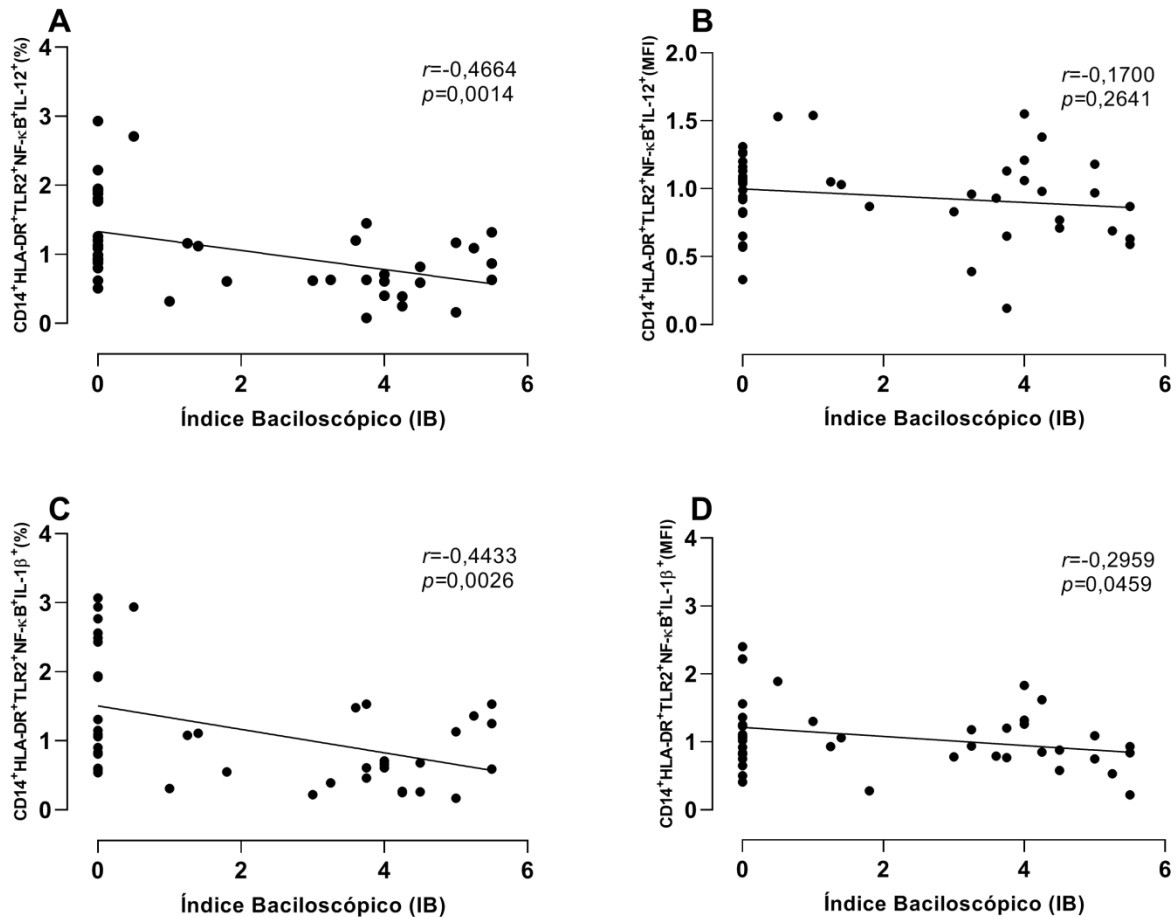


Figura 13. Análise da correlação do valor do IB com o a expressão de fagócitos derivados de monócitos ativados, positivos para TLR2 e produtores das citocinas IL-12 ($CD14^+HLA-DR^+TLR2^+NF-\kappa B^+IL-12^+$; A) e IL-1 β ($CD14^+HLA-DR^+TLR2^+NF-\kappa B^+IL-1\beta^+$; C), expressos em valores percentuais e por intensidade média de fluorescência (B e D, respectivamente), após estímulo com antígeno de Mitsuda.

6.2. A estimulação de linfócitos T $CD4^+CD45RO^+$ de pacientes multibacilares com antígeno de *M. leprae* resultou em maior produção de IL-10 e menor produção de IFN- γ , quando comparada à resposta observada em pacientes paucibacilares

Os linfócitos T $CD4^+CD45RO^+$ produtores de IFN- γ apresentaram percentual significativamente mais elevado no grupo paucibacilar quando comparados aos indivíduos controles ($p = 0,0011$; aumento de 1,8 vezes) e aos pacientes multibacilares ($p < 0,0001$; aumento de 2,9 vezes). Em relação à expressão intracelular de IFN- γ , avaliada pela intensidade média de fluorescência, observaram-se valores significativamente mais elevados nos indivíduos paucibacilares em comparação aos pacientes multibacilares ($p = 0,0392$; aumento de 1,3 vezes; Figura 14).

Os linfócitos T $CD4^+CD45RO^+$ produtores de IL-10 apresentaram percentual significativamente mais elevado no grupo multibacilar quando comparados aos pacientes

paucibacilares ($p = 0,0390$; aumento de 2,0 vezes). Adicionalmente, a intensidade média de fluorescência de IL-10 foi significativamente maior no grupo multibacilar em relação ao grupo paucibacilar ($p = 0,0261$; aumento de 1,5 vezes). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no percentual de células positivas nem na intensidade média de fluorescência ao se compararem os grupos controle e paucibacilar, bem como controle e multibacilar (Figura 14).

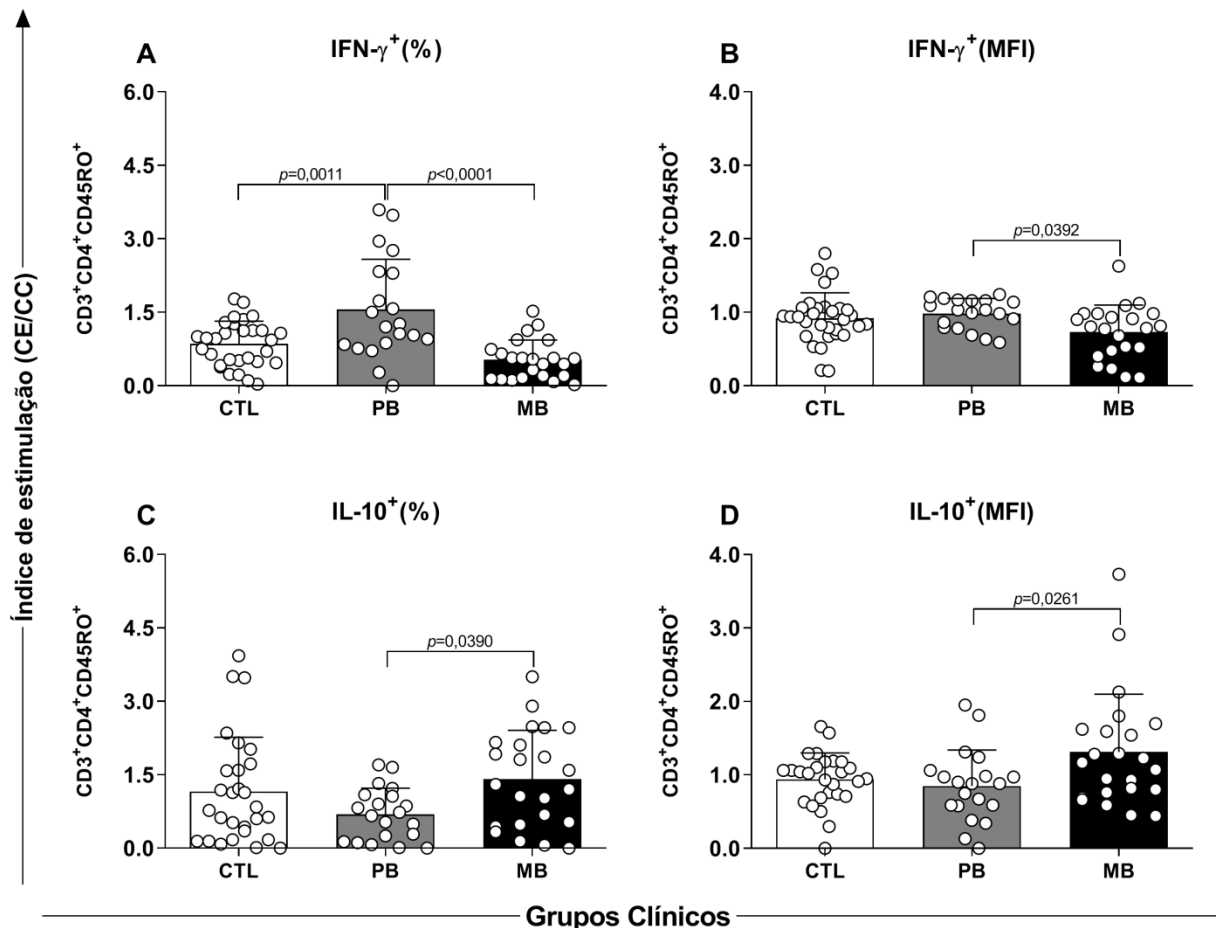


Figura 14. Análise do percentual de linfócitos T CD4⁺ ativados e produtores de IFN-γ (A) e IL-10 (C) e da MFI para essas citocinas (B e D, respectivamente), após estímulo com antígeno de Mitsuda. Os resultados foram apresentados como dados de dispersão com sobreposição de gráficos de barra (média±DP).

6.3. A estimulação de linfócitos T CD8⁺CD45RO⁺ de pacientes multibacilares com antígeno de *M. leprae* resultou em maior produção de IL-10 e menor produção de IFN-γ, quando comparada à resposta observada em pacientes paucibacilares

Os linfócitos T CD8⁺CD45RO⁺ produtores de IFN-γ apresentaram percentual significativamente mais elevado nos indivíduos paucibacilares em relação ao grupo dos pacientes multibacilar ($p = 0,0284$; aumento de 2,0 vezes). Em relação à expressão intracelular de IFN-γ, avaliada pela intensidade média de fluorescência, observaram-se valores significativamente mais

elevados nos pacientes paucibacilares em comparação ao grupo multibacilar ($p = 0,0202$; aumento de 1,2 vezes). Adicionalmente, constatou-se diferença significativa na intensidade média de fluorescência de IFN- γ entre os grupos paucibacilar e controle ($p = 0,001$; aumento de 1,2 vezes; Figura 15).

Os linfócitos T CD8⁺CD45RO⁺ produtores de IL-10 não apresentaram diferenças estatisticamente significativas quanto ao percentual de células positivas entre os três grupos avaliados. Entretanto, a intensidade média de fluorescência de IL-10 foi significativamente maior no grupo controle em comparação aos pacientes paucibacilares ($p < 0,0001$; aumento de 1,4 vezes), assim como no grupo multibacilar em relação ao grupo paucibacilar ($p = 0,0006$; aumento de 1,4 vezes). Não se observaram diferenças estatisticamente significativas na comparação entre os grupos multibacilar e controle (Figura 15).

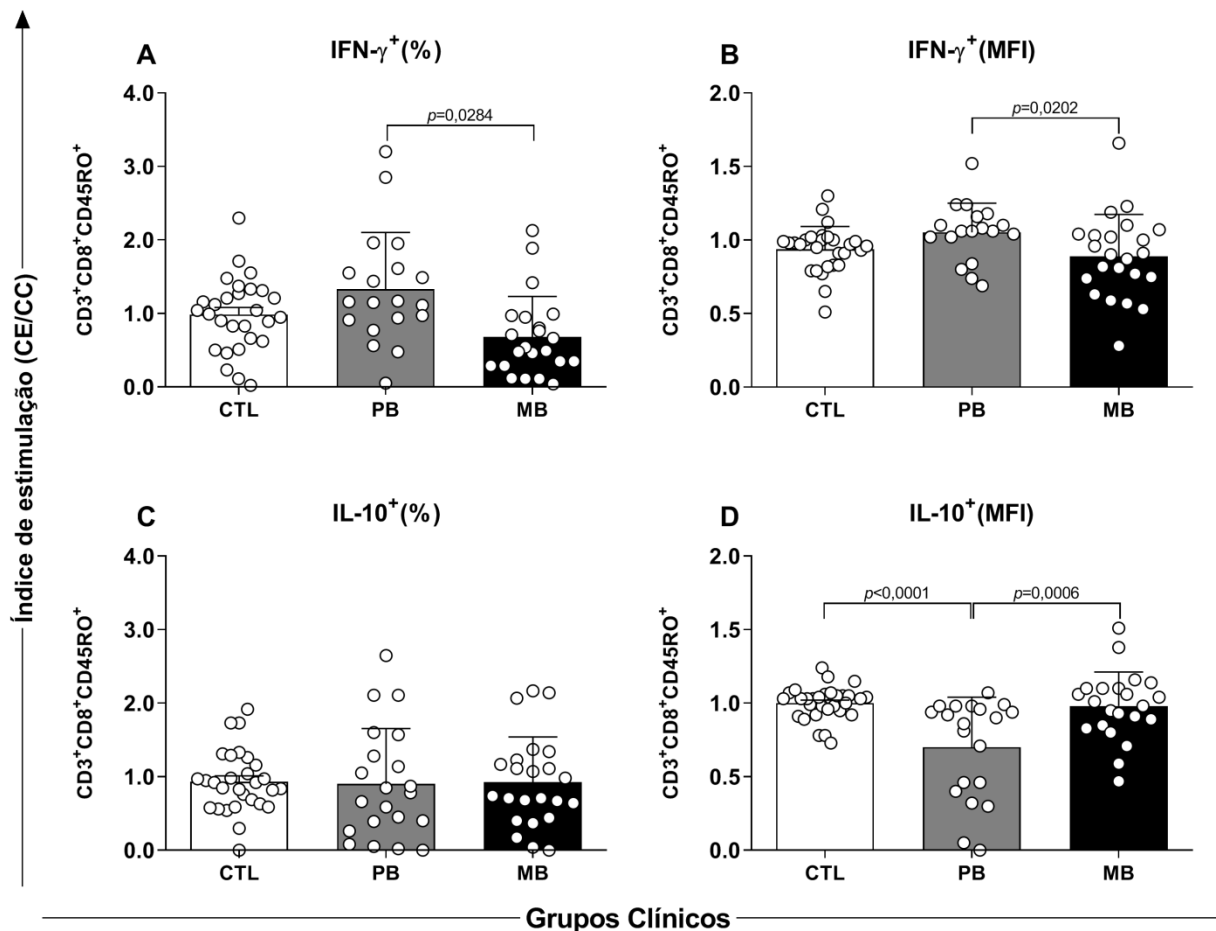


Figura 15. Análise do percentual de linfócitos T CD8⁺ ativados e produtores de IFN- γ (A) e IL-10 (C) e da MFI para essas citocinas (B e D, respectivamente), após estímulo com antígeno de Mitsuda. Os resultados foram apresentados como dados de dispersão com sobreposição de gráficos de barra (média ± DP).

6.4. A razão IFN- γ /IL-10 em linfócitos T CD4⁺CD45RO⁺ e T CD8⁺CD45RO⁺ foi maior nos paucibacilares quando comparada à resposta observada em pacientes multibacilares

As razões entre citocinas foram determinadas com o objetivo de avaliar o predomínio relativo de subpopulações de linfócitos T CD4⁺ associadas às respostas do tipo Th1 (IFN- γ ⁺) e regulatória (T_{Reg}; IL-10⁺). A análise da razão IFN- γ /IL-10 demonstrou que o grupo paucibacilar apresentou maior percentual de células positivas quando comparado ao grupo multibacilar, correspondendo a um aumento de 8,8 vezes ($p < 0,0001$). Observou-se, ainda, diferença estatisticamente significativa entre o grupo paucibacilar e os indivíduos controles saudáveis, com valores 3,8 vezes mais elevados no grupo PB ($p < 0,0001$). Por sua vez, a avaliação da intensidade média de fluorescência (MFI) da razão IFN- γ /IL-10 demonstrou aumento no grupo dos pacientes paucibacilares, com valores 2,2 vezes superiores aos observados no grupo dos pacientes multibacilares ($p = 0,0017$). (Figura 16 e Tabela 5).

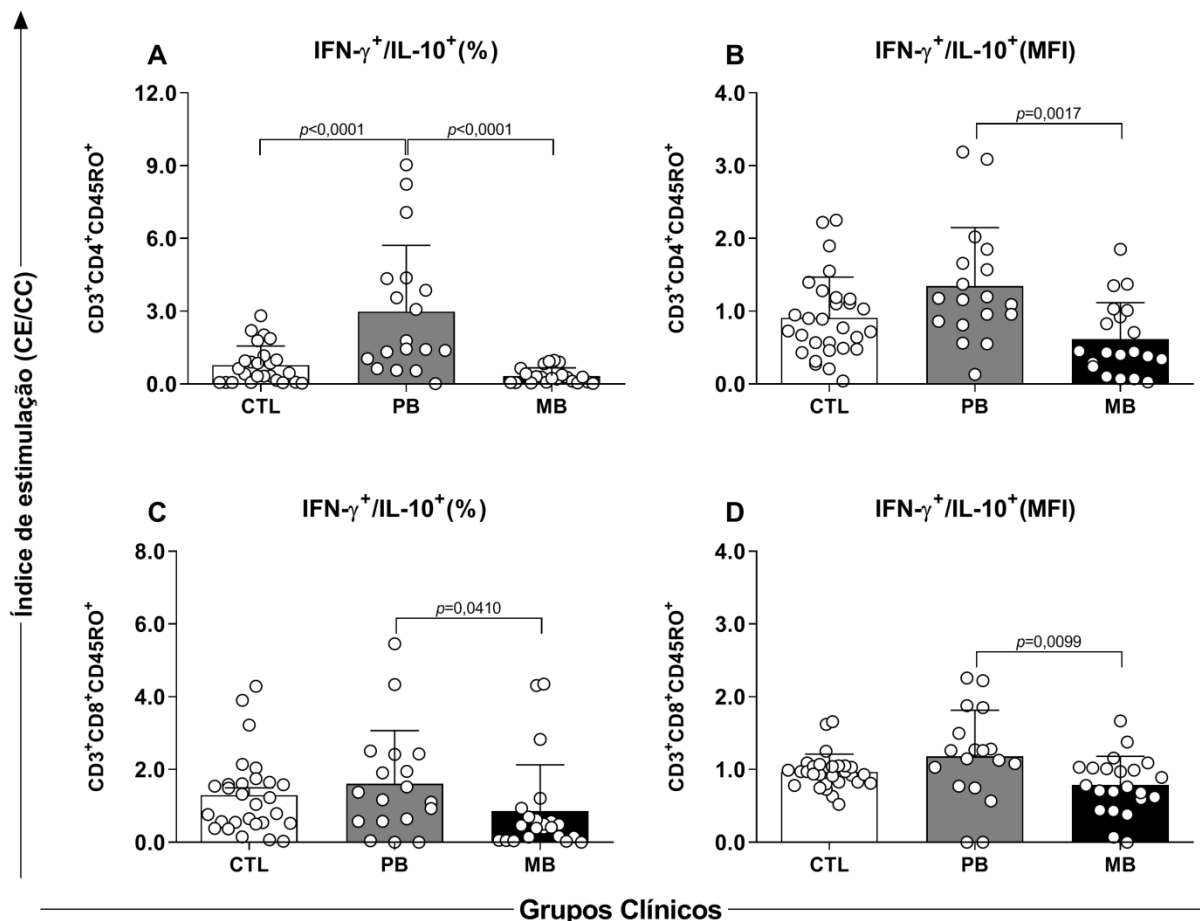


Figura 16. Razão do percentual de produção das citocinas IFN- γ /IL-10 nas subpopulações de linfócitos T CD4⁺ (A) e T CD8⁺ (C) e suas respectivas intensidades médias de fluorescência – MFI (B e D).

Tabela 5. Razão da produção de citocinas de subpopulação de linfócito T CD4⁺.

Subpopulação de linfócito	Razão da produção de citocinas	Grupos Clínicos		
		Controle	Paucibacilar	Multibacilar
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺	IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (%)	0,78 \pm 0,79	2,98 \pm 2,74 ^{a,c}	0,34 \pm 0,32
	IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (MFI)	0,91 \pm 0,56	1,35 \pm 0,80 ^c	0,62 \pm 0,50

Dados apresentados como média \pm DP. Diferenças estatísticas ($p < 0,05$) comparando os grupos Controle, Paucibacilar e Multibacilar estão representados nas tabelas pelas letras "a", "b" e "c", respectivamente.

*Índice de estimulação foi calculado utilizando a partir da razão dos valores obtidos entre a cultura estimulada (antígeno de *M. leprae*) e a cultura controle (apenas meio RPMI).

As razões entre citocinas também foram determinadas com o objetivo de avaliar o predomínio relativo de subpopulações de linfócitos T CD8⁺ associadas às respostas do tipo T_H1 (IFN- γ ⁺) e regulatória (T_{Reg}; IL-10⁺). A análise da razão IFN- γ /IL-10 demonstrou que o grupo paucibacilar apresentou maior percentual de células positivas quando comparado ao grupo multibacilar, correspondendo a valores 1,9 vezes superiores ($p = 0,0410$). No que se refere à intensidade média de fluorescência da razão IFN- γ /IL-10, observou-se aumento no grupo paucibacilar, com valores 1,9 vezes superiores aos encontrados no grupo multibacilar ($p = 0,0099$). (Figura 16 e Tabela 6).

Tabela 6. Razão da produção de citocinas de subpopulação de linfócito T CD8⁺.

Subpopulação de linfócito	Razão da produção de citocinas	Grupos Clínicos		
		Controle	Paucibacilar	Multibacilar
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺	IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (%)	1,30 \pm 1,08	1,61 \pm 1,46 ^c	0,86 \pm 1,28
	IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (MFI)	0,97 \pm 0,24	1,18 \pm 0,64 ^c	0,79 \pm 0,39

Dados apresentados como média \pm DP. Diferenças estatísticas ($p < 0,05$) comparando os grupos Controle, Paucibacilar e Multibacilar estão representados nas tabelas pelas letras "a", "b" e "c", respectivamente.

*Índice de estimulação foi calculado utilizando a partir da razão dos valores obtidos entre a cultura estimulada (antígeno de *M. leprae*) e a cultura controle (apenas meio RPMI).

A análise de correlação entre o índice baciloscópico e as subpopulações de linfócitos T CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ revelou correlação negativa moderada entre o IB e o percentual de células IFN- γ ⁺ ($r = -0,4510$; $p = 0,0021$), bem como entre o IB e a intensidade média de fluorescência de IFN- γ ($r = -0,4852$; $p = 0,0011$), indicando menor produção desse mediador com o aumento da carga bacilar. Em contrapartida, o IB apresentou correlação positiva com o percentual de células IL-10⁺ ($r = 0,3532$; $p = 0,0202$) e com a MFI de IL-10 ($r = 0,3136$; $p = 0,0431$). Adicionalmente, a

razão IFN- γ /IL-10, tanto em percentual quanto em MFI, apresentou correlação negativa com o IB ($r = -0,4198$ e $p = 0,0070$; $r = -0,4907$ e $p = 0,0013$, respectivamente) - Tabela 7.

Tabela 7. Análise de correlação entre IB e subpopulações de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺

Correlação	Valor de r	Valor de p
IB x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (%)	-0,4510	0,0021
IB x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (MFI)	-0,4852	0,0011
IB x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (%)	0,3532	0,0202
IB x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (MFI)	0,3136	0,0431
IB x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (%)	-0,4198	0,0070
IB x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (MFI)	-0,4907	0,0013

IB, índice bacilosκόpio; (%), percentual de células positivas; (MFI), média da intensidade de fluorescência; r , coeficiente de correlação; p , valor de p (p -value).

A análise de correlação entre o índice bacilosκόpio e as subpopulações de linfócitos T CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ demonstrou correlação negativa entre o IB e o percentual de células IFN- γ ⁺ ($r = -0,4115$; $p = 0,0068$), bem como entre o IB e a intensidade média de fluorescência de IFN- γ ($r = -0,3493$; $p = 0,0201$), indicando menor produção desse mediador com o aumento da carga bacilar. Em relação à IL-10, não foi identificada correlação significativa entre o IB e o percentual de células IL-10⁺ ($r = 0,0937$; $p = 0,5453$). Entretanto, a MFI de IL-10 apresentou correlação positiva com o IB ($r = 0,3549$; $p = 0,0195$), sugerindo maior intensidade de expressão desse mediador em indivíduos com maior índice bacilosκόpio. Adicionalmente, a razão IFN- γ /IL-10 mostrou correlação negativa com o IB tanto no percentual de células positivas ($r = -0,3572$; $p = 0,0256$) quanto na MFI ($r = -0,4213$ e $p = 0,0055$; Tabela 8).

Tabela 8. Análise de correlação entre IB e subpopulações de linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺

Correlação	Valor de r	Valor de p
IB x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (%)	-0,4115	0,0068
IB x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (MFI)	-0,3493	0,0201
IB x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (%)	0,0937	0,5453
IB x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (MFI)	0,3549	0,0195
IB x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (%)	-0,3572	0,0256
IB x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (MFI)	-0,4213	0,0055

IB, índice bacilosκόpio; (%), percentual de células positivas; (MFI), média da intensidade de fluorescência; r , coeficiente de correlação; p , valor de p (p -value).

6.5. Produção intracelular de óxido nítrico (NO): comparação entre pacientes paucibacilares, multibacilares e indivíduos controle

A produção intracelular de óxido nítrico foi mais elevada no grupo paucibacilar, seguida pelo grupo controle e, por fim, pelo grupo multibacilar. Observou-se que a produção de NO foi 2,0 vezes maior nos pacientes paucibacilares em comparação aos multibacilares ($p < 0,0001$). Ao comparar os pacientes paucibacilares com o grupo controle, também se verificou diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0104$; aumento de 1,5 vezes; Figura 17).

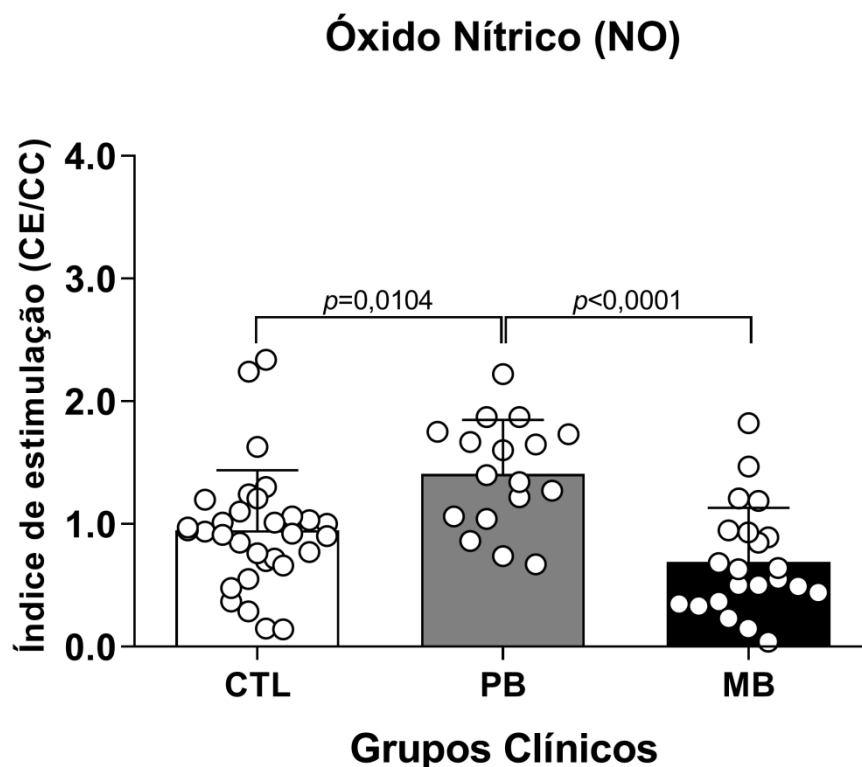


Figura 17. Análise da produção de NO de pacientes com hanseníase paucibacilar (PB) e multibacilar (MB) e controles.

Observou-se correlação negativa forte entre o índice baciloscópico (IB) e os níveis de óxido nítrico (NO), com coeficiente de correlação de *Spearman* de $r = -0,7299$, estatisticamente significativo ($p < 0,0001$). Conforme demonstrado na Figura 18, valores mais elevados de NO associaram-se a menores valores de IB, indicando relação inversa entre a carga bacilar e a produção de NO.

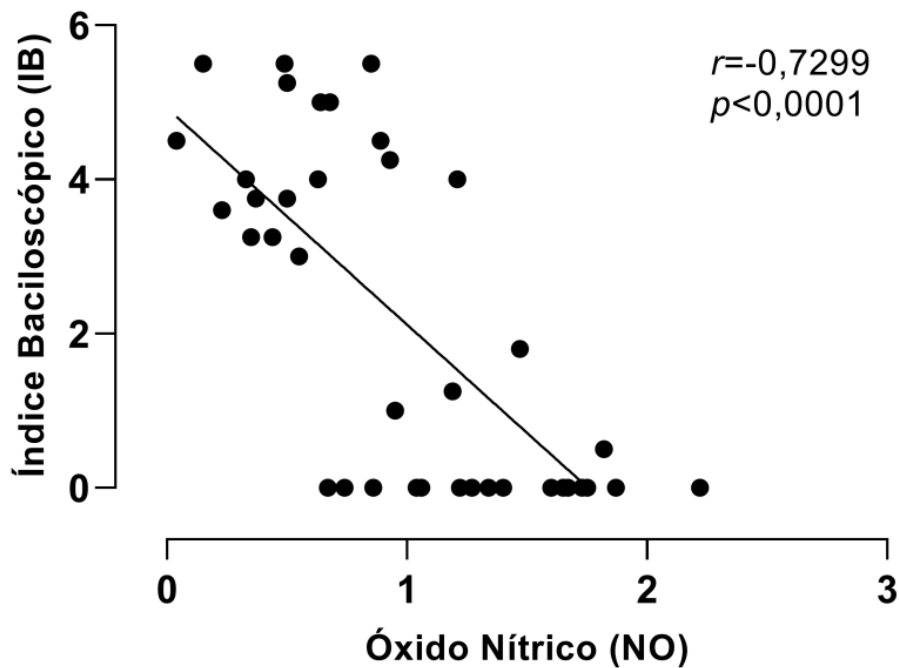


Figura 18. Correlação negativa entre o índice baciloscópio (IB) e os níveis de óxido nítrico (NO). Valores mais elevados de NO associaram-se a menores valores de IB, indicando uma relação inversa entre a carga bacilar e a produção de NO.

A análise de correlação entre a produção de óxido nítrico, representada no eixo X, e o percentual de células $CD14^+HLA-DR^+TLR2^+NF-\kappa B^+IL-12^+$, representado no eixo Y, demonstrou correlação positiva moderada e estatisticamente significativa ($r = 0,3916$; $p = 0,0165$). Conforme ilustrado na Figura 20, valores mais elevados de NO associaram-se a maiores percentuais desse subgrupo celular, evidenciando relação direta entre a produção de NO e a frequência de monócitos com perfil pró-inflamatório produtor de IL-12. Não foi observada correlação estatisticamente significativa entre a produção de NO e a MFI de células $CD14^+HLA-DR^+TLR2^+NF-\kappa B^+IL-12^+$ ($r = 0,1280$; $p = 0,4438$; Figura 19).

Observou-se correlação positiva moderada entre a produção de NO e o percentual de células $CD14^+HLA-DR^+TLR2^+NF-\kappa B^+IL-1\beta^+$ ($r = 0,4268$; $p = 0,0084$). Não foi observada correlação estatisticamente significativa entre a produção de NO e a MFI de células $CD14^+HLA-DR^+TLR2^+NF-\kappa B^+IL-1\beta^+$ ($r = 0,1552$; $p = 0,3454$; Figura 19).

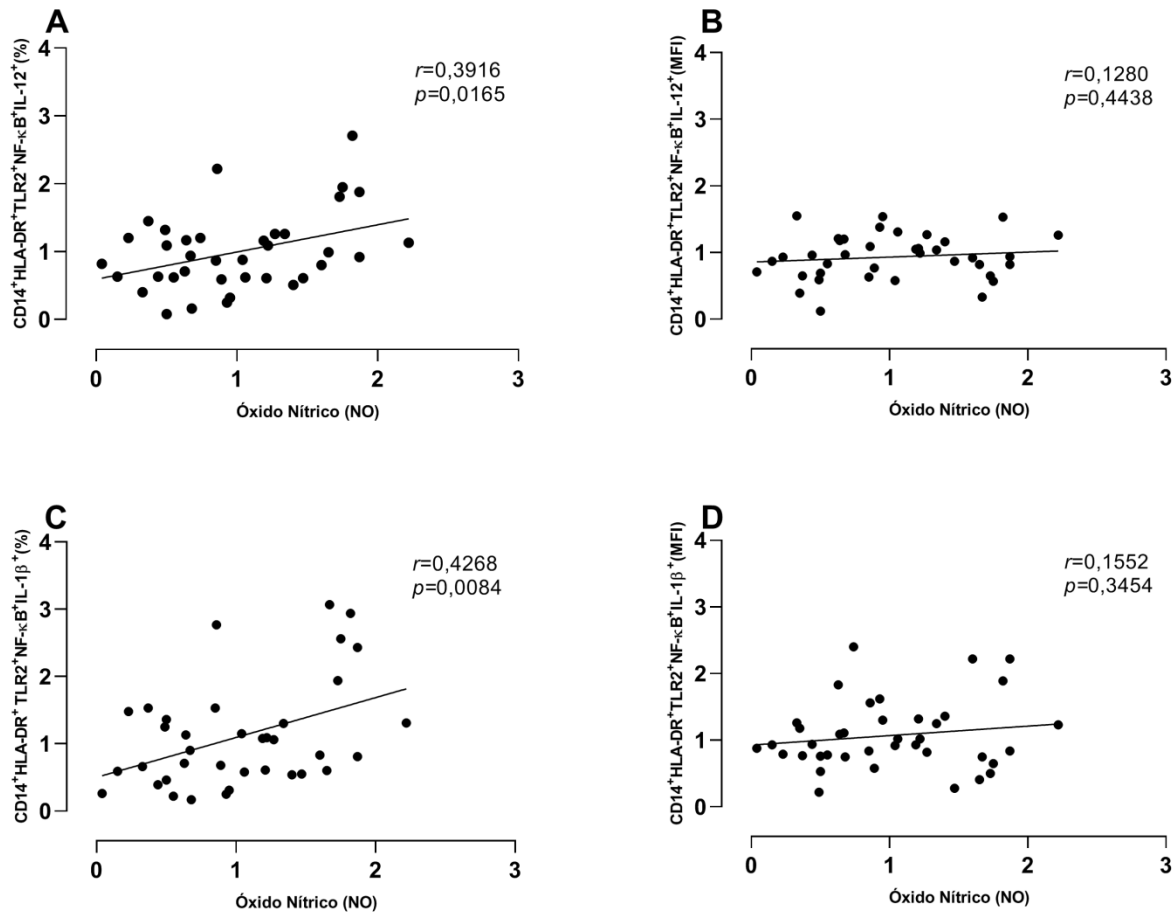


Figura 19. Correlação entre a produção de óxido nítrico (NO) e a expressão de IL-12 (A) e IL-1 β (C) em células CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF- κ B⁺ e seus respectivos valores de MFI (B e D).

A análise de correlação entre a produção de óxido nítrico e as subpopulações de linfócitos T CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ evidenciou correlação positiva entre a produção de NO e o percentual de células IFN- γ ⁺ ($r = 0,3739$; $p = 0,0124$), bem como com a intensidade média de fluorescência de IFN- γ ($r = 0,3324$; $p = 0,0315$). Entretanto, verificou-se correlação negativa entre o NO e o percentual de células IL-10⁺ ($r = -0,3092$; $p = 0,0436$), enquanto a correlação com a MFI de IL-10 não atingiu significância estatística ($r = -0,2930$; $p = 0,0597$). No que se refere à razão IFN- γ /IL-10, tanto para o percentual de células quanto para a MFI, não foram observadas correlações estatisticamente significativas com a produção de NO ($r = 0,1868$ e $p = 0,2484$; $r = 0,2489$ e $p = 0,1215$; respectivamente; Tabela 9).

Tabela 9. Análise de correlação entre NO e subpopulações de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺

Correlação	Valor de <i>r</i>	Valor de <i>p</i>
NO x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (%)	0,3739	0,0124
NO x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (MFI)	0,3324	0,0315
NO x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (%)	-0,3092	0,0436
NO x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (MFI)	-0,293	0,0597
NO x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (%)	0,1868	0,2484
NO x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (MFI)	0,2489	0,1215

NO, óxido nítrico; (%), percentual de células positivas; (MFI), média da intensidade de fluorescência; *r*, coeficiente de correlação; *p*, valor de *p* (*p*-value).

Por sua vez, a análise de correlação entre a produção de óxido nítrico e as subpopulações de linfócitos T CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ demonstrou que não houve correlação significativa entre o NO e o percentual de células IFN- γ ⁺ ($r = 0,0954$; $p = 0,5480$); entretanto, a intensidade média de fluorescência de IFN- γ apresentou correlação positiva com a produção de NO ($r = 0,3336$; $p = 0,0269$). Em relação à IL-10, não foram identificadas correlações estatisticamente significativas entre o NO e o percentual de células IL-10⁺ ($r = -0,1641$; $p = 0,2870$), nem com a MFI de IL-10 ($r = -0,0714$; $p = 0,6491$). De modo semelhante, a razão IFN- γ /IL-10, tanto em percentual quanto em MFI, não apresentou correlação significativa com a produção de NO ($r = 0,1936$ e $p = 0,2376$; $r = 0,2482$ e $p = 0,1131$; respectivamente; Tabela 10).

Tabela 10. Análise de correlação entre NO e subpopulações de linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺

Correlação	Valor de <i>r</i>	Valor de <i>p</i>
NO x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (%)	0,0954	0,5480
NO x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (MFI)	0,3336	0,0269
NO x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (%)	-0,1641	0,2870
NO x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (MFI)	-0,0714	0,6491
NO x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (%)	0,1936	0,2376
NO x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (MFI)	0,2482	0,1131

NO, óxido nítrico; (%), percentual de células positivas; (MFI), média da intensidade de fluorescência; *r*, coeficiente de correlação; *p*, valor de *p* (*p*-value).

6.6. Análise de correlação entre os marcadores de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺ e linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺

6.6.1. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺

A análise de correlação entre o percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ está apresentada na Tabela 11. Observou-se correlação positiva entre o percentual de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e a intensidade média de fluorescência de IFN-γ em linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ ($r = 0,4384$ e $p = 0,0037$). Foi identificada correlação negativa entre o percentual de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e o percentual de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ produtores de IL-10 ($r = -0,3157$ e $p = 0,0392$). Não foram observadas correlações estatisticamente significativas entre o percentual de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e o percentual de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ produtores de IFN-γ ($r = 0,1917$ e $p = 0,2125$), nem com a MFI de IL-10 ($r = -0,1558$ e $p = 0,3245$). Da mesma forma, não houve correlação significativa com o percentual ($r = 0,0596$ e $p = 0,7151$) ou com a MFI ($r = 0,2352$ e $p = 0,1440$) de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ IFN-γ⁺/IL-10⁺ (Tabela 11).

Tabela 11. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺

Correlação	Valor de r	Valor de p
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-12 ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ (%)	0,1917	0,2125
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-12 ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ (MFI)	0,4384	0,0037
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-12 ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (%)	-0,3157	0,0392
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-12 ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (MFI)	-0,1558	0,3245
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-12 ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ /IL-10 ⁺ (%)	0,0596	0,7151
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-12 ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ /IL-10 ⁺ (MFI)	0,2352	0,1440

(%), percentual de células positivas; r , coeficiente de correlação; p , valor de p (p -value).

6.6.2. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺

A análise de correlação entre a intensidade média de fluorescência de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR1⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e parâmetros funcionais de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺. Observou-se correlação positiva entre a MFI de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e a MFI de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ IFN-γ⁺/IL-10⁺ ($r = 0,3176$; $p = 0,0458$). Não foram observadas correlações estatisticamente significativas entre a MFI de CD14⁺HLA-DR⁺TLR1⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e o percentual de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ produtores de IFN-γ ($r = 0,2348$ e $p = 0,1250$), nem com a MFI de IFN-γ ($r = 0,2539$ e $p = 0,1047$). Da mesma

forma, não houve correlação significativa com o percentual de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ produtores de IL-10 ($r = 0,1351$ e $p = 0,3876$) ou com a MFI de IL-10 ($r = -0,2478$ e $p = 0,1135$). Também não foi observada correlação significativa com o percentual de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ IFN- γ ⁺/IL-10⁺ ($r = 0,1224$ e $p = 0,4518$; Tabela 12).

Tabela 12. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF- κ B⁺IL-12⁺ e linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺

Correlação	Valor de r	Valor de p
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (%)	0,2348	0,1250
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (MFI)	0,2539	0,1047
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (%)	0,1351	0,3876
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (MFI)	-0,2478	0,1135
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (%)	0,1224	0,4518
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (MFI)	0,3176	0,0458

(MFI), média da intensidade de fluorescência; r , coeficiente de correlação; p , valor de p (p -value).

6.6.3. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF- κ B⁺IL-1 β ⁺ e linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺

A análise de correlação entre o percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF- κ B⁺IL-1 β ⁺ e parâmetros funcionais de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ mostrou correlação positiva entre o percentual de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF- κ B⁺IL-1 β ⁺ e o percentual de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ produtores de IFN- γ ($r = 0,3167$ e $p = 0,0362$), bem como com a intensidade média de fluorescência de IFN- γ nessas células ($r = 0,3227$ e $p = 0,0371$). Não foram observadas correlações estatisticamente significativas entre o percentual de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF- κ B⁺IL-1 β ⁺ e o percentual de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ produtores de IL-10 ($r = -0,2851$ e $p = 0,0638$), nem com a MFI de IL-10 ($r = -0,1110$ e $p = 0,4841$). Da mesma forma, não houve correlação significativa com o percentual ($r = 0,0413$ e $p = 0,8003$) ou com a MFI ($r = 0,2856$ e $p = 0,0740$) de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ IFN- γ ⁺/IL-10⁺ (Tabela 13).

Tabela 13. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF- κ B⁺IL-1 β ⁺ e linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺

Correlação	Valor de r	Valor de p
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-1 β ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (%)	0,3167	0,0362
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-1 β ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (MFI)	0,3227	0,0371
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-1 β ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (%)	-0,2851	0,0638
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-1 β ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (MFI)	-0,1110	0,4841
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-1 β ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (%)	0,0413	0,8003
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-1 β ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (MFI)	0,2856	0,0740

(%), percentual de células positivas; r , coeficiente de correlação; p , valor de p (p -value).

6.6.4. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺

A análise de correlação entre a intensidade média de fluorescência de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e parâmetros funcionais de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ evidenciou correlação negativa entre a MFI de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e a MFI de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ produtores de IL-10 ($r = -0,3321$ e $p = 0,0317$). Além disso, foi identificada correlação positiva entre a MFI de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e a MFI de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ IFN-γ⁺/IL-10⁺ ($r = 0,3646$ e $p = 0,0207$). Não foram observadas correlações estatisticamente significativas entre a MFI de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e o percentual de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ produtores de IFN-γ ($r = 0,1945$ e $p = 0,2058$), nem com a MFI de IFN-γ ($r = 0,2253$ e $p = 0,1514$). Da mesma forma, não houve correlação significativa com o percentual de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ produtores de IL-10 ($r = -0,0475$ e $p = 0,7622$) ou com o percentual de linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ IFN-γ⁺/IL-10⁺ ($r = 0,0692$ e $p = 0,6715$; Tabela 14).

Tabela 14. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e linfócitos CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺

Correlação	Valor de <i>r</i>	Valor de <i>p</i>
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ (%)	0,1945	0,2058
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ (MFI)	0,2253	0,1514
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (%)	-0,0475	0,7622
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (MFI)	-0,3321	0,0317
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ /IL-10 ⁺ (%)	0,0692	0,6715
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ /IL-10 ⁺ (MFI)	0,3646	0,0207

(MFI), média da intensidade de fluorescência; *r*, coeficiente de correlação; *p*, valor de *p* (*p*-value).

6.6.5. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺

Conforme apresentado na Tabela 15, a análise de correlação entre o percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e os parâmetros funcionais de linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ evidenciou associação inversa com a intensidade média de fluorescência (MFI) de IL-10 nessas células ($r = -0,5262$ e $p = 0,0003$). As demais análises não demonstraram associações estatisticamente significativas. Não houve correlação entre o percentual de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-12⁺ e o percentual de linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ produtores de IFN-γ ($r = 0,0184$ e $p = 0,9080$), nem com a respectiva MFI ($r = 0,2391$ e $p = 0,1180$). De forma semelhante, não foram identificadas correlações significativas com o percentual de linfócitos

CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ produtores de IL-10 ($r = -0,2710$ e $p = 0,0752$), nem com o percentual ($r = 0,1458$ e $p = 0,3757$) ou a MFI ($r = 0,2670$ e $p = 0,0873$) de células IFN- γ ⁺/IL-10⁺ (Tabela 15).

Tabela 15. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF- κ B⁺IL-12⁺ e linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺

Correlação	Valor de r	Valor de p
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (%)	0,0184	0,9080
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (MFI)	0,2391	0,1180
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (%)	-0,2710	0,0752
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (MFI)	-0,5262	0,0003
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (%)	0,1458	0,3757
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (MFI)	0,2670	0,0873

(%), percentual de células positivas; r , coeficiente de correlação; p , valor de p (p -value).

6.6.6. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF- κ B⁺IL-12⁺ e linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺

Verificou-se correlação positiva entre a MFI de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF- κ B⁺IL-12⁺ e o percentual de linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ produtores de IFN- γ ($r = 0,3813$ e $p = 0,0127$). As demais variáveis não apresentaram correlação estatisticamente significativa. Não foi identificada associação entre a MFI de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF- κ B⁺IL-12⁺ e a MFI de IFN- γ em linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ ($r = 0,2802$ e $p = 0,0654$), nem com o percentual ($r = 0,1541$ e $p = 0,3180$) ou a MFI ($r = -0,0140$ e $p = 0,9292$) de linfócitos produtores de IL-10. De forma semelhante, não foram observadas correlações significativas com o percentual ($r = 0,2834$ e $p = 0,0805$) ou com a MFI ($r = 0,1105$ e $p = 0,4862$) de linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ IFN- γ ⁺/IL-10⁺ (Tabela 16).

Tabela 16. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF- κ B⁺IL-12⁺ e linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺

Correlação	Valor de r	Valor de p
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (%)	0,3813	0,0127
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ (MFI)	0,2802	0,0654
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (%)	0,1541	0,3180
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (MFI)	-0,0140	0,9292
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (%)	0,2834	0,0805
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF- κ B ⁺ IL-12 ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN- γ ⁺ /IL-10 ⁺ (MFI)	0,1105	0,4862

(MFI), média da intensidade de fluorescência; r , coeficiente de correlação; p , valor de p (p -value).

6.6.7. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺

Identificou-se correlação negativa entre o percentual de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e a MFI de IL-10 em linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ ($r = -0,4807$ e $p = 0,0011$). As demais análises não evidenciaram correlações estatisticamente significativas. O percentual de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ não se correlacionou com o percentual de linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ produtores de IFN-γ ($r = 0,3001$ e $p = 0,0535$), nem com a respectiva MFI ($r = 0,2096$ e $p = 0,1721$). Também não foram observadas associações com o percentual de linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ produtores de IL-10 ($r = -0,163$ e $p = 0,2888$), nem com o percentual ($r = 0,1423$ e $p = 0,3874$) ou a MFI ($r = 0,2682$ e $p = 0,0859$) de linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺IFN-γ⁺/IL-10⁺ (Tabela 17).

Tabela 17. Análise de correlação entre percentual de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺

Correlação	Valor de r	Valor de p
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ (%)	0,3001	0,0535
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ (MFI)	0,2096	0,1721
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (%)	-0,1635	0,2888
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (MFI)	-0,4807	0,0011
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ /IL-10 ⁺ (%)	0,1423	0,3874
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (%) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ /IL-10 ⁺ (MFI)	0,2682	0,0859

(%), percentual de células positivas; r , coeficiente de correlação; p , valor de p (p -value).

6.6.8. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺

Observou-se associação positiva entre a MFI de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e o percentual de linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ produtores de IFN-γ ($r = 0,3399$ e $p = 0,0276$). Adicionalmente, foi identificada correlação positiva entre a MFI dessa subpopulação monocítica e o percentual de linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ IFN-γ⁺/IL-10⁺ ($r = 0,5115$ e $p = 0,0009$). As demais correlações avaliadas não atingiram significância estatística. Não foi observada associação entre a MFI de CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e a MFI de IFN-γ em linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ ($r = 0,2261$ e $p = 0,1400$), nem com o percentual ($r = -0,1061$ e $p = 0,4929$) ou a MFI ($r = -0,0953$ e $p = 0,5431$) de linfócitos produtores de IL-10. De modo semelhante, não houve correlação significativa com a MFI de linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺IFN-γ⁺/IL-10⁺ ($r = 0,2483$ e $p = 0,1129$; Tabela 18).

Tabela 18. Análise de correlação entre MFI de subpopulações CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺IL-1β⁺ e linfócitos CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺

Correlação	Valor de <i>r</i>	Valor de <i>p</i>
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ (%)	0,3399	0,0276
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ (MFI)	0,2261	0,1400
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (%)	-0,1061	0,4929
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IL-10 ⁺ (MFI)	-0,0953	0,5431
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ /IL-10 ⁺ (%)	0,5115	0,0009
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ TLR2 ⁺ NF-κB ⁺ IL-1β ⁺ (MFI) x CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD45RO ⁺ IFN-γ ⁺ /IL-10 ⁺ (MFI)	0,2483	0,1129

(MFI), média da intensidade de fluorescência; *r*, coeficiente de correlação; *p*, valor de *p* (*p*-value).

7. DISCUSSÃO

O presente estudo teve por finalidade analisar a expressão de marcadores intracelulares e de superfície em fagócitos derivados de monócitos e linfócitos com destaque para o receptor *Toll-like* 2, visando compreender sua participação na modulação da resposta imunológica e na determinação das diferentes apresentações clínicas da hanseníase. Os resultados obtidos demonstraram a existência de perfis imunológicos contrastantes entre os pacientes paucibacilares e multibacilares, refletindo diferenças relevantes na dinâmica de interação entre o sistema imune inato e adaptativo do hospedeiro e o bacilo de Hansen.

Estudo retrospectivo conduzido ao longo de seis anos em um centro de referência no Nordeste brasileiro demonstrou que a concordância entre a classificação operacional e os resultados da baciloscopia é apenas moderada, evidenciando discrepâncias relevantes entre a apresentação clínica e a carga bacilar efetiva. Número significativo de pacientes com baciloscopia negativa apresentava múltiplas lesões cutâneas, enquanto parcela não desprezível de indivíduos com baciloscopia positiva apresentava número limitado de lesões, o que poderia resultar em subestimação da forma multibacilar caso apenas critérios clínicos fossem considerados. Esses achados reforçam que o índice baciloscópico reflete de maneira mais direta a magnitude da infecção por *M. leprae*, sendo um indicador mais preciso da persistência bacilar e do potencial de transmissão (CAVALCANTI; LUCENA-SILVA; MONTARROYOS; ALBUQUERQUE, 2012).

Kumaran *et. al* (2015) reforçam a importância do índice baciloscópico como marcador quantitativo da carga infecciosa e como parâmetro clínico relevante para a caracterização das formas da hanseníase (KUMARAN; BHAT; MADHUKARA; ROUT *et al.*, 2015). Destaca-se que o exame é considerado um método examinador dependente e que embora apresente alta especificidade, possui sensibilidade limitada, o que o torna suscetível a erros.

A análise dos marcadores imunológicos avaliados neste estudo permitiu aprofundar a compreensão dos mecanismos envolvidos na resposta imune ao *M. leprae*. Inicialmente, foram investigados parâmetros da imunidade inata, com ênfase em células CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺ expressando TLR2 na ativação da via de sinalização dependente de NF-κB, associada à produção de IL-12 e IL-1β, mediadores centrais no reconhecimento do bacilo e na indução de respostas inflamatórias iniciais. Em seguida, foram analisados marcadores da imunidade celular adaptativa, incluindo subpopulações de linfócitos T CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ e T CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ produtores de IFN-γ e IL-10, possibilitando a avaliação do equilíbrio entre respostas efetoras e regulatórias ao longo do espectro clínico da hanseníase. Por fim, a mensuração da produção de

óxido nítrico intracelular foi incluída como um marcador funcional da ativação de macrófagos e de mecanismos microbicidas associados ao controle de patógenos intracelulares.

A síntese de IL-1 β e IL-12 desempenha papel central na regulação da resposta imunológica, orientando a polarização de linfócitos T para o perfil T_H1. Esse mecanismo é essencial para a ativação efetiva de células efectoras e para o controle da multiplicação do *M. leprae*, contribuindo para a contenção da infecção e prevenção da progressão da doença (FROES; TRINDADE; SOTTO, 2022). A IL-12 é produzida principalmente por células fagocíticas em resposta a estímulos infecciosos, sendo constituída por um heterodímero formado pelas subunidades p35 e p40. A ligação da IL-12 ao seu receptor específico (IL-12R), expresso em linfócitos T e células natural killer (NK), desencadeia vias de sinalização intracelular dependentes da ativação do fator de transcrição STAT4, resultando na indução da síntese e liberação de IFN- γ , sendo fundamental para a polarização da resposta imune em direção ao perfil T_H1 (ULLRICH; SCHULZE; PAAP; MÜLLER *et al.*, 2020). Na análise dos resultados, a produção de IL-12 por macrófagos CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF- κ B⁺ variou significativamente entre os grupos estudados. Nos pacientes paucibacilares, o percentual de células produtoras da citocina foi mais elevado, enquanto os indivíduos multibacilares apresentaram os menores níveis. Indivíduos saudáveis exibiram valores intermediários, sugerindo que, mesmo na ausência de infecção, existe uma regulação basal da síntese de IL-12, possivelmente voltada à manutenção da homeostase imunológica. Esse equilíbrio é consistente com dados prévios, que indicam que a expressão de IL-12 pelos macrófagos depende da ativação de receptores de reconhecimento de padrão e da sinalização por NF- κ B e IRF-1, permitindo uma resposta imune eficaz sem desencadear inflamação exacerbada (ULLRICH; SCHULZE; PAAP; MÜLLER *et al.*, 2020).

A intensidade média de fluorescência (*mean fluorescence intensity* – MFI), obtida por citometria de fluxo, tem sido amplamente utilizada como uma métrica funcional para avaliar não apenas a frequência de células positivas, mas também o nível de expressão de moléculas ou citocinas em nível celular. Estudos conceituais demonstram que a MFI reflete a quantidade relativa de uma determinada proteína expressa por célula, fornecendo informações adicionais sobre o estado de ativação e a funcionalidade das populações imunológicas analisadas. Nesse contexto, salienta-se a relevância desse parâmetro como parâmetro robusto da resposta imune funcional, especialmente em cenários infecciosos, nos quais a intensidade da resposta pode ser tão relevante quanto o número de células envolvidas (SHOOSHTARI; FORTUNO; BLIMKIE; YU *et al.*, 2010).

A aplicação da MFI como ferramenta analítica tem sido explorada em diferentes modelos de doenças infectocontagiosas, incluindo infecções causadas por micobactérias. Nesse sentido, um estudo recente demonstrou que a quantificação da produção de IFN- γ por células T CD4⁺, avaliada

por meio da MFI após estimulação antigênica, permitiu discriminar de forma sensível indivíduos infectados em fases precoces da infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. Os autores evidenciaram que a MFI de IFN- γ refletiu o grau de ativação funcional das células T, mostrando-se um parâmetro informativo para diferenciar estados de infecção, independentemente apenas da frequência de células produtoras. Esses achados reforçam a utilidade da MFI como uma métrica funcional relevante em estudos envolvendo patógenos intracelulares, contribuindo para a compreensão da intensidade e da qualidade da resposta imune celular (BULUN; BRIDGER; SCHILLINGER; AKINEDEN *et al.*, 2024). Nesse contexto, a utilização da MFI no presente estudo permite uma análise mais refinada da resposta imune, possibilitando inferir não apenas a presença de células responsivas, mas também a magnitude da expressão funcional dos marcadores avaliados.

Ao avaliar a intensidade média de fluorescência de IL-12, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos estudados. Esse resultado sugere que, embora existam alterações no percentual de células produtoras de IL-12, a quantidade intracelular média da citocina por célula pode permanecer relativamente estável. Uma possível explicação é que mecanismos de regulação homeostática limitam a produção de IL-12, mantendo níveis basais suficientes para sustentar respostas imunológicas sem induzir inflamação excessiva. Esse padrão indica que a avaliação apenas da intensidade média pode não refletir completamente a dinâmica funcional da citocina, sendo relevante considerar também a frequência de células produtoras e o contexto fenotípico dos macrófagos (SKEEN; MILLER; SHINNICK; ZIEGLER, 1996).

Na forma virchowiana, a produção de IL-12 sofre inibição significativa devido a mecanismos regulatórios, como a ativação do receptor de imunoglobulina leucocitária semelhante a receptor A membro 2 (LILRA2) e a presença de fosfolipídios oxidados, os quais interferem na sinalização mediada pelos receptores TLR1/2 (MONTROYA; MODLIN, 2010). Essa supressão da IL-12 ocorre em paralelo à produção de citocinas regulatórias, como IL-10 e TGF- β 1, que atuam não apenas bloqueando a ação de mediadores pró-inflamatórios, como TNF- α , IFN- γ e IL-12, mas também restringindo a ativação dos macrófagos e favorecendo a multiplicação bacteriana. Consequentemente, a resposta imune apresenta predomínio do perfil T_H2, associado à incapacidade de eliminar o *M. leprae* e à progressão clínica da hanseníase (PINHEIRO; SCHMITZ; SILVA; DIAS *et al.*, 2018).

Outros estudos têm investigado o papel da IL-12 em infecções causadas por micobactérias. Nesse sentido, estudo recente, conduzido no contexto da infecção por *M. tuberculosis*, demonstrou que a IL-12 atua como um mediador central na coordenação da imunidade celular, promovendo a diferenciação de linfócitos T CD4⁺ para o perfil T_H1 e estimulando a produção de IFN- γ , mecanismos essenciais para a ativação microbocida de macrófagos e o controle de patógenos

intracelulares. Além de sua função clássica, esse estudo evidenciou que a IL-12 influencia processos imunológicos mais complexos, incluindo a formação da sinapse imunológica, a ativação de células T por vias mediadas por exossomos e o estabelecimento de memória imunológica duradoura. Adicionalmente, alterações no eixo IL-12/IFN- γ , incluindo defeitos genéticos, foram associadas à maior suscetibilidade a infecções micobacterianas, reforçando a relevância dessa via para a imunidade protetora (WANG; RUAN; LI; LIU, 2025). Considerando as similaridades imunopatogênicas entre o *M. tuberculosis* e *M. leprae*, esses achados reforçam os resultados observados no presente estudo.

Em relação ao percentual de macrófagos CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF- κ B⁺IL-1 β ⁺, valores maiores foram observados no grupo PB em comparação aos controles e MB, reforçando o perfil inflamatório mais intenso daquela forma clínica. A IL-1 β , secretada predominantemente por macrófagos ativados, exerce múltiplas funções na resposta imune, incluindo a promoção da inflamação local e o recrutamento de células do sistema imune. Além disso, essa citocina atua de forma cooperativa com os receptores TLR1/2 para estimular a expressão do gene DEFB4, codificador de um peptídeo antimicrobiano essencial na defesa contra patógenos intracelulares (LIU; SCHENK; WALKER; DEMPSEY *et al.*, 2009).

A avaliação da intensidade média de fluorescência de IL-1 β demonstrou que pacientes paucibacilares exibiram níveis significativamente superiores aos observados em indivíduos controles e multibacilares, enquanto estes últimos não diferiram significativamente dos controles. Esse achado sugere que, na forma paucibacilar, os macrófagos apresentam maior grau de ativação, possivelmente promovendo a polarização da resposta imune para o perfil T_H1, associado à eliminação eficiente do *M. leprae*. Por outro lado, a ausência de aumento nos pacientes multibacilares indica resposta inflamatória mais discreta, potencialmente modulada por citocinas regulatórias como IL-10 e TGF- β e pela ativação de receptores supressores, mecanismos que restringem a produção de mediadores pró-inflamatórios e favorecem a manutenção da infecção (COSTA; MENDONÇA; LYON; PENIDO *et al.*, 2008).

Esses achados corroboram estudos prévios que demonstram a importância da IL-1 β na ativação macrofágica e no recrutamento de células efetoras na forma tuberculoide da hanseníase, enquanto sua expressão reduzida em formas multibacilares está associada à deficiência na indução de respostas T_H1 e à predominância de um perfil T_H2 ou regulatório. Assim, a MFI de IL-1 β pode refletir o estado funcional dos macrófagos e servir como marcador indireto da capacidade de controle imunológico frente à infecção.

Diferentemente do observado na hanseníase paucibacilar, na qual a produção elevada de IL-1 β está associada a uma resposta T_H1 efetora e ao controle bacilar, na cardiomiopatia chagásica

crônica a ativação persistente do eixo TLR2-NF- κ B-IL-1 β parece estar dissociada de mecanismos eficientes de eliminação parasitária, contribuindo predominantemente para inflamação crônica e dano tecidual. Esses achados reforçam que o impacto funcional da ativação de TLR2 e da produção de IL-1 β é altamente dependente do contexto imunorregulador no qual essa resposta ocorre.

Adicionalmente, o estudo de Mendes *et al.* (2020) avaliou a expressão de proteínas associadas ao inflamassoma NLRP3 em lesões cutâneas de pacientes com hanseníase e observou que, embora haja presença de componentes pró-inflamatórios como NLRP3 e caspases-4/5, a expressão de IL-1 β foi baixa nas formas tuberculoide e virchowiana. Esses dados sugerem que o inflamassoma pode estar inativo ou funcionalmente comprometido na hanseníase, indicando uma possível evasão imunológica mediada por *M. leprae* que limita a clivagem da pró-IL-1 β em sua forma ativa e, conseqüentemente, reduz a produção efetiva de IL-1 β apesar da ativação inata. Esses resultados sustentam a ideia de que a ativação de TLR2 e a sinalização via NF- κ B, embora necessárias para o início da resposta inflamatória, não garantem, por si só, a produção funcional de IL-1 β na hanseníase. A produção efetiva dessa citocina depende de outras vias, como a ativação do inflamassoma NLRP3 e da clivagem de pró-IL-1 β por caspase-1, etapas que parecem ser moduladas ou inibidas pelo patógeno como estratégia de evasão imune do bacilo (MENDES; JOAQUIM; ZAMAE; ASSIS *et al.*, 2020).

Outro fator que deve ser levado em consideração é a variabilidade genética nos receptores do tipo *Toll*, particularmente no TLR2, que exerce papel determinante tanto na suscetibilidade à hanseníase quanto na modulação do perfil de citocinas e quimiocinas ao longo do espectro clínico da doença. O polimorfismo rs3804099 em TLR2, previamente associado ao desenvolvimento de reações hansênicas tipo 1, também se correlaciona com risco aumentado para o desenvolvimento da hanseníase, indicando que alterações na sinalização mediada por TLR2 podem influenciar eventos precoces da interação hospedeiro e o bacilo de Hansen. Além disso, a presença de diferentes alelos nos genes TLR1, TLR2 e TLR4 associa-se a níveis séricos distintos de mediadores inflamatórios e regulatórios, evidenciando que a ativação da imunidade inata não é homogênea entre os indivíduos, mas condicionada pelo *background* genético do hospedeiro. Nesse contexto, a ativação de TLR2, embora central para o reconhecimento do bacilo e para o desencadeamento de vias inflamatórias dependentes de NF- κ B, pode resultar em perfis funcionais distintos de produção de citocinas, incluindo IL-1 β (SANTANA; REGO; OLIVEIRA; ALMEIDA *et al.*, 2017).

Além dos achados relacionados à ativação ampla TLR2 no presente estudo, outros trabalhos também investigaram o papel do heterodímero TLR1/2 na resposta imune ao *M. leprae*, evidenciando a relevância dessa via na modulação da produção de citocinas da imunidade inata. A ativação do TLR1/2 em macrófagos derivados de monócitos associa-se a um perfil funcional

caracterizado por maior produção de IL-12 e IL-1 β , particularmente em pacientes com formas paucibacilares da hanseníase. Essa ativação mais robusta do eixo TLR1/2 está relacionada a uma polarização inflamatória mais eficiente, enquanto nas formas multibacilares observa-se comprometimento da sinalização por esses receptores, com redução significativa da produção dessas citocinas pró-inflamatórias (CHEBLI-DE-ABREU, N.; CARVALHO, A. M. R. S.; MENEZES, Y. R.; MACEDO, J. M. *et al.*, 2025). Em conjunto, esses dados reforçam que diferentes configurações de reconhecimento mediadas por TLRs, incluindo tanto o homodímero de TLR2 quanto o heterodímero TLR1/2, podem exercer influência decisiva sobre a ativação inicial da imunidade inata e sobre a capacidade de resposta do hospedeiro frente ao bacilo.

Os receptores do tipo *Toll*, particularmente o TLR2, desempenham papel relevante na fisiopatologia das reações hansênicas. No estudo conduzido por Antunes *et al.* (2019), os autores demonstraram que, enquanto pacientes multibacilares sem reação apresentaram expressão equilibrada de TLR1 e TLR2, indivíduos com reação hansênica do tipo 1 e eritema nodoso hansênico exibiram um desbalanço significativo, caracterizado principalmente pela superexpressão desses receptores. Ademais, o aumento da expressão de TLR2 esteve associado a níveis elevados de IL-10 nos grupos com reação, o que pode estar relacionado, de forma hipotética, à formação de homodímeros TLR2/2 e/ou heterodímeros TLR2/6, mecanismos implicados tanto nas reações reversas quanto na fisiopatologia do eritema nodoso hansênico (ANTUNES; GOULART; LIMA; ALVES *et al.*, 2019).

No que tange à imunidade adaptativa, os linfócitos, especialmente as células T CD4⁺, desempenham papel crucial na modulação da resposta imune. A polarização funcional dessas subpopulações celulares é determinante para a eficácia da resposta imunológica, uma vez que influencia diretamente a ativação de mecanismos efetores, a produção de citocinas e a interação com células da imunidade inata. Dessa forma, o perfil funcional predominante dessas células impacta a capacidade do hospedeiro de conter a infecção por *M. leprae* ou, alternativamente, favorece a progressão e a disseminação do bacilo (CHATZILEONTIADOU; SLOANE; NGUYEN; GRAS *et al.*, 2020).

O IFN- γ , produzido principalmente por linfócitos T CD4⁺ do subtipo T_H1 e por células NK, exerce papel central na ativação clássica dos macrófagos, atuando de maneira integrada com citocinas como IL-12 e IL-1 β na amplificação da resposta imune celular. Essa citocina promove o aumento da capacidade microbicida dessas células ao induzir a expressão de enzimas envolvidas na produção de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, especialmente a óxido nítrico sintase induzível, mecanismos fundamentais para a eliminação intracelular do bacilo de Hansen. Além de potencializar a atividade efetora dos macrófagos, o IFN- γ contribui para a manutenção de um

ambiente imunológico favorável à contenção da infecção, reforçando a polarização T_{H1} e limitando a disseminação bacilar. Dessa forma, o eixo IL-12/IFN- γ desempenha papel determinante no equilíbrio entre controle da infecção e progressão da hanseníase (FROES; TRINDADE; SOTTO, 2022).

A avaliação do percentual de linfócitos T $CD4^+CD45RO^+$ produtores de IFN- γ evidenciou o padrão imunológico clássico da hanseníase, com os pacientes paucibacilares apresentando os maiores níveis, os indivíduos controles exibindo valores intermediários e os multibacilares apresentando a menor frequência de células produtoras. Esse gradiente reforça a associação das formas PB com uma resposta T_{H1} efetiva, crucial para o controle da multiplicação intracelular do bacilo de Hansen. Por outro lado, a redução observada nos MB sugere um microambiente imunossupressor dominante, em que células T reguladoras e citocinas como IL-10 e TGF- β modulam negativamente a diferenciação e a ativação de células efetoras T_{H1} . Estudos anteriores demonstram que a produção de IFN- γ por linfócitos $CD4^+$ é característica das respostas T_{H1} que promovem controle efetivo do *M. leprae*, contrastando com perfis T_{H2} e regulatórios que predominaram nos casos multibacilares (MODLIN, 1994).

A análise da intensidade média de fluorescência de IFN- γ revelou diferenças significativas entre os grupos. Pacientes paucibacilares apresentaram valores mais elevados do que os multibacilares, e indivíduos controles também mostraram níveis superiores em comparação aos multibacilares. Entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos controle e paucibacilar. Tais achados sugerem que a resposta IFN- γ , indicativa da atividade T_{H1} , permanece preservada nos controles e nos pacientes PB, enquanto está reduzida nos MB, refletindo o ambiente imunossupressor característico desta forma da doença.

Quanto à IL-10, os pacientes multibacilares apresentaram tanto maior percentual quanto maior intensidade média de fluorescência de linfócitos $CD4^+CD45RO^+$ produtores dessa citocina em comparação aos pacientes paucibacilares. A MFI também se mostrou significativamente elevada no grupo multibacilar quando comparada ao grupo paucibacilar. Em contrapartida, não foram observadas diferenças significativas nem no percentual nem na MFI entre os grupos controle e paucibacilar, assim como entre controle e multibacilar, sugerindo que a produção de IL-10 está particularmente associada às formas multibacilares da doença.

Um estudo prévio investigou o papel imunossupressor das citocinas IL-10 e IL-4 na hanseníase por meio de ensaios *in vitro* com células mononucleares do sangue periférico de pacientes e indivíduos controles. Os autores demonstraram que o *M. leprae* pode induzir a produção de IL-10, sendo essa citocina responsável pela redução da produção de citocinas pró-inflamatórias, como IFN- γ e TNF- α . A neutralização da IL-10 resultou na restauração parcial dessas respostas,

evidenciando seu papel central na supressão da imunidade celular (SIELING; ABRAMS; YAMAMURA; SALGAME *et al.*, 1993).

Taquire *et al.* (2020) reforçam que a IL-10 é uma citocina de perfil imunossupressor, a qual encontra-se aumentada na hanseníase, especialmente nas formas clínicas associadas à maior carga bacilar, contribuindo para a inibição da resposta imune do hospedeiro por meio da modulação da função de diferentes populações celulares. Esse mesmo estudo demonstrou que linfócitos T auxiliares e células T reguladoras constituem as principais fontes de IL-10 em pacientes com hanseníase virchowiana. Adicionalmente, foi observado que polimorfismos no gene da IL-10, ao influenciarem a magnitude de sua produção, podem determinar a suscetibilidade e a progressão da hanseníase, reforçando o papel de fatores genéticos do hospedeiro na modulação do perfil imunológico e no desfecho clínico da infecção (TARIQUE; NAZ; SAINI; SUHAIL *et al.*, 2020).

O estudo de Carvalho *et al.* mostrou resultados semelhantes ao estudar a cardiomiopatia chagásica, evidenciando que a estimulação antigênica de linfócitos T CD4⁺ de memória (CD45RO⁺) promove alteração profunda no eixo funcional dessas células, caracterizada por desvio significativo da resposta imune do tipo T_H1 para um perfil predominantemente imunorregulador. Nesse contexto, os autores demonstraram menor frequência tanto de células CD4⁺ produtoras de IFN- γ quanto menor intensidade de produção intracelular dessa citocina, indicando comprometimento da capacidade dessas células em sustentar uma resposta inflamatória efetora robusta. A diminuição da produção de IFN- γ é particularmente relevante do ponto de vista imunopatológico, uma vez que essa citocina desempenha papel central na ativação clássica de macrófagos, na indução da expressão do óxido nítrico sintase induzível e na consequente produção de óxido nítrico, mecanismos essenciais para o controle da replicação intracelular do *T. cruzi* (CARVALHO; FERRAZ; HOJO-SOUZA; MEDEIROS *et al.*, 2023).

Os mesmos autores também observaram maior frequência e intensidade de produção de IL-10 por linfócitos T CD4⁺ de memória, configurando um ambiente imunológico fortemente regulador. A IL-10 é reconhecida como um potente mediador anti-inflamatório, capaz de suprimir a ativação de células apresentadoras de antígeno, inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias e atenuar vias de sinalização dependentes de NF- κ B, o que pode resultar na redução da eficiência microbicida das células fagocíticas. O impacto funcional desse desequilíbrio tornou-se ainda mais evidente pela análise da razão IFN- γ /IL-10, a qual se mostrou drasticamente reduzida nos pacientes com cardiomiopatia chagásica, refletindo uma inversão da polarização imunológica que favorece a persistência parasitária em detrimento da eliminação do patógeno (CARVALHO; FERRAZ; HOJO-SOUZA; MEDEIROS *et al.*, 2023).

Do ponto de vista integrativo, esses achados sugerem que o predomínio de respostas reguladoras mediadas por linfócitos T CD4⁺ de memória pode contribuir de forma decisiva para a falha no controle imunológico do *T. cruzi*, permitindo a manutenção de focos parasitários e a perpetuação de um processo inflamatório crônico de baixa intensidade no miocárdio. Tal cenário pode representar um mecanismo central na progressão da cardiomiopatia chagásica, no qual a tentativa do sistema imune de limitar o dano tecidual acaba, paradoxalmente, favorecendo a persistência do parasita e a evolução da doença. Assim, o desequilíbrio entre IFN- γ e IL-10 emerge como um marcador funcional relevante da disfunção imunológica associada às formas clínicas mais graves da infecção (CARVALHO; FERRAZ; HOJO-SOUZA; MEDEIROS *et al.*, 2023). Adicionalmente, os dados pelos autores do referido estudo sugerem que o desequilíbrio funcional observado nas subpopulações de linfócitos T CD4⁺ de memória, caracterizado pelo predomínio de respostas imunorreguladoras mediadas por IL-10 em detrimento da produção de IFN- γ , pode não ser exclusivo da infecção por *T. cruzi*, mas representar mecanismo imunopatológico compartilhado por diferentes infecções causadas por patógenos intracelulares. Nesse contexto, microrganismos como *M. leprae*, que apresentam tropismo por células fagocíticas e capacidade de persistência intracelular, podem se beneficiar de um ambiente imunológico semelhante, no qual a atenuação da resposta T_{H1} compromete a ativação efetiva de macrófagos e a indução de mecanismos microbicidas dependentes de óxido nítrico.

A análise do percentual de linfócitos T CD8⁺CD45RO⁺ produtores de IFN- γ revelou que os pacientes paucibacilares apresentaram os maiores valores, seguidos pelos indivíduos controles, enquanto os multibacilares exibiram a menor frequência. Diferenças estatisticamente significativas foram observadas ao comparar os grupos paucibacilares e multibacilares, bem como ao comparar os controles com os MB. Em contrapartida, não se detectaram diferenças relevantes entre os grupos PB e controle. Esses achados indicam que a produção de IFN- γ por células CD8⁺ é preservada nos pacientes paucibacilares e nos controles, mas encontra-se reduzida nas formas multibacilares, refletindo o perfil imunossupressor característico desta forma da doença.

A avaliação da intensidade média de fluorescência de linfócitos T CD8⁺CD45RO⁺ produtores de IFN- γ revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Valores mais elevados foram observados nos pacientes paucibacilares em comparação aos multibacilares, assim como nos controles em relação aos multibacilares e, adicionalmente, nos paucibacilares em comparação aos controles. Esses achados indicam que a expressão intracelular de IFN- γ em células CD8⁺ é mais pronunciada nos indivíduos paucibacilares e nos controles, enquanto está reduzida nos pacientes multibacilares.

Os resultados do presente estudo, demonstrando maior percentual e intensidade de IFN- γ em linfócitos T CD8⁺ nos pacientes paucibacilares, corroboram achados prévios que destacam o papel central dessas células na resposta citotóxica contra *M. leprae*. De La Barrera *et al.* (1997) mostraram que, embora tanto linfócitos CD4⁺ quanto CD8⁺ possam exercer atividade citotóxica, a resposta mediada por CD8⁺ é significativamente mais pronunciada nos pacientes paucibacilares, enquanto nos multibacilares a citotoxicidade tende a ser reduzida ou deslocada para células CD4⁺. Esses achados sugerem que os linfócitos CD8⁺ desempenham função efetiva na eliminação do bacilo nas formas PB, contribuindo para o controle da infecção, ao passo que a diminuição da atividade citotóxica em MB pode estar relacionada ao microambiente imunossupressor característico desta forma clínica da doença (DE LA BARRERA; FINIASZ; FINK; VALDEZ *et al.*, 1997).

No que se refere à IL-10, não foram observadas diferenças significativas no percentual de linfócitos CD8⁺CD45RO⁺ entre os três grupos. Entretanto, a intensidade média de fluorescência apresentou valores mais elevados nos pacientes multibacilares, seguidos pelos controles e, por último, pelos paucibacilares. Diferenças estatisticamente significativas foram identificadas ao comparar os grupos multibacilares com os paucibacilares e os paucibacilares com os controles, enquanto não se detectaram diferenças significativas entre os multibacilares e os controles. Esses resultados podem indicar que, embora a frequência de células produtoras de IL-10 seja semelhante entre os grupos, a quantidade de citocina produzida por célula (refletida pela MFI) é menor nos paucibacilares quando comparado aos multibacilares.

Os achados de maior intensidade média de fluorescência de IL-10 em linfócitos CD8⁺ nos pacientes multibacilares são consistentes com evidências de que, embora a frequência de células CD8⁺ não difira marcadamente entre os grupos clínicos, essas células em MB apresentam características funcionais associadas a maiores níveis de IL-10, o que pode contribuir para um ambiente imunossupressor e favorecer a persistência do *M. leprae* (DE CASTRO; NASCIMENTO; DA SILVA; DA CONCEIÇÃO SOUZA *et al.*, 2025).

A análise do fenótipo linfocitário evidencia diferenças importantes entre as manifestações clínicas da hanseníase. Na forma MHT, observa-se predominância de linfócitos T CD4⁺ com características de memória (CD45RO⁺), indicando uma resposta imune eficaz. Já nas formas multibacilares, há maior proporção de linfócitos T CD8⁺ com perfil supressor (CD28⁻) e de células T *naive*, sugerindo uma atividade imunológica menos eficiente e capacidade reduzida de controle da infecção (CABRAL; DE FIGUEIREDO; GANDINI; DE SOUZA *et al.*, 2022).

A razão IFN- γ /IL-10 pode apresentar-se como indicador metodologicamente mais robusto, uma vez que permite avaliar o equilíbrio dinâmico entre vias imunológicas opostas, superando as

limitações inerentes à análise isolada de citocinas. A avaliação da proporção entre mediadores com funções contrastantes oferece estimativa mais precisa do estado imunológico global do que a simples mensuração de níveis absolutos, permitindo interpretar de forma integrada o perfil funcional das respostas imunes (SAMUEL, 2020).

A avaliação da razão IFN- γ /IL-10 em linfócitos T CD4⁺ evidenciou diferenças significativas entre as formas clínicas da hanseníase. Pacientes paucibacilares exibiram percentuais de células positivas 12,4 vezes maiores e intensidade média de fluorescência 3,1 vezes superiores em relação aos multibacilares, refletindo a predominância de respostas T_H1 protetoras nos paucibacilares e a modulação imunossupressora mediada por IL-10/T_{regs} nos multibacilares. Ademais, os valores no grupo paucibacilares foram 4,8 vezes maiores que os observados em indivíduos saudáveis, e também foram detectadas diferenças significativas ao comparar os controles com os pacientes multibacilares. Esses achados reforçam o papel da polarização T_H1/T_H2-regulatória na determinação da efetividade da resposta imune contra *M. leprae*. Enquanto o PB mantém uma resposta T_H1 robusta, com alta produção de IFN- γ para ativação macrofágica e controle bacilar, o MB mostra predominância da via regulatória, com supressão da resposta efetora pela ação combinada de IL-10 e T regulatória – desbalanço que perpetua a infecção.

A ativação diferencial das vias de reconhecimento inato mediadas por TLRs reflete-se diretamente no perfil funcional de linfócitos T ao longo do espectro clínico da hanseníase. Estudos que abordaram a sinalização via heterodímero TLR1/2 demonstraram que a maior produção de IL-12 por macrófagos associa-se à polarização de linfócitos T CD4⁺ de memória para um perfil T_H1, com maior produção de IFN- γ , característica observada nas formas paucibacilares. Em contraste, a redução da ativação dessa via em pacientes multibacilares associa-se ao predomínio de respostas regulatórias, com aumento da produção de IL-10 e consequente diminuição da razão IFN- γ /IL-10 (CHEBLI-DE-ABREU, N.; CARVALHO, A. M. R. S.; MENEZES, Y. R.; MACEDO, J. M. *et al.*, 2025). De forma convergente, os resultados do presente estudo, ao avaliar a ativação ampla de TLR2, também apontam para associação entre a modulação dessa via e alterações no equilíbrio entre respostas efetoras e regulatórias, reforçando o papel central da sinalização mediada por TLR2 na interface entre imunidade inata e adaptativa e sua influência sobre o desfecho clínico da infecção.

Estudos prévios investigaram o papel dos linfócitos T CD8⁺ na fisiopatologia das reações hansênicas do tipo 1, particularmente em pacientes coinfectados pelo HIV. Demonstrou-se que os episódios de reação reversa se associam com a acentuada ativação de células CD8⁺ nas lesões cutâneas, evidenciada pela maior expressão de marcadores de citotoxicidade e pela maior produção de citocinas pró-inflamatórias, como o IFN- γ . Esses achados indicam que os linfócitos CD8⁺

participam ativamente da resposta inflamatória celular direcionada contra o *M. leprae*, contribuindo para a intensificação da imunidade mediada por células observada durante as reações reversas. Ademais, o estudo sugere que, mesmo em contextos de imunossupressão sistêmica, como na infecção pelo HIV, a reativação funcional de CD8⁺ pode desencadear um perfil inflamatório tecidual robusto, culminando em manifestações clínicas associadas à exacerbação da resposta imune (DE OLIVEIRA; AMADEU; DE FRANÇA GOMES; MENEZES *et al.*, 2013).

Em nosso trabalho, a análise da razão IFN- γ /IL-10 em linfócitos T CD8⁺ revelou diferenças marcantes entre os grupos clínicos. Pacientes paucibacilares apresentaram percentuais de células positivas 4,6 vezes maiores e intensidade média de fluorescência 1,9 vezes superior em comparação aos multibacilares, indicando maior predominância de respostas citotóxicas pró-inflamatórias naquela forma da doença. Além disso, diferenças significativas foram observadas tanto no percentual quanto na MFI ao comparar os controles com os pacientes multibacilares, enquanto na comparação entre os grupos paucibacilares e controles, apenas a MFI mostrou diferença significativa. Esses achados sugerem que, nos paucibacilares, os linfócitos CD8⁺ mantêm maior capacidade efetora mediada por IFN- γ em relação aos multibacilares, reforçando o papel dessas células na contenção do *M. leprae* e na manutenção de uma resposta imunológica eficiente.

Estudo publicado em 2024 demonstrou que as lesões da hanseníase virchowiana são marcadas por um microambiente imunológico predominantemente regulatório, caracterizado pela presença de macrófagos com perfil anti-inflamatório e por linfócitos T CD8⁺ funcionalmente exaustos. Evidenciou-se que, apesar da abundância de células T nas lesões, os CD8⁺ apresentam redução da capacidade efetora, com diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias, especialmente IFN- γ . Paralelamente, observou-se predomínio de macrófagos com fenótipo regulatório, produtores de mediadores anti-inflamatórios, favorecendo a persistência bacilar e a progressão da doença. Esses achados reforçam que, na forma multibacilar, a resposta imune celular encontra-se funcionalmente comprometida, não apenas pela ausência de células T, mas pela perda de sua atividade efetora, criando um ambiente permissivo à multiplicação do bacilo de Hansen (MAYER-BARBER; BARBER; VIA, 2024).

Visca *et al.* (2002) reforçam o papel central do óxido nítrico como importante mecanismo efetor da imunidade do hospedeiro contra *M. leprae*. Em contraste com outras micobactérias patogênicas, como *M. tuberculosis* e *M. bovis*, o *M. leprae* apresenta genoma altamente reduzido, caracterizado pela perda significativa de genes envolvidos na detoxificação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Essa limitação metabólica torna o bacilo particularmente suscetível ao estresse oxidativo gerado no interior de macrófagos ativados, sobretudo em um microambiente hostil marcado por baixo pH, baixa tensão de oxigênio e elevada pressão de CO₂. Nesse contexto, o

NO emerge não apenas como um mediador antimicrobiano direto, mas também como determinante relevante da patogenicidade e do curso clínico da hanseníase, ao influenciar o equilíbrio entre contenção bacilar e resposta inflamatória do hospedeiro (VISCA; FABOZZI; MILANI; BOLOGNESI *et al.*, 2002).

Em nosso trabalho, a produção intracelular de NO encontrou-se significativamente aumentada nos pacientes com hanseníase paucibacilar em comparação tanto aos indivíduos controles quanto aos pacientes multibacilares, reforçando o papel imprescindível desse mediador na contenção da carga bacilar. O óxido nítrico é um importante efetor da imunidade inata e adaptativa, especialmente na resposta celular mediada por macrófagos ativadas por citocinas do eixo TH1, como IFN- γ e TNF- α , sendo reconhecido como um dos principais mecanismos microbicidas contra patógenos intracelulares, incluindo *M. leprae*. Nesse contexto, a maior produção de NO observada nos pacientes paucibacilares é compatível com o perfil imunológico característico dessa forma clínica, marcado por resposta celular mais eficiente e maior capacidade de controle da multiplicação bacilar (ADAMS; JOB; KRAHENBUHL, 2000; SCHALCHER; VIEIRA; SALGADO; BORGES *et al.*, 2013; VISCA; FABOZZI; MILANI; BOLOGNESI *et al.*, 2002; YANG; YUK; JO, 2009).

Por outro lado, a menor produção de NO nos pacientes multibacilares corrobora o padrão de resposta imune predominantemente regulatória e humoral descrito nessa forma da doença, frequentemente associada à maior expressão de citocinas imunossupressoras, como IL-10 e TGF- β , que inibem a ativação macrófagica e a produção de espécies reativas de nitrogênio. A diferença significativa observada entre o grupo controle e os pacientes multibacilares reforça a hipótese de que a deficiência na geração de NO não apenas reflete a gravidade da doença, mas também pode contribuir ativamente para a persistência bacilar e progressão clínica. Assim, os resultados obtidos sustentam o papel do NO como marcador funcional da competência da resposta imune celular na hanseníase e sugerem que sua quantificação pode auxiliar na compreensão dos mecanismos imunopatogênicos envolvidos nas diferentes formas clínicas da doença (SILVA; SILVA; BRASIL; ALVES *et al.*, 2024; VISCA; FABOZZI; MILANI; BOLOGNESI *et al.*, 2002).

De acordo com os achados apresentados por Braverman e Stanley (2017), a produção de NO exerce papel central na regulação da resposta de macrófagos durante a infecção por *M. tuberculosis*. Nesse contexto, o fator de transcrição induzido por hipóxia HIF-1 α , previamente descrito como essencial para o controle da infecção mediado por IFN- γ , mostrou-se dependente da produção de NO para o pleno desempenho de sua função. Além disso, evidenciou-se a existência de circuito de retroalimentação positiva entre HIF-1 α e iNOS, capaz de amplificar a ativação dos macrófagos. Paralelamente, o NO associou-se com a inibição da atividade da via NF- κ B, prevenindo respostas inflamatórias exacerbadas. Esses resultados indicam que o NO atua como mediador chave no

equilíbrio entre a ativação de programas microbicidas eficazes e a contenção da inflamação excessiva, sendo fundamental para o estabelecimento de uma resposta imune eficiente e ao mesmo tempo pouco lesiva aos tecidos durante infecções por micobactérias (BRAVERMAN; STANLEY, 2017).

Os dados disponíveis na literatura reforçam que o NO desempenha papel central não apenas na atividade microbicida, mas também na regulação da resposta inflamatória durante infecções por micobactérias. Estudos experimentais com o *M. tuberculosis* demonstraram que o NO induzido por IFN- γ atua como um modulador negativo de respostas inflamatórias dependentes de IL-1 β , limitando a ativação do inflamassoma NLRP3 e, conseqüentemente, prevenindo o desenvolvimento de respostas inflamatórias exacerbadas. Esse efeito regulador torna-se particularmente evidente em modelos experimentais nos quais a ausência de iNOS resulta em inflamação intensa, com predomínio de infiltrado granulocítico e desorganização tecidual, mesmo na presença de cargas bacilares equivalentes, indicando que o controle da inflamação ocorre de maneira independente da restrição direta do crescimento bacteriano (MISHRA; RATHINAM; MARTENS; MARTINOT *et al.*, 2013).

Mecanicamente, o NO modula a atividade do inflamassoma por meio de processos de regulação redox, especialmente pela S-nitrosilação do NLRP3, interferindo na montagem do complexo inflamatório e no processamento de IL-1 β . Esses achados posicionam o inflamassoma como um importante ponto de integração entre vias pró- e anti-inflamatórias, altamente sensível ao balanço redox do microambiente inflamatório. A especificidade da ação do NO sobre o NLRP3 sugere que esse mecanismo seja particularmente relevante em estados inflamatórios crônicos dependentes dessa via, como as infecções micobacterianas persistentes (MISHRA; RATHINAM; MARTENS; MARTINOT *et al.*, 2013). Contudo, a atuação do NO não se restringe a essa via, uma vez que sua produção e seus efeitos imunomoduladores envolvem a integração de múltiplos sinais, incluindo aqueles mediados por citocinas como IFN- γ e por receptores da imunidade inata, como os receptores do tipo *Toll*, sem que essa regulação seja exclusiva de um único receptor, como o TLR2.

Além disso, a capacidade do NO de suprimir a inflamação granulocítica destaca seu papel na preservação da integridade tecidual, especialmente em órgãos altamente sensíveis ao dano inflamatório, como o pulmão. Considerando que citocinas como IL-1 β exercem funções duais, atuando tanto na defesa antimicrobiana quanto na promoção de dano tecidual quando produzidas de forma desregulada, o NO emerge como mediador essencial para o equilíbrio entre proteção imunológica e limitação da patologia. Nesse contexto, vias imunomodulatórias que envolvem o eixo IFN- γ /NO/IL-1 β representam potenciais alvos terapêuticos para o controle da inflamação exacerbada associada a infecções micobacterianas, podendo ser extrapoladas para outras doenças

crônicas caracterizadas por respostas inflamatórias desbalanceadas (MISHRA; RATHINAM; MARTENS; MARTINOT *et al.*, 2013).

A análise global dos resultados reforça que a resposta imune na hanseníase assume perfis claramente distintos nas formas paucibacilar e multibacilar, sendo fortemente influenciada pela ativação diferencial de vias de reconhecimento inato mediadas por receptores do tipo *Toll*. Nos indivíduos com a forma paucibacilar, observa-se o predomínio de ambiente inflamatório efetor, associado à ativação de macrófagos com elevada expressão de macrófagos derivados de monócitos CD14⁺HLA-DR⁺TLR2⁺NF-κB⁺, concomitantemente à maior produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-12 e IL-1β. Esse cenário é acompanhado pela expansão de populações de linfócitos T CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺ e T CD3⁺CD8⁺CD45RO⁺ com capacidade aumentada de produzir IFN-γ, sugerindo o estabelecimento de resposta do tipo T_H1 mais eficiente.

Por outro lado, a forma multibacilar caracteriza-se por perfil imunológico distinto, no qual predomina a produção de IL-10 por células T, refletindo um viés regulatório e menor proporção IFN-γ/IL-10. Esses dados reforçam a noção de que a intensidade e a qualidade da sinalização via TLRs, bem como a ativação subsequente de vias intracelulares como a do NF-κB, exercem papel determinante na modulação do equilíbrio entre respostas inflamatórias protetoras e mecanismos imunorregulatórios, influenciando diretamente a expressão clínica da doença. A integração dos diferentes parâmetros funcionais analisados indica que a razão IFN-γ/IL-10 constitui marcador discriminatório consistente entre as formas clínicas da hanseníase.

A maior expressão intracelular de óxido nítrico observada nos pacientes paucibacilares, em comparação aos multibacilares, sugere que o NO participa ativamente dos mecanismos efetores associados ao controle da infecção. Considerando a reconhecida vulnerabilidade de *M. leprae* ao estresse oxidativo, esses achados sustentam a hipótese de que a produção aumentada de NO nas formas paucibacilares contribui para a contenção bacilar, enquanto sua menor disponibilidade nas formas multibacilares pode favorecer a persistência do patógeno e a progressão da doença.

8. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Os pacientes com a forma paucibacilar exibiram maior ativação da imunidade inata, caracterizada pelo predomínio de macrófagos $CD14^+HLA-DR^+TLR2^+NF-\kappa B^+$ produtores de IL-12 e IL-1 β . Esse perfil foi acompanhado por uma resposta adaptativa do tipo T_H1 , marcada por maior frequência e intensidade de produção de IFN- γ por linfócitos T $CD3^+CD4^+CD45RO^+$ e T $CD3^+CD8^+CD45RO^+$.

Em contrapartida, os pacientes com hanseníase multibacilar apresentaram maior frequência e maior intensidade de expressão de linfócitos T $CD3^+CD4^+CD45RO^+$ produtores de IL-10, bem como maior frequência de linfócitos T $CD3^+CD8^+CD45RO^+$ produtores de IL-10. Esse perfil esteve associado à menor expressão de IFN- γ , configurando padrão imunorregulador compatível com a persistência bacilar. Nesse contexto, a razão IFN- γ /IL-10 de células T $CD3^+CD4^+CD45RO^+$ e T $CD3^+CD8^+CD45RO^+$ mostrou-se um marcador sensível para a distinção entre os perfis imunológicos identificados, reforçando o papel do desequilíbrio entre citocinas pró-inflamatórias e regulatórias na polarização clínica da hanseníase. Adicionalmente, a produção intracelular de óxido nítrico foi significativamente mais elevada nos pacientes paucibacilares em comparação aos multibacilares.

Em síntese, os resultados obtidos sugerem que a ativação de vias sinalizadoras dependentes de TLR2 em monócitos/macrófagos, em associação com o desenvolvimento de uma resposta T_H1 funcional, constitui eixo central no controle da carga bacilar e favorece a manifestação da forma clínica paucibacilar da hanseníase.

A robustez dos resultados foi sustentada pela adoção de estratégias metodológicas rigorosas, incluindo o uso de citometria de fluxo multiparamétrica associada a marcadores de viabilidade celular, como o (LIVE/DEADTM), medidas essenciais para minimizar vieses analíticos e garantir a qualidade das aquisições. A integração de marcadores de superfície e intracelulares possibilitou a identificação de assinaturas funcionais distintas entre as formas paucibacilar e multibacilar da hanseníase, reforçando a relevância do TLR2 como elemento importante na modulação da resposta imune, sendo um potencial alvo para intervenções.

Apesar da relevância dos achados apresentados, algumas limitações metodológicas devem ser consideradas na interpretação dos resultados. A impossibilidade de cultivo *in vitro* do *M. leprae*, aliada à ausência de modelos experimentais que reproduzam de forma fidedigna o amplo espectro clínico-imunológico observado em humanos, impôs restrições à investigação aprofundada dos mecanismos moleculares envolvidos na resposta ao patógeno.

A abordagem centrada exclusivamente na análise de células mononucleares do sangue periférico pode não refletir integralmente os eventos imunológicos que ocorrem no microambiente das lesões cutâneas, principal sítio de interação entre o hospedeiro e o bacilo. A heterogeneidade etária da população estudada também pode ter contribuído para a variabilidade observada em alguns parâmetros analisados. Nesse contexto, estudos futuros poderiam se beneficiar da incorporação de análises diretas de biópsias cutâneas, permitindo avaliação mais precisa da resposta imune local. A caracterização fenotípica e funcional aprofundada de subpopulações celulares específicas, como linfócitos T reguladores, bem como a investigação de polimorfismos genéticos em genes relacionados a TLRs e citocinas-chave, representa estratégia promissora para ampliar a compreensão dos determinantes imunológicos da hanseníase. Ademais, estudos longitudinais acompanhando pacientes ao longo e após o tratamento seriam particularmente relevantes para elucidar a dinâmica das respostas imunes durante a terapia e sua possível associação com desfechos clínicos.

De forma mais ampla, os achados deste estudo contribuem significativamente para o entendimento dos mecanismos imunológicos envolvidos na patogênese da hanseníase e estabelecem uma abordagem metodológica aplicável à investigação da polarização imune em outras doenças infecciosas crônicas. Nesse sentido, os resultados ressaltam o papel integrado das respostas imunes inata e adaptativa na determinação dos desfechos clínicos, destacando a complexidade das interações celulares e moleculares que moldam a evolução dessas enfermidades.

Como perspectiva decorrente deste estudo, pretende-se a elaboração e submissão de, ao menos, um artigo científico para publicação em periódico internacional indexado, com o objetivo de divulgar os principais achados obtidos e contribuir para o avanço do conhecimento na área, ampliando a visibilidade dos resultados no contexto científico nacional e internacional.

9. ANEXOS

9.1. Anexo I: Aprovação do projeto pelo CEP/UFMG

Você está em: Público > Confirmar Aprovação pelo CAAE ou Parecer

CONFIRMAR APROVAÇÃO PELO CAAE OU PARECER

Informe o número do CAAE ou do Parecer:

Número do CAAE:	Número do Parecer:	
<input type="text" value="68583223.2.0000.5149"/>	<input type="text"/>	<input type="button" value="Pesquisar"/>

Esta consulta retorna somente pareceres aprovados. Caso não apresente nenhum resultado, o número do parecer informado não é válido ou não corresponde a um parecer aprovado.

DETALHAMENTO

Título do Projeto de Pesquisa:		
<input type="text" value="Estudo da Expressão de Receptores Toll-like 1/2 e de Mediadores da Imunidade Inata nas"/>		
Número do CAAE:	Número do Parecer:	
<input type="text" value="68583223.2.0000.5149"/>	<input type="text" value="6184798"/>	
Quem Assinou o Parecer:	Pesquisador Responsável:	
<input type="text" value="Corinne Davis Rodrigues"/>	<input type="text" value="Manoel Otávio da Costa Rocha"/>	
Data Início do Cronograma:	Data Fim do Cronograma:	Contato Público:
<input type="text" value="01/03/2023"/>	<input type="text" value="01/12/2024"/>	<input type="text" value="Manoel Otávio da Costa Rocha"/>

9.2. Anexo II: Aprovação do projeto pelo CEP/FHEMIG

Você está em: Público > Confirmar Aprovação pelo CAAE ou Parecer

CONFIRMAR APROVAÇÃO PELO CAAE OU PARECER

Informe o número do CAAE ou do Parecer:

Número do CAAE:

68583223.2.3001.5124

Número do Parecer:

Pesquisar

Esta consulta retorna somente pareceres aprovados. Caso não apresente nenhum resultado, o número do parecer informado não é válido ou não corresponde a um parecer aprovado.

DETALHAMENTO

Título do Projeto de Pesquisa:

Estudo da Expressão de Receptores Toll-like 1/2 e de Mediadores da Imunidade Inata nas

Número do CAAE:

68583223.2.3001.5124

Número do Parecer:

6190547

Quem Assinou o Parecer:

JADER BERNARDO CAMPOMIZZI

Pesquisador Responsável:

Manoel Otávio da Costa Rocha

Data Início do Cronograma:

01/03/2023

Data Fim do Cronograma:

01/12/2024

Contato Público:

null

10. REFERÊNCIAS

- [6th International Leprosy Congress]. **Rev Bras Leprol**, 21, n. 1, p. 78-79, Mar 1953.
- ADAMS, L. B.; JOB, C. K.; KRAHENBUHL, J. L. Role of inducible nitric oxide synthase in resistance to *Mycobacterium leprae* in mice. **Infect Immun**, 68, n. 9, p. 5462-5465, Sep 2000.
- AKIRA, S.; TAKEDA, K.; KAISHO, T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. **Nat Immunol**, 2, n. 8, p. 675-680, Aug 2001.
- AKIRA, S.; UEMATSU, S.; TAKEUCHI, O. Pathogen recognition and innate immunity. **Cell**, 124, n. 4, p. 783-801, Feb 24 2006.
- ANTUNES, D. E.; GOULART, I. M. B.; LIMA, M. I. S.; ALVES, P. T. *et al.* Differential Expression of IFN-. **J Immunol Res**, 2019, p. 3405103, 2019.
- ARAÚJO, M. G. [Leprosy in Brazil]. **Rev Soc Bras Med Trop**, 36, n. 3, p. 373-382, May-Jun 2003.
- ARAÚJO, M. G. Leprosy in Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, 36, n. 373, p. 382, 2003.
- BHAT, R. M.; PRAKASH, C. Leprosy: an overview of pathophysiology. **Interdiscip Perspect Infect Dis**, 2012, p. 181089, 2012.
- BOCHUD, P. Y.; HAWN, T. R.; SIDDIQUI, M. R.; SAUNDERSON, P. *et al.* Toll-like receptor 2 (TLR2) polymorphisms are associated with reversal reaction in leprosy. **J Infect Dis**, 197, n. 2, p. 253-261, Jan 15 2008.
- BOCHUD, P. Y.; SINSIMER, D.; ADEREM, A.; SIDDIQUI, M. R. *et al.* Polymorphisms in Toll-like receptor 4 (TLR4) are associated with protection against leprosy. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, 28, n. 9, p. 1055-1065, Sep 2009.
- BRASIL. Protocolo Clínico Diretrizes Terapêuticas da Hanseníase. **Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis**, 2022.
- BRASIL, M. D. S. Prevenção de Incapacidade na Hanseníase e Reabilitação em Hanseníase. ED. Bauru: Centro de Estudos Dr. Reynaldo Quagliato/Hospital Lauro de Souza Lima 2008.
- BRASIL. Boletim Epidemiológico: Hanseníase 2024. SAÚDE, M. D. Brasília, DF: Ministério da Saúde 2024.
- BRAVERMAN, J.; STANLEY, S. A. Nitric Oxide Modulates Macrophage Responses to. **J Immunol**, 199, n. 5, p. 1805-1816, Sep 01 2017.
- BRENNAN, P. J. Structure, function, and biogenesis of the cell wall of *Mycobacterium tuberculosis*. **Tuberculosis (Edinb)**, 83, n. 1-3, p. 91-97, 2003.
- BRENNAN, P. J.; SPENCER, J. S. Chapter 5.1. The Physiology of *Mycobacterium leprae*. In Scollard DM, & Gillis TP. (Eds.). **International Textbook of Leprosy**, 2019.

- BRIGHTBILL, H. D.; LIBRATY, D. H.; KRUTZIK, S. R.; YANG, R. B. *et al.* Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. **Science**, 285, n. 5428, p. 732-736, Jul 30 1999.
- BROWNE, S. G. How old is leprosy? **Br Med J**, 3, n. 5723, p. 640-641, Sep 12 1970.
- BROWNE, S. G. Some aspects of the history of leprosy: the leprosie of yesterday. **Proc R Soc Med**, 68, n. 8, p. 485-493, Aug 1975.
- BULUN, H.; BRIDGER, P. S.; SCHILLINGER, S.; AKINEDEN, Ö. *et al.* Interferon-gamma producing CD4. **Vet Res**, 55, n. 1, p. 69, May 31 2024.
- CABRAL, N.; DE FIGUEIREDO, V.; GANDINI, M.; DE SOUZA, C. F. *et al.* Modulation of the Response to. **Front Microbiol**, 13, p. 918009, 2022.
- CARVALHO, A. M. R. S.; FERRAZ, I. A.; HOJO-SOUZA, N. S.; MEDEIROS, F. A. C. *et al.* Chagas cardiomyopathy is associated with a high susceptibility to *T. cruzi* infection in monocyte-derived macrophages and a predominance of CD4. **Acta Trop**, 237, p. 106749, Jan 2023.
- CARVALHO, J. C.; ARAUJO, M. G.; COELHO-DOS-REIS, J. G. A.; PERUHYPE-MAGALHAES, V. *et al.* Phenotypic and functional features of innate and adaptive immunity as putative biomarkers for clinical status and leprosy reactions. **Microb Pathog**, 125, p. 230-239, Dec 2018.
- CAVALCANTI, A. A.; LUCENA-SILVA, N.; MONTARROYOS, U. R.; ALBUQUERQUE, P. M. Concordance between expected and observed bacilloscopy results of clinical forms of leprosy: a 6-year retrospective study in Recife, State of Pernambuco, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, 45, n. 5, p. 616-619, Oct 2012.
- CHATZILEONTIADOU, D. S. M.; SLOANE, H.; NGUYEN, A. T.; GRAS, S. *et al.* The Many Faces of CD4. **Int J Mol Sci**, 22, n. 1, Dec 23 2020.
- CHEBLI-DE-ABREU, N.; CARVALHO, A.; MENEZES, Y. R.; MACEDO, J. M. *et al.* TLR1/2-driven macrophage polarization shapes memory CD4(+)T-cell responses across the leprosy spectrum. **Acta Trop**, 271, p. 107870, Nov 2025.
- COLSTON, M. J. The microbiology of *Mycobacterium leprae*; progress in the last 30 years. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, 87, n. 5, p. 504-507, Sep-Oct 1993.
- COSTA, R. D.; MENDONÇA, V. A.; LYON, S.; PENIDO, R. A. *et al.* Evaluation of the expression of interleukin 1 beta (IL-1beta) and interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra) in leprosy patients. **Rev Soc Bras Med Trop**, 41 Suppl 2, p. 99-103, 2008.
- COUTO DAL SECCO, R. G.; FRANÇA, K.; CASTILLO, D.; ALHARBI, M. *et al.* A synopsis of the history of Hansen's disease. **Wien Med Wochenschr**, 167, n. Suppl 1, p. 27-30, Oct 2017.
- DAFFÉ, M.; DRAPER, P. The envelope layers of mycobacteria with reference to their pathogenicity. **Adv Microb Physiol**, 39, p. 131-203, 1998.

- DE CASTRO, Y. S.; NASCIMENTO, L. S.; DA SILVA, J. A.; DA CONCEIÇÃO SOUZA, R. *et al.* Increased CD8. **Immunology**, 175, n. 4, p. 444-452, Aug 2025.
- DE LA BARRERA, S.; FINIASZ, D. M.; FINK, S.; VALDEZ, R. *et al.* Differential development of CD4 and CD8 cytotoxic T cells (CTL) in PBMC across the leprosy spectrum; IL-6 with IFN-gamma or IL-2 generate CTL in multibacillary patients. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**, 65, n. 1, p. 45-55, Mar 1997.
- DE OLIVEIRA, A. L.; AMADEU, T. P.; DE FRANÇA GOMES, A. C.; MENEZES, V. M. *et al.* Role of CD8(+) T cells in triggering reversal reaction in HIV/leprosy patients. **Immunology**, 140, n. 1, p. 47-60, Sep 2013.
- DE SOUSA, J. R.; SOTTO, M. N.; SIMÕES QUARESMA, J. A. Leprosy As a Complex Infection: Breakdown of the Th1 and Th2 Immune Paradigm in the Immunopathogenesis of the Disease. **Front Immunol**, 8, p. 1635, 2017.
- DE SOUZA, F. C.; MARCOS, E. V.; URA, S.; OPROMOLLA, P. A. *et al.* [Comparative study between the Mitsuda test and the human leukocyte antigens in leprosy patients]. **Rev Soc Bras Med Trop**, 40, n. 2, p. 188-191, 2007.
- DOS SANTOS, F. S.; DE SOUZA, L. P.; SIANI, A. C. [Chaulmoogra oil as scientific knowledge: the construction of a treatment for leprosy]. **Hist Cienc Saude Manguinhos**, 15, n. 1, p. 29-47, 2008.
- FAGET, G. H.; POGGE, R. C.; JOHANSEN, F. A.; DINAN, J. F. *et al.* The promin treatment of leprosy. A progress report. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**, 34, n. 3, p. 298-310, 1966.
- FOSS, N. T. Episódios reacionais na hanseníase. **Medicina (Ribeirão Preto) [Internet]**, 36, p. 453-459, 2003.
- FRADE, M. A. C.; ROSA, D. J. F.; BERNARDES FILHO, F.; SPENCER, J. S. *et al.* Semmes-Weinstein monofilament: A tool to quantify skin sensation in macular lesions for leprosy diagnosis. **Indian J Dermatol Venereol Leprol**, 87, n. 6, p. 807-815, 2021.
- FROES, L. A. R., JR.; TRINDADE, M. A. B.; SOTTO, M. N. Immunology of leprosy. **Int Rev Immunol**, 41, n. 2, p. 72-83, 2022.
- FURNESS, F. N. Leprosy through the ages: an exhibit. **Bull N Y Acad Med**, 47, n. 6, p. 678-681, Jun 1971.
- GHOSH, S.; CHAUDHURI, S. Chronicles of Gerhard-Henrik Armauer Hansen's Life and Work. **Indian J Dermatol**, 60, n. 3, p. 219-221, 2015.
- GOULART, I. M.; PENNA, G. O.; CUNHA, G. [Immunopathology of leprosy: the complexity of the mechanisms of host immune response to *Mycobacterium leprae*]. **Rev Soc Bras Med Trop**, 35, n. 4, p. 365-375, 2002.
- GRZYBOWSKI, A.; SAK, J.; PAWLIKOWSKI, J.; NITA, M. Leprosy: Social implications from antiquity to the present. **Clin Dermatol**, 34, n. 1, p. 8-10, 2016.

- HUNTER, S. W.; FUJIWARA, T.; BRENNAN, P. J. Structure and antigenicity of the major specific glycolipid antigen of *Mycobacterium leprae*. **J Biol Chem**, 257, n. 24, p. 15072-15078, Dec 25 1982.
- KAWAI, T.; AKIRA, S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. **Nat Immunol**, 11, n. 5, p. 373-384, May 2010.
- KRUTZIK, S. R.; OCHOA, M. T.; SIELING, P. A.; UEMATSU, S. *et al.* Activation and regulation of Toll-like receptors 2 and 1 in human leprosy. **Nat Med**, 9, n. 5, p. 525-532, May 2003.
- KUMARAN, S. M.; BHAT, I. P.; MADHUKARA, J.; ROUT, P. *et al.* Comparison of bacillary index on slit skin smear with bacillary index of granuloma in leprosy and its relevance to present therapeutic regimens. **Indian J Dermatol**, 60, n. 1, p. 51-54, 2015.
- LASTÓRIA, J. C.; ABREU, M. A. Leprosy: review of the epidemiological, clinical, and etiopathogenic aspects - part 1. **An Bras Dermatol**, 89, n. 2, p. 205-218, 2014.
- LEE, M.; REY, K.; BESLER, K.; WANG, C. *et al.* Immunobiology of Nitric Oxide and Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthase. **Results Probl Cell Differ**, 62, p. 181-207, 2017.
- LIU, P. T.; SCHENK, M.; WALKER, V. P.; DEMPSEY, P. W. *et al.* Convergence of IL-1 β and VDR activation pathways in human TLR2/1-induced antimicrobial responses. **PLoS One**, 4, n. 6, p. e5810, Jun 05 2009.
- MAYER-BARBER, K. D.; BARBER, D. L.; VIA, L. E. Exhausted CD8 T cells and anti-inflammatory macrophages characterize lepromatous leprosy lesions. **EBioMedicine**, 109, p. 105382, Nov 2024.
- MAYMONE, M. B. C.; LAUGHTER, M.; VENKATESH, S.; DACSO, M. M. *et al.* Leprosy: Clinical aspects and diagnostic techniques. **J Am Acad Dermatol**, 83, n. 1, p. 1-14, Jul 2020.
- MENDES, A. L. G.; JOAQUIM, H. D. M.; ZAMAE, M. I. S.; ASSIS, R. M. *et al.* Expression of NLRP3 inflammasome in leprosy indicates immune evasion of *Mycobacterium leprae*. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 115, p. e190324, 2020.
- MENDONÇA, V. A.; COSTA, R. D.; MELO, G. E. B. A.; ANTUNES, C. M. *et al.* Immunology of leprosy. **An Bras Dermatol**, 83, n. 4, p. 343-350, 2008.
- MISHRA, B. B.; RATHINAM, V. A.; MARTENS, G. W.; MARTINOT, A. J. *et al.* Nitric oxide controls the immunopathology of tuberculosis by inhibiting NLRP3 inflammasome-dependent processing of IL-1 β . **Nat Immunol**, 14, n. 1, p. 52-60, Jan 2013.
- MITSUDA, K. On the value of a skin reaction to a suspension of leprosy nodules. **International Journal of Leprosy** 21:347-358 1953.
- MODLIN, R. L. Th1-Th2 paradigm: insights from leprosy. **J Invest Dermatol**, 102, n. 6, p. 828-832, Jun 1994.
- MONTOYA, D.; MODLIN, R. L. Learning from leprosy: insight into the human innate immune response. **Adv Immunol**, 105, p. 1-24, 2010.

- MOURA, D. M.; CARVALHO, A.; BRITO, R. C. F.; ROATT, B. M. *et al.* CD4(+) and CD8(+) T-cell multi-epitope chimeric protein associated with an MPLA adjuvant induce protective efficacy and long-term immunological memory for the immunoprophylaxis of American Tegumentary Leishmaniasis. **Vaccine**, 42, n. 21, p. 126178, Aug 30 2024.
- OLIVEIRA, S. G.; TALHARI, S.; NEVES, R. G.; TALHARI, A. C. Manifestações Neurológicas e Diagnóstico Diferencial. In: Talhari **Dermatologia Tropical** n. 4^a ed, 2006.
- PINHEIRO, R. O.; SCHMITZ, V.; SILVA, B. J. A.; DIAS, A. A. *et al.* Innate Immune Responses in Leprosy. **Front Immunol**, 9, p. 518, 2018.
- RAJAN, T. V. The Gell-Coombs classification of hypersensitivity reactions: a re-interpretation. **Trends Immunol**, 24, n. 7, p. 376-379, Jul 2003.
- RIDLEY, D. S. The bacteriological interpretation of skin smears and biopsies in leprosy. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, 49, n. 5, p. 449-452, Sep 1955.
- RIDLEY, D. S.; JOPLING, W. H. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. **Int J Lepr Other Mycobact Dis**, 34, n. 3, p. 255-273, Jul-Sep 1966.
- SAMPAIO, S. A. P.; RIVITTI, E. A. D. S. P. A. M., HANSENÍASE 2008; 41:625-51.
- SAMPATH, P.; MOIDEEN, K.; RANGANATHAN, U. D.; BETHUNAICKAN, R. Monocyte Subsets: Phenotypes and Function in Tuberculosis Infection. **Front Immunol**, 9, p. 1726, 2018.
- SAMUEL, P. J. Cytokine Analysis: A Fresh Perspective. **J Interferon Cytokine Res**, 40, n. 11, p. 511-514, Nov 2020.
- SANTANA, N. L.; REGO, J. L.; OLIVEIRA, J. M.; ALMEIDA, L. F. *et al.* Polymorphisms in genes TLR1, 2 and 4 are associated with differential cytokine and chemokine serum production in patients with leprosy. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 112, n. 4, p. 260-268, Apr 2017.
- SCHALCHER, T. R.; VIEIRA, J. L.; SALGADO, C. G.; BORGES, R. O. S. *et al.* Antioxidant factors, nitric oxide levels, and cellular damage in leprosy patients. **Rev Soc Bras Med Trop**, 46, n. 5, p. 645-649, 2013.
- SES-MG. Boletim Epidemiológico de Hanseníase. Belo Horizonte 2024.
- SHOOSHTARI, P.; FORTUNO, E. S.; BLIMKIE, D.; YU, M. *et al.* Correlation analysis of intracellular and secreted cytokines via the generalized integrated mean fluorescence intensity. **Cytometry A**, 77, n. 9, p. 873-880, Sep 2010.
- SIELING, P. A.; ABRAMS, J. S.; YAMAMURA, M.; SALGAME, P. *et al.* Immunosuppressive roles for IL-10 and IL-4 in human infection. *In vitro* modulation of T cell responses in leprosy. **J Immunol**, 150, n. 12, p. 5501-5510, Jun 15 1993.
- SILVA, M. J. A.; SILVA, C. S.; BRASIL, T. P.; ALVES, A. K. *et al.* An update on leprosy immunopathogenesis: systematic review. **Front Immunol**, 15, p. 1416177, 2024.
- SINGH, P. A.; AGARWAL, R.; MISRA, V.; GUPTA, S. C. *et al.* Clinico-histopathological concordance in leprosy. **Trop Doct**, 30, n. 4, p. 228-231, Oct 2000.

- SKEEN, M. J.; MILLER, M. A.; SHINNICK, T. M.; ZIEGLER, H. K. Regulation of murine macrophage IL-12 production. Activation of macrophages *in vivo*, restimulation *in vitro*, and modulation by other cytokines. **J Immunol**, 156, n. 3, p. 1196-1206, Feb 01 1996.
- SUGAWARA-MIKAMI, M.; TANIGAWA, K.; KAWASHIMA, A.; KIRIYA, M. *et al.* Pathogenicity and virulence of. **Virulence**, 13, n. 1, p. 1985-2011, Dec 2022.
- TARIQUE, M.; NAZ, H.; SAINI, C.; SUHAIL, M. *et al.* Association of IL-10 Gene Polymorphism With IL-10 Secretion by CD4 and T Regulatory Cells in Human Leprosy. **Front Immunol**, 11, p. 1974, 2020.
- TRAUTMAN, J. R. A brief history of Hansen's disease. **Bull N Y Acad Med**, 60, n. 7, p. 689-695, Sep 1984.
- ULLRICH, K. A.; SCHULZE, L. L.; PAAP, E. M.; MÜLLER, T. M. *et al.* Immunology of IL-12: An update on functional activities and implications for disease. **EXCLI J**, 19, p. 1563-1589, 2020.
- UNDERHILL, D. M.; OZINSKY, A.; HAJJAR, A. M.; STEVENS, A. *et al.* The Toll-like receptor 2 is recruited to macrophage phagosomes and discriminates between pathogens. **Nature**, 401, n. 6755, p. 811-815, Oct 21 1999.
- VISCA, P.; FABOZZI, G.; MILANI, M.; BOLOGNESI, M. *et al.* Nitric oxide and Mycobacterium leprae pathogenicity. **IUBMB Life**, 54, n. 3, p. 95-99, Sep 2002.
- VISSA, V. D.; BRENNAN, P. J. The genome of Mycobacterium leprae: a minimal mycobacterial gene set. **Genome Biol**, 2, n. 8, p. REVIEWS1023, 2001.
- WANG, H.; RUAN, G.; LI, Y.; LIU, X. The Role and Potential Application of IL-12 in the Immune Regulation of Tuberculosis. **Int J Mol Sci**, 26, n. 7, Mar 28 2025.
- WHO. **Guidelines for the Diagnosis, Treatment and Prevention of Leprosy**. World Health Organization. Geneva: Acesso em: 09 out. 2025. 2018.
- WONG, K. L.; TAI, J. J.; WONG, W. C.; HAN, H. *et al.* Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets. **Blood**, 118, n. 5, p. e16-31, Aug 4 2011.
- WONG, K. L.; YEAP, W. H.; TAI, J. J.; ONG, S. M. *et al.* The three human monocyte subsets: implications for health and disease. **Immunol Res**, 53, n. 1-3, p. 41-57, Sep 2012.
- YANG, C. S.; YUK, J. M.; JO, E. K. The role of nitric oxide in mycobacterial infections. **Immune Netw**, 9, n. 2, p. 46-52, Apr 2009.