

Rafaela de Souza Andrade; Colégio Pedro II – Campus Niterói
Orientadora: Dra. Veronica Schmitz Pereira
Coorientadora: Msc. Isabella Forasteiro Tavares
Instituto Oswaldo Cruz – Laboratório de Hanseníase

Introdução

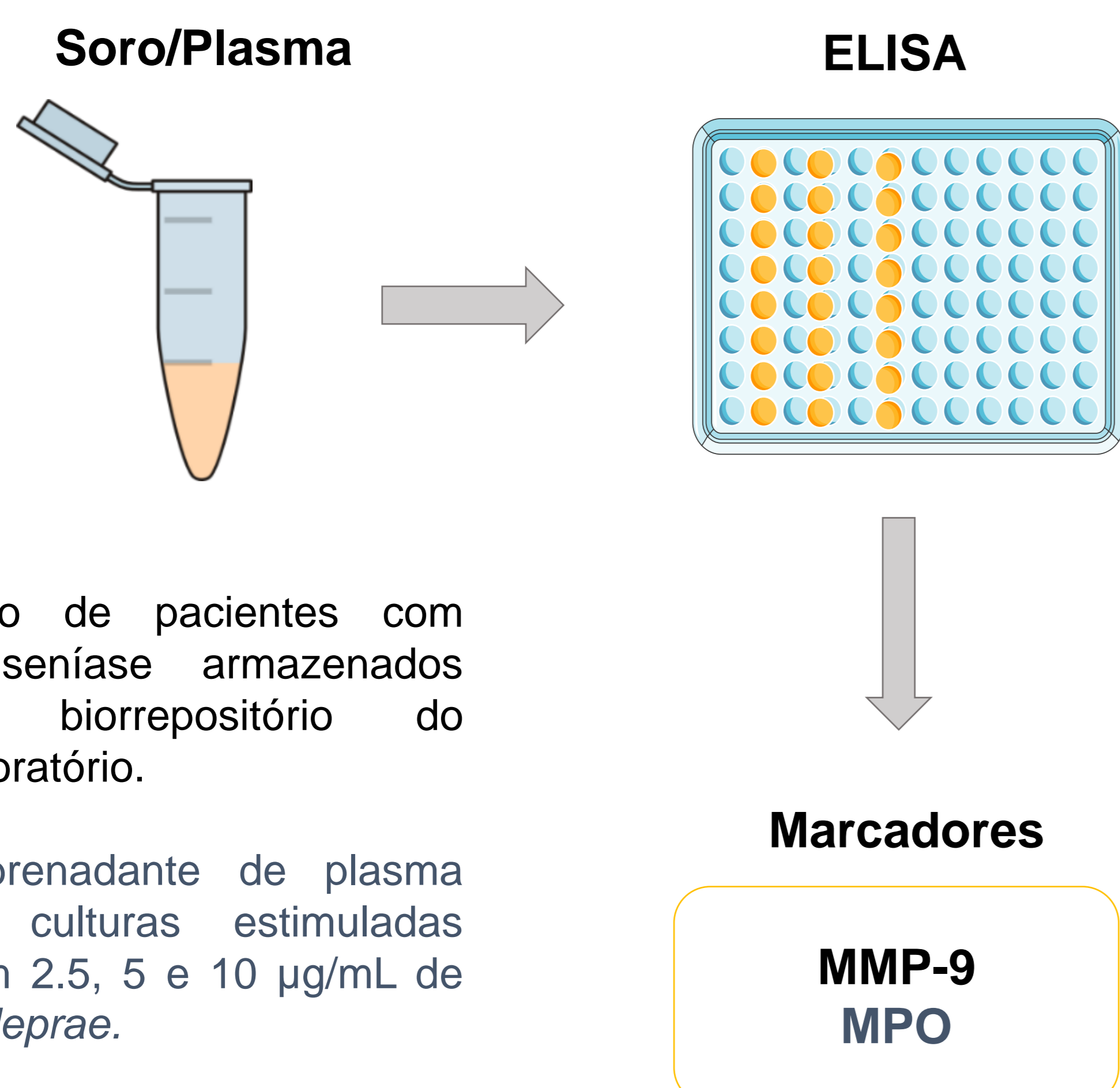
Os neutrófilos são células do sistema imune inato pertencentes a classe dos granulócitos. Sua forma madura circulante apresenta núcleo segmentado em 3 a 5 lóbulos e é rico em grânulos citoplasmáticos que são divididos em três tipos: os primários, contendo elastase e mieloperoxidase (MPO); secundários, contendo lactoferrina e pentraxina 3; e os terciários, que são formados majoritariamente por metaloproteinases de matriz (MMPs). Os neutrófilos de baixa densidade ou LDNs (do inglês 'low density neutrophils') são uma subpopulação de neutrófilos relacionada ao desenvolvimento e agravamento de doenças como lúpus e tuberculose, e uma das hipóteses para o seu surgimento é mediante a degranulação de neutrófilos ativados. Recentemente, nosso grupo descreveu a presença de LDNs na circulação de pacientes com hanseníase e evidências sugerem que eles são gerados via degranulação. Nossa hipótese é que a presença do *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), agente etiológico da hanseníase, induz a degranulação de neutrófilos e por consequência a geração de LDNs.

Objetivos

1. Identificar a presença de marcadores de degranulação de neutrófilos no soro de pacientes com hanseníase;
2. Avaliar a presença de proteínas de grânulos de neutrófilos em sobrenadantes de cultura de neutrófilos na presença do *M. leprae*.

Metodologia

Soro de pacientes com hanseníase atendidos no ambulatório Souza Araújo (Laboratório de Hanseníase, IOC/Fiocruz) previamente armazenados no biorrepositório do laboratório após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; e sobrenadantes de cultura de sangue total de indivíduos saudáveis na presença de *M. leprae* morto sonificado e célula total irradiada em diferentes concentrações, foram analisados por ensaio imunoenzimático (ELISA) para identificação da presença de marcadores de degranulação. [(CEP-Fiocruz/IOC) CAAE 56113716.5.0000.5248)].



- Soro de pacientes com hanseníase armazenados no biorrepositório do laboratório.
- Sobrenadante de plasma de culturas estimuladas com 2,5, 5 e 10 µg/mL de *M. leprae*.

Resultados preliminares

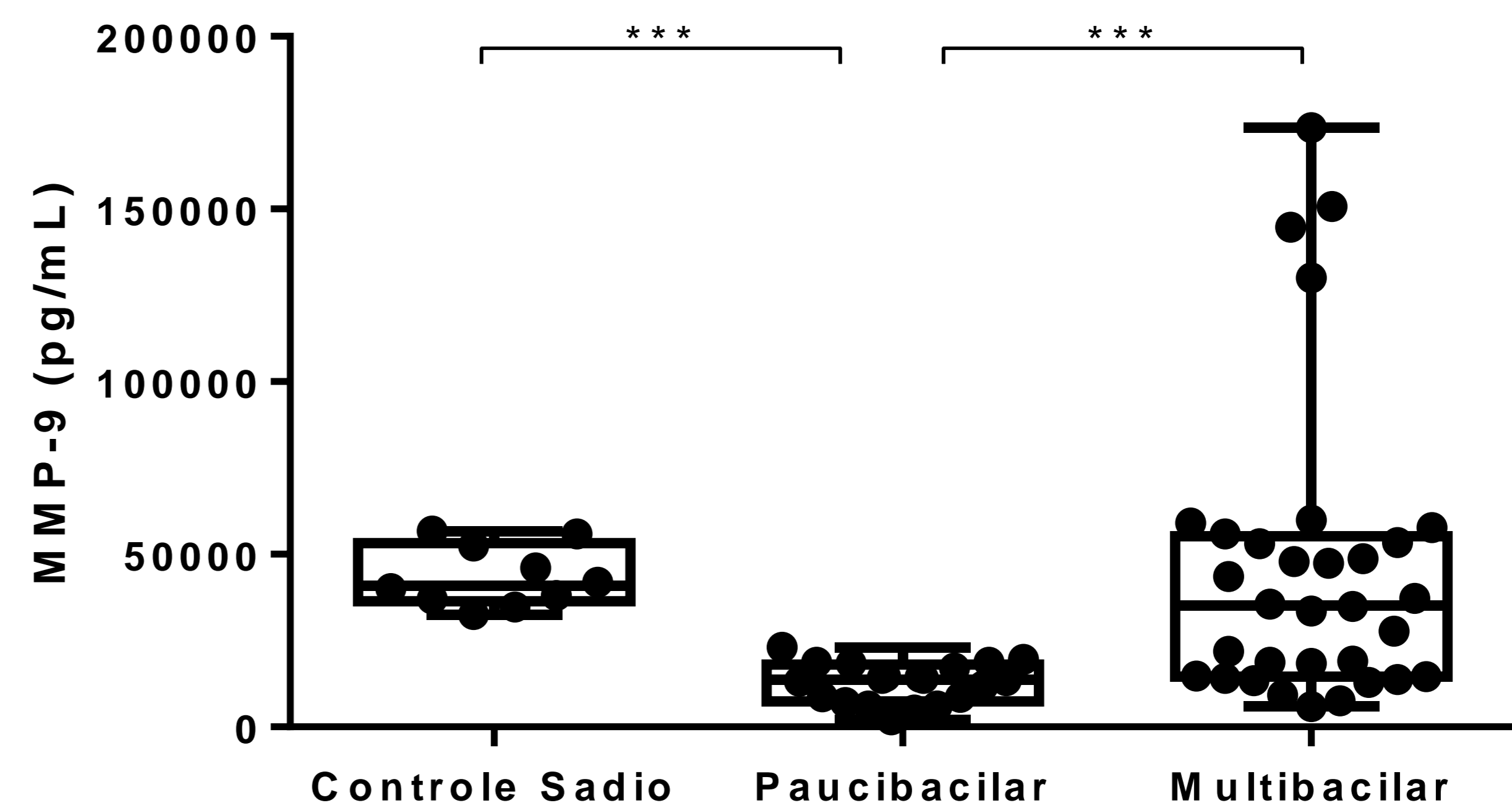
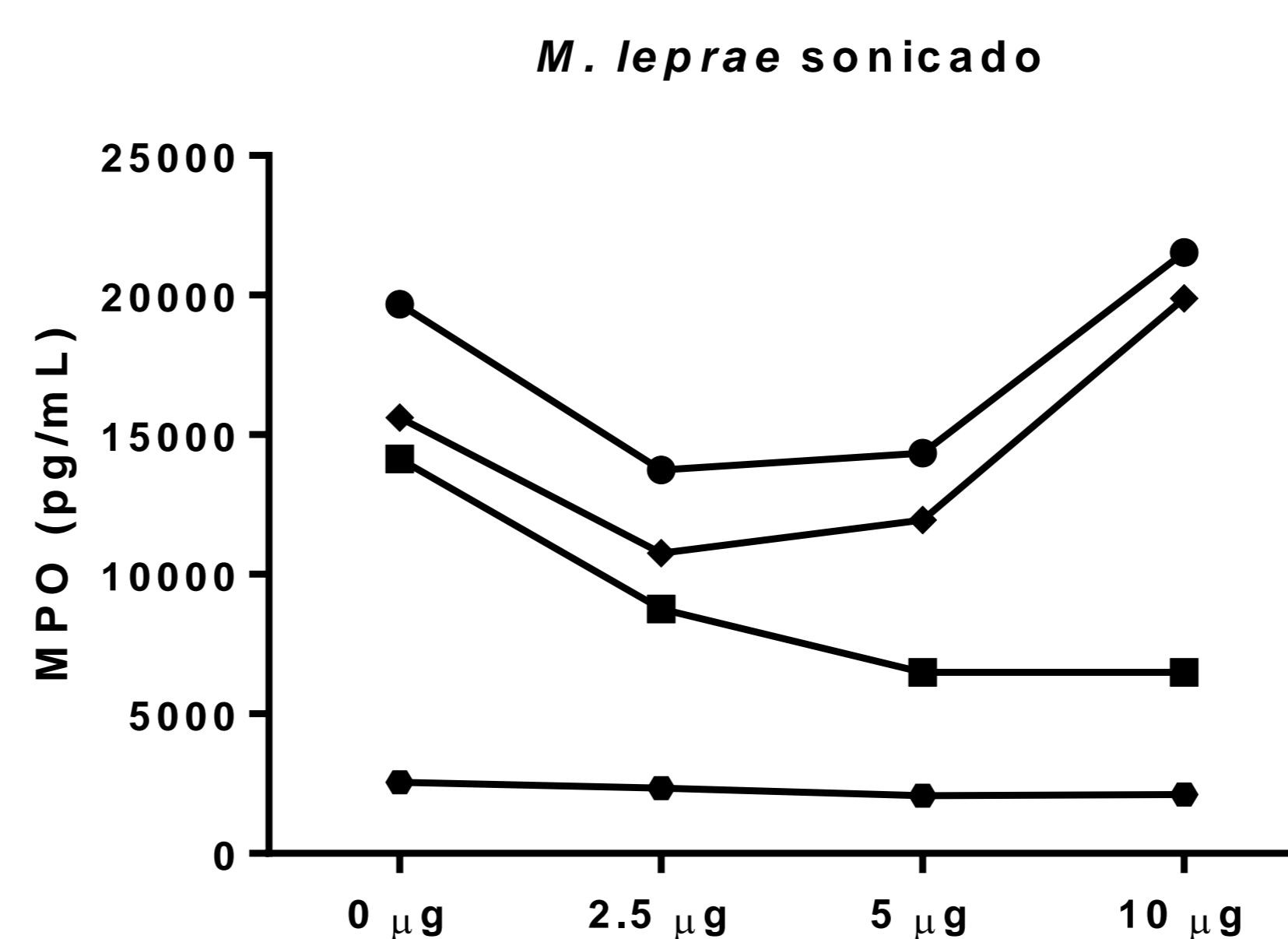


Figura 1: Níveis séricos de MMP-9 em pacientes com hanseníase. Concentração de MMP-9 (pg/mL) avaliada por ELISA no soro de indivíduos saudáveis (n= 10) e pacientes com hanseníase paucibacilar (n= 20) e multibacilar (n= 32). Box Plots mostram a mediana, intervalo interquartil e a amostra mínima e máxima de cada grupo. Estatística: Kruskal-Wallis. ***p< 0.0001.

A



B

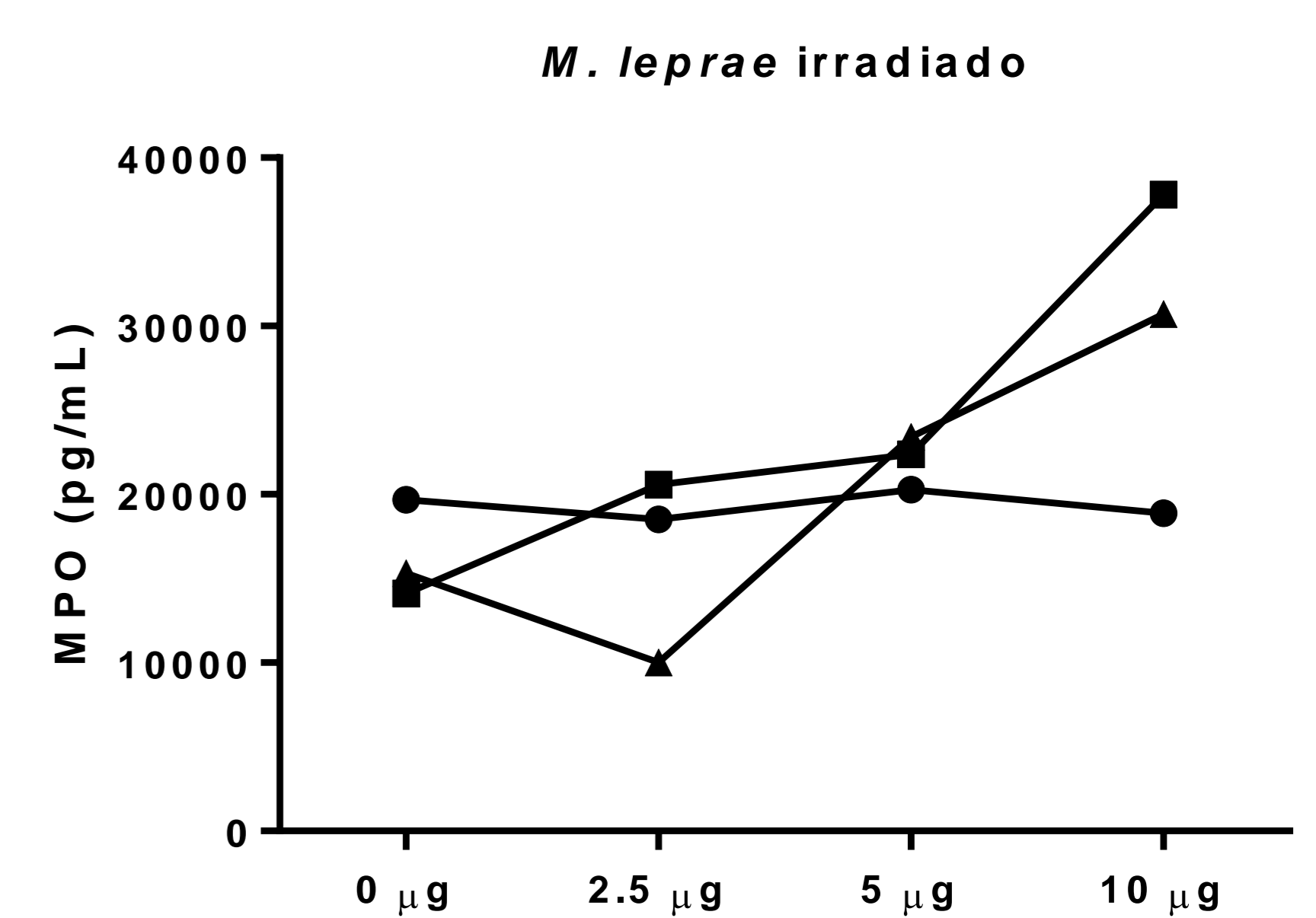


Figura 2: Degranulação de MPO após estímulo com *M. leprae* morto sonificado e irradiado em diferentes concentrações. (A) Concentração de MPO (pg/mL) avaliada por ELISA nos sobrenadantes de cultura estimulados com 0, 2,5, 5 e 10 µg/mL de *M. leprae* sonificado por 24 hrs (n= 4) (B) Concentração de MPO (pg/mL) avaliada por ELISA nos sobrenadantes de cultura estimulados com 0, 2,5, 5 e 10 µg/mL de *M. leprae* irradiado por 24 hrs (n= 3). Cada linha representa 1 indivíduo. Estatística: One-way ANOVA.

Conclusões

1. O nível de MMP-9 sérico é significativamente menor em pacientes paucibacilares quando comparado aos multibacilares e ao controle sadio, sugerindo maior capacidade de degranulação nos pacientes multibacilares.
2. A presença direta de *M. leprae* morto sonificado e irradiado é capaz de induzir degranulação de MPO, e possivelmente está relacionado ao surgimento dos LDNs na hanseníase.

Bibliografia

1. Rosales C (2018) Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? Front. Physiol. 9:113.
2. Tavares IF, dos Santos JB, Pacheco FdS, Gandini M, Mariante RM, Rodrigues TF, Sales AM, Moraes MO, Sarno EN and Schmitz V (2021) *Mycobacterium leprae* Induces Neutrophilic Degranulation and Low-Density Neutrophil Generation During Erythema Nodosum Leprosum. Front. Med. 8:711623.