

1. METADADOS

2. RESUMO

ASSOCIAÇÃO ENTRE A PRODUÇÃO DE BIOMARCADORES SOLÚVEIS E O DESFECHO SINTOMÁTICO NA HANSENÍASE

INTRODUÇÃO: A hanseníase é uma doença causada pelo *Mycobacterium leprae* cujos portadores podem apresentar deficiências físicas, deformidades e morbidades, principalmente nos episódios reacionais. Biomarcadores solúveis já estudados em outras condições patológicas adicionalmente à avaliação de parâmetros para definir o grau de incapacidade funcional podem ser importantes na correlação entre alterações na função do indivíduo nas diversas formas clínicas ante a infecção pelo *M. Leprae*. **OBJETIVO:** Avaliar níveis de S100B, sCD14 e sCD163 no plasma de pacientes com e sem reação hansênica e realizar um acompanhamento dos pacientes avaliados para desfecho sintomático, desenvolvimento de quadros reacionais e alta assintomática. **DESENHO DO ESTUDO:** Coorte retrospectiva. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram selecionadas 60 amostras advindas de um banco de plasma do Hospital Universitário Professor Edgard Santos para dosar, pelo método de ELISA, três marcadores de lesão neural e ativação de monócitos/macrófagos: S100B, sCD163 e sCD14. Na amostra analisada, foram incluídos 16 pacientes paucibacilares (PB), 19 pacientes multibacilares (MB) e 25 pacientes com reações hansênicas (reacionais), de acordo com o protocolo da OMS para o diagnóstico da hanseníase. **RESULTADOS:** Na avaliação do gênero, pôde-se observar uma associação com a forma clínica, tendo sido mais alta a frequência entre indivíduos do sexo feminino (68,8%) ($p=0,042$). A forma clínica reacional esteve associada à maior presença de sensibilidade alterada; 21 (95,5%) dos pacientes com a forma reacional apresentaram alteração de sensibilidade ($p=0,001$), 16 (66,7%) apresentaram neurite ($p=0,001$) e oito (36,4%), alteração de força muscular ($p=0,023$). Todos esses desfechos registraram uma frequência mais alta quando comparada com a de outras formas clínicas da hanseníase com diferença estatisticamente significativa. Níveis elevados de S100B se associaram à presença de manifestações neurológicas e os níveis de sCD14 e sCD163 foram mais baixos em pacientes com desfechos sintomáticos. **DISCUSSÃO:** A avaliação neurológica simplificada que define os graus de incapacidade funcional apresenta limitações, porém é aceita mundialmente, sendo específica para as alterações pertinentes à hanseníase. Levando-se em consideração esse aspecto para a avaliação, o presente estudo mostrou que a forma clínica reacional apresentou maior alteração da sensibilidade e maior frequência de neurite e alteração da força muscular quando comparada com as das outras formas clínicas. Alguns biomarcadores têm sido descritos na literatura como associados à presença de dano neural e ativação de macrófagos/monócitos. Na amostra analisada, observaram-se níveis elevados de S100B associados à presença de manifestações neurológicas; no entanto, foram observados níveis mais baixos de sCD14 e sCD163 em pacientes com desfechos sintomáticos. **CONCLUSÃO:** A análise possibilitou identificar uma associação entre a forma

clínica e sua influência na presença de desfecho sintomático. O biomarcador S100B é um preditor sensível para discriminar pacientes com hanseníase e indivíduos saudáveis, está associado à presença de sintomas neurológicos no momento da sua dosagem, porém, não se mostrou um bom preditor de risco para alta com desfecho sintomático.

Palavras-chaves: 1.Hanseníase, 2.Biomarcadores e 3.Pessoas com deficiência. 4.CIF

3. RESULTADOS GERAIS

3.1 CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS E CLÍNICAS

A amostra do presente estudo foi composta por 11 indivíduos controles, 16 pacientes com a forma paucibacilar, 19 com a forma multibacilar e 25 com as formas reacionais do tipo I e do tipo II. A média de idade dos indivíduos controles foi de 29 anos, e 50% deles eram do sexo feminino. Os pacientes com a forma paucibacilar tinham média de idade de 43,3 (DP 15,6) (18 a 65 anos), sendo 11 (68,8%) do sexo feminino. No grupo desses 16 pacientes, observaram-se as formas clínicas indeterminada (I) com cinco (31%) pacientes, tuberculoide (TT) com seis (38%), e *borderline*-tuberculoide (BT) com cinco (31%). No grupo de 19 indivíduos com a forma multibacilar, a média de idade foi de 43,7 (DP 11,1) (22 a 60 anos), sendo cinco (26,3%) do sexo feminino. As formas clínicas nesse espectro foram: oito (42%) pacientes lepromatosos (LL), quatro (21%) *borderline*-lepromatosos (BL), seis (32%) *borderline-borderline* (BB) e um (5%) com a forma neural pura. Para o grupo de 25 pacientes reacionais (tipo I e tipo II), a média de idade foi de 41,7 (DP 12,8) (18 a 65 anos), sendo 11 (44%) do sexo feminino. Foram 11 (44%) os pacientes que apresentaram apenas SR1, oito (32%) com SR2, e seis (24%) aqueles para os quais foram observados SR1 ou SR2 ao longo do período de tratamento no Ambulatório Magalhães Neto (Tabelas 2 e 3).

Ao serem correlacionadas a idade e as formas clínicas, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas. Já na avaliação do gênero, pôde-se observar uma associação dessa variável com a forma clínica, comprovando-se uma maior frequência de indivíduos PB do sexo feminino (68,8%) ($p=0,042$). Não estiveram associadas à forma clínica do paciente as

variáveis familiar com hanseníase ou presença de pessoa com hanseníase na residência (Tabela 1).

Tabela 1. Características epidemiológicas e clínicas dos pacientes incluídos no estudo

Variáveis	PB (n=16)	MB (n=19)	Reacional (n=25)	p-valor
Idade m±DP	43,3±15,6	43,7±11,1	41,7±12,8	0,858*
Sexo n (%)				
Feminino	11 (68,8)	5 (26,3)	11 (44,0)	0,042 [°]
Masculino	5 (31,2)	14 (73,7)	14 (56,0)	
Hanseníase				
Em familiar n (%)	4 (25,0)	6 (31,6)	7 (29,2)	0,911 [°]
Em residente n (%)	3 (18,8)	2 (10,5)	2 (8,0)	0,593 [°]
Sensibilidade alterada n(%)	4 (36,4)	9 (69,2)	21 (95,5)	0,001 [°]
Reação				
1	1 (8,3)	5 (26,3)	11 (44)	0,000 [°]
2	0	4 (21,1)	8 (32)	
1 e 2	0	0	6 (24)	
Presença de neurite	1 (7,1)	5 (27,8)	16 (66,7)	0,001 [°]
Força alterada n (%)	1 (10)	0	8 (36,4)	0,023 [°]
Grau de incapacidade				
0	16 (100)	8 (88,9)	11 (50)	0,004 [°]
1	-	-	9 (40,9)	
2	-	1 (11,1)	2 (9,1)	
Marcadores M(IQ)				
S100B	38.963 (0-62.307)	0 (0-37.562)	30.684 (0-55.137)	0,274 [°]
sCD14	2.156 (1.885-2.403)	1.868 (1.721-2.064)	1.579 (1.062-2.029)	0,006 [°]
sCD163	19.123 (18.744-19.413)	194.164 (18.728-19.817)	19.301 (18.722-19.973)	0,774 [°]

Fonte: Dados da pesquisa.

*Teste ANOVA; [°] = qui-quadrado; [°] Teste Kruskal-Wallis.

Na Tabela 1, pode-se ainda observar que a forma clínica reacional está associada à maior presença de sensibilidade alterada: 21 (95,5%) dos pacientes com essa forma clínica apresentaram alteração de sensibilidade (p=0,001), bem como em 16 (66,7%) constatou-se neurite (p=0,001) e em 8 (36,4%), alteração de força muscular (p=0,023). Todos esses desfechos apareceram com uma frequência mais alta quando comparados com as outras formas clínicas com diferença estatisticamente significativa.

Tabela 2. Pacientes incluídos no estudo segundo a classificação de Ridley & Jopling

Classificação Ridley-Jopling (n)%	PB n=16	MB n=19	TIPO 1/2 n=25
I	(5) 31		(1) 4
TT	(6) 38		(2) 8
BT	(5) 31		(2) 8
BB		(6) 32	(2) 8
BL		(4) 21	(7) 28
LL		(8) 42	(11) 44
NEURAL		(1) 5	

Fonte: dados da pesquisa.

PB - paucibacilar; MB - multibacilar; I - indeterminada; TT - tuberculoide; BT - *borderline*-tuberculoide;

BB - *borderline-borderline*; BL - *borderline*-lepromatoso; LL - lepromatoso-lepromatoso; n - número da amostra.

Durante o período de revisão dos prontuários, foram avaliadas a evolução do paciente e a presença de um dos desfechos, quer alta sintomática, quer alta assintomática, tendo-se observado que os pacientes reacionais tiveram a maior frequência de desenvolvimento de sintomas, favorecendo a alta sintomática que totalizou 23 (63,9%) indivíduos

Tabela 3. Dados clínicos dos pacientes incluídos no estudo e avaliação do desfecho clínico

Variáveis	Desfecho assintomático (n=16)	Desfecho sintomático (n=36)	p-valor
Idade m±DP	41,8±12,07	46,63±12,89	0,202*
Sexo n (%)			
Feminino	9 (56,2)	15 (41,7)	0,330 [∞]
Masculino	7 (43,8)	21 (58,3)	
Hanseníase			
Em familiar n(%)	7 (43,8)	10 (28,6)	0,286 [∞]
Em residente n(%)	2 (12,5)	4 (11,4)	0,912 [∞]
Forma clínica n(%)			
PB	9 (56,3)	4 (11,1)	0,000 [∞]
MB	6 (37,5)	9 (25,0)	
Reacional	1 (6,3)	23 (63,9)	
Marcadores M (IQ)			
S100B	50.504 (0-90.732)	28.138 (0-40.809)	0,115 ^α
sCD14	2.040 (1.731-2.194)	1.782 (1.129-2.103)	0,050 ^α
sCD163	19.336 (19.007-19.804)	19.024 (18.529-19.540)	0,204 ^α

Fonte: Dados da pesquisa.

*Teste t independente; [∞] = qui-quadrado; ^α Teste Mann-Whitney.

O modelo de regressão logística múltipla foi utilizado para avaliar-se a capacidade de predição de cada variável independente na ocorrência do desfecho (grau 1 ou 2 de incapacidade funcional; alteração na sensibilidade; alteração no grau de força muscular; presença de neurite e quadros reacionais relacionados com a função; e alteração no teste de palpação dos principais nervos acometidos).

Após a análise univariada, as variáveis foram inseridas no modelo logístico, caso houvesse um $p < 0,20$, permanecendo, assim, no modelo, caso continuassem significativos ($p < 0,05$). Foi adotado o procedimento manual para inserção e retirada das variáveis.

O poder de discriminação do modelo foi determinado pela área sob a curva Receiver Operating Characteristics (ROC), representada pela estatística C, permitindo definir a capacidade de discriminar os que tinham a presença do desfecho. A curva foi gerada a partir dos valores de probabilidade preditos pelo modelo, e a área sob a curva foi calculada. Considera-se que a estatística C com valores abaixo de 0,7 tem um valor limitado, de 0,7 a 0,8 um bom valor prognóstico e acima de 0,8 uma ótima acurácia preditiva. A relação entre a presença da alta sintomática e os dados clínicos e sociodemográficos por meio da análise multivariada mostrou que a forma clínica influencia a alta sintomática ($p < 0,05$). A partir desse modelo final foi desenvolvida uma curva ROC que obteve uma área de 0,83, com $p = 0,000$, descrita na Figura 1.

Tabela 4. Modelo de regressão logística múltipla para o desfecho sintomático

	Inicial			Final		
	β -coeficiente	OddsRatio IC(95%)	p-valor	β -coeficiente	OddsRatio IC(95%)	p-valor
Forma clínica	1,8	5,9 (2,1-16,6)	0,001	1,8	6,3(2,3-16,9)	0,000
S100B	0,0	1,0 (1,0-1,0)	0,309	-	-	-
sCD14	0,0	1,0 (0,9-1,0)	0,469	-	-	-

Fonte: Dados da pesquisa.

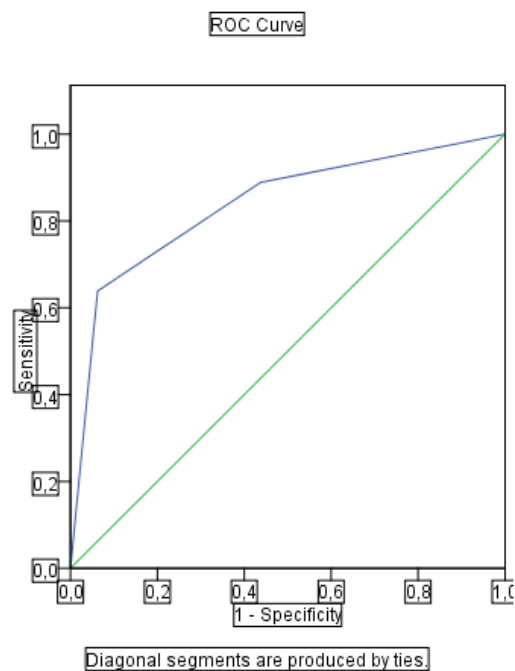


Figura 2. Modelo de regressão logística múltipla para alta sintomática
 Fonte: Dados da pesquisa.

3.2 ANÁLISE DO GRAU DE INCAPACIDADE FUNCIONAL

A incapacidade funcional é considerada uma das mais graves repercussões clínicas que acometem pacientes com hanseníase. Para acompanhar a evolução dos pacientes diagnosticados, é necessário realizar uma avaliação detalhada que contemple a análise da força muscular das mãos e dos pés, da sensibilidade das mãos e dos pés e a presença ou ausência de alterações nos nervos mais acometidos nos membros inferiores (MMII) e nos membros superiores (MMSS). Os resultados encontrados nos grupos de pacientes com as formas PB, MB e reacional estão demonstrados a seguir.

Na Tabela 2, pode-se observar que existe uma associação entre o grau de incapacidade e a forma clínica, 16 (100%) dos pacientes com a forma clínica PB apresentaram grau de incapacidade 0, ao passo que 11 (50%) dos pacientes com a forma clínica reacional apresentaram grau 0 ($p=0,004$).

A análise da alteração do grau de incapacidade funcional causado pela hanseníase é importante para a verificação do perfil dos pacientes e sua

evolução clínica. Os dados do presente estudo mostraram diferença entre o grau de incapacidade funcional dos pacientes PB e MB comparado com o dos pacientes reacionais que apresentaram numericamente, as maiores alterações com um n=11 pacientes com graus 1 e 2 (Figura 3).

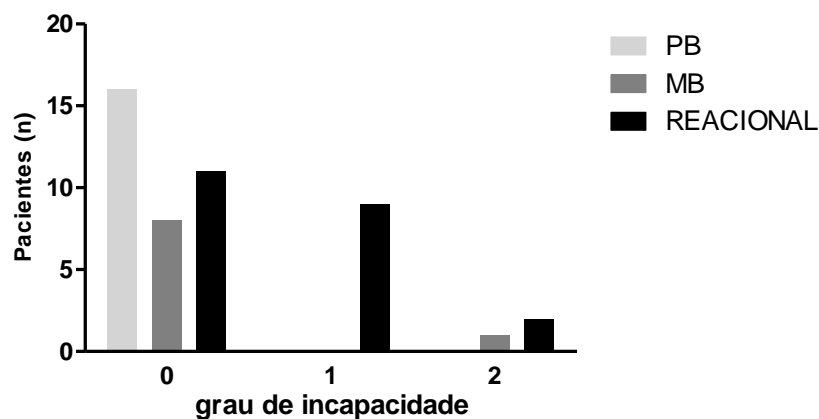


FIGURA 3. GRAU DE INCAPACIDADE FUNCIONAL. Dados do grau de incapacidade funcional de pacientes com as formas clínicas paucibacilar (PB) e multibacilar (MB) e reacional da hanseníase que foram incluídos no estudo da análise funcional. Grau 0: não possui alterações nos pés, mãos e olhos. Grau 1: presença de alterações de sensibilidade nos pés, mãos e/ou olhos. Grau 2: presença de alterações de sensibilidade e lesões nos pés, mãos e/ou olhos. Pacientes PB n=16 e MB n=9 e reacional n=22 ($p=0,004$).

O grau de incapacidade funcional é uma classificação ampla do quadro clínico funcional dos pacientes, sendo consideradas somente alterações mais graves como a presença de grau 1, definido com a alteração de sensibilidade quando o paciente não sente o monofilamento vermelho que possui uma gramatura de 4,0g, desencadeando a perda da sensação protetora para mãos e pés, tornando-o vulnerável a lesões e à impossibilidade de discriminar sensações térmicas como o quente e o frio. Desse modo, foi realizada uma estratificação dos resultados para identificar as alterações iniciais relacionadas com a força muscular, as alterações nos nervos principais e a presença ou ausência de sensibilidade em um grau mais leve. No grupo de pacientes PB, foram observados apenas quatro indivíduos com alteração de sensibilidade, um

paciente com neurite e um com alteração de força muscular. No grupo de pacientes MB, foram constatados apenas nove pacientes com alteração de sensibilidade, cinco com neurite e um com alteração no grau geral de incapacidade. No grupo de pacientes reacionais, foram detectados 21 pacientes com alteração de sensibilidade, 16 com neurite, oito com força muscular alterada e 11 com alteração no grau geral de incapacidade (Figura 4). Os dados da Figura 4 mostram, nos pacientes reacionais, uma mais alta frequência de desfechos sintomáticos.

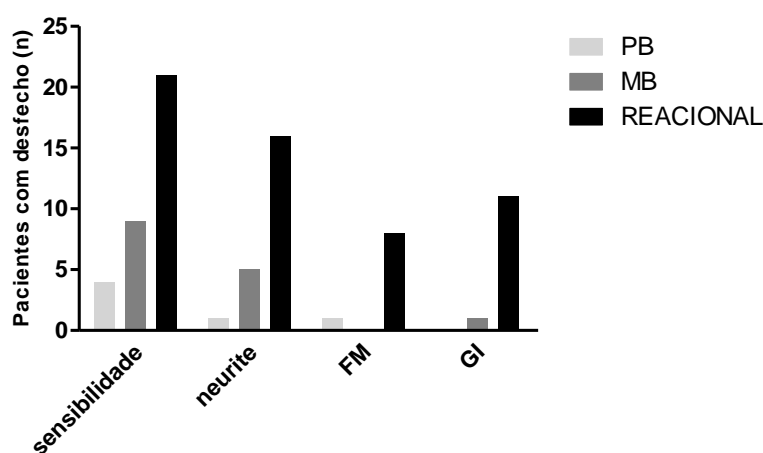


FIGURA 4. PRESENÇA DOS DEFECHOS SINTOMÁTICOS NOS GRUPOS DE PACIENTES COM HANSENÍASE. Dados de alteração na sensibilidade das mãos e pés de pacientes com as formas clínicas PB, MB e reacional da hanseníase que foram incluídos no estudo da análise funcional. Normal: pacientes apresentaram sensibilidade para o monofilamento verde (0,05g) para as mãos e monofilamento azul (0,2g) para os pés, alterada: paciente não sente o monofilamento verde (0,05g) para as mãos e azul (0,2g) para os pés, podendo sentir ou não os outros monofilamentos seguintes (violeta, vermelho escuro, laranja ou vermelho magenta). PB n=6, MB n=15 e Reacional n=56 (pacientes podem apresentar mais que um desfecho) (Sensibilidade p=0,001; Neurite p=0,001; Força Muscular (FM) p=0,023 e Grau de incapacidade (GI) p=0,004).

3.3 ANÁLISE DOS BIOMARCADORES

Para avaliar-se se a infecção por *M. leprae* induz à liberação de S100B, foram determinadas as concentrações dessa proteína no plasma de indivíduos saudáveis (n=11) e de pacientes com hanseníase (n=60). Foram constatadas elevadas concentrações em pacientes com hanseníase e sua ausência no plasma de indivíduos saudáveis participantes da amostra estudada (Figura 5). Em outra análise, os pacientes foram categorizados em dois grandes grupos independentemente das formas clínicas, pacientes com presença de alterações

neurológicas (alteração de sensibilidade, dor a palpação, alteração de força muscular, presença de grau de incapacidade 1 ou 2 e neurites no momento da coleta do plasma), e com ausência dessas alterações. Os pacientes com Hanseníase com alterações neurológicas tiveram maiores concentrações de S100B no plasma quando comparados com pacientes com Hanseníase sem alterações neurológicas (Figura 6). As elevadas concentrações de S100B observadas nos pacientes com Hanseníase sugerem um papel importante dessa proteína como marcador de lesão do nervo periférico na amostra estudada. Para avaliar-se a associação da presença de S100B com o desfecho clínico, foram comparadas as concentrações desse marcador nos grupos de pacientes que tiveram alta assintomática com os que tiveram alta sintomática, e não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos (Figura 7).

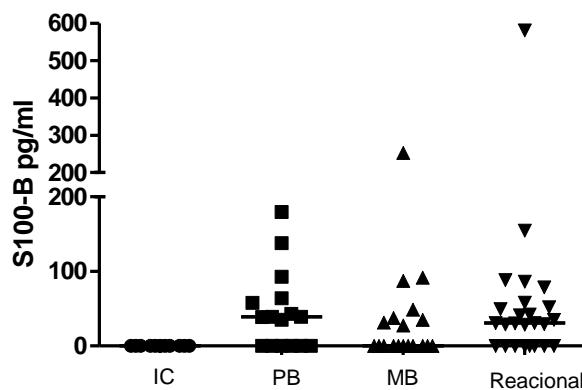


FIGURA 5. CONCENTRAÇÕES DE S100B AUMENTADAS EM PACIENTES COM HANSENÍASE. Dados da análise pelo método de ELISA para dosagem plasmática de S100B (pg/ml), IC n=11, PBn=16, MB n=19 e Racional n=25, p=0,0037.

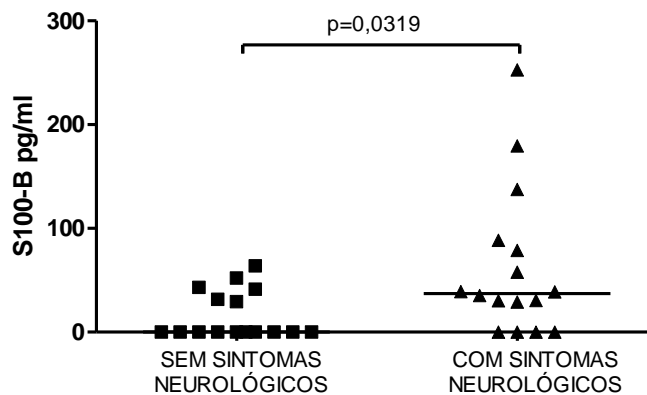


FIGURA 6. CONCENTRAÇÕES DE S100B AUMENTADAS EM PACIENTES COM ALTERAÇÕES NEUROLÓGICAS. Dados da análise pelo método de ELISA para dosagem plasmática de S100B (pg/ml), Com alterações neurológicas n=16 e Sem alterações neurológicas n=16, p= 0,0319.

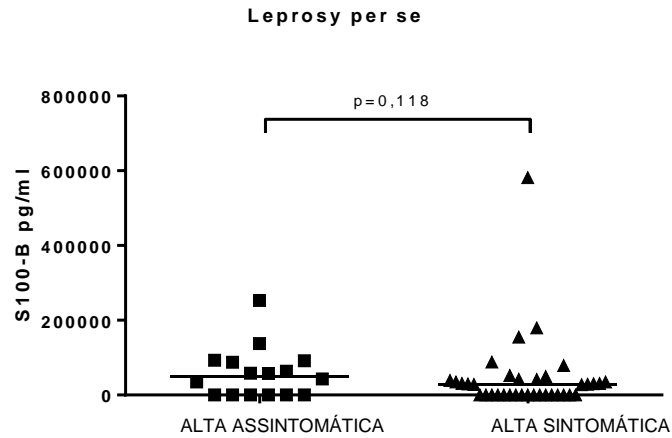
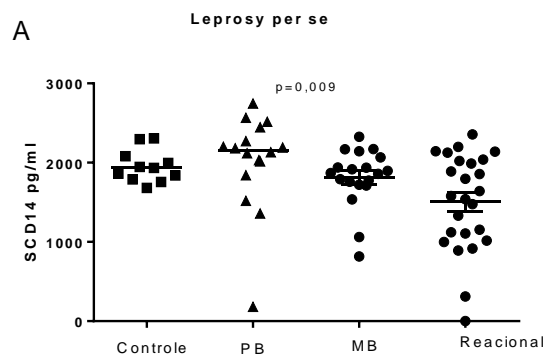


FIGURA 7. CONCENTRAÇÕES DE S100B E A ASSOCIAÇÃO COM O DESFECHO CLÍNICO. Dados da análise pelo método de ELISA para dosagem plasmática de S100B (pg/ml), p= 0,118.

No presente estudo, as concentrações de sCD14 foram mais baixas em pacientes com reações hansênicas (Figuras 8A e 8B). Na avaliação do biomarcador sCD14, quando comparados os defechos, os pacientes que receberam alta assintomática obtiveram níveis mais elevados desse marcador de ativação de monócitos, em comparação com os pacientes com a presença de defecho sintomático p=0,04 (Figura 9).



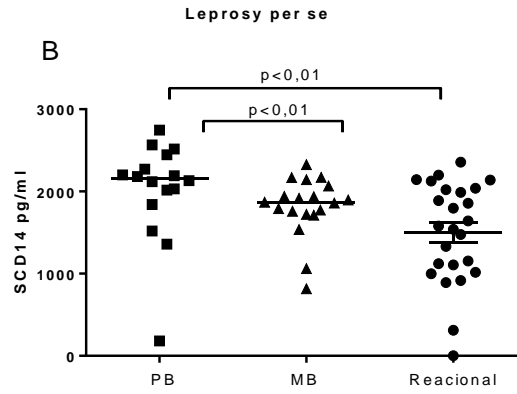


FIGURA 8. CONCENTRAÇÕES DE sCD14 DIMINUÍDAS EM PACIENTES REACIONAIS. Dados da análise pelo método de ELISA para dosagem plasmática de sCD14 (pg/ml), controles n=16, MB n= 19 e Racional n=35, p= 0,009. A) Pacientes e controles. B) Pacientes PB, MB e Reacionais.

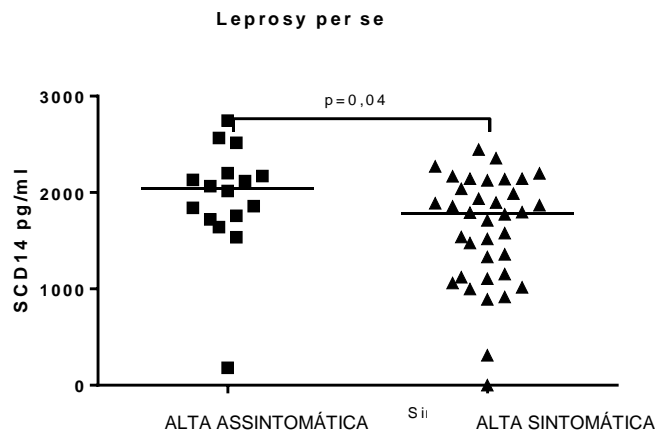


FIGURA 9. CONCENTRAÇÕES DE sCD14 E DESFECHO CLÍNICO. Dados da análise pelo método de ELISA para dosagem plasmática de sCD14 (pg/ml) comparando com os desfechos clínicos, n=16, MB n= 19 e Racional n=35, p= 0,04.

Na avaliação das concentrações de sCD163, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os pacientes que tiveram alta assintomática e os que tiveram alta sintomática (Figura 10).

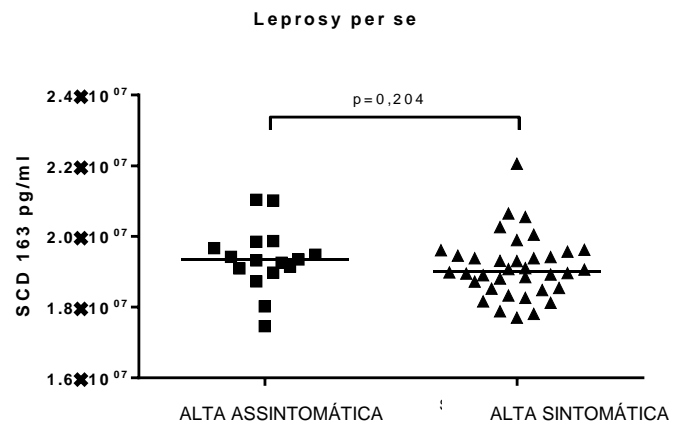


FIGURA 10. CONCENTRAÇÕES DE sCD163 E DESFECHO CLÍNICO. Dados da análise pelo método de ELISA para dosagem plasmática de sCD163(pg/ml) comparando com os desfechos clínicos, n=16, MB n= 19 e Racional n=35, p= 0,204.