

000. ABRIL: 7 513  
R: 3841743105 16/06/05 B36

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**

**Faculdade de Medicina**

**Departamento de Medicina Clínica**

**José Walter Correia**

**CONCENTRAÇÕES DE INTERLEUCINA-6 EM SANGUE PERIFÉRICO DE  
PACIENTES COM TUBERCULOSE PULMONAR SENSÍVEL OU  
MULTIRRESISTENTE AOS TUBERCULOSTÁTICOS.**

T  
06/07/05  
@ 870e

Fortaleza – Ceará- 2004

Impressão em papel reciclado  
06/07/05

**JOSÉ WALTER CORREIA**

**CONCENTRAÇÕES DE INTERLEUCINA-6 EM SANGUE PERIFÉRICO DE  
PACIENTES COM TUBERCULOSE PULMONAR SENSÍVEL OU  
MULTIRRESISTENTE AOS TUBERCULOSTÁTICOS.**

**Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica do Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Clínica Médica.**

**Orientador: Profa. Dra. Maria Helena Pitombeira  
(Universidade Federal do Ceará).**

**Co-orientador: Prof. Dr. Miércio Alves Pereira  
(Tufts University – Boston, USA).**

Fortaleza – Ceará

- 2004 -

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca de Ciências da Saúde da  
Universidade Federal do Ceará  
©reprodução autorizada pelo autor

C848c Correia, José Walter

**Concentrações de interleucina-6 em sangue periférico de  
pacientes com tuberculose pulmonar sensível ou multirresistente  
aos tuberculostáticos / José Walter Correia. – Fortaleza. 2004.**

78 f.il

Orientador: Profa. Dra. Maria Helena Pitombeira.

Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará.  
Faculdade de Medicina.

1. Interleucina-6. 2. Interleucina-6 – Tuberculose Pulmonar.  
3. Imunologia.

CDD 616.079



**ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DO  
MESTRANDO JOSE WALTER CORREIA REALIZADA  
PELO MESTRADO EM MEDICINA - CLÍNICA  
MÉDICA, NO AUDITÓRIO PAULO MARCELO DO  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA DA  
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ, NO DIA VINTE E SEIS DE  
FEVEREIRO DE 2004**

Aos vinte seis dias do mês de fevereiro de dois mil e quatro foi realizado no Auditório Paulo Marcelo do Departamento de Medicina Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, a defesa pública da Dissertação do mestrando José Walter Correia, intitulada "CONCENTRAÇÕES DE INTERLEUCINA-6 EM SANGUE PERIFÉRICO DE PACIENTES COM TUBERCULOSE PULMONAR SENSÍVEL OU MULTIRRESISTENTE AOS TUBERCULOSTÁTICOS", para obtenção do título de Mestre em Medicina. A banca examinadora foi composta pelos professores doutores: Marcelo Gurgel Carlos da Silva, Max Victor Carioca Freitas e Jorge Luis Nobre Rodrigues. Após a apresentação e arguição da referida Dissertação, o mestrando foi considerado *aprovado com louvor*. A presente ata vai assinada pelo Coordenador do Curso e pela Banca Examinadora e com base nas normas vigentes o candidato faz jus ao Grau de Mestre em Medicina, área de concentração Clínica Médica.

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Marcelo Gurgel Carlos da Silva  
Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Max Victor Carioca Freitas  
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Jorge Luis Nobre Rodrigues  
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dra. Maria Helena da Silva Pitombeira  
Coordenadora

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profª. Dra. Maria Helena Pitombeira, pela segurança e plena disponibilidade, meus sinceros agradecimentos.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Miércio Alves Pereira, mentor intelectual, estimulador, e pessoa muito importante nas trocas de opiniões, meus agradecimentos.

Ao Prof. Dr. Max Victor Carioca Freitas, pela contribuição plena e diuturna, pela disponibilidade e pela paciência, minhas cordiais saudações.

Ao Prof. Dr. José Rosemberg, pela contribuição científica, de incalculável valor.

Ao Prof. Dr. José Ájax Nogueira Queiroz, meu pleito de gratidão pela ajuda na fase experimental deste trabalho, assim como nas trocas de informações.

Ao Diretor do Hospital Geral Dr. César Cals, Dr. Ernani Ximenes Rodrigues, pelo apoio em todos os momentos.

Às Dras. Elizabeth Clara Barroso e Creuza Campelo, pela ajuda, estímulo, e pelo fornecimento do mais importante e indispensável insumo de que necessitei – os pacientes.

Aos estudantes de Medicina, bolsistas, sem os quais não teria concluído este trabalho: Viviane, Camila, Ticiano e André.

À secretária do Mestrado de Clínica Médica, Ivone Mary Fontenele de Sousa, pela dedicação e atenção que sempre tem dispensados.

Ao Laboratório Clementino Fraga pela cessão de suas instalações.

À minha família pelo apoio e compreensão.

## LISTA DE ABREVIATURAS

1. IL-6: interleucina-6.
2. TBS: tuberculose sensível aos tuberculostáticos.
3. TBMR: tuberculose multidroga resistente.
4. HEMOCE: Hemocentro do Ceará.
5. ELISA: *enzyme-linked immunosorbent assay*.
6. DO: densidade óptica.
7. TB: tuberculose.
8. DNA: ácido desoxirribonucléico.
9. AVC: acidente vascular cerebral.
10. OMS: Organização Mundial da Saúde.
11. HIV: vírus da imunodeficiência humana.
12. AIDS: síndrome da imunodeficiência adquirida.
13. DOTS: *directly observed treatment short-course*.
14. Th1: T auxiliar 1.
15. Th2: T auxiliar 2.
16. LAM: lipoarabinomana.
17. TACO: *tryptophan aspartate-containing coat*.
18. ROI: *reactive oxygen product*.
19. IFN- $\gamma$ : gama-interferon
20. TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral-alfa.
21. NO: óxido nítrico.
22. RNI: *reactive nitrogen intermediary*.
23. iNOS: *inducible-nitric oxide synthetase*.
24. *M. tuberculosis: Mycobacterium tuberculosis*.
25. IL-12: interleucina-12.
26. Th0: T auxiliar 0.
27. MHCII: complexo principal de histocompatibilidade II.

28. IL-4: interleucina-4.
29. IL-5: interleucina-5.
30. IgE: imunoglobulina-E.
31. NK: *natural killer*.
32. IL-1: interleucina-1.
33. IL-27: interleucina-27.
34. IFN- $\alpha$ : alfa-interferon.
35. IFN- $\beta$ : beta-interferon.
36. TNF- $\gamma$ : fator de necrose tumoral-gama.
37. G-CSF: fator de crescimento de colônias de granulócitos.
38. M-CSF: fator de crescimento de colônias de macrófagos.
39. GM-CSF: fator de crescimento de colônias de granulócitos e macrófagos.
40. IL-13: interleucina-13.
41. PCR: proteína C reativa.
42. SS: síndrome de Sjögren.
43. ESP: esclerose sistêmica progressiva.
44. LACEN: Laboratório Central do Estado do Ceará.
45. RFP: rifampicina.
46. INH: isoniazida.
47. BAAR: bacilo álcool-ácido resistente.
48. USA: United States of América.
49. CONEP: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Caracterização dos pacientes e dos controles segundo sexo e idade.

**Tabela 2** – Concentrações de IL-6 em controles e pacientes.

## LISTA DE QUADROS

**Quadro 1** – Distribuição dos pacientes segundo o sexo, a idade, o tempo de doença e a concentração de IL-6.

**Quadro 2** – Distribuição dos controles segundo o sexo, a idade, o tempo de doença e a concentração de IL-6.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** – Curva-padrão de concentração de IL-6 expressa em DO e Pg/mL.

**Figura 2** – Dosagem de IL-6 (Pg/mL) em controles e em pacientes com tuberculose.

**Figura 3** – Dosagem de IL-6 (Pg/mL) em controles e em pacientes com TBS.

**Figura 4** – Dosagem de IL-6 (Pg/mL) em controles e em pacientes com TBMR.

**Figura 5** – Dosagem de IL-6 (Pg/mL) em pacientes com TBS e em pacientes com TBMR.

## RESUMO

Foi estudada a concentração plasmática de interleucina-6 (IL-6) em 38 pacientes com tuberculose pulmonar ativa, sendo 23 portadores da forma sensível aos tuberculostáticos (TBS) e 15 da forma multirresistentes (TBMR), com a finalidade de identificar diferença na resposta imunológica, e comparado com a de 63 doadores voluntários de sangue do HEMOCE. O grupo de pacientes foi selecionado dos centros de referências D. Libânia, e Hospitais de Messejana e Maracanaú, sendo o grupo com TBS composto por 16 indivíduos do sexo masculino (73,9%) e 7 do feminino (26,1%), enquanto o grupo com TBMR foi de 9 do masculino (60%) e 6 do feminino (40%). O grupo controle foi composto por 51 indivíduos do sexo masculino (81%) e 12 do feminino (19%). Para a dosagem de IL-6 foi utilizado um ELISA. Foi observado um aumento nas concentrações de IL-6 dos pacientes com tuberculose (6,00 pg/mL) quando comparadas com as dos controles (0,68 pg/mL) ( $p < 0,0001$ ). Em adição, as concentrações de IL-6 estiveram aumentadas tanto no grupo TBS (6,18 pg/mL) quanto no TBMR (5,74 pg/mL) quando comparadas com os controles ( $p < 0,0001$  para ambas comparações). Em contraste, nenhuma diferença significativa foi observada quando comparados os grupos TBS e TBMR ( $p > 0,05$ ). Em conclusão, a IL-6 esteve aumentada na tuberculose pulmonar, independentemente da resistência aos tuberculostáticos.

## ABSTRACT

Interleukin-6 (IL-6) plasmatic concentration was studied in 38 patients with active pulmonary tuberculosis. Twenty-three were very sensitive to the specific drug (TBS), while 25 were multiresistant (TBMR). The purpose of this study was to identify the immunological difference between both groups based on the dosage of this interleukin and to compare with that of 63 healthy blood donors from HEMOCE. The group of patients was selected from the reference centers D. Libânia, Messejana Hospital and Maracanaú Hospital. TBS group was composed by 16 males (73.9%) and 7 females (26.1%), and TBMR group was composed by 9 males (60%) and 6 females (40%). Control group was composed by 51 males (81%) and 12 females (19%). An ELISA was proceeded to quantify plasmatic concentrations of IL-6 and the results showed a significant increase of IL-6 concentration in tuberculosis patients (6.00 pg/mL) when compared to that of healthy individuals (0.68 pg/mL,  $p < 0,0001$ ). Additionally, IL-6 concentrations were increased in both TBS (6.18 pg/mL) and TBMR (5.74 pg/mL) groups in relation to controls ( $p < 0.0001$ ). In contrast, significant differences were not observed between TBS and TBMR groups ( $p > 0.05$ ). In conclusion, plasmatic IL-6 was increased in pulmonary tuberculosis, independently to specific drug resistance.

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	4
LISTA DE ABREVIATURAS.....	5
LISTA DE TABELAS.....	7
LISTA DE QUADROS.....	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
SUMÁRIO.....	12
INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Aspectos históricos.....	13
1.2 Aspectos epidemiológicos.....	17
1.3 Imunopatogênese.....	22
OBJETIVOS.....	41
MATERIAL E MÉTODOS.....	42
RESULTADOS.....	47
DISCUSSÃO.....	55
CONCLUSÕES.....	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
APÊNDICE.....	76

## 1- INTRODUÇÃO

### 1.1- ASPECTOS HISTÓRICOS

A tuberculose (TB) acompanha o homem desde os seus primórdios. Existem relatos de evidência de TB em ossos humanos pré-históricos, encontrados na Alemanha, e datados de oito mil anos antes de Cristo (a.C.). Não menos antigos são os ossos encontrados no Egito, examinados por Grafton Elliot Smith e Marc Armand Ruffer, em 1908, ocasião em que descobriram sinais da doença na coluna vertebral de uma múmia de três mil anos de idade; esses dois patologistas descreveram extensa destruição do centro da primeira vértebra lombar e de três torácicas baixas — sinais típicos da Doença de Pott (SCHREIBER; MATHYS, 1991; LOPES, 1999). No Peru, estudo de múmia de um mil e cem anos (datação pelo carbono 14), encontrou-se DNA intacto, tendo sido identificada a inserção sequencial IS 6110, específica do *Mycobacterium tuberculosis*, não se podendo afirmar a origem do bacilo, se humana ou bovina (ROSEMBERG, 1999). No relato de suas viagens pelo Egito, Heródoto (485-425 a.C.) descreve sintomas sugestivos de tuberculose. Plínio, o Velho, que pereceu na erupção do Vesúvio, em Pompéia (79 d.c.), e seu sobrinho — Plínio, o Moço, buscaram cura de suas doenças (TB) no Egito. O Talmud da Babilônia (coleções de tradições judaicas, escritas entre os séculos II e VI d.C.) afirmavam: "sangue proveniente da boca deve ser testado com uma palha de trigo: se aderir, origina-se dos pulmões e a doença pode ser curável..." (SCHREIBER; MATHYS, 1991; RUFINO-NETO, 1998; KRITSKI; CONDE; SOUZA, 2000). A TB é uma doença com longa história, tendo sido descrita em uma das primeiras

obras médicas, o livro chinês *Huang Ti Nei-Ching*, escrito no 3º milênio a.C. Análises de ossos que remontam à dinastia *Shang* (1650-1027 a.C.) revelaram vestígios de tuberculose; Coube a Hipócrates (420 a.C.), na Grécia antiga, o reconhecimento da TB como uma doença natural e não um castigo divino, como era até então entendida. Devido ao grande esgotamento físico provocado pela doença, esta passou a ser chamada de tísica, em grego *phthisikos*, ou seja, que traz consumpção (BIER, 1963; ISEMAN, 2000). Depois que as escolas de Cós e Alexandria deixaram de existir, os árabes se tornaram os herdeiros do conhecimento médico grego, através de Avicena (980-1037), que deu continuidade e aprofundamento ao trabalho de Isaac Serapião (820). Somente no século XVII é que o aspecto anátomo-patológico da doença passou a ser registrado, com os estudos do médico francês Sylvius Deleboe (1614-1672) sobre formações nodulares encontradas nos pulmões, por ocasião da realização de necrópsias; a partir daí, a doença passou a ser descrita e caracterizada pela presença desses nódulos, chamados de tubérculos, originando-se, daí, o termo tuberculose, que foi oficialmente adotado em 1832, através de Johann Lukas Shonlein (LYONS; PETRUCELLI, 1987). O diagnóstico das doenças pulmonares foi celeremente melhorado, *ante mortem*, a partir da invenção de René Théophile Hyacinthe Laennec (1804), ao fabricar um tubo formado por uma folha de papel enrolado, que servia de trompa auricular, mais tarde chamado de estetoscópio, e publicado em seu livro *Traité de l'auscultation médiate et des maladies des Poumons et du Couer* (1821). Seis anos depois, ele próprio morreria caquético, com tuberculose (SCHREIBER; MATHYS, 1991).

Várias outras personalidades famosas sucumbiram diante dessa grave enfermidade. Durante a encenação de sua peça *La Maladie imaginaire* (1637), Molière

criticava acidamente aos médicos, acusando-os de estarem inventando uma doença (TB) inexistente, quando ele próprio representando o personagem principal, teve hemorragia pulmonar fatal. Descreve-se que São Francisco morreu de tuberculose, assim como Santa Tereza de Jesus, Calvino, o Cardeal Richilieu, Bolívar, Salazar, Tutankanon, D. Pedro I, Graham Bell, Mozart, Rossini, Paganini. Caruso morreu em meio à hemoptise. Também morreram de TB: Noel Rosa, Goethe, Descartes, Balzac, Molière, Eça de Queiroz, Castro Alves, Gonçalves Dias, Graciliano Ramos, José do Patrocínio, Manuel Bandeira, e tantos outros escritores, políticos, artistas e personalidades famosas (CONDE; SOUZA; KRITSKI, 2002). O envolvimento da coluna cervical por TB tem sido imputado como o responsável pela conhecida deformidade do famoso Corcunda de Notre Dame. Fyodor Dostoyevsky, que escreveu sobre tuberculose em "Recordação da casa dos mortos", morreu dessa doença, em 1881, existindo, hoje, um hospital em Moscou, com seu nome (REICHMAN, 2001). Através dos séculos, a TB se tornou comum, atingindo civilizações egípcia e romana, assim como tempos medieval e renascentista.

No século XVIII, a TB passou a ser conhecida por peste branca, numa alusão à peste negra ou bubônica, que cursava com lesões enegrecidas na pele, e pneumonia fulminante; eram registrados 200 a 400 óbitos por 100.000 pessoas, por ano, na Europa em 1751; o Rei de Espanha — Fernando VI, acabara de promulgar lei obrigando aos médicos a informarem às autoridades todos os casos de TB, enquanto o compositor Frédéric Chopin tratava-se da doença, nas ilhas Baleares, Baía de Valdemosa. Chopin foi expulso, transportado para a ilha de Majorca, em barco usado para o transporte de porcos. Apesar do sofrimento físico, e da atitude discriminatória, Chopin

compôs muitos dos seus maravilhosos prelúdios em inspiração às belezas naturais da ilha (CONDE; SOUZA; KRITSKI, 2000).

Até a literatura leiga teve importância na divulgação da incidência e da gravidade da tuberculose. No século XIX, jovens conhecidos no glamoroso mundo boêmio da Europa, principalmente em Paris, padeceram e morreram de TB. Aos 20 anos de idade, Alexandre Dumas Filho se apaixona por uma cortesã, chamada Marie Duplessis, que morre 3 anos depois, inspirando-o a publicar em 1847, uma de suas mais expressivas obras — A Dama das Camélias; este nome representa o apelido dado à cortesã, Mademoiselle Marguerite Gautier, pela florista da floricultura de Madame Barjon, onde a famosa e generosa jovem comprava as camélias, que ofertava aos seus clientes. A alacridade da bela cortesã se transformou num martírio sangrento, pois, após vários episódios de hemoptise, queixa-se, em carta, ao escritor, apaixonado por ela — Armand Duval: "os que dizem que vão me curar, esgotam-me com sangrias e minha mão se recusa a continuar". Falece em 20.02.1847, de tuberculose pulmonar. E quantos banqueiros, empresários, artistas, aristocratas e outros, foram contaminados por suas camélias, e por demoradas e repetidas sessões íntimas?

Muitos dos que, em 24 de março de 1882, estavam presentes à memorável reunião da Sociedade de Fisiologia, em Berlin, quando Robert Koch (1843-1910) anunciou a descoberta do bacilo da tuberculose, sem dúvida alguma, deviam ter hospedado esse germe em alguma época de suas vidas. Naquela época, virtualmente, todos os habitantes das cidades da Europa estavam infectados pelo *Mycobacterium tuberculosis*, embora, em apenas alguns deles, a doença tenha se manifestado. O próprio Koch tinha sido infectado, pois, em 1890, ao injetar tuberculina em seu braço, teve reação

fortemente positiva, apesar de não ter morrido de TB, e sim, de Acidente Vascular Cerebral (AVC), aos 66 anos de idade, cinco anos depois de ter sido laureado com o Prêmio Nobel, em 1905 (DIXON, 1978; FRIEDMAN; FRIEDLAND, 1998).

A primeira dama americana Eleanor Roosevelt morreu de TB em 1962 no Columbia Presbyterian Medical Center, e, apenas após sua morte, os resultados laboratoriais mostraram que o bacilo era resistente a isoniazida e estreptomicina (REICHMAN, 2001).

De acordo com dados históricos, a TB teve seu registro incrementado em nosso país, através dos colonizadores europeus, que aqui vieram à procura de tratamento, ao mesmo tempo em que exerciam sua atividade evangelizadora. Um dos mais famosos foi o padre jesuíta Manuel da Nóbrega, reconhecido por ser portador de grandes dotes oratórios, e de persistente e produtiva tosse, assim como por sua marcante e exibível tísica (FIUZA DE MELO, 2002).

## 1.2 - ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

"A tuberculose tem sido considerado um dos grandes desastres da saúde pública" (ALVES; NATAL, 2002).

Em 1997, a OMS sentencia que um terço da população mundial estaria infectada pelo *Mycobacterium tuberculosis*; dois anos antes (1995), nove milhões de casos novos foram registrados, com três milhões de mortes (RUFINO-NETTO, 1998).

Em 1993, a OMS, já declarara a tuberculose como um estado de urgência mundial (ROSEMBERG, 1995; GRANGE; ZUMIZ, 1999). Mesmo sendo prevalente em países subdesenvolvidos, onde vivem três quarto da população mundial, a TB passou, a partir de 1984, a preocupar, também, aos países industrializados. A OMS estimou, para a década de 1990, cerca de 100.000.000 de pessoas infectadas com TB por ano. Destes, 8.000.000 a 10.000.000 desenvolveriam a doença durante a vida, com 50% de formas contagiantes. Nos países subdesenvolvidos, 30% a 60% dos adultos estariam infectados. O crescimento do problema ficou, pois, bem mais evidente na década de 1990, registrando-se aumento na incidência de 27% , com o agravante de ocorrer em 70% dos casos novos, na faixa etária de 15 a 59 anos de idade. A magnitude dos dados apresentados pode ser resumida no fato estimado que cada caso de TB infectaria de 10 a 15 pessoas por ano, e, destes, 5% a 10% adoeceriam. Com o advento da epidemiologia molecular, pode-se constatar que 40% de casos novos são decorrentes de infecções recentes. Ressalte-se que 80% dos casos de TB no mundo estão concentrados em 22 países, e, cada país que não consegue controlá-la, torna-se, logo, um ameaça globalizada (ROSEMBERG, 1999; RAVIGLIONE; O'BIEN, 2001).

A tuberculose perdeu seu romantismo e deixou de ser contada em versos por literatos tísicos. Segundo projeções da OMS, até 2020 haverá cerca de um bilhão de novos infectados; destes, duzentos milhões irão adoecer, com 35.000.000 óbitos, cifra tão importante quanto a população de vários países. Em 1992, uma importante epidemia ocorreu na ilha de Manhattam, em Nova York. Em meados de 2001, foi a vez de um subúrbio londrino— Newhan, que apresentou um média de 108 casos por 100.000 habitantes, sobrepujando a gravíssima situação da Índia, que registrava 41 casos por

100.000 habitantes. As vítimas londrinas não eram artistas e literatos, porém, eram igualmente físicos, sem-teto, usuários de drogas, e, principalmente imigrantes refugiados africanos e indianos; mostra-nos o sinal da globalização, em que até mesmo as bactérias e vírus trocam de país e de continente em poucos dias (BANATVALA; PEREMITIN, 1999).

Mais preocupante que Londres, é a situação dos presídios russos. Lá, cerca de 100.000 prisioneiros (10% de toda a população carcerária) desenvolveram tuberculose, pois viviam em condições propícias à invasão e disseminação da micobactéria: superpopulação, pouca ventilação, estresse e alimentação deficiente (BANATVALA; PEREMITIN, 1999).

A situação da tuberculose na América Latina varia de um país para outro, na dependência de condições sócio-econômicas, da estabilidade política e do desenvolvimento de serviços e programas de controle da doença. O quadro é de extrema gravidade no Peru, Bolívia, Equador, Guatemala, El Salvador, República Dominicana, Nicarágua, Honduras e Haiti. Anualmente, são notificados 230.000 casos na América Latina, tendo uma estimativa em torno de 500.000, o que torna mais grave a situação, em virtude da prática subnotificatória existente. Os países com eficientes programas de controle (Cuba, Chile e Uruguai) registram curvas de mortalidade descendente (ROSEMBERG, 1999).

O quadro da tuberculose no Brasil é considerado muito grave por vários motivos, principalmente pela acentuação progressiva das desigualdades sociais, que pode ser claramente evidenciada se lembrarmos que na década de 60, os 10% mais ricos se apropriavam 34 vezes mais da renda nacional, enquanto que, na década de 90, esse valor

teve seu registro duplicado (COHN, 1997). O coeficiente de incidência da TB em nosso país passou de 62,2 casos por 100.000 habitantes em 1985, para 52,2 casos por 100.000 em 1997. O Brasil ocupa o 10º lugar entre os 22 países que concentram a doença. A OMS estimou para o Brasil, em 1998, 129.000 casos novos, cifra que foi confirmada. (ROSEMBERG, 1999).

Que fatores podem ser considerados como responsáveis pela gravidade dos dados epidemiológicos apresentados? Alguns, os mais importantes, estão, abaixo, elencados (HAVLIR; BARNES, 1999):

1. Pobreza
2. Desigualdade social
3. Impacto da pandemia HIV/ AIDS
4. Aumento populacional
5. Diagnóstico retardado
6. Tratamento inadequado
7. Gerenciamento inadequado dos programas de controle

De acordo com a OMS, se radicais mudanças na abordagem da tuberculose não forem implementadas, 200.000.000 de pessoas vivas hoje, desenvolverão a doença (GRANGE; ZUMIZ, 1999). A partir dessa certeza, e após ter declarado a TB como um emergência mundial, em 1993 (GRANGE ; ZUMIZ,1999), a OMS passou a utilizar o programa de gerenciamento supervisionado — DOTS (*Directly Observed Treatment Short- Course*). Não é um programa inédito, pois modelos semelhantes, inclusive o do Brasil, já utilizava quimioterapia de curta duração, supervisionada. O que existe de novo é o entusiasmo, a ênfase, os recursos empregados, o marketing, tornando-o

um programa oportuno e factível de operacionalização em qualquer país (CHOWDHURY, 1999).

Dos fatores elencados, responsáveis pela gravidade ameaçadora da tuberculose, merece menção especial a co-infecção com HIV/AIDS, considerada a pior situação em toda sua história natural, em virtude da severa imunodeficiência celular ocasionada por esse vírus. Ocorre um sinergismo com aprofundada reciprocidade de malefícios; de um lado, HIV/AIDS promove a progressão da TB, enquanto esta, funcionando como co-fator, esgota mais ainda o já fragilizado sistema imune celular, acelerando o curso da retrovirose, com todo o cortejo de afecções oportunistas (TELZAK et al., 1995; GASNER et al., 1999; KHAN et al., 2002; BARROSO, 2002).

A história de co-infecção de *Mycobacterium tuberculosis* com agente viral não é tão recente. Em 06 de outubro de 1537, nasce na Inglaterra, Edward Tudor, filho do rei Henrique VIII; aos nove anos de idade, com a morte de seu pai, torna-se o Rei Eduardo VI; o jovem monarca tivera uma infância com cuidados excessivos de higiene. Isolado em sua casa, longe do contato com outras pessoas, principalmente doentes, por recomendação de seu pai, já que sua mãe havia morrido de sepse puerperal, 12 dias após seu nascimento. Em janeiro de 1553, oito meses após ter contraído sarampo, morre o Rei Eduardo VI. Segundo seu principal biógrafo — Sir John Hayward, o rei emagrecera, era incomodado por persistente tosse, tornara-se fraco, tinha dificuldade para respirar e teve a cor de sua pele mudada (cianose). Por se tratar da morte de um rei, seu corpo foi submetido à exame necroscópico, na tentativa de se afastar uma causa violenta, por envenenamento; em estudo *post mortem*, grandes cavidades foram vistas em seus pulmões, sugestivas de TB, evidenciando-se que o rei infectou-se na infância, apesar

de seu modelar *modus vivendi*, que serviu de inspiração para a clássica história de Mark Twain — O Príncipe e o Mendigo (HOLMES; HOLMES; McMORROUGH, 2001).

Nós temos falhado em controlar a TB nestes cinco séculos que nos separam da morte do Rei Eduardo VI. O príncipe do mundo atual, desenvolvido, é mais bem protegido que o do tempo de Henrique VIII. Hoje, entretanto, o mendigo, sem teto, sem proteção, sem assistência e sem alimentação, imigrante, de países subdesenvolvidos e/ou em desenvolvimento, sem a cobertura vacinal contra o sarampo, e susceptível à transmissão vertical do HIV, sofre, ainda, a mesma situação vivenciada pelo Rei Eduardo VI. Existe, também, a similaridade de ação dos dois vírus citados (sarampo e HIV), quanto à depleção da imunidade celular por eles provocada, e seus sítios de ação: ambos inibem a produção de interleucina-12, e, como esta citocina tem importância na diferenciação do linfócito T em seus subtipos Th1 e Th2, este gatilho pode não ser disparado, comprometendo, assim a produção das citocinas envolvidas na defesa do organismo contra a agressão dos patógenos intracelulares, como a micobactéria (HOLMES; HOLMES; McMORROUGH, 2001).

### 1.3 - IMUNOPATOGÊNESE

Dos indivíduos recentemente infectados, somente 5% evoluem para doença primária, a maioria nos dois primeiros anos após a infecção; os que não evoluem

para doença ativa tornam-se infectados antigos, podendo permanecer nesse estágio por toda a vida, sendo que, cerca de 5% sofrem reativação endógena ou re-infecção exógena.

Antes do advento da quimioterapia anti-tuberculosa, metade dos indivíduos bacilíferos morria em 5 anos, um terço se curava espontaneamente, e um quinto se tornava cronicamente infectado.

No trágico acidente de Lübeck, no início do século XX, 251 recém-nascidos receberam equivocadamente uma mistura de cultura de *M. tuberculosis*, em vez de BCG. Destes, 70 morreram em um ano, vítimas de tuberculose ativa, e as demais, apesar de terem apresentado alteração radiológica, não desenvolveram a doença, após vários anos de observação (BARROSO, 2002).

As três sentenças paragrafadas anteriormente mostram três exemplos diferentes e algo em comum: a resposta do hospedeiro não é a mesma. Alguns desenvolvem a doença, enquanto outros não, apesar de não conseguirem, neste último caso, livrarem-se da micobactéria, que pode permanecer cronicamente no organismo, caracterizando o estado de infecção crônica. Porque o organismo humano consegue neutralizar tão efetivamente o patógeno, porém, não consegue livrar-se dele? Porque, em alguns casos, existe cura, e, em outros, a doença se torna crônica, não responsiva aos mesmos e tradicionais esquemas terapêuticos? Porque existe o estado de infecção crônica, latente, dormente, às vezes durante toda a vida? O que existe de verdade nessa vida interativa entre a micobactéria e o organismo humano?

Muito já se sabe sobre essa interação, ocorrida em nível intracelular, dentro do macrófago; o hospedeiro será considerado vitorioso se o macrófago tiver a capacidade de inibir a replicação bacilar, e, conseqüentemente, a bacilemia silenciosa.

O agente invasor não elabora produtos tóxicos, diferentemente de grande número de outros patógenos. Se 90% a 95% dos indivíduos infectados pelo *M. tuberculosis* não desenvolvem a doença clínica, algo importante precisa ser aclarado para justificar essa patocronia. A resposta imune do hospedeiro geralmente tem sucesso em conter a evolução da infecção, embora não consiga eliminar o microrganismo. A doença ativa provavelmente se deve à ausência de iniciação de uma resposta imune efetiva (COLLINS; KAUFMANN, 2001).

Ao serem aspirados, os bacilos se depositam na superfície alveolar, onde uma sucessão de eventos se inicia. Os mecanismos de invasão e adesão utilizados pelo bacilo para entrar na célula hospedeira já são bem compreendidos; o processo de fagocitose não é um evento isolado e único. Quando a vitória inicial é do bacilo, ao conseguir destruir o macrófago, um novo ciclo é reiniciado, e outros macrófagos são recrutados para fagocitarem o agente invasor (ISEMAN, 2000). A elucidação da biologia da interação entre o bacilo e o macrófago tem desenvolvido a compreensão da resposta imune requerida para o controle do patógeno, e poderá, em futuro próximo, representar algum substrato para definição de uma vacina efetiva, e/ou de novos agentes quimioterápicos.

Em seu ciclo inicial, já em ambiente intracelular, o *Mycobacterium tuberculosis* se liga ao fagócito, através de receptores existentes na membrana deste (complemento, manose, etc.). A interação com os receptores de manose é feita através de um glicolípido da parede micobacteriana chamado lipoarabinomana (LAM). Aliás, a abundante quantidade de glicolípídios da parede celular, incluindo LAM, e ácidos

micólicos, é responsável por muitas peculiaridades imunológicas, como veremos adiante (FIUZA DE MELO; AFIUNE, 1993).

Estudos recentes tem demonstrado a importância do nível de colesterol na membrana do macrófago para a entrada da micobactéria, baseado no fato de ser esse lípide um importante mediador da associação da *Tryptophan Aspartate-containing Coat (TACO)*, que previne a maturação do fagossomo à fagolisossomo (FLYNN; CHAN, 2001).

Apesar da pouca efetividade dos mecanismos protetores da imunidade precoce, inata, alguns relatos devem ser registrados, antes daqueles relacionados à resposta específica e adquirida, mediada por citocinas. Noventa a 95% dos indivíduos infectados, não adquirem a doença, indicando que a resposta imune do hospedeiro é efetiva. Segundo Boquet, um miligrama de escarro tem em torno de 10.000 a 20.000 bacilos (BIER, 1963); destarte, 100 gramas conterão dois bilhões de bacilos, o suficiente para contaminar maciçamente um grande contingente de pessoas.

Na luta travada no macrófago alveolar, o bacilo desenvolve várias estratégias para evitar sua derrota, o que acarreta, em última análise, sua destruição e morte. Os principais mecanismos utilizados nessa refrega são:

- Resistência aos reativos intermediários de oxigênio e nitrogênio
- Inibição da fusão fagossomo-lisossomo
- Inibição da acidificação do fagossomo

Os produtos reativos de oxigênio (ROIs – *reactive oxygen product*) são tóxicos para numerosos patógenos; a lipoarabinomana (LAM) da parede celular da micobactéria funciona como um verdadeiro varredor de ROIs. Está bem estabelecido que

o macrófago murino possui função anti-micobacteriana em cultura de tecido. O peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), um dos ROIs gerados no macrófago, por ocasião da explosão respiratória, tem sido considerada a primeira molécula efetora mediadora dos efeitos micobactericidas do fagócito mononuclear; apesar disso, a significância dos ROIs na defesa do hospedeiro contra a invasão micobacteriana permanece controversa. O gama-interferon ( $IFN-\gamma$ ) é considerada a citocina mais importante, que dispara toda a seqüência de eventos que culmina na ação anti-micobacteriana do macrófago murino; o Fator de Necrose Tumoral-alfa ( $TNF-\alpha$ ), embora seja inefetivo isoladamente, sinergiza com o  $IFN-\gamma$  para induzir esse efeito microbicida. Um outro mecanismo efetor responsável pela ação destas citocinas é a indução da produção de óxido nítrico (NO) e demais reativos intermediários de nitrogênio (RNIs – *reactive nitrogen intermediary*) por macrófagos, através da ação da forma induzível da óxido nítrico sintetase (iNOS – *inducible-nitric oxide synthetase*). De fato, estas duas citocinas agem sinergisticamente para induzir a ativação dos geradores de RNI e, assim, desenvolverem o efeito micobactericida; isto tem sido comprovado, quando a expressão de RNI é bloqueada por inibidores de iNOS em ratos (CHAN; TANAKA; CARROLL, 1995; MAGNO; JORIS, 1996; LIMA et al., 2001).

Apesar do aparente sucesso na tentativa do macrófago em deter a ação patogênica do *M.tuberculosis*, este desenvolve mecanismos defensivos, sempre tentando instalar-se e fazer residência no interior do fagócito (SHAROM, 1998; ROSEMBERG, 2001).

A LAM e os sulfatídeos da parede da micobactéria neutralizam a ação dos ROIs, tornando-os inefetivos. Com relação ao RNI, sua concentração tem sido

encontrada em níveis aumentados no ar exalado de pacientes com tuberculose (CHAN; TANAKA; CARROLL, 1995).

Outro importante ponto a ser considerado é o fagolisossoma — complexo formado pela fusão do fagossoma com o lisossoma. O lisossomo é uma organela vacuolar da via endocítica tardia, que contem potentes enzimas hidrolíticas, capazes de degradar macromoléculas inteiras, incluindo micróbios; a ação dessas enzimas é otimizada em pH ácido, condição existente no meio intralisossomial. O lisossomo é, de fato, a organela mais ácida das células animais, com pH variando entre 4,5 e 5,0. Enquanto os vacúolos fagocíticos se fusionam com os do lisossomo, o fagócito passa por um processo de maturação, fazendo com que os microrganismos fagocitados estejam submetidos à degradação pelas hidrolases ácidas lisossomiais. Este evento é de alta significância como mecanismo antimicrobiano (FLYNN; CHAN, 2001).

A atividade antimicrobiana do fagolisossoma parece ser mediada, pelo menos em parte, pela ação degradativa das hidrolases e/ou pelo efeito da acidificação. Isto, porém, ainda não está completamente esclarecido. Como pode a micobactéria evitar essa ação química e destrutiva do macrófago? Como se pode explicar a ausência dessa fusão fagolisossômica apenas em fagossomas contendo bacilos viáveis? Tem sido descrito que sulfatídios da parede micobacteriana, derivados de multi-acilatado trehalose 2-sulfato tem a habilidade de inibir a referida fusão por se tratar de um glicopeptídeo polianiônico lisossomotrópico. Por outro lado, tem sido demonstrado que a micobactéria pode produzir grandes quantidades de amônia, que, por ser uma base fraca, afeta os movimentos saltados do lisossomo, ao mesmo tempo em que alcaliniza o compartimento intralisossomial. Por fim, a descoberta recente da ação da TACO na fusogenicidade de

fagossomo e lisossomo, parece servir, também, de base para a fuga da micobactéria. Esta substância está presente em células linfóides e mieloides, e está associada com a rede de microtúbulos de macrófagos não infectados; por interceptar a fusão fagolisossoma, a micobactéria se evade da potente ação das hidrolases lisossômicas. Para reforçar esse pensamento, TACO não é expressa nas células de Kupffer, que são macrófagos residentes do fígado, justificando, talvez, a resistência deste órgão à infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis* (FLYNN; CHAN, 2001; SHEER; COYLE, 2003).

A micobactéria tem conseguido residir no macrófago, seu habitat natural, apesar de ter sido parcialmente molestada durante esta fase da resposta imune do hospedeiro. Ademais, motivados pela resposta inflamatória, neutrófilos e monócitos são recrutados ao foco da batalha, sendo estes transformados em plasmócitos, secretantes de anticorpos, que, não tem a capacidade de lisar e destruir o bacilo. As respostas imune precoce e humoral são, pois, ineficazes à ação da micobactéria (COLLINS; KAUFMANN, 2001; POST et al., 2001).

A pandemia de HIV/AIDS tem sido devastadora quanto à epidemiologia da tuberculose, por vários motivos já enumerados. Reconhece-se, entretanto, que a pesquisa básica tem recebido inúmeros avanços no estudo desta retrovirose. Muitos ensinamentos paralelos têm sido registrados no campo da virologia, da imunologia, de genética, da patologia, da bioquímica, da fisiologia, somente para citar alguns, que tem se beneficiado com a pesquisa sobre a doença causada pelo Vírus da Imunodeficiência Humana.

No mundo, 1,86 bilhões de pessoas estão infectadas com *Mycobacterium tuberculosis*, e 8% dos casos de tuberculose ocorrem em indivíduos co-infectados com

HIV. Existe uma interação sinérgica entre HIV e *M. tuberculosis*; a infecção pelo primeiro predispõe a ativação da TB latente e acelera o curso clínico desta, enquanto esta acelera, também, o curso de AIDS. Na ausência de infecção oportunistica, existe pouca ou nenhuma replicação viral, mesmo em pacientes com AIDS avançada. A TB aumenta marcadamente a replicação e mutação viral em segmentos pulmonares envolvidos. O macrófago é a célula onde esta replicação ocorre, em pacientes com infecções oportunisticas, inclusive TB. A ativação da replicação do HIV durante a infecção oportunistica está por trás do aumento da mortalidade observado nos pacientes co-infectados HIV/TB. Assim, como o macrófago é a sede destas alterações patológicas, espera-se que novos avanços surjam, mesmo porque já é conhecido que a carga viral de HIV e a produção de TNF- $\alpha$  estão fortemente correlacionados em segmentos de pulmão de pacientes aidéticos, co-infectados com *Mycobacterium tuberculosis* (YOSHIHITO et al, 2002).

O estudo da imunidade celular deve ser cada vez mais incentivado, como foco das ações de defesa do organismo humano contra a invasão micobacteriana, principalmente em busca de vacina efetiva contra a tuberculose e, precìpuaente, contra a reativação da infecção latente. Esta poderá surgir quando a compreensão plena dos mecanismos imunológicos envolvidos na interação patógeno/hospedeiro estiver suficientemente aclarada, em todos os aspectos.

A imunidade mediada por células desempenha um papel fundamental no controle da tuberculose. A maioria das pessoas infectadas tem a infecção primária e desenvolve uma resposta de hipersensibilidade do tipo tardia duas a dez semanas depois da exposição ao bacilo. Os principais mecanismos utilizados para destruir o bacilo são o

resultado de uma série de interações ocorridas nos fagócitos, mediadas por citocinas (PLAYFAIR, 1996; PEAKMAN; VERGANI, 1999; PARKIN; COHEN, 2001). A imunidade protetora contra a micobactéria depende de TNF- $\alpha$  e da produção de interleucina (IL-12) para regular a ativação do linfócito T e estimular a capacidade antimicrobiana de macrófagos infectados (FLESCHIE; KAUFMANN, 1993; ROIT; ROSTOFF; MALE, 1993).

O linfócito T CD4+ auxiliar é a mais importante célula efetora da resposta imune celular na luta contra a TB. Uma vez ocorrida a fagocitose do *Mycobacterium tuberculosis*, dispara-se, no macrófago, um gatilho para liberação de IL-12, responsável pela diferenciação da célula Th0 em Th1 (LIN; ZHANG; BARNES, 1998; MANCA et al., 2001). O linfócito CD4+ Th1 uma vez ativado, expressa receptores de membrana que reconhecem antígenos apresentados por moléculas do complexo de histocompatibilidade principal classe II (MHC II), amplifica a resposta do hospedeiro, resultando em ativação de células efetoras, e estimula o recrutamento de outras células efetoras, quando necessário. A resposta CD4+Th1 consiste na produção de Interleucina-2 (IL-2) e IFN- $\gamma$ , que auxiliarão o macrófago a vencer a luta com o bacilo, terminando pela formação do granuloma fibrosado (NEWPORT et al., 1996). Na presença de sinais de vitória do bacilo, a própria IL-2 estimula o linfócito T CD8+, que é citotóxico, a lisar precocemente o macrófago, induzindo-lhe à apoptose. Se a via Th1 não tiver ação predominante, a estimulação de linfócitos T CD4+Th2 desencadeará a produção de interleucina-4 (IL-4) e interleucina-5 (IL-5), citocinas envolvidas no *switch* para célula B, e produção de Imunoglobulina E (IgE), com recrutamento de eosinófilos, e contra-regulação negativa, com inibição de linfócitos Th1 e células *Natural Killer* (NK),

produzindo-se uma imunidade lesiva, que corresponde à evolução para doença. Torna-se tão importante e crítico para a micobactéria residir dentro do macrófago para perpetuar a infecção, quanto para o hospedeiro, na perspectiva de eliminá-la, através da ativação de mecanismos microbicidas (MAES; CAUSSE; MAES, 1997; APELBERG, 1997; HUSSAIN et al., 2000).

A resposta imune de todos os patógenos, pelo menos em parte, depende de citocinas que regulam todas as células do sistema imune (LA CAVA, 2003). Com o *M. tuberculosis*, esta resposta modula a reação inflamatória, sendo crucial para o controle da infecção; assim como, pode contribuir para o surgimento da doença e para sua cronificação (YAMAMURA et al., 1992; APELBERG, 1997).

Citocinas são glicoproteínas solúveis, extracelulares, que regulam a resposta imune inata e adaptativa, a inflamação, a diferenciação e crescimento celulares, a apoptose, a angiogênese, e, a injúria e reparação tissulares. Formam uma rede integrada, com características mais ou menos semelhantes, a saber (LA CAVA, 2003):

1. Sobreposição funcional e pleiotropismo
2. Efeitos autócrino e parácrino (mais freqüentes), e endócrino  
(mais raro)
3. Sinergismo ou antagonismo
4. Efeito pró ou antiinflamatório
5. Efeitos de curta duração

Esquemáticamente, as citocinas são divididas nas seguintes classes

- Interleucinas: IL-1 a IL-27
- Interferons: IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$

- Fator de Necrose Tumoral (TNF- $\alpha$  , TNF- $\gamma$ )
- Fatores estimuladores de colônias:
  - De granulócitos (G-CSF)
  - De macrófagos (M-CSF)
  - De granulócito-macrófago (GM- CSF)

As citocinas exercem suas ações ao se ligarem em receptores específicos, classificados por famílias, de acordo com os grupos a que pertencem; existem quatro famílias de receptores (LA CAVA, 2003):

- Tipo I: IL-2, IL-4, IL6, IL-12, G-CSF, GM-CSF
- Tipo II: IFN- $\gamma$  , IL-10
- TNF: TNF  $\alpha$  , TNF- $\beta$
- IL-1: IL -1, IL-18

Algumas citocinas estão mais intimamente implicadas na resposta imune da infecção tuberculosa. À luz dos dados clínicos e experimentais, o IFN- $\gamma$  é a citocina-chave no controle da tuberculose; é produzida por ambas células T CD4 e T CD8, assim como por células NK; existe evidência da produção de IFN- $\gamma$ , IL-12 – dependente, a partir de macrófagos alveolares infectados com a micobactéria; embora isoladamente seja ineficiente para controlar a infecção pelo *M. tuberculosis*, é considerada indispensável à resposta protetora do hospedeiro contra este patógeno (HOLLAND, 2000; FLYNN; CHAN, 2001).

O controle imunológico da tuberculose está baseado na resposta tipo Th1; a IL-12 desempenha papel central na diferenciação deste subtipo de linfócitos T

auxiliar. Os efeitos da IL-12 podem ser antagonizados pela IL-10, havendo, pois, uma regulação entre os subtipos Th1 e Th2 (RINCON, 1997; TANG et al., 2002).

A resposta Th2, e, conseqüentemente, o papel da IL-4 na infecção micobacteriana é algo controverso; sabe-se que o patógeno é um potente indutor de IL-12, e assim, de IFN- $\gamma$ , que, quase sempre pode ser detectado em hospedeiros infectados. Entretanto, a detecção de IL-4 é variável, e, mesmo alguns relatos tendo indicado que a resposta Th2 existe na TB, isto tem sido difícil de ser demonstrado. Existem fortes evidências que, em humanos, a resposta Th2 não está associada com tuberculose; ademais, a ausência de resposta Th1 necessariamente não promove uma resposta Th2 na TB, e a deficiência de IFN- $\gamma$ , ao invés da presença de IL-4 e outras citocinas do eixo Th2, previne o controle da doença (HERNANDEZ-PANDO et al., 1998; ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2000; KRITSKI; SOUZA; CONDE, 2001).

Com relação ao fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), existe uma longa história de parceria e pesquisa, e, acredita-se que esta citocina desempenha múltiplos papéis nas respostas imune e patológica da TB; desempenha importante função no controle da infecção aguda; o requerimento do TNF- $\alpha$  no controle da infecção micobacteriana é complexo, mas, em parte pode ser devido ao seu papel de mediar a ativação do macrófago. Ademais, seu sinergismo com o IFN- $\alpha$  induz a expressão de iNOS, tão necessário à ação anti-micobacteriana (HUSSAIN et al., 2001). Dados convincentes já existem sobre a importância desta citocina na formação do granuloma tuberculoso. Além do já citado, TNF- $\alpha$  influencia a expressão de moléculas de adesão, como também, de quimoquinas, e receptores de quimoquinas, assim como sua importante ação na formação e manutenção do granuloma, que, em exame histológico de pulmão de

ratos depletados de TNF, tem sido mostrado alteração desorganizante, com infiltração celular, exsudato alveolar e outras alterações de inflamação crônica (FLYNN; CHAN, 2001). Ao lado disso, tem sido documentado e publicado casos de tuberculose disseminada fatal em humanos tratados com inibidor de TNF (infiximab), usado em pacientes portadores de artrite reumatóide (LACAZ; MACHADO, 2000; KEANE, 2001).

Apesar do papel da IL-10 na modulação imunopatológica da TB esperar futuras experimentações, esta citocina tem sido considerada, em contraste com TNF- $\alpha$ , um agente anti-inflamatório. Produzida por macrófagos e células T durante a infecção tuberculosa, a IL-10 possui a propriedade de promover *down regulation* de IL-12, que, por seu turno, diminui a produção de IFN- $\gamma$  por células T, sendo, portanto, de importância, na ativação maior ou menor do eixo Th1 ou Th2 (FLYNN; CHAN, 2001).

Pouco tem sido estudado a respeito do papel da Interleucina-6 (IL-6) na tuberculose. Sabe-se que esta citocina desempenha múltiplas ações incluindo inflamação, hematopoiese e diferenciação de células T. Já foi relatado que, em resposta à patógenos, as células T CD4<sup>+</sup> se diferenciam em efetores Th1 com produção de IL-2, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  e Th2, com produção de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. Em geral, admite-se que Th1 atua em microrganismos intracelulares, erradicando-os, enquanto Th2 pode controlar patógenos extracelulares. Sabe-se também, que IL-12 produz a diferenciação do fenótipo Th1, enquanto IL-13 dirige a ativação de Th2 (SAUNDERS, 2000; DELVES; ROIT, 2000).

A interleucina-6 é produzida por um vasto repertório de células, incluindo macrófagos, fibroblastos, células endoteliais, neuronais, mastócitos e células CD<sup>+</sup> Th2; entretanto, do ponto de vista imunológico, as células apresentadoras de

antígenos representam a maior fonte conhecida de IL-6. A partir desse conhecimento sobre as células produtoras de IL-6, já se pode inferir fortemente que esta citocina deve desempenhar importante papel na tuberculose pulmonar (VAN SNICK, 1990; FITZPATRICK; BRADEN, 2000).

Com relação a IL-6, alguns relatos devem ser citados, para que se possa melhor conhecê-la. Diferentemente de outras citocinas, IL-6 tem seus maiores efeitos em distintos e diferentes locais, sendo, pois, chamada de citocina endócrina (PEREIRA, 1998). Em razão disso, é muito relevante sua dosagem no sangue periférico, significando um real reflexo do que ocorre em seus sítios de produção. A IL-6 é o principal estímulo à produção de proteínas da fase aguda da inflamação, particularmente a Proteína C Reativa (PCR), um dos principais marcadores da resposta inflamatória (GABAY; KUSHNER, 1999). A elevação sérica de PCR representa, indiretamente, a elevação de IL-6, já que esta citocina não é utilizada na prática clínica, não sendo, portanto, dosada rotineiramente em laboratórios de análises clínicas. Por exemplo, níveis séricos aumentados de IL-6 e de PCR têm sido recentemente associados com mortalidade em idosos saudáveis. Níveis circulantes de IL-6 estão fortemente relacionados com os de lípides sanguíneos, com a resistência à insulina e com a pressão arterial. O efeito da IL-6 na cascata da coagulação, através de sua ação nas plaquetas e na ativação do fibrinogênio, justifica sua importância como um dos possíveis agentes causais dos estados de hipercoagulabilidade, conforme demonstrado (FERNANDEZ-REAL, 2001; SUGAWARA et al., 2001); por ilação, como grande parte de pacientes com vasculopatia diabética têm aumento de plaquetas, especula-se que um dos elementos etiológicos poderia ser a IL-6. A relevância deste fato está baseada em estudo de polimorfismos que

mostra o genótipo G/G na posição -174 do promotor do gene de IL-6 como produtor de altos títulos desta citocina, em relação aos genótipos G/C e C/C, tendo, pois, esse grupo hiper-produtor, maior susceptibilidade para desenvolver doença arterial coronariana e acidente vascular cerebral (BECK et al., 1994; BELLAMY et al., 1998; FERNANDEZ-  
REAL, 2001).

Conhece-se o papel da IL-6 na regulação do metabolismo ósseo, como agente estimulador de osteoclastos, tendo importante significado etiológico nas lesões líticas do mieloma múltiplo, assim como um preditor de resposta clínica (HARRIS, 1999).

Concentração elevada de IL-6 tem sido descrita no soro, na saliva e na lágrima de pacientes portadores de Síndrome de Sjögren (SS), que é uma doença auto-imune caracterizada por disfunção das glândulas salivar e lacrimal, acompanhada por progressiva infiltração linfocítica e destruição de ácinos e ductos dessas glândulas, e cuja apresentação clínica é a ausência de lágrima e saliva, daí ter recebido o nome de síndrome seca. Pacientes portadores de SS podem ter outras doenças auto-imunes associadas, como: tireoidite, cirrose biliar primária e doença celíaca; podem ter comprometimentos neurológico, renal e/ou pulmonar. A manifestação pulmonar mais importante, e mais grave da SS é a alveolite, seguida de fibrose pulmonar, cujo mecanismo é semelhante ao de outras colagenoses, como a Esclerose Sistêmica Progressiva (ESP), onde já existem relatos da efetiva participação da IL-6, que se apresenta com níveis elevados no pulmão e no sangue periférico. Da mesma maneira, tem sido sugerido que IL-6 é partícipe atuante da fibrogênese acelerada que ocorre nos pacientes portadores de fibrose pulmonar intersticial difusa (HULKKONEN et al, 2001).

Apesar da IL-6 ter sido estudada em várias outras doenças, inclusive com ensaios clínicos, poucos estudos existem sobre a participação da IL-6 na tuberculose, em humanos. Um modelo murino de TB foi induzido por instilação intratraqueal de espécies viáveis de *Mycobacterium* H37-Rv, sendo estudadas as concentrações desta citocina. Dois picos foram encontrados, a partir do estudo de homogenato de tecido pulmonar, coincidindo com infiltrado inflamatório intersticial e intra-alveolar, e formação de granuloma, no 3º e no 21º dias após a injeção da micobactéria, respectivamente. No 2º pico (21º dia), quando o granuloma se achava plenamente maduro, foi observado o pico máximo de IL-6, sugerindo que a TB pulmonar está relacionada com a produção de IL-6, com relevantes alterações histopatológicas, particularmente a formação do granuloma (HERNANDEZ-PANDO et al., 1998).

Um estudo anterior, realizado na Austrália, conseguiu documentar que IL-6 é importante na fase precoce, e no desenvolvimento das respostas imunes inata e adquirida, desempenhando um papel protetor que não podia ser compensado por outras citocinas. A IL-6 age, juntamente com as outras citocinas pró-inflamatórias, TNF- $\alpha$  e IL-1, para iniciar a resposta inflamatória precoce. Usando um modelo murino, com animais depletados (*knockout*) de IL-6, os autores observaram uma reduzida produção de IFN- $\gamma$ , e aumento da produção de IL-4. Isto sinaliza que a ausência de IL-6 induz a um retardo da imunidade protetora, com conseqüente aumento da carga bacteriana. Esta ausência, entretanto, não afeta a indução da resposta de memória protetora normal. Concluindo, os autores descreveram que a IL-6 é requerida para iniciar a resposta muito precoce, inata, dirigida por IFN- $\gamma$ , que, então, limita o crescimento bacteriano, até que a resposta imune mediada por células seja expressada (SAUNDERS, 2000; WONG et al., 2003).

A tuberculose pode responder ou não ao esquema quimioterápico empregado, sendo chamada de sensível ou resistente, no primeiro ou no segundo caso, respectivamente. Algumas distinções terminológicas devem ser relatadas (ISEMAN, 2000):

1- TB droga-resistente: refere-se aos casos em que o bacilo é resistente a uma das drogas de primeira linha, a saber: isoniazida, rifampicina, pirazinamida, etambutol ou estreptomicina;

2- TB multirresistente: o bacilo é resistente a, pelo menos, dois agentes quimioterápicos de primeira linha, usualmente isoniazida e rifampicina.

3- Resistência primária: ocorre em paciente que nunca recebeu terapia anti-tuberculosa prévia;

4- Resistência secundária: refere ao desenvolvimento de resistência durante ou após o uso de tuberculostático.

O fenômeno de resistência do *Mycobacterium tuberculosis* surgiu na década de 1940, logo após a introdução da estreptomicina, o que motivou o uso da quimioterapia com múltiplos fármacos, que permanece até hoje, como a pedra angular do tratamento da tuberculose. Nos Estados Unidos da América, em 1991, 14,2% dos casos eram resistentes a, pelo menos, um agente farmacológico. A resistência a isoniazida foi a mais comum, ocorrendo em 9,1%; resistência a rifampicina, pirazinamida, estreptomicina, e etambutol foi detectada em 3,9%, 5,8%, 5,7% e 2,4% dos casos, respectivamente. Resistência a ambas, rifampicina e isoniazida (TBMR) foi observada em 3,5% (BLOCH, 1994; ISEMAN, 2000).

Em 1994, fazendo parte do projeto da OMS de vigilância às drogas tuberculostáticas, o Brasil apresentou um percentual de 1,3%, contra 7,3% da Rússia, 8% da Argentina e 13,3% da Índia (PABLOS-MENDEZ et al., 1998). No Ceará, durante o período de julho/1995 a agosto de 1996, foram testadas no Laboratório Central do Estado (LACEN) 628 amostras, com baciloscopia positiva, para detecção de resistência primária e adquirida; destes, 506 (80,57%) não tinham história prévia de tratamento específico, tendo sido encontrados três casos (0,6%) de TBMR (BARROSO et al., 2001). Em outro estudo, realizado também no LACEN, durante o período de 1990 a 1999, foi registrado um total de 266 cepas de TBMR dos 1500 testes de sensibilidade realizados, perfazendo o percentual de 17,7% (BARROSO et al., 2003).

A tuberculose multirresistente (TBMR) é caracterizada por um processo infeccioso específico, grave, com grande espoliação do organismo e acentuada destruição pulmonar; representa um fenômeno de inflamação persistente, com envolvimento do sistema imune mediado por células e com grande repercussão epidemiológica (FRIEDEN; STERLING; PABLOS-MEDEZ, 1993; CAMPOS, 1999; CERDÁ et al., 1999).

Pelos motivos acima descritos e pela gravidade da TBMR, é possível que a ativação continuada do sistema imunológico pela persistência do processo inflamatório pudesse ser responsável por uma resposta imune diferente daquela apresentada por pacientes com TBS (GOYAL et al., 1997; GONG et al., 1998; MITNICK et al., 2003). Do mesmo modo, como a IL-6 já foi estudada em outras enfermidades inflamatórias crônicas, como ESP, SS e sarcoidose, doenças que mostram marcantes alterações pulmonares, como inflamação e fibrose, e considerando que a

dosagem de IL-6 no sangue circulante é tão importante quanto sua dosagem nas secreções, nas células e nos fluidos biológicos, foi proposto este estudo.

## 2- OBJETIVOS

1. Determinar as concentrações plasmáticas de IL-6 em pacientes portadores de tuberculose pulmonar ativa.
2. Comparar esses resultados com aqueles obtidos em indivíduos saudáveis.
3. Analisar as concentrações plasmáticas de IL-6 nos pacientes sensíveis e nos multirresistentes aos tuberculostáticos, visando identificar diferenças na resposta imunológica.

### 3- MATERIAL E MÉTODOS

#### Pacientes

Foram estudados 38 pacientes com tuberculose, com idades variando de 20 a 70 anos. Os pacientes foram recrutados na Unidade de Saúde Dona Libânia e nos Hospitais de Messejana e de Maracanaú. O grupo de pacientes foi estratificado em dois subgrupos em função da resistência aos tuberculostáticos, assim denominados, tuberculose sensível (TBS) e tuberculose multirresistente (TBMR).

O grupo TBS foi composto por 23 pacientes portadores de doença inicial ou reativada em vigência de tratamento, com baciloscopia positiva. O grupo TBMR foi composto por 15 pacientes com baciloscopia e cultura positivas para *Mycobacterium tuberculosis* no escarro, em vigência de tratamento. Adicionalmente, esses pacientes apresentaram resistência a, pelo menos, rifampicina (RFP) e hidrazida (INH), caracterizando a multirresistência. Foram excluídos os indivíduos sensíveis ou multirresistentes que apresentaram ao menos um dos sete critérios listados abaixo:

- 1) Idade acima de 70 anos;
- 2) Baciloscopia (BAAR) negativa, mesmo na presença de lesões radiológicas sugestivas da doença.
- 3) Asma brônquica;
- 4) Doenças do colágeno (lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatóide, esclerose sistêmica progressiva, síndrome de Sjögren);

- 5) Outras doenças granulomatosas (sarcoidose, doença de Crohn);
- 6) Infecção pelo vírus da imunodeficiência humana;
- 7) Nefropatia crônica com proteinúria acima de 3g/24 horas e/ou creatinina acima de 2,4 mg/dL.

## **Controles**

Foram estudados 63 indivíduos saudáveis, doadores voluntários de sangue do HEMOCE que apresentaram sorologias negativas para hepatites A, B e C, HIV, HTLV, sífilis e doença de Chagas.

## **Colheita das amostras**

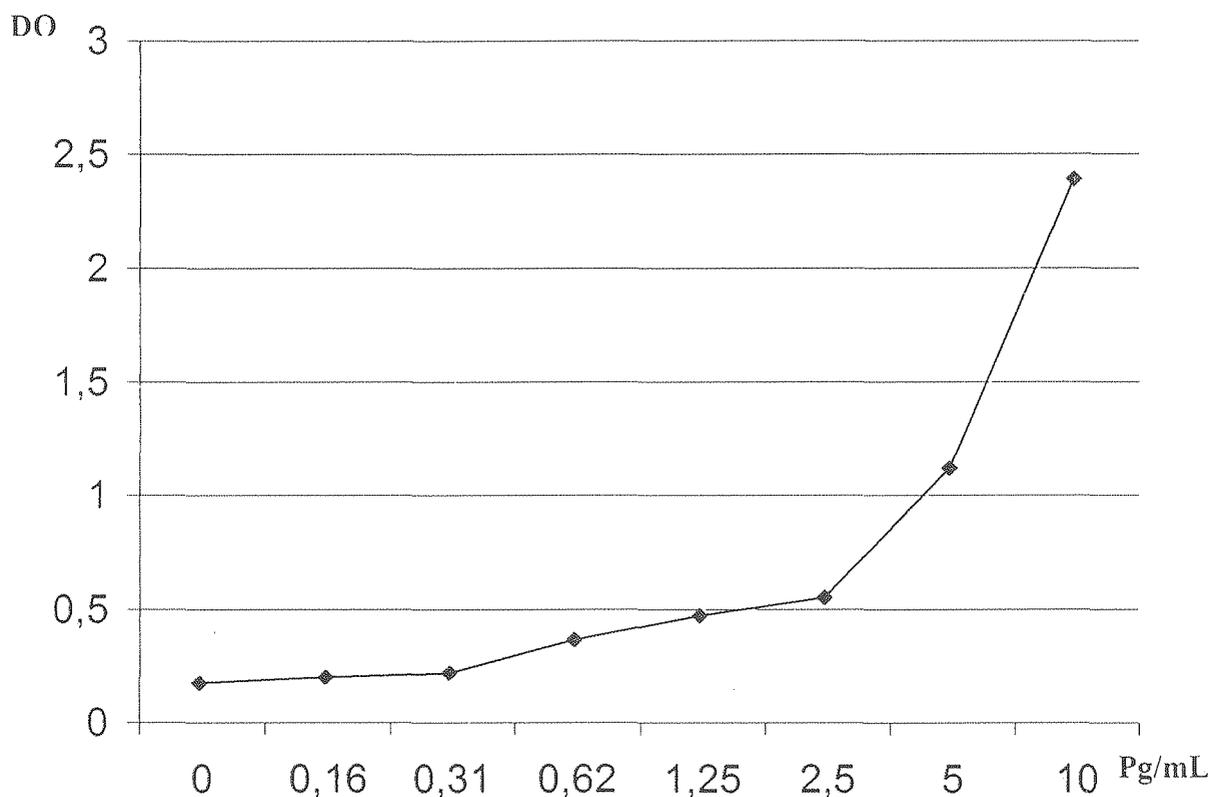
Foi realizada colheita de 5 mL de sangue total, em veia periférica do membro superior, utilizando-se tubos contendo EDTA. Em seguida, o sangue foi centrifugado a 2.000 r.p.m., por 10 minutos e o plasma foi separado e congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$  para utilização posterior.

## Dosagem de IL-6

A dosagem de IL-6 foi realizada utilizando-se um ELISA sanduíche com kits da Biosource (Camarillo – Califórnia, USA). Cada placa continha 96 poços sendo suficiente para dosar 88 amostras, sendo que oito poços foram utilizados para testar amostras padronizadas com dosagens conhecidas da interleucina e traçar uma curva-padrão. Para as dosagens das amostras a serem testadas foram adicionados 100  $\mu$ L de tampão de diluição fornecido pelos kits ao poço do controle negativo. Em seguida, foram adicionados a cada poço 100  $\mu$ L de cada amostra de plasma a ser testada. A placa foi coberta e incubada por três horas a 37°C. Após a incubação, cada poço foi aspirado sendo descartada a solução. Cada poço foi lavado e aspirado seis vezes utilizando-se tampão de lavagem fornecido pelo kit. Em seguida, foram adicionados 100  $\mu$ L do conjugado biotinado anti-IL-6, sendo agitada a placa suavemente para que houvesse homogeneização da solução, sendo coberta e incubada por 45 minutos a temperatura ambiente. Novamente, os poços foram aspirados e lavados com tampão de lavagem por seis vezes. Após as lavagens, foram adicionados a cada poço 100  $\mu$ L de solução contendo estreptavidina fornecida pelo kit, sendo a placa coberta e incubada a temperatura ambiente por 45 minutos. Seguiram-se mais seis lavagens. Nesse momento foram adicionados 100  $\mu$ L em cada poço de solução contendo o cromógeno, tornando, então, a solução de cor azul. Adicionalmente, as placas foram incubadas no escuro por 30 minutos e, por fim, foram adicionados 100  $\mu$ L de solução de parada da reação, fornecida pelo kit, agitando-a suavemente. A placa foi então levada ao espectrofotômetro para leitura a 450 nm. Os resultados obtidos com as amostras padronizadas foram colocados em um gráfico

sendo traçada uma curva-padrão (Figura 1). Os resultados obtidos com as amostras testadas foram interpretados em função da curva-padrão.

**Figura 1 – Curva-padrão de concentrações de IL-6.**



## **Análise estatística**

Os valores das dosagens de IL-6 encontrados no grupo de pacientes e no grupo de indivíduos controle foram comparados utilizando-se o teste T de *Student*. Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes.

## **Considerações éticas**

Todos os pacientes e controles assinaram termo de consentimento, assim como, o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Messejana na forma da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) por estar de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo seres humanos (Resolução 196/96 – Conselho Nacional de Saúde).

## 4- RESULTADOS

### Controles

Foram selecionados 63 indivíduos saudáveis, sendo 51 do sexo masculino (81%) e 12 do feminino (19%), com idades compreendidas entre 19 e 50 anos (mediana = 26 anos) demonstrados na Tabela I.

As dosagens de IL-6 encontradas nos indivíduos controle estão demonstradas na Tabela II. A média dos valores de IL-6 foi 0,68 pg/mL com intervalo de confiança de 0,53 – 0,83 e desvio-padrão de 0,59.

### Pacientes

Foram estudados 38 pacientes com tuberculose sendo 25 do sexo masculino (65,8%) e 13 do feminino (34,2%), com idades variando entre 20 e 70 anos (mediana = 44 anos). Desses pacientes, 23 foram sensíveis aos tuberculostáticos e tinham idades variando entre 20 e 70 anos (mediana = 38), sendo 16 do sexo masculino (73,9%) e sete do sexo feminino (26,1%). Os demais 15 pacientes apresentavam a forma multirresistente da doença, sendo nove do sexo masculino (60%) e seis do feminino (40%), com idades compreendidas entre 22 e 59 anos (mediana = 46 anos). Os pacientes estão demonstrados na Tabela I.

**Tabela I – Caracterização dos pacientes e dos controles segundo o sexo e a idade.**

Características demográficas		TB (n = 38)	TBS (n = 23)	TBMR (n = 15)	Controles (n = 63)
Sexo	Masculino	25 (65,8%)	16 (73,9%)	9 (60%)	51 (81%)
	Feminino	13 (34,2%)	7 (26,1%)	6 (40%)	12 (19%)
Faixa etária		20-70 anos	20-70 anos	22-59 anos	19-50 anos
Mediana		44 anos	38 anos	46 anos	26 anos

As dosagens de IL-6 encontradas nos pacientes estão demonstradas na Tabela II. A média dos valores obtidos de IL-6 foi 6,00 pg/mL (IC 4,01–7,99; DP=6,05). A análise dos pacientes em função da multirresistência às drogas mostrou para os pacientes sensíveis aos tuberculostáticos uma média de 6,18 pg/mL (IC 3,24 – 9,11; DP=6,79); enquanto, para o grupo multirresistente aos tuberculostáticos a média foi de 5,74 pg/mL (IC 3,01 – 8,47; DP=4,93).

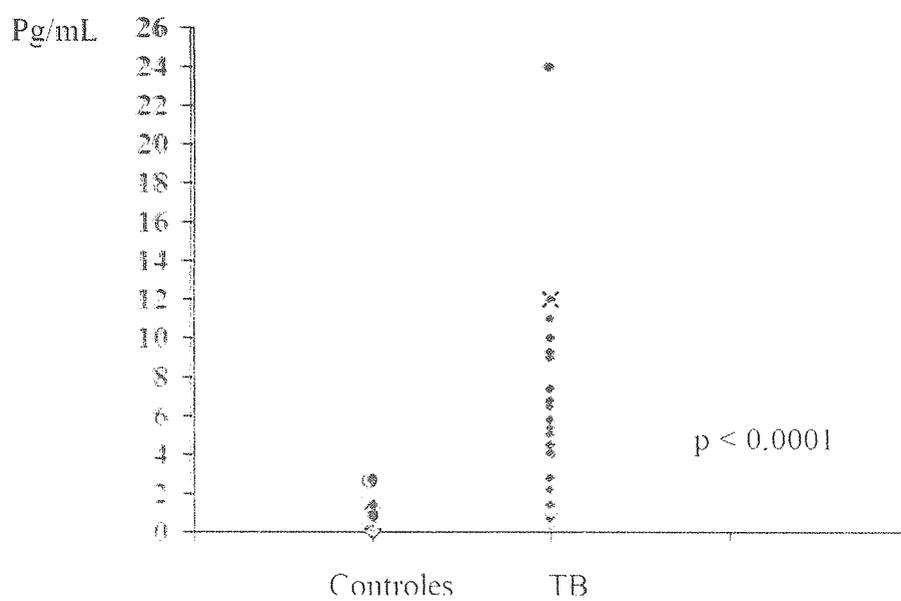
Foi observado um aumento significativo nos níveis de IL-6 nos pacientes quando comparados com os controles ( $p < 0,0001$ ) (Figura 2). Adicionalmente, ocorreu aumento dos níveis de IL-6 tanto no o grupo de pacientes sensíveis, quanto nos resistentes, quando comparados com os controles ( $p < 0,0001$  para ambas as comparações) (Figuras 3 e 4). Contrariamente, nenhuma diferença significativa foi observada quando comparados os resultados dos grupos de pacientes sensíveis com os resistentes ( $p > 0,05$ ) (Figura 5).

**Tabela II – Concentrações de IL-6 em controles (n = 63) e pacientes (n = 38).**

Controles	IL-6 (Pg/mL)	Pacientes	IL-6 (Pg/MI)
1	0,5	1	2,2
2	0,6	2	1,4
3	0,8	3	0,5
4	0	4	1,2
5	0,5	5	4,5
6	0,6	6	0,5
7	0	7	10,0
8	0,5	8	1,0
9	0,6	9	0,5
10	0,6	10	12
11	0,3	11	24
12	0,5	12	24
13	0,5	13	11
14	0,6	14	12
15	1,4	15	7,4
16	0,6	16	2,8
17	0,6	17	5,8
18	0	18	5,4
19	0,5	19	4,1
20	2,8	20	0,6
21	1	21	4,1
22	0,8	22	4,7
23	0,6	23	0,6
24	0,5	24	3,9
25	1,4	25	12
26	0,6	26	1,1
27	0,3	27	0,6
28	2,7	28	5,1
29	0,6	29	0,6
30	0,6	30	12
31	0,6	31	9,3
32	1,2	32	0,5
33	0,6	33	6,8
34	2,6	34	9
35	0,8	35	12
36	2,6	36	0,7
37	0,5	37	0,5
38	0,5	38	12
39	0		
40	0,6		
41	0,8		
42	0,5		
43	0,6		

44	0,2
45	0,5
46	0,3
47	0,5
48	0,5
49	0,5
50	0,5
51	0,5
52	0,5
53	0,5
54	0,4
55	0,5
56	0,5
57	1,3
58	0,5
59	0
60	0,5
61	0,4
62	0,2
63	0,6

Figura 2 – Dosagem de IL-6 em controles (n = 63) e em pacientes com tuberculose (n = 38) (TB).



**Figura 3 – Dosagem de IL-6 em controles (n = 63) e em pacientes com tuberculose sensíveis aos tuberculostáticos (n = 23) (TBS).**

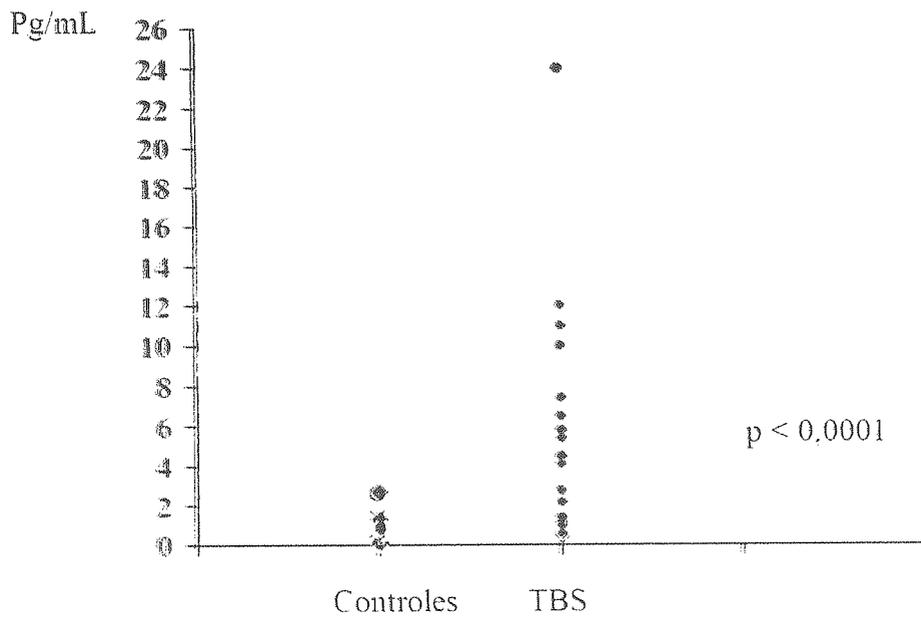


Figura 4 – Dosagem de IL-6 em controles (n = 63) e em pacientes com tuberculose multirresistentes aos tuberculostáticos (n = 15) (TBMS).

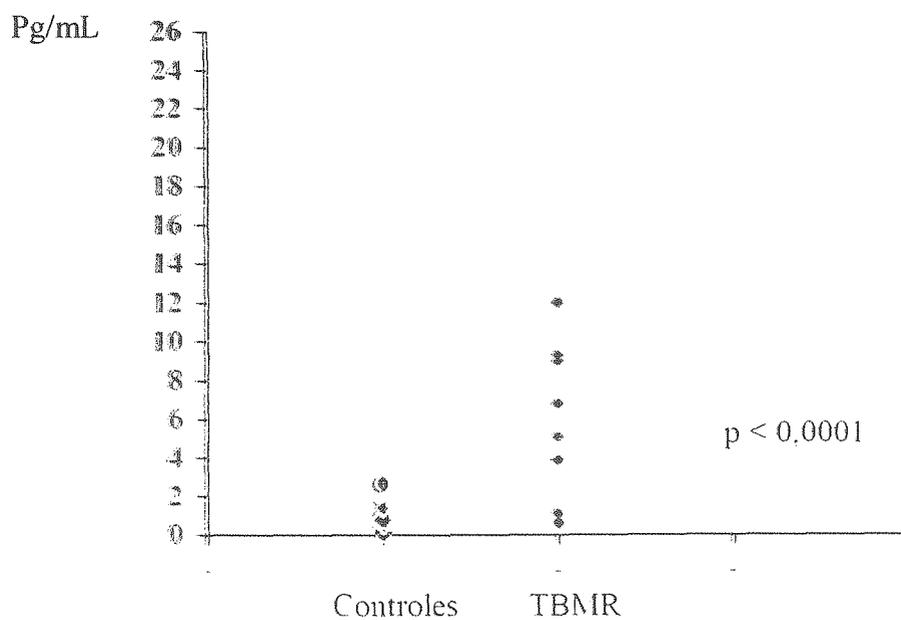
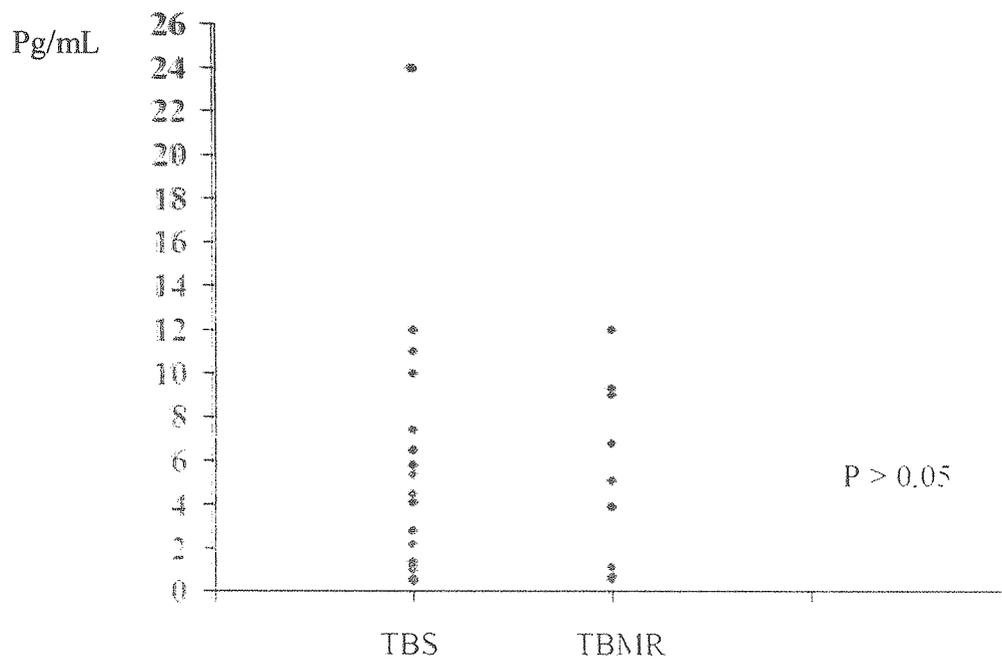


Figura 5 – Dosagem de IL-6 em pacientes com tuberculose sensíveis (n = 23) (TBS) e multirresistentes aos tuberculostáticos (n = 15) (TBMR).



## 5 - DISCUSSÃO

A tuberculose é uma doença infecciosa, tão antiga quanto o ser humano, acometendo principalmente o pulmão, podendo, também, sediar-se nos mais variados sítios do organismo humano, como o olho, o sistema nervoso, o rim, a pele, o aparelho digestivo, o genital, a pleura, os gânglios, dentre outros. O processo inflamatório dominante é do padrão crônico, com formação de nódulos granulomatosos, algumas vezes necrosados.

Muito já se sabe sobre a tuberculose humana, desde seu agente etiológico até o tratamento, passando pela forma de contágio, sua prevenção, e sua interação com o hospedeiro - importante reservatório da doença. Desde o início do século XX, os postulados de Koch são usados como modelo de identificação da doença. Apesar de todo o conhecimento hoje já consolidado, ainda são registrados dados epidemiológicos alarmantes, principalmente após a co-infecção com o Vírus da Imunodeficiência Humana.

A reação inflamatória decorrente da interação entre o agente etiológico-*Mycobacterium tuberculosis* e o organismo humano, ocorre no alvéolo, mais precisamente no interior do macrófago, que é a célula efetora mais importante na luta contra a agressão micobacteriana. A resposta imune mediada por célula representa o fulcro da reação imunológica, comandada pelo linfócito T CD4+ (FLESCHE; KAUFMANN, 1993). A presença de peptídios micobacterianos excita o macrófago alveolar, que faz a apresentação destes antígenos ao linfócito T CD4+, através de

moléculas do MHC II, promovendo sua ativação, e conseqüente diferenciação em dois subtipos: linfócito CD4+ Th1 e linfócito CD4+ Th2 (SCHOREY et al., 1997). A resposta imune mediada pela via Th1 é protetora, culminando com a formação do granuloma tuberculoso fibrosado, detendo, assim, a invasão do bacilo, enquanto a resposta Th2 é lesiva, pois permite a inibição do subtipo Th1, redundando na disseminação micobacteriana (APELBERG, 1997). Citocina é a molécula efetora do linfócito T, sendo de fundamental importância no equilíbrio funcional dessas duas linhagens de células T, pois, dependendo do eixo a ser ativado, ocorrerá ou não a destruição do bacilo. A resposta Th1 é exercida através da ação de TNF- $\alpha$ , IL-1, IFN- $\gamma$ , e a Th2, através de IL-4, IL-5 e IL-10 (RINCON, 1997).

A resposta imune a todos os patógenos depende, pelo menos em parte, da ação de citocinas (LA CAVA, 2003), sendo que, na tuberculose, exercem papel central o IFN- $\gamma$  e o TNF- $\alpha$  (DELVES; ROIT, 2000; FLYNN; CHAN, 2001).

Com relação a IL-6, existem poucos trabalhos, relacionando-a à etiopatogenia da tuberculose, apesar de sua importância na formação da fibrose em outras doenças, como na esclerose sistêmica progressiva (HULKKONEM et al, 2001 ), doenças inflamatórias crônicas, como a síndrome de Sjögren (HULKKONEM et al, 2001), e em outras doenças granulomatosas como a sarcoidose (EKLUND, 2003).

Neste estudo, foi utilizado um ELISA para dosagem plasmática de IL-6 em 15 pacientes com tuberculose multirresistente, comparando-as com as de 23 portadores da forma sensível doença (TBS). Foi selecionado, também, um grupo de 63 indivíduos saudáveis, dentre doadores voluntários do HEMOCE, como grupo-controle.

No primeiro ensaio, foram comparados os níveis de IL-6 de toda a população de tuberculosos (n = 38), com os dos controles (n = 63). Os níveis plasmáticos de IL-6 estiveram aumentados nos pacientes com tuberculose, em relação aos indivíduos saudáveis (6,00 pg/mL vs 0,68 pg/mL,  $p < 0,0001$ ), corroborando o que tem sido visto em estudos no fluido de derrame pleural em tuberculose e não-tuberculose (TSAO et al., 1999; NEKTARIA et al., 2002; WONG et al., 2003). Em outro estudo, a dosagem de IL-6 no catarro e no soro de pacientes com tuberculose ativa foi comparada aquela obtida em pacientes com pneumonia bacteriana e indivíduos saudáveis PPD positivo, sendo relatada elevação desta citocina nos pacientes com TB (RIBEIRO-RODRIGUES et al, 2002). Da mesma maneira, IL-6 foi dosada no sangue periférico de 25 pacientes com infecção com bacteriana crônica, sendo que 13 deles tinham tuberculose, sendo observado aumento de seu nível na população com TB (POVEDA et al, 1998). Os dados obtidos neste estudo corroboram relatos prévios da literatura, com relação à liberação aumentada de IL-6 no sangue e em diversas secreções, justificando-se a assertiva que esta citocina tem atividade mais endócrina do que parácrina e/ou autócrina, diferentemente das demais (PEREIRA, 1998).

No segundo ensaio, as concentrações plasmáticas de IL-6 em pacientes com tuberculose sensível (n = 23), portanto, responsiva aos tuberculostáticos (TBS), foram comparadas com as do grupo de controles saudáveis (n = 63), tendo sido observado concentrações maiores nos pacientes com TBS (6,18 pg/mL vs 0,68 pg/mL,  $p < 0,0001$ ), sendo a média nove vezes maior nos doentes, em relação ao grupo controle.

A mediana de tempo de doença foi de três meses (Quadro I - Apêndice); apesar da dificuldade de se relacionar o nível plasmático de IL-6 com o tempo de doença,

cinco pacientes tinham apenas um mês de doença (21,8%), sendo que quatro deles apresentaram uma concentração média de IL-6 de 6,7 pg/mL, portanto, acima da média geral deste grupo, que foi de 6,18 pg/mL, ( $p > 0,05$ ), não tendo, pois, significância estatística. Poder-se-ia fazer inferência sobre a maturação do granuloma, fase em que se registra liberação aumentada de IL-6, porém a dosagem não foi repetida na terceira semana de doença, como relatado em estudo prévio (FLYNN; CHAN, 2001). Por outro lado, foi encontrado, também, variações muito amplas no tempo de doença, como 144 meses (um paciente), 60 meses (um paciente), 48 meses (um paciente), 36 meses (três pacientes), 24 meses (um paciente), 10 meses (um paciente), totalizando oito pacientes (34,8%), portanto, mais de um terço de toda a amostra de pacientes com TBS. Realmente, este subgrupo poderia ter sido enquadrado no grupo TBMR, se tivesse sido usado o critério temporal para a definição de TBMR. De acordo com o critério temporal, a multirresistência é caracterizada por uma forma crônica da doença, com a pesquisa de BAAR persistentemente positiva, após vários tratamentos, a despeito da sensibilidade da micobactéria aos tuberculostáticos. Imputa-se o fracasso terapêutico a irregularidade de uso da medicação, má absorção da droga, interação medicamentosa, associação incorreta de medicamentos e a imunodeficiência, dentre outros (ESPINAL et al., 2000; FIUZA DE MELO, 2002).

Este pequeno grupo de pacientes com elevado tempo de doença, induz aos seguintes questionamentos: É elevado o tempo de doença ou de infecção? São esses pacientes portadores de tuberculose reativada? Ou de tuberculose crônica, não responsiva aos esquemas terapêuticos? Teria esta população de pacientes algum polimorfismo gênico que interferisse na produção de IL-6 ou de outras citocinas? A par de todos os

questionamentos, este grupo de oito pacientes com TBS, apresentou um nível de IL-6 que variou de 0,5 pg/mL a 24 pg/mL, com uma média de 7,88 pg/mL, portanto, acima da média geral do grupo de pacientes TBS, que foi de 6,18 pg/mL, porém, também, sem significância estatística ( $p = 0,4$ ).

Analisando estes dois subgrupos de pacientes TBS, pode-se sugerir que no primeiro, com tempo de um mês, a IL-6 se encontrou elevada porque é nesta fase que esta citocina é requerida para iniciar a resposta imune precoce, inata, dirigida pelo IFN- $\gamma$ , principal interleucina protetora contra a tuberculose, como descrito anteriormente em modelo murino (SAUNDERS, 2000). No subgrupo com tempo alargado de infecção, e, talvez, também, de doença, o aumento do nível de IL-6 poderia ser interpretado como uma resposta demorada, repetitiva, recorrente à estimulação imunológica por um processo inflamatório crônico, ou uma depleção funcional das células T, provocada pela presença de níveis aumentados de IL-6, caracterizando um processo inflamatório grave, com participação dos dois eixos de resposta imune: Th1 e Th2 (HERNANDEZ-PANDO et al, 1998).

No terceiro ensaio, foi dosada a IL-6 nos pacientes com TBMR ( $n = 15$ ) e sua concentração comparada com a daqueles do grupo de controles saudáveis, tendo sido encontrado valor aumentado nos doentes (5,74 pg/mL vs 0,68 pg/mL,  $p < 0,0001$ ), representando um aumento de 8,5 vezes. O estudo sugere que a concentração plasmática de IL-6 está elevada na tuberculose ativa, não diferindo de estudos anteriores (VERBON et al, 1999; HERNANDEZ-PANDO et al, 1998). Adicionalmente, este estudo sugere que a elevação na concentração plasmática de IL-6 ocorre independentemente do esquema terapêutico em uso e/ou da sensibilidade da micobactéria aos tuberculostáticos.

A TBMR é caracterizada por uma doença crônica, grave, caquetizante, que se acompanha de destruição do tecido pulmonar por processo inflamatório persistentemente ativo. A mediana de tempo de doença deste grupo foi de 12 meses, calculada a partir da data do diagnóstico da multirresistência, ou seja, da transformação de tuberculose sensível em multirresistente, já que não se trabalhou com resistência primária nem com a natural. Neste grupo, existe também, a mesma dúvida com relação ao início da doença ou da infecção; considerando-se o tempo decorrido desde o início da doença (ou da infecção?) sensível, até sua transformação em TBMR, registra-se uma variação de 31 a 175 meses, com mediana de 67 meses. Tanto em um grupo, como no outro, torna-se difícil sabermos quando a doença se iniciou, pois, sem a ajuda de ferramentas mais precisas, como as da epidemiologia molecular, a identificação do agente etiológico e sua fonte são praticamente impossíveis de serem esclarecidas (ROSEMBERG, 1993; BARNES; CAVE, 2003). Seria a mesma cepa de micobactéria originando-se, portanto, de um foco latente, cujo significado implicaria em reativação endógena? Ou seria uma re-infecção exógena, portanto, partindo de micobactéria com características gênicas diferentes? Com este impasse, alguns possíveis eventos etiopatogênicos relacionados à ação da IL-6 podem ser sugeridos, em pacientes com tempo muito demorado de infecção e, provavelmente, também, de doença, principalmente nos TBMR. O início da resposta Th1, pode ser dirigida por IL-6, que elícita a produção de IFN- $\gamma$  (SAUNDERS, 2000). Dentro da mesma linha de raciocínio, na TB, a IL-6 está elevada porque esta citocina contribui para a polarização de células T CD4 para células efectoras Th2 por induzir a produção de IL-4, sendo, pois, IL-6 um fator-chave para a escolha entre a resposta Th1 ou Th2 (RINCON, 1997; VALWAY et al.,

1998). Na fase precoce, IL-6 elicita a produção da citocina protetora mais importante para promover a eliminação de germes intracelulares – IFN- $\gamma$ , sendo, portanto, ação do eixo Th1 (SAUNDERS, 2000); na fase tardia, a IL-6 não modificaria a diferenciação das células Th2 dirigidas por IL-4 (RINCON, 1997).

O último ensaio foi realizado com a comparação entre os dois grupos de pacientes tuberculosos: TBS e TBMR. O nível plasmático de IL-6 esteve elevado igualmente nos dois, (6,18 pg/mL vs 5,74 pg/mL) ,sem, entretanto, demonstrar diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Apesar de, às vezes, terem apresentações clínica e radiológica diferentes, os pacientes com tuberculose produzem IL-6, de acordo com reatividade imunológica, com o tempo de doença, com a dimensão da caverna e com outros fatores ainda não totalmente esclarecidos.

Em conclusão, nesse estudo foi observado um aumento nas concentrações plasmáticas de IL-6 em pacientes com tuberculose pulmonar corroborando estudos prévios. Em adição, foi observado um aumento nas concentrações da IL-6 independentemente da sensibilidade ou não aos tuberculostáticos.

## 6. CONCLUSÕES

1. As concentrações plasmáticas de IL-6 estiveram aumentadas nos pacientes com tuberculose pulmonar ativa, com concentração média equivalente a 6,0 pg/mL, em relação ao grupo de indivíduos controle, com média de 0,68 pg/mL ( $p < 0,0001$ ).
2. As concentrações plasmáticas de IL-6 nos pacientes sensíveis aos tuberculostáticos se mostraram elevadas, com média igual a 6,18 pg/mL, em relação àquelas dos controles, com média igual a 0,68 pg/mL ( $p < 0,0001$ ).
3. As concentrações plasmáticas de IL-6 nos pacientes multirresistentes aos tuberculostáticos se mostraram elevadas, com média igual a 5,74 pg/mL, em relação àquelas dos controles, com média igual a 0,68 pg/mL ( $p < 0,0001$ ).
4. Não foram observadas diferenças significantes entre as concentrações plasmáticas de IL-6 nos pacientes sensíveis quando comparadas às dos multirresistentes aos tuberculostáticos (6,18 pg/mL vs 5,74 pg/mL,  $p > 0,05$ ).

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS AK, LICHTMAN AH & POBER JS: **Cellular and molecular immunology**, 4st ed. WB Saunders,2000
- ALVES R & NATAL S – Epidemiologia e Controle da Tuberculose, em **Tuberculose na Infância e na Adolescência** – Clemax Couto Sant'Anna, Rio de Janeiro Atheneu ,p. 5-15, 2002
- APPELBERG R- Protective role of interferon gamma, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in Mycobacterium tuberculosis and M. Avium infections. **Immunobiology**. 1997 Oct.;191(4-5): 520-5-Review
- BANATVALA N & PEREMITIN GG Tuberculosis, Russia , and the Holy Grail, **The Lancet** . Vol.353, March 20, 1999
- BARNES, P.F. & CAVE,D. – Molecular Epidemiology of Tuberculosis- **N Engl Med** Vol. 349; n. 12 Sept 18,2003 p.1149-1156
- BARROSO, EC; RODRIGUES, JLN; PINHEIRO,VGF & CAMPELO, CL. Prevalência da tuberculose multirresistente no Estado do Ceará, 1990-1999. **J.Pneumol**. 27(6)-nov-dez 2001
- BARROSO, EC; MOTA,RMS; SANTOS,RO; SOUSA,ALO, BARROSO,J B & RODRIGUES,JLN; Fatores de risco para tuberculose multirresistente adquirida. **J.Pneumol**. 29(2)- mar- abr de 2003

- BARROSO EW- Imunopatogenia da Tuberculose, em **Tuberculose na Infância e na Adolescência**- Clemax Couto Sant'Anna,, Rio de Janeiro, Atheneu,p. 17-27,2002
- BECK, J. T. , HSU, S.M. , WIJDENES, J. , BATAILLE,R. , KLEIN, B. , VESOLE, D. HAYDEN, K. , JAGANNATH,S. & BARLOGIE, B. –Brief Report: Alleviation of Systemic Manifestations of Castleman's Disease by Monoclonal Anti-Interleukin-6 Antibody – **N Engl Med** March 3, 1994- Vol . 330 number 9
- BELLAMY , R. , RUWENDE, C. , CORRAH, T. , McADAM, K.P.W.J. , WHITTLE, H.C. & HILL,A.V.S.- Variations in the NRAMP1 Gene and Susceptibility to Tuberculosis in West Africans- **N Engl Med** Vol. 338 number 10 March 5, 1998; p. 640-644
- BIER,O – **Bacteriologia e Imunologia**- Edições Melhoramentos, 1963. p.1-13
- BIER,O - **Bacteriologia e Imunologia**- Edições Melhoramentos, 1963, p.511-536
- BLOCH, AB; CAUTHEN, GM & ONORATO, IM – Nationwide survey of drug-resistant tuberculosis in the United States. **JAMA** 1994;271:665
- CAMPOS, H. S. *Mycobacterium tuberculosis* resistente: de onde vem a resistência? **Boletim de Pneumologia Sanitária** Vol. 7. número 1- jan/jun- 1999 – p. 52-64
- CERDÁ, J.P. , DESJARDINS, M. , MORENO, E. , AKIRA, S. & GORVEL, J. P. – Modulation of Endocytosis in Nuclear Factor IL-6 Macrophages Is Responsible for a High Seceptibility to Intracellular Bacteria Infection- **The Journal of Immunology**, 1999, 162:3519-26
- CHAN J, TANAKA K & CARROLL D- Effects of nitric oxide synthase inhibitors on murine infection with *Mycobacterium tuberculosis*. **Infec Immun** 1995; 63:736

- CHOWDHURY AMR- Success with the DOTS strategy. **The Lancet** 1999, Vol. 353: 1003-04
- COHN, A. Desenvolvimento social e impactos na saúde. Em BARATA RB. Condições de vida e situação de saúde. Rio de Janeiro, ABRASCO, 1997.
- COLLINS HL & KAUFMANN SHE, The many faces of host responses to tuberculosis, **Immunology**, Vol.103(1) May 2001 p. 1-9
- CONDE MB, SOUZA GM & KRITSKI AL – **Tuberculose sem medo**, Editora Atheneu, São Paulo, 2002.
- DELVES, P. J. & ROIT, I.M. , Advances in Immunology : The Immune System- Second of Two Parts- **N Engl Med**, 2000, Vol. 343, number 2 p.108-117
- DELVES, P.J. & ROIT, I.M. – Advances in Immunology : The Immune System- First of Two Parts- **N Engl Med**, 2000, Vol. 343, number 1, p.37-49
- DIXON B: **Além das balas mágicas**- Editora da Universidade de São Paulo,1981
- EKLUND A – Aetiology , pathogenesis and treatment of sarcoidosis- **Journal of Internal Medicine** 2003; 253:31-40
- ESPINAL, MA ; LASZLO, A ; SIMONSEN,L ; BOULAHBAL, F ; KIM, AJ ; RENIERO,A ; HOFFNER, S ; RIEDER, HL ; BINKIN, N ; DYE, C ; WILLIAMS, R ; RAVIGLIONE, MC ; - Global trends in resistance to antituberculosis drugs . **N Engl Med**, 2000, Vol 344 n. 17 p. 1294-1303.
- FERNANDEZ- REAL JM, VENDRELL J, RICHART C, GUTIERREZ C & RICART W- Platelet count and Interleukin-6 Gene polymorphism in healthy subjects- **BMC Medical Genetics**, 1471-2350, 2:6, June 2001.

- FITZPATRICK LK & BRADEN C,-Tuberculosis in **Kelley's Textbook of Internal Medicine**,Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 4<sup>th</sup> Edition, p.2055-2065, 2000.
- FIUZA DE MELO FA & AFIUNE JB. Transmissão e imunopatogenia da tuberculose.**J.Pneumol.**, v19, p19-24, 1993.
- FIUZA DE MELO FA, -Tuberculose, em **Tratado de Infectologia**, Ricardo Veronesi e Roberto Focaccia, São Paulo, Atheneu, 2º edição, p.936-981, 2002.
- FLESHCHIE JS & KAUFMANN SH - Role of cytokines in tuberculosis-**Immunology**,1993 Nov; 189(3-4): 316-39. Review
- FLYNN JL & CHAN J- Immunology of Tuberculosis, **Annu. Rev.Immunol.** 2001, 19:93-129.
- FRIEDEN,TR STERLING,T & PABLOS-MENDEZ,A.- The emergence of drug-resistant tuberculosis in New York City. **N.Engl J Med** 1993; 328:521.
- FRIEDMAN M & FRIEDLAND GW – **MEDICINE'S 10 Greatest Discoveries** , New Haven and London, Yale Universitu Press, 1998
- GABAY, C. & KUSHNER, I . – Acute-Phase Proteins an Other Systemic Responses to Infammation. **N Engl Med** 1999; Vol. 340 n. 6 p. 448-454
- GASNER, M.R. , MAW, K.L. , FELDMAN, G.E. , FUJIWARA, P.I. & FRIEDMAN, T.R. – The use of Legal Action in New York City to Ensure Treatment of Tuberculosis – **N Engl Med**, 1999, Vol. 340 number 5, p. 359-366
- GONG,J. , STENGER, S. , ZACK, J.A. , JONES, B. E, BRISTOLG.C. , MODLIN,R.L.,MORRISSEY,P. J. & BARNES, P. F. Isolation of *Mycobacterium*-reactive CD-1-restricted T Cells from Patientswith Human

- Immunodeficiency Virus Infection- **J. Clin. Invest.** Vol . 101, number 2,January 1998 p. 383-389
- GOYAL, M. , SHAW, R.J. , BANERJEE, D.K. , COKER, R.J. , ROBERTSON,B.D. & YOUNG,D.B. – Rapid detection of multidrug- resistant tuberculosis – **Eur Respir J** 1997 ; 10: 1120-1124
- GRANGE JM & ZUMI A - Paradox of the global emergency of tuberculosis, **The Lancet.** Vol. 353, March 20, 1999
- HARRIS TB, FERRUCCI L, TRACY RP, CORTI MC, WACHOLDER S, ETTINGER Jr WH, HEIMOVITZ H, COHEN H & WALLACE R. – Associations of Elevated Interleukin-6 and C-Reactive Protein Levels with Mortality in the Elderly- **Am. J. Med.** V. 106:506-512,1999
- HAVLIR, D.V. & BARNES, P.F. – Tuberculosis in patients with Human Immunodeficiency Virus infection **N Engl Med**, 1999,Vol.340 number 5, p. 367-373
- HERNÁNDEZ- PANDO R, ARRIAGA AK, PANDURO CA, OROZCO EH MADRID-MARINA V & LARRIVA-SAHD J -The response of hepatic acute phase proteins during experimental pulmonary tuberculosis -**Experimental and Molecular Pathology.** Volume 65, Number 1, 1998 p. 25-36
- HOLLAND, S.M. - Cytokine Therapy of Mycobacterial Infections in **Advances in Internal Medicine** Vol 45 Chapter 15, 2000 Mosby, Inc.
- HOLMES G, HOLMES F & McMORROUGH J . The Death of young king Edward VI. **N.England. J. Med.**, v.345,n.1,p.60-63, -July 5, 2001

- HULKKONEN J, PERTOVAARA M, ANTONEN J, PASTERNAK A & HURNE M. - Elevated interleukin-6 plasma levels are regulated by the promoter region polymorphism of the IL-6 gene in primary Sjögren syndrome and correlate with the clinical manifestations of the disease - **Rheumatology** 2001; 40: 656-661
- HUSSAIN, R.,SHIRATSUCHI, H. , PHILIPS, M. , ELLNER,J. & WALLIS, R.S. – Opsonizing antibodies (IgG1) up-regulate monocyte proinflammatory cytokines tumour necrosis factor-alpha ( TNF- $\alpha$  ) and IL-6 but not anti-inflammatory cytokine IL-10 in mycobacterial antigen-stimulated monocytes- implications for pathogenesis- **Clin Exp Immunol** 2001;123:210-218
- ISEMAN MD – **A clinician's guide to tuberculosis**. Philadelphia : Lippincott Williams & Wikins, 2000. chapt.1: Tuberculosis Down Through the Centuries, p.1-18
- ISEMAN MD - **A clinician's guide to tuberculosis** . Philadelphia : Lippincott Williams & Wikins, 2000.chapt. 4: Immunity and Pathogenesis, p. 63-96
- ISEMAN MD -**A clinician's guide to tuberculosis**. Philadelphia : Lippincott Williams & Wikins, 2000. chapt. 11: Drug-resistant tuberculosis, p.323-354
- ISEMAN, MD - Tuberculosis, in **Cecil Textbook of Medicine**, Philadelphia, WB Saunders Company,, 21<sup>st</sup> Edition , volume 2, p.1723-1733, 2000
- KEANE J, GERSHON S, WISE RP, MIRABILE-LEVENS E, KASZNICA J SCHWIETERMAN WD, SIEGEL JN & BRAUN MM- Tuberculosis Associated with Infliximab, a Tumor Necrosis Factor - Neutralizing Agent . N. **Engl. J. Med.**, v. 345,n 8, p.1098-1104,2001

- KHAN, K. ; MUENNIG, P. ; BEHTA, M. & ZIVIN, JG ; - Global drug-resistance patterns and the management of latent tuberculosis infection in immigrants to the United States. **N Engl Med**, 2002, Vol.347 n. 23 p. 1850-1859
- KHATRI, G.R & FRIEDEN, T.T. Controlling Tuberculosis in India- **N Engl Med**, Vol. 347, number 18, p. 1420-1425
- KRITSKI AL, CONDE MB & SOUZA GM. Tuberculose- do ambulatório à enfermaria. São Paulo. Atheneu, 2ª edição 303p., 2000
- KRITSKI AL, SOUZA GM & CONDE MB-Tuberculose e Micobacterioses- Aspectos práticos e atuais. **Sociedade de Pneumologia e Tisiologia do Estado do Rio de Janeiro**, 2001
- La CAVA A-Cytokines and Autoimmune Rheumatic Diseases- **International Journal of Advances in Rheumatology**, Vol. 1 Number 1, 2003
- LACAZ CS & MACHADO CM – **Oportunismo Microbiano e de Neoplasias na Medicina Contemporânea** , São Paulo, Fundo Editorial Byk, 2000
- LIMA, V.M.F. , BONATO, V.L.D. , LIMA, K. M. , SANTOS, S.A. , SANTOS, R.R. , GONÇALVES, E.D.C. , FACCIOLI, L.H. , BRANDÃO, I.T. , JUNIOR, J.M.R. & SILVA, C.L. – Role of Trehalose Dimycolate in Recruitment of Cells and Modulation of Production of Cytokines and NO in Tuberculosis – **Infection and Immunity** Vol. 69, n 9 Sept2001, p- 5305-5312
- LIN Y; ZHANG M ; BARNES PF, 1998- Chemokine production by human alveolar epithelial cell line in response to *Mycobacterium tuberculosis*- **Infection and Immunity**, Mar. 1998, p1121-1126

- LOPES AC. **CLÍNICA MÉDICA- Passado, Presente, Futuro**, Lemos Editorial & Gráficos LTDA /Sociedade Brasileira de Clínica Médica- São Paulo, 1999
- LYONS AS & PETRUCCELLI RJ – **MEDICINE- An Illustrated History**, New York, Harry N. Abrams, Publishers, 1987.
- MAES H H; CAUSSE J E ; MAES RF , 1997- Tuberculosis I : a conceptual y of frame for the immunopathology of the disease; **Medical hypotheses**(1999)52(6),583-593
- MAGNO G. JORIS I : **Cells, Tissues, and Disease: Principles of General Pathology**. Cambridge MA, Blackwel Science, 1996, p.429-463
- MANCA, C. , TSENOVA,L , BERGTOLD, A. , FREEMAN,S. , TOVEY, M. MUSSER, J.M , BARRY, C.E. , FREEDMAN, V.H. & KAPLAN,G. –Virulence of a *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolate in mece is determined by failure to induce Th 1 type immunity and is associated with induction of IFN- $\alpha/\beta$  – **Immunology** 2001May 8; 98(10): 5752-5757
- MITNICK,C.; BAYONA, J; PALACIOS,E.; SHIN,S ; FURIN,J. ; ALCÁNTARA,F. ; SÁNCHEZ,E. ; SARRIA,M. ; BECERRA,M. ; FAWZI,MCS ; KAPIGA,S. ; NEUBERG, D. ; MAGUIRE,JH ; KIM,JY & FARMER,R. – Community-Based Therapy for Multidrug-resistant Tuberculosis in Lima, Peru. **N Engl Med** 2003; Vol. 348 n. 2 p. 119-128
- NEKTARIA X , NIKOLAOS T , DEMOSTHENES B , DESPINA K , NIKOLAOS K , MICHALIS A & NIKOLAOS M S – Diagnostic Value of Interleukin-  $1\alpha$ , Interleukin-6, and Tumor Necrosis Factor in Pleural Effusions- **Chest** 2002; 121:815-820

- NEWPORT,MJ; HUXLEY,CM; HUSTON,S; HAWRLOWICZ,CM; OOSTRA,BA;  
 WILLIAMSON,R & LEVIN,M – A Mutation in te Interferon- $\gamma$  Receptor Gene  
 and Susceptibility to Mycobacterial Infection. *N. Engl Med* 1996; Vol.335 n. 26  
 p. 1941-1949
- PABLOS-MENDEZ, A ; RAVIGLIONE, M.C; LASZLO, A.; BINKIN,N.;  
 RIEDER,H.L. ; BUSTREO, F; COHN, D.L.; LAMBREGLS-VAN  
 WEEZENBECK, C.S ; KIM,S.J. ; CHAULET,P. & NUNN,P. Global  
 surveillance for antituberculosis-drug resistance, 1994-1997.World Health  
 Organization- International Union against Tuberculosis and Lung  
 Disease Working Group on Ati-tuberculosis Drug Resistance Surveillance. *N.  
 Engl. Med.*, v.338, n.23,p.1641-1649,1998
- PARKIN, J. & COHEN, B. An Overview of the immune system- *The Lancet*, 2001,  
 Vol. 357, number 9270, p. 1777-1789
- PEAKMAN M & VERGANI D- *Imunologia Básica e Clínica*, Guanabara  
 Editora,1999
- PEREIRA MA – em *Basic Immunology* - Jacqueline Sharon ; Boston-USA, Williams  
 & Wilkins 1998.
- PLAYFAIR JHL- *Immunology at a Glance*, Blackwell Science, 6st Edition ,  
 London, 1996
- POST, F.A. , MANCA, C. NEYROLLES,O. , RYFFEL, B. , YOUNG, D.B. &  
 KAPLAN, G. – *Mycobacterium tuberculosis* 19-Kilodalton Lipoprotein Inhibits  
*Mycobacterium smegmatis*- y Human Induced Cytokine Production by  
 Macrophages In Vivo- *Infection and Immunity*, Mar 2001, p. 1433-1439

- RAVIGLIONE MC & O'BIEN RJ , Tuberculosis in **Harrison's Principles of Internal Medicine**, New York, Mc Graw-Hill, 15st Edition, volume 1, p.1024-1035,2001
- REICHMAN LB : **Timebomb- The Global Epidemic of Multi-Drug-Resistant Tuberculosis** Mc Graw- Hill ,New York, 2002
- RIBEIRO-RODRIGUES R , RESENDE Co T , JOHNSON JL , RIBEIRO F, PALACI MSRT , MACIEL EL , PEREIRA LIMA FE , DETTONI V , TOOSI Z , BLOOM WH , DIETZ ELLNER JJ & HIRSCH CS- Sputum cytokine levels in patients with pulmonary tuberculosis early markers of mycobacterial clearance; **Clin Diagn Lab Immunol.** 2002 Jul ; 9(4): 818-23
- RINCÓN M, ANGUITA J, NAKAMURA T, FIKRIG E & FLAVELL A – Interleukin- 6 Directs the Differentiation of IL-4- producing CD4+ T Cells. **J. Exp. Med**, Volume 185, Number 3, February 3, 1997 461-469
- ROIT I, ROSTOFF J & MALE D - **Imunologia** São Paulo, Editora Manole LTDA,1993
- ROSEMBERG, J Repercussões da biologia molecular na tuberculose. **J. Pneumol.** 19 (1 ): 25-36, 1993
- ROSEMBERG J- Tuberculose atual no mundo e no Brasil. **Bol. Soc. Paulista Pneumol. e Tisiologia**, 1995; 3 (4): 1-5
- ROSEMBERG, J : **Tuberculose: panorama global, óbices para o seu controle.** Fortaleza,1999
- ROSEMBERG, J. Mecanismo imunitário da tuberculose- Síntese e Atualização **Boletim de Pneumologia Sanitária** Vol. 9. jan/ jun 2001- p. 35-59

- RUFINO-NETTO A – Tuberculose MDR – **MÉDICOS HC- FMUSP**, Ano 1, Nº 3,  
julho-agosto/ 1998
- SAUNDERS BM, FRANK AA, ORME AM & COOPER AM- Interleukin-6  
Induces Early Gamma Interferon Production in the Infected Lung but Is Not  
Required for Generation of Specific Immunity to Mycobacterium tuberculosis  
Infection- **Infection and Immunity**, v. 68, n. 6. p.3322-3326, June 2000
- SCHOREY JS, CARROLL MC & BROW EJ- A macrophage invasion mechanism  
of pathogenic mycobacteria, **Science** 1997; 277:1091-3
- SCHREIBER W & MATHYS FK : **Infetio – Doenças Infecciosas na História da  
Medicina**, Editiones Roche, Basileia, Suíça, 1991.
- SHARON J- **Basic Immunology** , Boston, Williams & wilkins, 1998.
- SHEER, TA & COYLE,WJ - Tuberculose Gastrointestinal: **Current  
Gastroenterology Reports Brasil**, 2003, 1:197-202
- SUGAWARA, I. , MIZUNO, S. , YAMADA, H. , MATSUMOTO, M. & AKIRA, S.  
– Disruption of Nuclear Factor- Interleukin-6, a Transcription Factor, Results in  
Severe Mycobacterial Infection – **American Journal of Pathology** Vol 158 n 2  
Feb 2001 p. 361-366
- TANG S , XIAO H , FAN Y , WU F , ZHANG Z , LI H & YANG Y – Changes of  
proinflammatory cytokines and their receptors in serum from patients with  
pulmonary tuberculosis- **Shanghai Pneumology Hospital** ; 2002Jun; 25(6):325-9
- TELZAK, EE; SEPKOWITZ,K; ALPERT,P; MANNHEIMER S.;MEDARD,F; EL-  
SADR,W. ; BLUM,S. ; GAGLIARDI,A. ; SALOMON,N & TURETT,G.-

- Multidrug-Resistant Tuberculosis in Patients without HIV Infection. *N. Engl Med* 1995; Vol333 n.14 p. 907-912
- TSAO TCY, HUANG C, YANG P , LIAO SK & CHANG KSS- Increased TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 levels in the bronchoalveolar lavage fluid with the upregulation of their mRNA in macrophages lavaged from patients with active pulmonary tuberculosis- *Tubercle and Lung Diseases*( 1999) 79(5), 279-285
- VALWAY, SE ; SANCHEZ,MPC ; SHINNICK, TF ; ORME,I ; AGERTON,T ; HOY,D ; JONES,JS;WESTMORELAND,H & ONORATO,M.–An outbreak involving extensive transmission of a virulent strain of *Mycobacterium tuberculosis*. *N Engl Med*, 1998, Vol. 338 n. 10 p. 633-639
- VAN SNICK J –Interleukin-6: an overview. *Annu. Rev.Immunol.* 8:252-278, 1990
- VERBON A ; JUFFERMANS N ; VAN DEVENTER S J ; SPEELMAN P ; VAN DEUTEKOM V D P L , 1999- Serum concentrations of cytokines in patients with active tuberculosis (TB) and after treatment- *Clin Exp Immunol* 1999 Jan; 115(1):110-3
- WONG CF, YEW WW, LEUNG SK, CHAN CY, HUI M, AU-YEANG C & CHENG AF. Assay of pleural fluid interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and interferon-gamma in the diagnosis and outcome correlations of tuberculosis effusion- *Respir Med.* 2003 Dec; (12) : 1289-95
- YAMAMURA, M. ,WANG,X. H. ,OHMEN, J. D. ,UYEMURA,K. REA, T.H. , BLOOM, B.R & MODLIN, R.L. – Cytokine Patterns of Immunologically Mediated Tissue Damage – *The Journal of Immunology* , Vol. 149; number, 4 , Ag 15,1992; p. 1470-1475

YOSHIHITO H, KOH N. SATOMI H., YOSHIHIRO H. , DORIS B.T, TATSUO  
T, WILLIAM NR & MICHAEL W- Maximal HIV-1 Replication in Alveolar  
Macrophages during Tuerculosis Requires both Lynphocyte Contact and  
Cytokines – **J.Exp. Med.** Vol. 195, number 4, February 18, 2002 – 495-505.

## APÊNDICE

Quadro I – Distribuição dos pacientes segundo o sexo, a idade , o tempo de doença e a concentração de IL-6.

No.	SEXO	IDADE (a)	TEMPO (m)	IL-6 (pg/mL)
1.	M	27	2	2,2
2.	F	38	1	1,4
3.	F	38	2	0,5
4.	M	29	2	1,2
5.	M	64	144	4,5
6.	M	29	5	0,5
7.	M	70	24	10,0
8.	M	43	3	1,0
9.	F	27	60	0,5
10.	M	45	2	12
11.	F	29	10	24
12.	M	59	1	24
13.	M	38	1	11
14.	M	32	3	12
15.	F	62	3	7,4
16.	M	39	48	2,8
17.	F	62	36	5,8
18.	F	22	3	5,4
19.	M	51	1	4,1
20.	M	29	1	0,6
21.	M	25	6	4,1
22.	M	63	36	4,7
23.	M	20	36	0,6
24.	M	55	12	3,9
25.	M	46	39	12
26.	M	46	8	1,1
27.	F	45	67	0,6
28.	M	58	1	5,1
29.	M	59	9	0,6
30.	F	24	6	12
31.	F	22	22	9,3
32.	F	43	2	0,5
33.	M	48	12	6,8
34.	F	53	12	9
35.	M	55	12	12
36.	F	46	12	0,7
37.	M	53	5	0,5
38.	M	33	1	12

**Quadro II – Distribuição dos controles segundo o sexo, a idade e as concentrações de IL-6.**

No.	SEXO	IDADE (a)	IL-6 (pg/mL)
1.	M	23	0,5
2.	M	39	0,6
3.	F	26	0,8
4.	M	26	0
5.	M	29	0,5
6.	M	25	0,6
7.	M	27	0
8.	M	30	0,5
9.	F	22	0,6
10.	M	26	0,6
11.	M	45	0,3
12.	F	26	0,5
13.	M	26	0,5
14.	F	24	0,6
15.	M	26	1,4
16.	F	27	0,6
17.	M	25	0,6
18.	M	19	0
19.	M	19	0,5
20.	M	20	2,8
21.	M	24	1
22.	M	29	0,8
23.	M	21	0,6
24.	M	31	0,5
25.	M	24	1,4
26.	M	19	0,6
27.	M	20	0,3
28.	M	50	2,7
29.	M	34	0,6
30.	M	22	0,6
31.	F	28	0,6
32.	M	31	1,2
33.	M	30	0,6
34.	M	23	2,6
35.	M	30	0,8
36.	M	22	2,6
37.	F	33	0,5
38.	M	19	0,5
39.	M	35	0
40.	M	26	0,6
41.	M	28	0,8

42.	M	20	0,5
43.	M	19	0,6
44.	M	23	0,2
45.	M	30	0,5
46.	M	21	0,3
47.	F	31	0,5
48.	F	29	0,5
49.	M	29	0,5
50.	M	28	0,5
51.	M	23	0,5
52.	M	23	0,5
53.	M	26	0,5
54.	M	27	0,4
55.	M	25	0,5
56.	F	24	0,5
57.	F	25	1,3
58.	M	35	0,5
59.	M	28	0
60.	F	25	0,5
61.	M	23	0,4
62.	M	30	0,2
63.	M	22	0,6