



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA
PROGRAMA ACADÊMICO DE TUBERCULOSE**

**PERFIL INFLAMATÓRIO, IMUNOGENÉTICO E DESNUTRIÇÃO EM
PACIENTES INTERNADOS COM TUBERCULOSE PULMONAR.**

ALESSANDRA STEFÂNIA DIAS RIBEIRO

RIO DE JANEIRO

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Ribeiro, Alessandra Stefânia Dias.

Perfil inflamatório, imunogenético e desnutrição em pacientes internados com tuberculose pulmonar / Alessandra Stefânia Dias Ribeiro. – Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Medicina, 2008. xiii, 95, f. : il. ; 31 cm.

Orientadores: Afrânio Lineu Kritski e Martha Maria de Oliveira

Dissertação (mestrado) – UFRJ/FM, Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Pneumologia, 2008.

Referências bibliográficas: f. 72-95

1. Tuberculose pulmonar - genética. 2. Tuberculose pulmonar – imunologia. 3. Imunogenética. 4. Desnutrição - complicações. 5. Fator de necrose tumoral alfa. 6. Proteína C-reativa. 7. Inflamação. 8. Humanos. 9. Pneumologia – Tese. I. Kritski, Afrânio Lineu. II. Oliveira, Martha Maria de. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, FM, Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Pneumologia. IV. Título.

ALESSANDRA STEFÂNIA DIAS RIBEIRO

PERFIL INFLAMATÓRIO, IMUNOGENÉTICO E DESNUTRIÇÃO EM
PACIENTES INTERNADOS COM TUBERCULOSE PULMONAR.

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Clínica Médica – Setor Ciências Pneumológicas da Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Afrânio Lineu Kritski

Dra Martha Maria de Oliveira

Rio de Janeiro

2008

PERFIL INFLAMATÓRIO, IMUNOGENÉTICO E DESNUTRIÇÃO EM
PACIENTES INTERNADOS COM TUBERCULOSE PULMONAR.

ALESSANDRA STEFÂNIA DIAS RIBEIRO

Orientadores: Dr. Afrânio Lineu Kritski

Dra. Martha Maria de Oliveira

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Clínica Médica – Setor Ciências Pneumológicas da Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovada em 10 de Dezembro de 2008.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Leila de Souza Fonseca

Prof. Dr. Paulo de Albuquerque Costa

Prof. Dr. Antônio Ruffino-Netto

Suplentes: Prof Dr. Maurício Afonso Verícimo e Dra. Fernanda C. Queiroz
Mello

Rio de Janeiro

2008

DEDICATÓRIA

A Deus, Nosso Pai Maior que nos criou e por sempre conceder várias oportunidades para nosso crescimento e felicidade.

Às pessoas que são a minha razão de viver: meu filho Arthur e marido Carlos Rogério.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer em primeiro lugar ao meu filho e marido que tiveram a paciência e me apoiaram nos momentos mais difíceis.

À minha família: meus pais pelo amor, dedicação e apoio durante todo o tempo; as minhas tias Zélia e Inês pelo amor e que sem elas nada disso teria sido possível; aos meus irmãos Ângelo e Brenda que amo muito; ao meu avô Joaquim, tia Celeste e Marielza pela amizade e carinho, mas principalmente a minha avó Emília, que sem ela eu nem teria chegado à faculdade.

Obrigada à minha orientadora Martha pela oportunidade e pelos ensinamentos que me fizeram crescer.

Obrigada ao meu orientador Afrânio pelos conselhos e ajudas nos momentos de dúvidas.

Um obrigado especial ao Prof. Ruffino que também foi essencial no desenvolvimento deste projeto.

Agradeço à minha grande e verdadeira amiga Paula pela ajuda, sempre fizemos tudo juntas em todos os momentos, desde a parte prática no laboratório até na hora da apresentação.

Obrigada aos colegas da Unidade de Pesquisa em Tuberculose: Érika, Marcelo, Raquel e principalmente o Fábio pelo apoio.

Aos meus amigos: Aparecida, Alexandre, Isabela e Rachel pelas alegrias e apoio nos momentos de decisões em que vocês sempre me apoiaram, incentivando com gestos ou palavras de carinho e amizade.

Agradeço à Capes pelo apoio financeiro.

“O homem perguntou ao Trabalho:

- Qual o elemento mais resistente que encontraste, observando a Natureza?

- A pedra, respondeu o Trabalho.

A água que corria brandamente em derredor, escutou o que se dizia e, em silêncio, descobriu um meio de pingar sobre a pedra e, com algum tempo, abriu-se grande brecha, através da qual a água passava de um lado para outro.

O homem anotou o acontecido e indagou da água sobre o instrumento que ela usara para realizar aquele prodígio.

A água humilde respondeu simplesmente:

- Foi a Paciência.”

EMMANUEL

PSICOGRAFIA: FRANCISCO CÂNDICO XAVIER

RESUMO

A tuberculose (TB) permanece como uma das maiores causas de mortalidade por doenças infecciosas no mundo. A desnutrição, HIV, condições sociais precárias estão associadas com a ocorrência de TB. A desnutrição afeta a imunidade mediada por célula responsável pela resposta imune do hospedeiro contra a TB. **Objetivos:** Em pacientes com TB pulmonar em tratamento medicamentoso, internados durante 60 dias, pretende-se: a) descrever as variações séricas da proteína C reativa (PCR), ácido úrico, VHS, TNF- α , contagem de linfócitos totais e CD4+ e o grau de desnutrição; b) descrever os marcadores imunogenéticos e resposta inflamatória no tratamento de TB..

Métodos: estudo descritivo e observacional entre pacientes classificados de acordo com seu status nutricional por meio do índice massa corporal (IMC) e área muscular do braço (AMB) e avaliados nos tempos 0 (inclusão no estudo), 30 dias e 60 dias. Foi realizada avaliação clínica, radiológica de tórax, baciloscopia, cultura, avaliação bioquímica e genética para genes reguladores de TNF- α e . PCR **Resultados e conclusões:** 25 pacientes foram incluídos. Para a análise nutricional, AMB se mostrou mais apropriada do que IMC. Níveis séricos inicialmente elevados de PCR, VHS, e ácido úrico diminuíram no seguimento, sobretudo nos pacientes desnutridos quando comparados com os pacientes eutróficos. Foram indetectáveis os níveis séricos de TNF α e polimorfismo no gene de TNF- α na região -238 foi identificado em 92% dos pacientes. Níveis séricos de PCR foram menores em pacientes com polimorfismo no exon 2 da PCR na posição 1059G>C identificado em 6 (24%) pacientes.

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) remains a major cause of mortality from infectious diseases in the world. Malnutrition, HIV and poor social conditions are associated with the occurrence of TB. Malnutrition affects the immune-mediated cells responsible for the host's immune response against TB. Objectives: In patients with pulmonary TB in drug treatment, hospitalized for 60 days, they were: a) to describe the changes of serum C-reactive protein (CRP), uric acid, ESR, TNF- α , total lymphocyte count and CD4 + and degree of malnutrition b) to describe the tracers immunogenetic and inflammatory response in the treatment of tuberculosis.

Methods: observational and descriptive study of patients classified according to their nutritional status through the body mass index (BMI) and arm muscle area (AMA) and assessed in time 0 (included in the study), 30 days and 60 days. We performed clinical evaluation, chest X-ray, smear, culture, biochemical and genetic evaluation for genes regulating TNF- α and CRP. Results and conclusions: 25 patients were included. For the nutritional analysis, AMB was more appropriate than BMI. Serum initially high CRP, ESR, and uric acid decreased after a while, especially in malnourished patients when compared with normal weight patients. Serum levels of TNF were undetectable and polymorphism in the gene TNF- α in the region -238 was identified in 92% of patients. Serum levels of CRP were lower in patients with polymorphism in exon 2 of CRP in position 1059G> C identified in 6 (24%) patients.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: VALORES DA PROTEÍNA C-REATIVA DE ACORDO COM A CATEGORIZAÇÃO DOS GRUPOS -----33

TABELA 2: PERFIL NUTRICIONAL E COMPORTAMENTO DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS DE ACORDO COM O IMC-----60

TABELA 2: PERFIL NUTRICIONAL E COMPORTAMENTO DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS DE ACORDO COM O AMB-----60

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1: RESULTADOS DE BAAR, CULTURA E RAIO-X DOS PACIENTES, CLASSIFICADOS DE ACORDO COM A UNIDADE HOSPITALAR E O GRAU DE DESNUTRIÇÃO AFERIDO PELOS DOIS MÉTODOS UTILIZADOS NESTE ESTUDO (IMC E AMB)-----44

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: GEL MOSTRANDO OS ALELOS NA GENOTIPAGEM DO TNF-A -238----37

FIGURA 2: GEL MOSTRANDO OS ALELOS NA GENOTIPAGEM DA PROTEÍNA C-REATIVA +1059-----38

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1: AVALIAÇÃO DOS PACIENTES POR IMC-----42

GRÁFICO 2: AVALIAÇÃO DOS PACIENTES POR AMB-----43

GRÁFICO 3: DOSAGEM DOS NÍVEIS SÉRICOS DE PROTEÍNA C-REATIVA EM MG/DL EM PACIENTES COM TB ESTRATIFICADOS DE ACORDO COM PERFIL DE DESNUTRIÇÃO AVALIADO PELO IMC-----46

GRÁFICO 4: DOSAGEM DOS NÍVEIS SÉRICOS DE ÁCIDO ÚRICO MG/DL EM PACIENTES COM TB ESTRATIFICADOS DE ACORDO COM PERFIL DE DESNUTRIÇÃO AVALIADO PELO IMC-----47

GRÁFICO 5: VARIAÇÃO DA VELOCIDADE DE HEMOSSEDIMENTAÇÃO EM PACIENTES COM TB ESTRATIFICADOS DE ACORDO COM PERFIL DE DESNUTRIÇÃO AVALIADO PELO IMC-----48

GRÁFICO 6: CONTAGEM DE LINFÓCITOS TOTAIS EM PACIENTES COM TB ESTRATIFICADOS DE ACORDO COM PERFIL DE DESNUTRIÇÃO AVALIADO PELO IMC --
-----49

GRÁFICO 7: CONTAGEM DE LINFÓCITOS CD4+ EM PACIENTES COM TB ESTRATIFICADOS DE ACORDO COM PERFIL DE DESNUTRIÇÃO AVALIADO PELO IMC--
-----50

GRÁFICO 8: DOSAGEM DE PROTEÍNA C-REATIVA MG/DLEM PACIENTES COM TB ESTRATIFICADOS DE ACORDO COM PERFIL DE DESNUTRIÇÃO AVALIADO PELO AMB-----51

GRÁFICO 9: VARIAÇÃO DO ÁCIDO ÚRICO MG/DL EM PACIENTES COM TB ESTRATIFICADOS DE ACORDO COM PERFIL DE DESNUTRIÇÃO AVALIADO PELO AMB-----52

GRÁFICO 10: DOSAGEM DA VELOCIDADE DE HEMOSSEDIMENTAÇÃO EM PACIENTES COM TB ESTRATIFICADOS DE ACORDO COM PERFIL DE DESNUTRIÇÃO AVALIADO PELO AMB-----53

GRÁFICO 11: CONTAGEM DE LINFÓCITOS TOTAIS EM PACIENTES COM TB ESTRATIFICADOS DE ACORDO COM PERFIL DE DESNUTRIÇÃO AVALIADO PELO AMB----- 54

GRÁFICO 12: CONTAGEM DE LINFÓCITOS CD4+ EM PACIENTES COM TB ESTRATIFICADOS DE ACORDO COM PERFIL DE DESNUTRIÇÃO AVALIADO PELO AMB----- 55

GRÁFICO 13: VALORES DA VELOCIDADE DE HEMOSSEDIMENTAÇÃO EM PACIENTES COM TB ESTRATIFICADOS DE ACORDO COM AS DOSAGENS DOS NÍVEIS DA PROTEÍNA C-REATIVA-----56

GRÁFICO 14: DOSAGENS DO ÁCIDO ÚRICO MG/DL EM PACIENTES COM TB ESTRATIFICADOS DE ACORDO COM AS DOSAGENS DOS NÍVEIS DA PROTEÍNA C-REATIVA-----57

GRÁFICO 15: CONTAGENS DE LINFÓCITOS TOTAIS EM PACIENTES COM TB ESTRATIFICADOS DE ACORDO COM AS DOSAGENS DOS NÍVEIS DA PROTEÍNA C-REATIVA----- 58

GRÁFICO 16: CONTAGENS DE LINFÓCITOS CD4+ EM PACIENTES COM TB ESTRATIFICADOS DE ACORDO COM AS DOSAGENS DOS NÍVEIS DA PROTEÍNA C-REATIVA-----59

GRÁFICO 17: RESULTADO DA GENOTIPAGEM DOS PACIENTES PARA O GENE DE TNF-A NA REGIÃO -238-----61

GRÁFICO 18: RESULTADO DA GENOTIPAGEM DOS PACIENTES PARA O GENE DE PROTEÍNA C-REATIVA NA REGIÃO +1059-----62

GRÁFICO 19: DIFERENÇA NOS NÍVEIS DA PROTEÍNA C-REATIVA QUANDO HÁ A PRESENÇA DO ALELO C COMPARADO À AUSÊNCIA DO ALELO C-----62

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

OMS – Organização Mundial e saúde

TB: Tuberculose

AIDS – Síndrome de imunodeficiência adquirida

IL-1 – Interleucina 1

IL-2 – Interleucina 2

TNF- α : Fator de necrose tumoral- α

IFN- γ : Interferon- γ

VHS: Velocidade de hemossedimentação

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IL-6 – Interleucina 6

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

RNI – Espécies reativas de Nitrogênio

ROI – Espécies reativas de oxigênio

NK – Células natural killer

IL-10: Interleucina-10

IL-12: Interleucina-12

Th1: Células T helper do tipo 1

PCR: Reação de polimerase em cadeia

BAAR: Bacilos Álcool-Ácido Resistentes

IMC: Índice de Massa Corporal

AMB: Área Muscular do Braço

SNPs – Polimorfismos de base única

NRAMP – Resistência natural associada à proteína macrofágica

IETAP – Instituto Estadual de Doenças do Tórax Ary Parreiras

HESM – Hospital Estadual Santa Maria

T0 – Tempo 0 (inclusão no estudo)

T30 – Tempo 30

T60 – Tempo 60

CB – Circunferência do braço

PCT – Prega cutânea tripicital

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	7
2.1	GERAL	7
2.2	ESPECÍFICOS	7
3	REVISÃO DA LITERATURA	8
3.1	EPIDEMIOLOGIA DA TB	8
3.2	TUBERCULOSE E DESNUTRIÇÃO	10
3.3	TUBERCULOSE E A RESPOSTA IMUNOLÓGICA	14
3.3.1	<i>Marcadores Inflamatórios</i>	18
3.4	IMUNOGENÉTICA E TUBERCULOSE	20
4	PACIENTE E MÉTODO	27
4.1	MODELO DE ESTUDO	27
4.2	PERÍODO DO ESTUDO	27
4.3	LOCAL DO ESTUDO	27
4.4	POPULAÇÃO DE REFERÊNCIA E POPULAÇÃO DE ESTUDO	27
4.4.1	<i>População de Referência</i>	27
4.4.2	<i>População de Estudo</i>	28
4.5	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	28
4.6	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	28
4.7	INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS	29
4.8	CONTROLE DE QUALIDADE	30
4.9	AVALIAÇÕES ANTROPOMÉTRICAS	30
4.8.1	<i>Índice de Massa Corporal</i>	30
4.8.2	<i>Prega Cutânea Tricipital</i>	31
4.8.3	<i>Circunferência Muscular do Braço</i>	31
4.8.4	<i>Área Muscular do braço (AMB)</i>	32
4.10	CATEGORIZAÇÃO DE GRUPOS DE ACORDO COM O NÍVEL DE PROTEÍNA C-REATIVA	33
4.11	ANÁLISES BIOQUÍMICAS E SOROLÓGICAS	33
4.11.1	<i>Linfócitos</i>	34
4.11.2	<i>CD4+</i>	34
4.11.3	<i>PROTEÍNA C-REATIVA</i>	Erro! Indicador não definido.
4.11.4	<i>Ácido Úrico</i>	34
4.11.5	<i>VHS</i>	35
4.11.6	<i>Análise Quantitativa (Elisa) para TNF-α no sangue circulante.</i>	35
4.12	BIOLOGIA MOLECULAR	36
4.12.1	<i>Extração de DNA</i>	36
4.12.2	<i>Amplificação do DNA por PCR e genotipagem</i>	36
4.12.3	<i>Aspectos Éticos</i>	38
4.12.4	<i>Análise dos dados</i>	38
4.12.5	<i>Definição de Termos</i>	38
4.12.6	<i>Coleta de Dados e Processamento das Amostras</i>	40
5	RESULTADOS	41
5.1	AVALIAÇÃO NUTRICIONAL	41
5.1.1	<i>Classificação do perfil de desnutrição por IMC</i>	42
5.1.2	<i>Classificação do perfil de desnutrição por AMB</i>	42
5.2	PERFIL NUTRICIONAL E BACTERIOLÓGICO DOS PACIENTES	44
5.3	AVALIAÇÃO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS	45
5.3.1	<i>Estratificação dos grupos de acordo com IMC</i>	46
5.3.1.1	<i>Proteína C Reativa</i>	46
5.3.1.2	<i>Ácido Úrico</i>	47
5.3.1.3	<i>Velocidade de Hemossedimentação (VHS)</i>	47
5.3.1.4	<i>Contagem de linfócitos totais</i>	48
5.3.1.5	<i>Contagem de linfócitos CD4+</i>	49
5.3.1.6	<i>Dosagem de TNF-α sérico</i>	50

5.3.2	<i>Estratificação dos grupos de acordo com a AMB</i> -----	50
5.3.2.1	Proteína C Reativa -----	50
5.3.2.2	Ácido Úrico -----	51
5.3.2.3	Velocidade de Hemossedimentação (VHS)-----	52
5.3.2.4	Contagem de linfócitos Totais -----	53
5.3.2.5	Contagem de linfócitos CD4+-----	54
5.3.2.6	Dosagem de TNF- α sérico -----	55
5.4	ESTRATIFICAÇÃO DOS GRUPOS DE ACORDO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE PROTEÍNA C- REATIVA -----	55
5.4.1	<i>Velocidade de Hemossedimentação</i> -----	55
5.4.2	<i>Ácido úrico</i> -----	56
5.4.3	<i>Contagem de linfócitos totais</i> -----	57
5.4.4	<i>Contagem de linfócitos CD4+</i> -----	58
5.4.5	<i>Dosagem de TNF-α</i> -----	59
5.5	TABELAS COM AS DIFERENÇAS ENCONTRADAS DESNUTRIÇÃO VERSUS MARCADORES INFLAMATÓRIOS-----	59
5.6	AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE POLIMORFISMOS NA REGIÃO PROMOTORA DOS GENES QUE CODIFICAM PARA TNF- α REGIÃO -238 E PROTEÍNA C REATIVA - 1059-----	61
6	DISCUSSÃO -----	63
6.1	STATUS NUTRICIONAL E INFLAMAÇÃO-----	64
6.2	AVALIAÇÃO GENÉTICA DOS MEDIADORES INFLAMATÓRIOS -----	67
7	CONCLUSÕES -----	69
8	LIMITAÇÕES DO ESTUDO -----	70
9	PERSPECTIVAS DO ESTUDO -----	71
10	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	72

1 Introdução

A tuberculose (TB) humana é uma doença infecto-contagiosa causada por um bacilo aeróbico, pertencente ao complexo *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti* e *M. pinnipedii*). As duas principais espécies causadoras da TB em humanos são *M. tuberculosis* e *M. bovis* (Addo e cols. 2007).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), um terço da população mundial está infectada por *M. tuberculosis* (WHO 2007) e há um aumento na incidência global de 1% todo ano, com 9,2 milhões de casos novos e cerca de 1,7 milhões de mortes sendo registradas no mundo anualmente, representando uma incidência de 139 casos por 100.000 habitantes.

Em 1993, a OMS considerou a TB como uma emergência global, e com o objetivo de detectar 70% dos casos de TB e curar 85% daqueles identificados, propôs a adoção de modelos variados de tratamento supervisionado (DOT) incluídos na estratégia DOTS. Esta estratégia que foi mundialmente adotada na última década, proporcionou a elevação das taxas de cura em diversos lugares, entretanto, ela tem obtido variável e limitado sucesso em reduzir as taxas de incidência da TB e de resistência aos fármacos anti-TB, nos países em desenvolvimento, principalmente em grandes metrópoles e em locais com elevada prevalência de infecção por HIV.

Estima-se a ocorrência de 10 milhões de casos novos anuais a partir de 2010 (WHO, 2000), e tornou-se consenso que este cenário é resultante do advento da infecção por HIV, da deterioração das condições sócio-econômicas e conseqüente miséria de parte da população mundial, da elevação da taxa de abandono do tratamento anti-TB e menor efetividade do tratamento

medicamentoso seguido de aumento da TB multiresistente. (Kritski e Ruffino-Netto, 2000)

Em nível mundial, o Brasil ocupa o 16º lugar no ranking entre os 22 países com 80% da carga de TB. De acordo com dados do Programa Nacional de Controle da Tuberculose (PNCT) do Ministério da Saúde (MS) do Brasil, o número de casos notificados de TB diminuiu na década de 90, mas manteve-se estável a partir de 2001, em regiões de elevada taxa de co-infecção por HIV. Em nosso meio, estima-se uma prevalência de 50 milhões de infectados pelo bacilo sendo a TB a nona causa de ingresso hospitalar e a quarta causa de mortalidade por enfermidades infecciosas. (WHO 2007).

No ano de 2006, segundo os dados coletados no Sistema de Informação de Agravos Notificados (SINAN - 2006) foram registrados 83.293 casos de TB ativa. Destes, cerca de 60% ocorreram nas regiões metropolitanas das capitais e do Distrito Federal. As taxas de incidência foram maiores nas regiões Nordeste, Sudeste e Sul. Estima-se uma sub-notificação de 20 a 30%, o que elevaria a incidência próximo de 100 mil casos novos/ano (SINAN 2006).

No Município do Rio de Janeiro, onde ocorreu a implantação da estratégia do tratamento supervisionado (DOTS) em algumas regiões desde 1998, no período de 2001 a 2006, considerando todos os casos de TB, houve uma redução de 13,7% de casos novos e de 39,7% de casos de retratamento, As maiores taxas de incidência de TB na cidade do Rio de Janeiro ocorreram em indivíduos do sexo masculino e na população na faixa etária entre 20 e 59 anos (Secretária Municipal de Saúde do Rio de Janeiro 2007).

Similar ao descrito em nível mundial, no Brasil há uma tendência da TB ocorrer em maior frequência nas áreas metropolitanas, e cerca de 20% a 48%

dos casos de TB notificados, são oriundos de Unidades Hospitalares; Unidades de Saúde que usualmente não tem profissionais treinados para detecção precoce e tratamento da TB. Estas regiões se caracterizam pelos piores índices de desenvolvimento humano (IDH), com elevado nível de pobreza, desemprego e más condições de moradia, e a maioria dos pacientes com TB grave, usualmente com desnutrição em grau elevado, é diagnosticada de modo tardio em hospitais gerais ou de referência, e apresenta elevada taxa de mortalidade (Selig e col. 2003).

Análise dos casos de óbitos notificados no sistema de mortalidade (SIM) em 1998 no Rio de Janeiro mostrou que 85,4% dos casos ocorreram em hospitais e que 60% destes não foram notificados no sistema de notificação de casos de TB do Programa Estadual do Rio de Janeiro (SINAN) (Selig 2003). No estado de São Paulo, todos os pacientes sob atendimento ambulatorial que evoluíram para óbito foram notificados no SIM e SINAN. Entretanto, entre os casos atendidos em hospitais que faleceram, apenas 35% foram notificados no SINAN (Governo Estado de São Paulo, 2008)

Em hospitais, cerca de dois terços dos casos de óbito TB estão associados a HIV/AIDS, sob formas clínico-radiológicas de difícil diagnóstico: atípicas ou formas disseminadas (Coovadia, e cols 1998): Além disso, assim como HIV, nestas Unidades de Saúde, a TB está associada à desnutrição (Scalcini e cols 1991; Klausner e cols, 1996). Em estudo realizado em dois hospitais gerais no município do Rio de Janeiro, em 2006 a 2007, entre 69 pacientes que evoluíram para óbito e tinham sintomas respiratórios, em 36% o tempo médio entre a admissão e óbito foi superior a 48h e, em 49% não foi

solicitado baciloscopia de escarro, em 94% não foi solicitada cultura para micobactéria, e 40% não tinham iniciado tratamento anti-TB. (Selig, 2008)

No estado de São Paulo, Santo e cols 2003 enfatizaram uma alarmante elevação nas taxas (20%) de caquexia e/ou de desnutrição em pacientes co-infectados TB/HIV. O estado de desnutrição pode levar a caquexia, que é evidenciada por perda excessiva de peso e massa muscular, entretanto, somente o estado nutricional pode não ser responsável pela ocorrência de caquexia.

No estado do Rio de Janeiro, Oliveira e cols (2006), num estudo retrospectivo sobre o perfil de 351 pacientes com TB internados no Hospital Estadual Santa Maria (referência para TB), observaram que 35,6% deles apresentavam caquexia no momento da internação. Alguns autores sugerem que entre os maiores causadores da caquexia, as citocinas pró-inflamatórias podem desempenhar um papel central na imunomodulação, além de sua implicação na etiologia da anorexia, perda de peso e disfunção cognitiva (Roubenoff e cols 2003; Wilkinson e cols 2003).

Passou a ser considerado prioritário, portanto, nas Unidades Hospitalares, nestas regiões de elevada prevalência de TB, como nos grandes centros urbanos no Brasil, uma abordagem mais propositiva na análise dos fatores associados ao desenvolvimento da TB infecção/doença nas formas graves. Tal abordagem deve não só incluir fatores ligados ao micróbio, mas também de fatores ligados ao hospedeiro e aos aspectos nutricionais.

A desnutrição observada entre pacientes com TB pode estar associada à diminuição na ingestão de alimentos devido à falta de apetite, à incapacidade de adquirir alimentos ou ainda à diminuição na absorção de micronutrientes

(Theodore Niyongabo e col. 1998; Neil Metcalfe, 2005). A desnutrição *per se* causa uma imunodepressão, presente em pacientes com TB, especialmente aqueles portadores de co-morbidades como infecção por HIV, e está associada com elevada taxa de morbi/mortalidade (Nunn e cols, 1992; Süttmann e cols 1995). A inflamação sistêmica observada nestes pacientes desnutridos é mediada por meio da ativação do sistema imune, com uma produção excessiva de citocinas, como a interleucina-1 (IL-1), IL-2, interferon- γ (IFN- γ) e TNF- α (Murray e cols, 1984; Macallan e cols 1992). Seguindo ao processo inflamatório uma resposta de fase aguda, é observada a elevação de mediadores importantes como a Proteína C reativa (PCR), uma proteína sintetizada pelo fígado em resposta às citocinas, para combater a invasão de antígenos e que reflete uma resposta inflamatória sistêmica (Wigmore e cols. 1998). Em paralelo, há descrição de elevados níveis séricos de ácido úrico, marcador de inflamação para doenças cardiovasculares (Leyva e cols. 1998), que recentemente, também tem sido descritos níveis elevados em pacientes com TB pulmonar.

Apesar da elevada prevalência de TB e desnutrição entre pacientes soropositivos para HIV, são escassos os dados sobre o estado nutricional de pacientes co-infectados por TB/HIV em países em desenvolvimento como o Brasil. As informações descritas referem-se apenas na antropometria e albuminemia (Nunn e cols, 1992; Harries e cols, 1988, Kennedy e cols, 1996). Além disso, os fatores associados à variação inter-individual na susceptibilidade a Infecção/doença da TB ainda é pouco entendida. Acredita-se que fatores genéticos tenham um papel importante no controle da susceptibilidade ao bacilo da TB e possivelmente também nos fatores

associados à ocorrência de caquexia e desnutrição, observada nestes pacientes. O conhecimento dos genes envolvidos nestes processos e as interações dentro dos padrões de resposta imune poderão auxiliar na identificação de melhores marcadores de proteção contra a ocorrência de TB, e TB/HIV (Ottenhoff e cols, 2005).

O impacto negativo da desnutrição na diminuição da qualidade da resposta imunitária humana face aos diferentes patógenos foi claramente demonstrada, especialmente em condições extremas, em diversos modelos de experimentação animal (Mainali & McMurray, 1998). Entretanto, os mecanismos por meio dos quais a desnutrição interfere na resposta imunitária humana permanecem pouco conhecidos. No interesse de contribuir para o esclarecimento destes mecanismos, realizamos um estudo longitudinal, onde foram incluídos pacientes com TB pulmonar ativa, em diferentes graus de desnutrição, internados em dois hospitais de referência no Estado do Rio de Janeiro, e acompanhados durante 60 dias. Neste período, avaliou-se a evolução clínico-radiológica e bacteriológica, a variação nos níveis séricos de alguns importantes marcadores inflamatórios e imunológicos e sua possível relação com polimorfismos genéticos em genes da resposta pró – inflamatórias.

2 Objetivos

2.1 Geral

Identificar potenciais marcadores inflamatórios e imunogenéticos e associá-los à gravidade da tuberculose pulmonar em pacientes internados classificados em diferentes graus de desnutrição durante a evolução clínico-radiológica em pelo menos 60 dias de internação hospitalar.

2.2 Específicos

- i) descrever os níveis séricos de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), proteína c-reativa e a velocidade de hemossedimentação (VHS) (marcadores inflamatórios), assim como a contagem dos linfócitos totais e CD4+;
- ii) descrever a variabilidade genética nos genes de TNF- α e proteína C reativa e a sua relação com os níveis séricos;
- iii) descrever a associação entre as diferentes medidas das variáveis citadas acima com a gravidade clínica/desnutrição/inflamação em pacientes com TB pulmonar.

3 Revisão da Literatura

3.1 Epidemiologia da TB

A TB é uma enfermidade infecto-contagiosa de evolução lenta, cerca de 5-6 milhões de casos ocorreram em pessoas na faixa etária de 15-49 anos na década de 90, sendo o maior número de óbitos concentrado no grupo com idade economicamente ativa (70 a 80% dos casos) (Aisu e cols, 1995; Narain e cols 1992).

A distribuição geográfica da TB em relação à incidência, ainda hoje varia muito dependendo das condições ambientais tais como estilo de vida, condição sócio-econômica, exposição ocupacional, e infecção por HIV, como também de fatores genéticos e ambientais (WHO, 2002).

O indivíduo infectado por *M. tuberculosis* apresenta um risco de desenvolver a forma ativa de TB de 5 a 10% ao longo de sua vida (Aisu e cols, 1995; Narain e cols 1992). Embora cerca de 90% das pessoas infectadas imunocompetentes jamais desenvolvam a doença, eles permanecerão sob risco, dependendo da capacidade de seu sistema imune de impedir que o bacilo se multiplique no interior de seu organismo. Esta evolução natural da TB latente foi dramaticamente modificada após o advento da pandemia de AIDS. A disfunção imune decorrente da infecção por HIV aumenta o risco de reativação de TB latente de 5 a 15% por ano em pacientes co-infectados comparados ao portador imunocompetente (Cahn e cols, 2003). Assim, parece claro que a relativa incapacidade do nosso sistema imune em esterilizar uma lesão de TB após a infecção primária contribui para a persistência da infecção latente, e um risco de reativação, principalmente em regiões de elevada prevalência de infecção por HIV, resultando no aumento da TB em nível mundial (Ho, 1997).

Nas Américas foram registrados cerca de 235.000 casos de TB entre 2001 e 2002, sendo que o Brasil ficou em 1º lugar com 79.251 casos seguido do Peru com 38.661 e México com 18.879 casos (WHO 2002).

Segundo dados do IBGE, o Brasil possui cerca de 180 milhões de habitantes e um Sistema Federativo estruturado em três áreas político-administrativas; União, composta por 27 Estados, 5.560 Cidades e um Distrito Federal e segundo as estimativas da OMS ocupa o 16º lugar num grupo composto por 22 países que são responsáveis por cerca de 80% dos casos de TB no mundo (WHO 2007).

No Brasil, o problema da TB reflete o estágio de desenvolvimento social do país. Os determinantes do estado de pobreza (desigualdades sociais), as deficiências de organização do Sistema de saúde, as decisões equivocadas de gestão e a baixa priorização para os verdadeiros problemas da população brasileira limitam o uso da tecnologia disponível, ou mesmo da avaliação de novas tecnologias mais apropriadas para atual realidade e, por conseqüência, inibem a queda efetiva dos índices das doenças marcadas pelo contexto social, como a TB. Esforços em controlar a TB em nível nacional têm sido insuficientes para conter o crescimento do número de casos e o aparecimento de cepas resistentes às drogas, principalmente em grandes centros urbanos e em especial em ambientes fechados como hospitais, prisões. (Kristki e Ruffino-Netto 2000)

No Brasil, segundo dados obtidos no SINAN-TB em 2006, foram notificados 83.293 casos de TB ativa. A estratégia DOTS foi mencionada em Unidades de Saúde que notificaram 65.669 (78%) dos casos notificados. O abandono do tratamento anti-TB foi maior em Unidades de Saúde que não adotaram a

estratégia DOTS (11,8%; 1924/16347) em comparação com Unidades de Saúde que adotaram a DOTS (8,7%; 5631/64057). Em grandes metrópoles, como RJ e SP, 28% a 32% dos casos de TB são notificados em hospitais, com letalidade de TB superior a 30%, usualmente associada ao HIV/AIDS, outras co-morbidades e desnutrição.

No Estado do Rio de Janeiro, no período de 2001 a 2006, foram notificados respectivamente 1268 e 1203 pacientes co-infectados por TB e HIV. Para 45% destes pacientes, o diagnóstico e a notificação ocorreram em nível hospitalar, em sua grande maioria com apresentação clínica e nutricional de elevada gravidade. (Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro, 2007)

Na cidade do Rio de Janeiro, em 2006, entre 5139 casos novos de TB, 2272 (44%) iniciaram o tratamento sem confirmação bacteriológica [1129 com baciloscopia negativa (21%) e 1143 (22%) não realizaram baciloscopia. Em 2005, ao nível nacional a taxa de mortalidade por TB era de 3,1/100,000hab e no Estado do Rio de Janeiro de 5.2/100.000hab, correspondendo a 793 pacientes que evoluíram para o óbito. Análise detalhada de 74 óbitos por TB ocorridos em dois hospitais gerais com emergência, mostrou que em nenhum caso foi solicitada a cultura para micobactéria, e a maioria apresentava desnutrição grave. (SINAN -TB)

3.2 Tuberculose e Desnutrição

Em 2004, Kornman KS e cols 2004, ao descreverem o termo nutrigenômica e suas aplicações, de modo original, sugeriram que o papel da desnutrição e da inflamação na ocorrência de determinadas enfermidades e na sua taxa de morbi/mortalidade deveriam ser revalorizadas como uma nova abordagem nos estudos imunogenéticos e clínico-epidemiológicos. Pois foi

demonstrado que o uso de diferentes componentes na dieta, poderia ativar fatores de transcrição específicos diretamente ou indiretamente por meio da alteração do estado de oxidação/redução das células do hospedeiro. Tais interações promovem modificações no perfil de expressão de alguns genes que codificam para diferentes citocinas envolvidas no processo efetivo inflamatório e anti-inflamatório e podem desempenhar um papel importante no desenvolvimento e evolução de determinadas enfermidades (Kornman e cols, 2004).

O diagnóstico da desnutrição passou a ser considerado de elevada importância na abordagem diagnóstica e terapêutica dos doentes (Correa e cols, 1998). A desnutrição protéico-calórica afeta o sistema imunológico em todas as suas etapas causando um complexo de imunodeficiência secundária (Correa e cols, 2002). Entretanto, são escassos os estudos que analisaram de modo distinto o papel da desnutrição e da resposta inflamatória nos pacientes com doenças infecciosas (Duarte 2003).

A maioria dos estudos refere-se às intervenções nutricionais específicas, como uma avaliação nutricional e o uso de terapias como a Nutrição Enteral (NE) e a Nutrição Parenteral Total (NPT) com a finalidade de reduzir o impacto da desnutrição que, freqüentemente, acomete os pacientes hospitalizados com infecções graves por germes inespecíficos (Waitzberg 2000).

Mais recentemente, estudos realizados em humanos demonstraram que o estado nutricional é de fato relevante na susceptibilidade à infecção tuberculosa (Cegielski e col, 2004). É importante ressaltar que, a desnutrição e a resposta inflamatória em pacientes com TB pulmonar podem resultar do impacto do processo infeccioso instalado e/ou pode ser fator predisponente

para a ocorrência de formas grave e maior morbi/mortalidade. Pois, o processo infeccioso caracteriza-se por anorexia, deficiência na absorção intestinal de nutrientes, aumento do catabolismo e de citocinas tipo TNF- α e IL-6. Tais citocinas induzem a febre, a síntese hepática de proteínas de fase aguda e subsequente inibição da produção de albumina, diminuição grave de ferro sérico e de certos micronutrientes essenciais: zinco, vitamina A, retinol sérico e outros (Ginzburg e col. 1990; Beisel e col, 1990; Mitra e col, 1998; Taneja e col. 1990, Ownbalii e col, 1998; Karyad e col, 2000; Mugusi e col, 2003).

Em 2004, em um estudo transversal realizado em Malawi, 319 pacientes com TB pulmonar, a desnutrição esteve associada significativamente com a ocorrência de formas graves (Van Lettow e cols, 2004)

Nyongabo e cols 1999 avaliaram medidas antropométricas e bioquímicas em pacientes com TB em Burundi e identificaram que pacientes co-infectados com o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) apresentavam pior prognóstico associado à desnutrição. No Sri Lanka, Metcalfe (Neil Metcalfe, 2005) observou que pacientes com TB apresentavam elevado grau de desnutrição. Um estudo conduzido no Brasil, constatou que 77% dos pacientes com diagnóstico de TB encaminhados para atendimento em um Hospital Universitário, num período de 6 meses, apresentavam sinais e sintomas de desnutrição quando submetidos a uma técnica de avaliação subjetiva (Cardoso e cols 2004).

Caquexia, uma desnutrição grave, é classificada como um “status” metabólico complexo com perda progressiva de peso e depleção das reservas do hospedeiro, tecido adiposo e músculo esquelético. Caquexia é caracterizada por perda involuntária de peso maior do que 15% num período de 6 meses

(Inui 2002). Além das mudanças metabólicas, a caquexia pode estar associada com anorexia em pacientes com TB que podem ter interferências mecânicas como obstrução, assim como toxicidade relacionada ao uso dos medicamentos anti-TB. Pacientes recebendo quimioterapia que apresentam náuseas, vômitos e diarreia podem também evoluir com perda de peso. (Tisdale 2001)

A produção elevada de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 e TNF- α são associadas com indução de caquexia, anorexia, perda de peso e disfunção cognitiva. (Roubenoff e cols, 2003; Wilkinson e cols, 1999). As citocinas são proteínas produzidas por células inflamatórias que funcionam como mediadores parácrinos intracelulares. O processo inflamatório, que se segue à infecção por *M. tuberculosis*, ativa uma série de vias de produção de citocinas (Kotler 2000). As citocinas também ativam o sistema proteolítico mediado por ubiquitina que é o maior sistema envolvido em doenças relacionadas ao hipermetabolismo (Mitch e cols 1996). Ubiquitina é um polipeptídeo altamente conservado de 76 aminoácidos que ativam proteínas específicas no músculo esquelético (Shintani e cols, 1995; Pende e cols 1990;).

Citocinas também estimulam a liberação do cortisol e catecolaminas da glândula adrenal. Cortisol promove a propagação da atividade de sistemas ubiquitina–proteossoma e catecolaminas levando a um aumento no grau metabólico restante. Citocinas induzem lipólise e β -oxidação. A atividade de gorduras e lipoproteína lipase do fígado diminui, enquanto atividade de receptores de LDL nos hepatócitos aumenta (Liao e cols, 1994; Feingold e cols, 1994). Todos estes processos resultam em um balanço negativo de energia e perda de peso (Kotler 2000).

3.3 Tuberculose e a Resposta Imunológica

Uma interação coordenada entre a resposta inata e a adaptativa é essencial ao combate à tuberculose. (Ferraz e cols. 2006).

M. tuberculosis é um patógeno intracelular obrigatoriamente aeróbico que tem uma predileção pelo tecido pulmonar rico em oxigênio. O bacilo entra no organismo na via respiratória e pode se espalhar a partir do pulmão, por meio dos vasos linfáticos ou sanguíneos, para outras partes do corpo. A TB extrapulmonar da pleura, linfáticos, ossos, sistema genito-urinário, meninges, peritônio, ou pele ocorre em cerca de 15 por cento do total de pacientes com tuberculose (Raja A. 2004).

A fagocitose de *M. tuberculosis* por macrófagos alveolares é o primeiro evento na relação hospedeiro-agente patogênico que decide o desfecho da infecção. Dentro de 2 a 6 semanas de infecção, a imunidade mediada por células se desenvolve, seguido de um influxo de linfócitos e macrófagos ativados na lesão, o que resulta na formação do granuloma. (Raja A. 2004)

Granulomas são formados pelo agrupamento de células mononucleares que foram recrutadas para os locais da infecção formando uma estrutura complexa. (Volkman e cols. 2004). As quimiocinas contribuem para a migração e localização assim como na diferenciação da resposta mediada por células T. (Flynn e cols. 2001) e juntamente com moléculas de adesão são importantes na formação do granuloma, que contém principalmente macrófagos, células epitelióides e células gigantes multinucleadas (MGC), também chamadas células gigantes de Langhans. (Saunders e Cooper 2000; Toossi e Ellner 2001)

Sua principal função é conter a infecção evitando, assim que as bactérias se espalhem em torno de tecidos saudáveis e de outros órgãos, além de

concentrar a resposta imunológica numa área infecciosa delimitada. (Ulrichs e Kaufmann 2006; Flynn e Chan 2005)

Os macrófagos mortos ficam retidos no centro do granuloma, onde ocorre a formação do “*caseum*”, devido à liquefação do tecido. Os bacilos também podem permanecer no interior do granuloma durante décadas, serem reativados mais tarde ou podem ser eliminados pelas vias aéreas após um enorme aumento de tamanho e necrose dos brônquios (Raja A. 2004). A TB doença aparece após a eclosão dos bacilos em crescimento e a ruptura do granuloma o que leva às cavitações pulmonares (Ulrichs e Kaufmann 2006; Flynn e Chan 2005).

A interação macrófagos-micobactéria e o papel dos macrófagos na resposta imunológica ocorrem da seguinte forma: macrófago adere à superfície de *M. tuberculosis*, é internalizado por meio de fagossoma, seguido da fusão do fagossoma com o lisossoma, com subsequente morte ou inibição da multiplicação bacilar, e, recrutamento de células de resposta inflamatória local e apresentação de antígenos às células T para o desenvolvimento da imunidade adquirida (Raja A. 2004).

O controle da infecção por *M. tuberculosis* é baseado na resposta por células do tipo Th1 induzido pela produção de IL-12, que por sua vez induz a fagocitose do bacilo pelos macrófagos e células dendríticas. A resposta imune adquirida contra a micobactéria envolve os linfócitos T ativando os macrófagos, com consequente liberação de citocinas como o interferon- γ (IFN- γ) e TNF- α . (Flynn e cols. 2001). Estas citocinas são importantes na ativação celular, formação de granulomas: a) o TNF- α funciona como um gatilho para a expressão de quimiocinas por macrófagos que trazem células para o local da

infecção (Ferraz e cols, 2006); b) o IFN- γ é uma citocina importante no controle de *M. tuberculosis*, ele é produzido tanto por células CD4+ como CD8+ e apesar de ativar macrófagos, sua produção isolada parecer ser insuficiente para controlar a micobactéria. (Flynn e cols. 2001).

Em estudos *in vitro*, TNF- α e IFN- γ induzem macrófagos murinos a produzir substâncias microbidas. Estas citocinas atuam sinergicamente e ativam o mecanismo responsável pela produção de óxido nítrico e espécies reativas de nitrogênio (RNI) por macrófagos através da ativação de uma enzima chamada óxido nítrico sintase (NOS2): essas citocinas ativam a expressão da cascata geradora de RNI. (Flynn e cols. 2001). Espécies reativas de nitrogênio (RNI) e de oxigênio (ROI) produzidas por macrófagos são importantes defesas contra a invasão da micobactéria. (Máster e cols. 2002). Quando ativados por linfócitos estimulados, os macrófagos são capazes de liberar produtos com atividade micobactericida. O peróxido de hidrogênio (H₂O₂), uma das espécies intermediárias reativas de oxigênio (ROI) gerada pelos macrófagos via “burst” oxidativa foi a primeira molécula a ter os efeitos descritos. IFN- γ foi identificada como o desencadeador dessa atividade microbida nos macrófagos murinos. (Flynn e cols. 2001).

O óxido nítrico e seus metabólitos representam uma das maiores defesas antimicrobiana dos macrófagos. Outro mecanismo de defesa antimicrobiana é baseado na transferência de um elétron a partir do NADPH a uma molécula de oxigênio pela enzima NADPH-oxidase. (North e Jung 2004).

Camundongos depletados para o gene de NOS2 (enzima responsável pela produção de óxido nítrico) são incapazes de se defenderem da infecção

contra *M. tuberculosis*, enquanto que camundongos que não produzem a NADPH-oxidase apenas se mostraram mais susceptíveis. (North e Jung 2004).

O TNF α é uma citocina pró-inflamatória com uma longa história na investigação científica da patogênese da TB. É primariamente produzida por fagócitos mononucleares derivados de monócitos e tem efeitos pleiotrópicos na resposta imune do hospedeiro a microorganismos. Acredita-se que esta citocina desempenhe uma ampla gama de atividades biológicas incluindo ativação e diferenciação de macrófago e monócitos, induzidos pela expressão de moléculas de adesão (ELAM-1 e ICAM-1) em células endoteliais, favorecendo a migração de leucócitos, neutrófilos e células NK aos sítios inflamatórios (Vassali, 1992). TNF- α é capaz de induzir a produção de radicais intermediários de oxigênio e nitrogênio e de regular a expressão de MHC de classe II na superfície de membrana dos monócitos. Pode também atuar regulando fatores envolvidos nos processos de coagulação, fatores hematopoiéticos, necrose hemorrágica, formação de granuloma e possivelmente indução de estados inflamatórios persistentes (Vassali, 1992). Produzido em quantidades apropriadas, TNF - α pode ter um efeito protetor e potencialmente importante na resposta a infecções bacterianas e parasitárias. É um mediador essencial nas respostas inflamatórias, tendo efeitos no remodelamento tecidual, na proliferação e na viabilidade celular. (Vassali, 1992). Para limitar a resposta inflamatória, citocinas antiinflamatórias como o TGF- β , e IL-10 são requeridas. (Wilkinson e cols. 1999).

3.3.1 Marcadores Inflamatórios

Algumas proteínas são usadas como marcadores da resposta inflamatória, como a proteína C-reativa (PCR), cuja elevação nos níveis séricos é considerada um indicador de resposta de fase aguda. A proteína c-reativa foi descoberta em 1930 por Tillet e Francis durante seus estudos de pacientes com pneumonia aguda. A proteína c-reativa humana consiste de 5 subunidades de 206 aminoácidos com ligações não covalentes. A molécula tem uma face ligante que contém um sítio dependente de Ca^{2+} e uma face capaz de ativar as cascatas do sistema complemento e também a imunidade mediada por células por meio de sua ligação ao receptor Fc da imunoglobulina G. O aumento dos níveis séricos de proteína c-reativa após uma lesão no tecido é rápida e robusta, cujos níveis aumentam em 1000 vezes em apenas 24 horas. Esta característica faz da proteína c-reativa um marcador clínico do estado geral de saúde do paciente e tem sido usado há décadas (Hage e cols. 2007).

Na resposta imune aguda, uma vez ativados, os leucócitos iniciam a produção de diferentes citocinas e principalmente a IL-6 junto com a IL-1 estimulam os hepatócitos a produzir RNAm para produção de proteínas de fase aguda (fibrinogênio, proteína c-reativa, etc). (Santos W.B. e cols 2003 ; Hage e cols. 2007).

Em um estudo realizado em 1966 por Haghghi e cols, foi demonstrado que a proteína c-reativa é elevada em pacientes com TB grave e diminui de acordo com o transcorrer do tratamento.

Por outro lado a proteína c-reativa apresenta ação antiinflamatória ao inibir a adesão de neutrófilos e células endoteliais por meio da inibição da

expressão de moléculas de adesão e da produção de superóxido pelos neutrófilos e, também ao estimular a síntese de antagonista do receptor de IL-1 pelos monócitos. (Santos W.B. e cols 2003).

Outro marcador inflamatório comumente descrito é o ácido úrico. (Leyva e cols. 1998). A constatação da hiperuricemia em doenças crônicas do coração surgiu no contexto de um crescente reconhecimento de que a insuficiência cardíaca crônica está associada com inflamação crônica, como sugerida pelas elevações nas citocinas circulantes (Levine e cols. 1990; Anker e cols. 1997) e seus receptores solúveis (Ferrari e cols 1995; Anker e cols. 1997), além de aumento dos níveis de moléculas aderência (Tsutamoto e cols. 1995). Assim, vários estudos têm ligado o metabolismo do ácido úrico a uma resposta inflamatória (Leyva e cols. 1998). A xantina oxidase, que converte hipoxantina e xantina ao ácido úrico, é um importante mediador da inflamação (Hellsten e cols 1997). A capacidade de xantina oxidase para gerar superóxido radicais livres (Ashraf e Samra 1993; Lazzarino e cols. 1994) é importante no estímulo a expressão das moléculas de aderência aos leucócitos (Sluiter e cols. 1993) e na ativação (Grum e cols. 1990; Gaboury e cols. 1993) e aderência de leucócitos a endotélios danificados (Ferrel e cols. 1992; Ricevuti e cols. 1991).

É possível também avaliar infecção e inflamação sistêmica indiretamente utilizando a velocidade de hemossedimentação (VHS). Uma elevada VHS é conhecida por ser um marcador inespecífico, mas confiável de infecção e inflamação. (Dacie e Lewis 1995; Saadeh 1998; Anders Larsson e Lars-Olof Hansson 2005)

A velocidade de hemossedimentação é um teste simples e barato de laboratório, comumente utilizada para avaliar a fase de resposta aguda. Assim,

ela apresenta um importante marcador em diferentes condições clínicas tanto inflamatórias quanto em não inflamatórias (Saadeh 1998). A VHS é o resultado entre as forças de sedimentação das hemácias e das substâncias plasmáticas, principalmente o fibrinogênio e as proteínas de fase aguda. Em condições normais as hemácias se mantêm afastadas, já na presença de processos inflamatórios ocorre uma agregação maior das hemácias. Esse fenômeno favorece o aumento da velocidade de sedimentação das hemácias. Uma amostra de sangue colocada em um tubo vertical em repouso faz com que os eritrócitos desçam até o fundo, essa distância em milímetros que os eritrócitos percorrem em 60 minutos é o método utilizado para verificar a velocidade de hemossedimentação. (Lanzara G. A. e cols. 2001)

3.4 Imunogenética e Tuberculose

O desenvolvimento de estudos populacionais que permitem uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na susceptibilidade ou proteção ao desenvolvimento da TB ativa e/ou TB latente tornou-se um importante campo de investigação. O estabelecimento de uma resposta imune eficiente envolve várias moléculas, das quais, as citocinas têm um papel relevante. As citocinas atuam numa complexa rede coordenada, na qual elas induzem e reprimem não somente sua própria síntese como também a de outras citocinas e receptores. Além disso, é fato conhecido que várias citocinas são pleiotrópicas enquanto outras são redundantes prejudicando assim os estudos para análise tanto da função individual de uma citocina como a sua possível influência de polimorfismos genéticos na regulação da expressão gênica e desenvolvimento de doença e/ou infecção (Balkwill, e cols, 1989).

A patogenia de muitas doenças infecciosas, auto-imunes e malignas, parece ser influenciada pelo equilíbrio na produção de citocinas pró e antiinflamatórias. Uma vez que o nível de produção de diferentes citocinas varia entre indivíduos expostos ao mesmo estímulo, diferenças no perfil genético que levam a regulação da expressão gênica podem refletir na sua resposta. Assim, a variação na produção de citocinas pode estar relacionada com o perfil genético do hospedeiro (Bidwell e cols, 1999).

Dados da literatura demonstram que polimorfismos genéticos presentes dentro da região regulatória de vários genes que codificam para citocinas estão associados com regulação positiva ou negativa da expressão gênica, levando às diferenças na produção das mesmas. Ultimamente, polimorfismos de base única (SNPs) presentes na região promotora de diferentes genes de citocinas foram descritos como associados com susceptibilidade e/ou proteção a um grande número de diferentes doenças etiológicas (Bidwell e cols, 1999).

Dados epidemiológicos oriundos de estudos com gêmeos univitelíneos claramente indicam que, a susceptibilidade ao adoecimento por TB apresenta determinante genético (Comstock, 1978). Vários estudos relataram um aumento na frequência de HLA-DR2 em pacientes com TB pulmonar (TBP) na Indonésia (Bothamley e cols, 1989) e na Índia (Brahmajothi e cols, 1991; Rajalingam e cols, 1996).

Estudos de associação baseados em família, também mostraram evidências do papel do HLA-DR2 na ocorrência de TB. Recentes estudos com métodos de tipagem molecular que utilizaram DNA na análise mostraram aumento na frequência de DRB1*1501 (um alelo DR2) em pacientes com TB pulmonar na Índia (Mehra e cols, 1995; Ravikumar e cols, 1999), no México

(Teran-Escandon e cols, 1999) e dois alelos DQ1, DQB1*0503 no Camboja (Goldfeld e cols, 1998).

A proteína 1 de macrófago associada a resistência natural (Nramp1) foi inicialmente identificada como um gene (Bcg) de susceptibilidade a infecção por micobactéria em camundongos (Skamene e cols, 1982). Seu homólogo humano foi identificado, clonado, e variações deste gene foram analisadas em relação à susceptibilidade ao desenvolvimento de TB ativa em várias populações. O primeiro relato que referiu uma associação entre susceptibilidade a TB ativa e o gene NRAMP consistiu num estudo do tipo caso controle conduzido na Gâmbia, no qual quatro diferentes polimorfismos no gene NRAMP foram identificados e associados com susceptibilidade a TB ativa (Bellamy e cols, 1998). Posteriormente, a associação de polimorfismo neste gene com susceptibilidade a TB foi também demonstrada na Korea (Ryu e cols, 2000), no Japão (Gao e cols, 2000) e entre famílias aborígenes canadenses (Greenwood e cols, 2000).

Mais recentemente foi demonstrado que a forma ativa da vitamina D, também pode estar relacionada com susceptibilidade e/ou proteção a TB, pois ela pode estar diretamente associada à diferenciação, crescimento e função de vários tipos celulares, incluindo as células dendríticas (Rockett e cols, 1998; Rook e cols, 1986).

Uma outra proteína importante que apresenta uma grande variabilidade genética é a lecitina de ligação de manose (MBL). Trata-se de uma proteína do soro produzida pelo fígado que se liga a superfície microbiana e ativa o sistema complemento (Neth e cols, 2000). O papel de polimorfismo nesta proteína, e conseqüente perda de sua função foram analisados na TB e um estudo na Índia, a freqüência de homozigotos mutantes no MBL foi maior no grupo de pacientes

do que em controles (Selvaraj e cols, 1999). Entretanto, nenhuma associação foi encontrada na Gâmbia (Bellamy e cols, 1998) e um alelo mutante de MBL foi associado com proteção contra TBP no sul da África (Hoal-Vn e cols, 1999).

O papel do TNF- α durante uma infecção micobacteriana é complexo, mediando tanto o sistema associado à proteção imune como o dano tecidual (Bekker e cols, 2000; Tsenova e cols, 1999). Entretanto, uma elevada concentração de TNF- α pode ser responsável pela síndrome tóxica, necrose tecidual e caquexia que acompanha o desenvolvimento da TB (Gladys e cols, 2005). Além disto, elevados níveis séricos de TNF- α podem também estar associados com piora clínica observada precocemente durante tratamento de TB grave. Uma vez que a superprodução desta citocina é deletéria para o organismo, um controle altamente estridente de sua síntese é imposto pela célula, levando a uma forte regulação na expressão deste gene que pode se dar tanto em nível transcricional como pós-transcricional (Pociot e cols., 1995).

O gene de TNF α está localizado no braço curto do cromossomo 6, dentro de uma região de 7 kilobases (Kb). Os antígenos leucocitários humanos (HLA) estão localizados na região 6p21.1-p21.3, e incluem várias famílias de genes. Por uma análise da disposição dos vários *loci*, a região de classe II, DR, e a região de classe III são separadas por cerca de 400kb. A região classe III do gene C2 é separada da região classe I, HLA B, por 600 kb. Na interseção deste intervalo estão incluídos os genes que codificam para TNF α e LT α (Hajeer e cols, 2001).

Seqüências acima da região codificante do gene de TNF- α controlam a transcrição do mesmo. Uma vez que os níveis da proteína circulante variam entre indivíduos, pode se inferir que existe um tipo de rede complexa de fatores

estimulantes e inibidores de TNF- α : a) trabalhando simultaneamente, ou apresentando uma heterogeneidade individual na regulação da expressão do mesmo; b) e/ou susceptibilidade aos efeitos da produção do TNF- α . Assim, o "background" genético dos diferentes indivíduos certamente está em promover níveis elevados de produção desta citocina após o devido estímulo e aumentar a susceptibilidade para o desenvolvimento de determinadas enfermidades ou aumentar a resistência às mesmas. (Mira e cols, 1996)

Vários estudos investigaram a associação entre diferentes alelos de TNF- α e infecção viral. O alelo -238A foi associado com infecção crônica pelo vírus da hepatite B e C. Nenhuma associação foi feita para o alelo -308A (Hohler e cols, 1998).

Em nosso, meio Oliveira e cols 2004 relataram uma associação do alelo -238 do gene que codifica para TNF alfa (que induz a diminuição e seus níveis séricos) com susceptibilidade a desenvolver formas graves de TB assim como ao maior risco de adquirir infecção por *M. tuberculosis* Entre contatos intra-domiciliares. Amim e cols descreveram uma associação significativa entre a presença do alelo A da (+874) do gene que codifica para IFN γ (que induz a diminuição dos de seus níveis séricos) e a ocorrência de TB ativa.

O gene que codifica a proteína C-reativa, proteína de fase aguda, usada como um marcador da inflação se encontra no cromossomo 1q23 dentro de uma região conservada. Este gene codifica proteínas críticas do sistema imunológico e da comunicação intercelular. Alguns estudos têm demonstrado que polimorfismos dentro do gene que codifica a proteína c-reativa estão associados com diminuição no nível plasmático desta proteína. (Suk e cols 2005). A seqüência do gene da proteína c-reativa foi simultaneamente determinada por

dois diferentes grupos de pesquisa (Floyd-Smith G e cols 1986 e Walsh MT e cols 1996), e ambos reportaram que o gene é composto de 1 intron separado por 2 exóns. (Hage e cols. 2007). A regulação da expressão da proteína c-reativa ocorre principalmente em nível transcricional e a IL-6 agindo sinergicamente com IL-1 são as maiores indutoras da liberação de proteína c-reativa. (Hage e cols. 2007). Uma vez que foi estabelecido que as diferenças nos níveis séricos pudessem estar associadas com as diferenças genéticas, esforços foram realizados para se tentar identificar os polimorfismos que afetam diretamente o nível da proteína no sangue. (Hage e cols. 2007). O polimorfismo no exon 2 da região 1059G>C da proteína c-reativa tem sido relacionado com muitas doenças, entre elas as cardiovasculares (Suk e cols 2005) e doença de Crohn's (Thalmaier e cols 2006). Outros polimorfismos têm sido descritos alguns associados com o genótipo e o risco da doença e outros com o nível de proteína c-reativa circulante. (Sheu e cols 2007; Brull e cols 2003).

É importante ressaltar a ausência de estudos que analisem a desnutrição e como a carência de micronutrientes pode influenciar na resposta imunológica frente à infecção por *M. tuberculosis*. Estudos desta natureza poderiam proporcionar um melhor entendimento sobre a resposta inflamatória e como atuam os marcadores inflamatórios em pacientes desnutridos e qual a influência desta condição no desfecho clínico da doença.

De uma maneira original este estudo aborda avaliação de marcadores inflamatórios e imunológicos em pacientes internados com TB pulmonar, com diferentes graus de desnutrição, avaliamos também de maneira inédita como polimorfismos genéticos em genes da resposta imune e inflamatória poderiam estar associados a resposta de fase aguda observada nestes pacientes.

Uma vez que a resposta imune a TB ativa e/ou infecção também é controlada por fatores genéticos (entre outros) (Casanova & Abel, 2002), o estudo da variabilidade genética, e a associação com TB compreende um caminho promissor, pois podem contribuir na identificação de potenciais marcadores de susceptibilidade e proteção à infecção por *M. tuberculosis*.

O estudo de fatores do hospedeiro e sua contribuição genética no desenvolvimento de doenças infecciosas, orientam para questões fundamentais no entendimento de enfermidades como a TB. Contudo, a despeito da enorme variabilidade genética nas diferentes populações, se faz necessário também o entendimento de bases genéticas da população brasileira, que apresenta características bem distintas das populações relatadas em outras séries de pacientes.

4 Paciente e Método

4.1 Modelo de estudo

Estudo descritivo observacional e longitudinal realizado em pacientes internados em dois Hospitais de referência no atendimento de TB no Estado do Rio de Janeiro.

4.2 Período do Estudo

Foram arrolados neste estudo os pacientes atendidos no Hospital Estadual Santa Maria (HESM) e Instituto Estadual de Doenças do Tórax Ary Parreiras (IETAP) no Estado do Rio de Janeiro com diagnóstico de TB pulmonar no período de maio de 2007 a maio de 2008.

4.3 Local do estudo

O HESM e o IETAP constituem as duas unidades hospitalares estaduais que são referências para a internação de pacientes portadores de TB e co-infecção TB/HIV no Estado do Rio de Janeiro. O HESM localiza-se no município do Rio de Janeiro, no bairro de Jacarepaguá, área de planejamento 4 (AP4) e o IETAP no município de Niterói. No HESM são disponibilizados 77 leitos, sendo 14 para pacientes portadores da co-infecção TB e HIV. O IETAP conta com 80 leitos, sendo que 15 para pacientes co-infectados TB/HIV

4.4 População de referência e população de Estudo

4.4.1. População de Referência

Pacientes com TB pulmonar internados em hospitais de referência no Estado do Rio de Janeiro.

4.4.2. População de Estudo

Pacientes internados nos dois hospitais com diagnóstico bacteriológico de TB pulmonar que iniciaram o esquema anti-TB até 30 dias foram arrolados no estudo. No protocolo, após a inclusão dos pacientes, procedeu-se a coleta de dados de modo sistematizado, a história médico-hospitalar dos pacientes descritas nos prontuários e a informação fornecida pelo paciente, seus médicos assistentes, seus familiares e registro do serviço social.

4.5 Critérios de inclusão

Foram incluídos neste estudo, de modo sistemático, pacientes de ambos os sexos, independente de cor e estado nutricional, infectados ou não por HIV, que: foram acompanhados durante o período de 60 dias com uso de medicamentos anti-TB sob supervisão, e apresentavam inicialmente baciloscopia positiva no escarro espontâneo, cultura positiva para micobactéria e subsequente confirmação da espécie como *M. tuberculosis* e forneceram consentimento por escrito para participar do estudo. Todos os pacientes foram avaliados em três tempos: no início (tempo zero), em 30 dias (tempo 30) e em 60 dias (tempo 60), durante o período de internação nos hospitais participantes.

4.6 Critérios de exclusão

Foram excluídos:

- a) Pacientes que referiam uso de medicamentos anti-TB por mais de 30 dias
- b) Pacientes que realizaram hemotransusão.
- c) Pacientes com neoplasias malignas, uso de drogas imunodepressoras, idade inferior a 18 anos ou superior a 65 anos, diabetes mellitus insulino

dependente ou insuficiência renal em programa de diálise peritoneal/hemodiálise.

d) Mulheres no período de gestação ou lactação.

Entre os 25 pacientes incluídos no estudo, 9 apresentaram pelo menos 1 episódio de TB no passado.

4.7 Instrumento de coleta de dados

O instrumento empregado na coleta de dados foi constituído por questionário preenchido pelo entrevistador, por meio de entrevista e consulta aos prontuários médicos. A coleta de dados foi realizada por equipe de profissionais treinada, recicladas e supervisionadas, visando garantir a padronização dos procedimentos.

As informações clínicas coletadas junto ao paciente foram: sinais e sintomas da doença, fatores de risco para TB, história de TB e de outras doenças prévias e dados sócio-demográficos, através de questionário padrão.

A infecção por HIV e a definição de síndrome da imunodeficiência adquirida foram baseadas no critério de Caracas.

Os pacientes foram submetidos a exame físico com ênfase no aparelho respiratório e na pesquisa de adenomegalias, visceromegalias, e marcadores clínicos sugestivos de TB extrapulmonar ou disseminada.

Os exames radiológicos foram analisados por dois pneumologistas e classificados quanto: achados típicos de TB (infiltrado no lobo superior e/ou segmento apical do lobo inferior), incluindo a presença ou não de cavitação; achados compatíveis com TB (adenomegalia hilar, mediastinal, padrão miliar e/ou derrame pleural) ou achados atípicos (qualquer outro achado radiológico), por meio de questionário padrão.

4.8 Controle de qualidade

Após a coleta, o material biológico (escarro e sangue) foi mantido resfriado ou congelado conforme a especificidade do exame a ser feito até o momento de uso garantindo assim a integridade da amostra. Foram realizados testes para verificar a qualidade dos resultados das dosagens e a concordância dos laboratórios. Em períodos distintos, amostras de sangue de três pessoas saudáveis foram coletadas em três alíquotas de soro e de sangue de cada uma, para respectivas análises das dosagens bioquímicas e genotipagem nos genes alvos. Todos os testes tiveram uma variância mínima em suas leituras, sendo considerados fidedignos.

4.9 Avaliações Antropométricas

O diagnóstico do estado nutricional foi avaliado pela equipe de nutricionistas participantes do projeto.

4.8.1 Índice de Massa Corporal

Foi calculado a partir da relação entre o peso corporal atual em quilogramas e a altura em metros ao quadrado mensurados por balança antropométrica conforme a seguinte expressão:

$$\text{IMC} = \frac{\text{PESO ATUAL (Kg)}}{\text{ALTURA (m}^2\text{)}}$$

Apresenta como faixa de normalidade os valores entre 19 e 26. Aqueles inferiores a 19 indicam possibilidade de desnutrição, enquanto valores acima de 26 obesidade.

IMC (kg/m ²)	Classificação
Desnutrição grave	< 16
Desnutrição moderada	≥ 16,0 e ≤ 16,9
Desnutrição leve	<18,5
Eutrofia	≥ 18,5 e ≤ 24,9
Pré-obeso	≥25,0 ≤ 29,9
Obesidade classe I	≥ 30,0 ≤ 34,9
Obesidade classe II	≥ 35,0 ≤ 39,9
Obesidade classe III	≥ 40,0

4.8.2 Prega Cutânea Tricipital

É medição útil na determinação da reserva de gordura e consequentemente do depósito calórico. É um bom indicador de desnutrição protéico - calórica assim como instrumento de resposta às medidas de suporte terapêutico, pois não é afetada pelo edema. Esse parâmetro é mais usado para uma série de avaliações em longo prazo do que para avaliação de doença aguda, não se correlacionando bem com a morbidez e mortalidade em pacientes graves hospitalizados em Unidades de Terapia Intensiva. Foi avaliada com paquímetro, no ponto médio entre o acrômio e olecrânio, na face posterior do braço não dominante, com o paciente sentado ou de pé e o braço caído livremente ao lado do corpo.

Os valores obtidos foram comparados aos valores - padrão aceitando-se como anormal, valores menores que 10% do padrão.

4.8.3 Circunferência Muscular do Braço

Obtido primeiro a medida da circunferência do braço (CB), em centímetros, através de fita milimetrada, na parte média superior do braço não dominante, no mesmo nível da PCT, em extensão, paralelo ao tronco. Foi

realizado três aferições e obteve-se a média para utilização no cálculo da circunferência muscular do braço.

A circunferência muscular do braço (CMB) foi calculada a partir da seguinte expressão:

$$\text{CMB (cm)} = \text{CB (cm)} - (0,314 \times \text{PCT (mm)})$$

O resultado foi classificado de acordo com o quadro a seguir:

	Desnutrição grave	Desnutrição moderada	Desnutrição leve	Eutrofia	Sobrepeso	Obesidade
CMB	<70%	70 – 80%	80 – 90%	90–110%	110-120%	>120%

Fonte: Blackburn, G.L. & Thornton, P.A., 1979

4.8.4 Área Muscular do braço (AMB)

A área muscular do braço foi obtida através da equação que considera a circunferência do braço, descontada a camada gordurosa e a área óssea.

$$\text{Sexo masculino} \rightarrow \text{AMB}(\text{cm}^2) = \frac{[\text{CB}(\text{cm}) - \pi \times \text{PCT}(\text{mm}) \div 10]^2}{4 \pi} - 10$$

$$\text{Sexo feminino} \rightarrow \text{AMB}(\text{cm}^2) = \frac{[\text{CB}(\text{cm}) - \pi \times \text{PCT}(\text{mm}) \div 10]^2}{4 \pi} - 6,5$$

De acordo com os valores de referência estabelecidos por Frisancho, 1981, a classificação do estado nutricional foi realizada conforme o quadro abaixo:

	Normal	Desnutrição leve a moderada	Desnutrição grave
AMB	Percentil >15	Percentil entre 5 e 15	Percentil <5

4.10 Categorização de grupos de acordo com o nível de proteína c-reativa

Os pacientes foram categorizados de acordo com o nível da proteína c-reativa no T0 conforme a divisão por quartis. Três grupos foram formados e a variação dos níveis de cada um se encontra abaixo na tabela 1.

3 grupos			PCR_T0	PCR_T30	PCR_T60
0,3 a 2,5 mg/dL	N	Válido	5	5	5
	Média		1,8120	1,6460	1,4040
	Mediana		1,9900	,7000	1,2200
	Mínimo		,50	,32	,08
	Máximo		2,42	3,42	2,84
2,6 a 6,7 mg/dL	N	Válido	8	8	8
	Média		4,0138	3,2350	2,0738
	Mediana		3,8950	2,3700	1,1950
	Mínimo		2,51	,66	,11
	Máximo		6,70	8,40	4,71
> 6,7 mg/dL	N	Válido	12	12	12
	Média		10,5617	5,7375	3,3858
	Mediana		8,9450	4,9150	3,0700
	Mínimo		7,33	,68	,26
	Máximo		16,30	13,30	8,34

Tabela 1: Valores da proteína c-reativa de acordo com a categorização dos grupos .

4.11 Análises Bioquímicas e sorológicas

As análises bioquímicas foram realizadas no laboratório de apoio Laboratórios Diagnósticos da América – Bronstein por meio de parceria com a Pesquisa Clínica do grupo da Unidade de Pesquisa em Tuberculose. Para as análises, o sangue foi coletado em tubo contendo EDTA (anticoagulante) ou soro gel e transportado em recipiente contendo gelo para resfriamento das amostras, ao laboratório.

A contagem de CD4+ foi realizada no Laboratório de AIDS & Imunologia Molecular da Fiocruz. Para tal sangue coletado em tudo com EDTA mantido e transportado a temperatura ambiente até a realização da técnica.

A baciloscopia e cultura para *M. tuberculosis* foi realizada no Laboratório de Bacteriologia e Bioensaios em Micobactérias do Instituto de Pesquisa Evandro Chagas da Fiocruz, amostras de escarro foram coletas e refrigeradas até o envio ao laboratório para realização do exame.

Da coleta ao envio aos laboratórios de apoio todos os espécimes biológicos foram mantidos em temperatura ideal para realização dos testes, seguindo orientações dos laboratórios. Todos os espécimes foram transportados em condições seguindo as normas de biosegurança.

4.11.1 Linfócitos

Contagem por equipamento hematológico automatizado e os valores de referência se encontram entre 900 – 4500/mm³

4.11.2 CD4+

Contagem por citometria de fluxo (FACSCalibur) e os valores de referência variando de 300 a 700/mm³ são considerados normais .

4.11.3 PROTEÍNA C-REATIVA

Dosada pelo método de nefelometria, utilizado para proteína c-reativa ultra-sensível, cujo valor de referência é:

Até 0,099 mg/dL – baixo

De 0,1 a 0,3 mg/dL – médio

Acima de 0,3 mg/dL – alto.

Estes valores de referência só podem ser utilizados como marcador de risco para doenças cardiovasculares no caso de ausência de outra doença base para causar inflamação/infecção.

4.11.4 Ácido Úrico

Dosado pelo método enzimático colorimétrico.

Valores de referência:

Homens: 3,5 a 7,2 mg/dL

Mulheres: 2,6 a 6,0 mg/dL

4.11.5 VHS

Analisado por sedimentação eritrocitária.

Valores de referência:

Homens: até 7 mm

Mulheres: até 12 mm

4.11.6 Análise Quantitativa (Elisa) para TNF- α no sangue circulante.

O sangue foi coletado em tubo sem anticoagulante, centrifugado e separado o soro que foi transportado em recipiente contendo gelo para resfriamento das amostras, até o Laboratório de Genética e Biologia Molecular onde foi conservado a -20 até a realização do teste. Foi usado o kit comercial Biosource BD OptEIA™ que é um teste de fase sólida ELISA - sanduíche.

É utilizado um anticorpo monoclonal específico de TNF revestido sobre uma placa de 96 poços. As amostras são adicionadas aos poços, e qualquer TNF presente se liga ao anticorpo imobilizado. Os poços são lavados e a enzima “streptavidina-horseradish peroxidase” conjugada ao biotilado anti-TNF humano é acrescentado produzindo um anticorpo-antígeno-anticorpo (Sanduíche). Os poços são novamente lavados e a solução do substrato TMB é acrescentado produzindo uma cor azul em proporção direta com a quantidade de TNF presente na amostra. A Solução “Stop” muda a cor de azul para amarelo, e as absorvâncias são lidas em 450 nm.

Níveis séricos superiores a 200 pmol foram considerados normais.

4.12 Biologia Molecular

4.12.1 Extração de DNA

O sangue foi coletado em tubo contendo citrato de sódio (anticoagulante), e transportado em recipiente contendo gelo para resfriamento das amostras, ao laboratório de Genética e Biologia Molecular onde foi realizada a extração do DNA utilizando o Kit FlexiGene (Quiagen). Basicamente, 250µL de tampão de lise (FG1) sendo adicionados a 100µL de sangue total, homogeneizado por inversão (5x) e centrifugado por 20s a 10.000 rpm. O sobrenadante foi descartado e ao precipitado adicionados 50µL do tampão de desnaturação (FG2), sendo homogeneizado por inversão (3x) e depois incubado por 5min a 65°C. 50µL de isopropanol foi adicionado à mistura. Após precipitação do DNA, o tubo foi submetido à centrifugação por 3min a 10.000 rpm. O sobrenadante foi descartado e o precipitado seco. Um volume de 50µL de etanol 70% foi adicionado, posteriormente centrifugado por 3min a 10.000 rpm e o sobrenadante descartado. Após seco, ao precipitado foram adicionados 100µL de tampão de hidratação (FG3) e posteriormente incubado por 5min a 65°C. Após esta etapa, o material ficou pronto para ser usado para amplificação.

4.12.2 Amplificação do DNA por PCR e genotipagem

Os polimorfismos do TNF- α -238G/A foram avaliados pelo sistema de amplificação refratária (ARMS-PCR) com os primers: para amplificação de G Sense: 5'-AGACCCCCTCGGAATCG-3' e antisense: 5'-CCGGATCATGCTTTCAGTGC-3'; para a amplificação de A: sense 5'-GCCCTCCCAGTTCTAGTTCTATC-3' e antisense 5'-CACACTCCCATCCTCCCTGGTCT-3' ; um controle positivo foi usado com os

primers: sense 5'-GCCCCTCCAGTTCTAGTTCTATC-3' e antisense: 5'-CCGGATCATGCTTTTCAGTGC-3'. À reação de PCR foi adicionado de 25 a 100 ng do DNA extraído em um volume final de volume de 10 µl: Tampão 1X, 1,5mM MgCl₂, 200 µM dNTP, 1 U DNA Taq Polymerase (Invitrogen) e para cada primer foi utilizado 15 picomoles. As condições do PCR foram 94° C por 1 minuto, seguido por 5 ciclos de 94, 67 e 72° C (60 segundos cada) e 25 ciclos de 94° C 62, 72° C (60 segundos cada). Os produtos do PCR foram analisados por gel de agarose a 2% corado em brometo de etídio. (Yamamoto-Furusho e cols 2004).

O genótipo foi determinado como: GG (selvagem) com uma banda no tamanho de 447 pb; AA com uma banda no tamanho de 209 pb ou heterozigoto (GA). O controle interno utilizado é de 608 pb para ambos alelos. (Figuras 1).

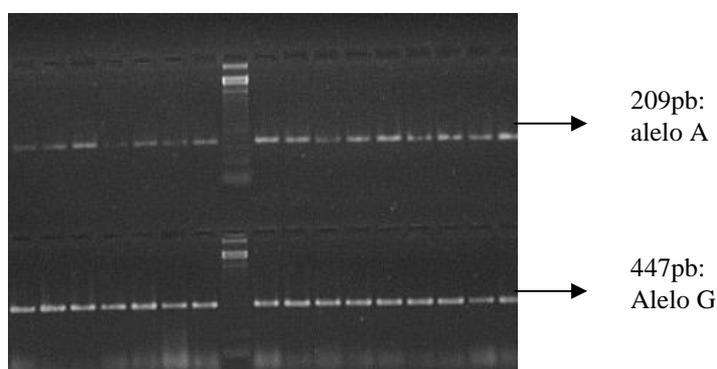


Figura 1: Gel mostrando os alelos na genotipagem do TNF- α -238.

Para a Proteína C-reativa na posição 1059G/C foi usado PCR-RFLP com os primers: 5'-GCCCAGGGTGAGGAAGAGTCT-3' (Sense) E 5'-CCCGCCAGTTCAGGACATTAG-3' (Antisense). Na reação de PCR foi adicionado de 25 a 100 ng do DNA extraído em um volume final de 50 µl: Tampão 1X, 2 mM MgCl₂, 175 µM dNTP, 1.5 U DNA Taq Polymerase (Invitrogen) e para cada primer foi usado 15 picomoles/µl. As condições do PCR foi uma desnaturação inicial a 95° C por 3 minutos, seguido de 35 ciclos

de 95, 69 e 72° C (30 segundos cada) e 72° C por 10 minutos. Após a amplificação, a digestão foi realizada a 55° C overnight com 3 U/μl da enzima MAE III em 12,5 μl do tampão com 10 μl do produto amplificado. Os produtos da digestão foram analisados por gel de agarose a 3% corado em brometo de etídio. (Suk e cols. 2005; Thalmaier e cols 2006).

O genótipo foi designado da seguinte maneira: GG (selvagem) duas bandas de 60 pb e 170 pb; CC uma simples banda de 230 pb e o heterozigoto GC três bandas de 230 pb, 170 pb e 60 pb (Figura 2).



Figura 2: Gel mostrando os alelos na genotipagem da proteína c-reativa +1059.

4.12.3 Aspectos Éticos

Este estudo recebeu aprovação no Comitê de Ética da Faculdade de Medicina e Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da UFRJ, com o número 004/05 em 28/04/2005.

4.12.4 Analise dos dados

Para análise dos resultados, os dados foram adicionados em planilhas do programa Access da Microsoft, no Microsoft Excel e utilizado também o programa SPSS para Windows versão 11.

4.12.5 Definição de Termos

➤ **Formas de TB:** Paciente com TB ativa nas seguintes formas: TB pulmonar difusa, TB pulmonar disseminada (paciente com TB em mais de um único órgão ou sistema, sendo ele pulmonar associado a outro extrapulmonar,

exceto a pleural, ou em dois sítios extrapulmonares), meningoencefalite tuberculosa e forma grave (TB disseminada ou extrapulmonar isolada) (Kritski 2000),

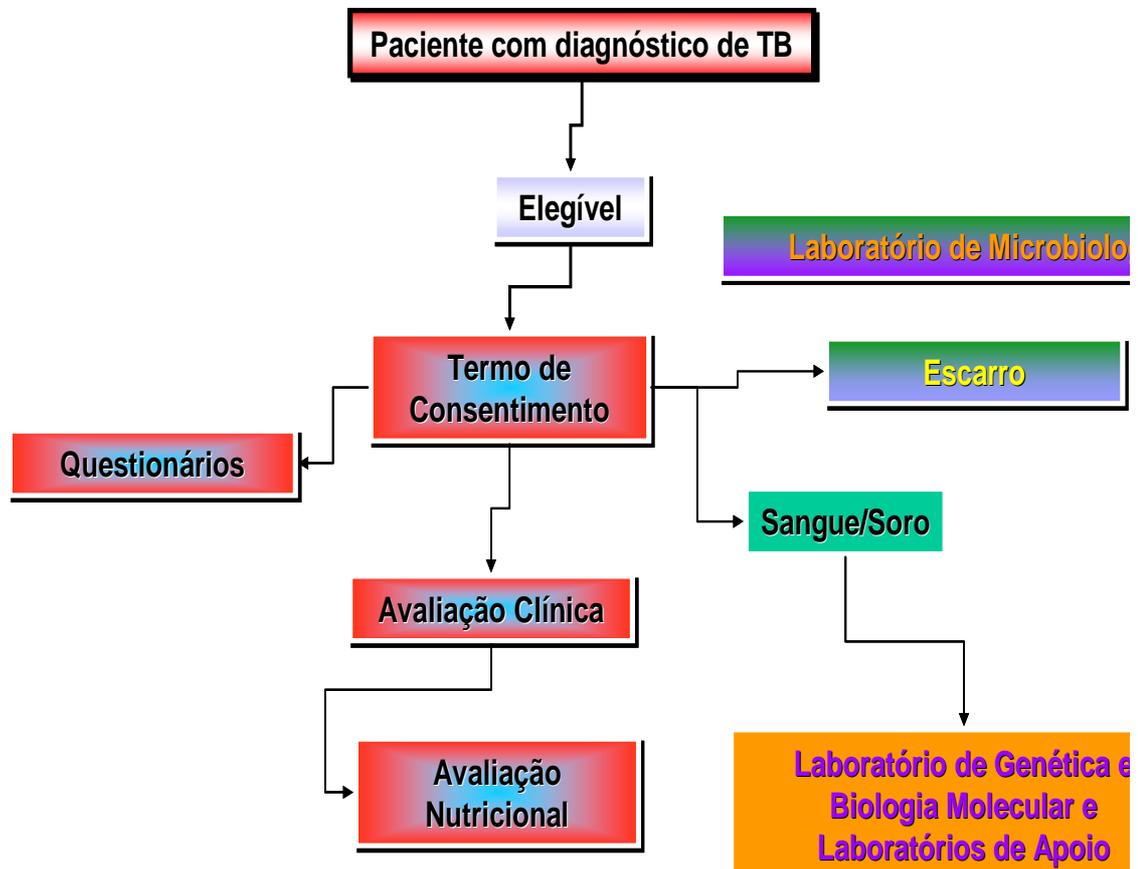
➤ **Padrão-ouro:** critério clínico-bacteriológico: cultura positiva com identificação bioquímica de *Mycobacterium tuberculosis* no material ou baciloscopia positiva e cultura para micobactéria negativa com a presença de critérios clínicos- radiológicos compatíveis com diagnóstico de TB.

➤ **Caquexia :** é a última fase da desnutrição progressiva que constitui uma complexa síndrome multifatorial, caracterizada por anorexia, fadiga, fraqueza, disfunção imune, diminuição da massa muscular e uma variedade de alterações metabólicas, onde muitas de suas causas ainda não são compreendidas em toda sua extensão. Esta síndrome resulta de alterações na ingestão e má absorção de nutrientes, e posteriormente, de alterações metabólicas.

➤ **Desnutrição:** para fins de análise, será considerado desnutrição protéica e/ou calórica quando o IMC (kg/m²) for < 18,5 (WHO, 1995 e 1998) e/ou quando a AMB se localizar abaixo do percentil 5.

➤ **CAGE Positivo:** o CAGE é um questionário utilizado para o rastreamento do alcoolismo quando a pessoa admite que faz uso de bebidas alcoólicas. Considera-se o CAGE positivo se pelo menos duas das respostas for sim. Como todo teste, o CAGE não é 100% positivo para alcoolismo, deve-se utilizá-lo como um instrumento no auxílio do diagnóstico. O único teste 100% positivo para o diagnóstico do alcoolismo, é o reconhecimento da doença por parte do paciente ou da família.

4.12.6 Coleta de Dados e Processamento das Amostras



5 Resultados

Foram incluídos no estudo 25 pacientes, 20 do sexo masculino, com uma mediana de idade de 43 anos, sendo 3 HIV positivos e 17 indivíduos com CAGE positivo.

Uma vez incluídos no estudo, os pacientes foram avaliados nos tempos subseqüentes a inclusão: 30 dias e 60 dias. No entanto, no momento da inclusão, os pacientes apresentaram diferenças quanto ao tempo de início de medicamentos anti-TB, assim, com o objetivo de avaliar se esta diferença poderia interferir nas avaliações bioquímicas estratificamos os pacientes quanto ao tempo de início do tratamento medicamentoso anti-TB e comparamos com diversos parâmetros clínicos e bioquímicos. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre grupo de pacientes com uso de medicamentos de zero a 7 dias e o grupo de pacientes com uso de medicamentos de 8 a 15 dias ($p=0,87$ para linfócitos; $p=0,34$ para CD4+; $p=0,86$ para proteína c-reativa; $p=0,38$ para VHS; $p=0,12$ para ácido úrico; $p=0,37$ para IMC; $p=0,96$ para AMB realizado por Kruskal-Wallis Test). Estes pacientes com uso de medicamentos anti-TB até 15 dias foram incluídos como pertencentes ao Tempo zero.

5.1 Avaliação Nutricional

A avaliação nutricional foi realizada por equipe de nutricionistas treinadas, por dois diferentes métodos: IMC que é a relação entre o peso corporal em quilogramas e a altura em metros e pela AMB (área muscular do braço) que considera a circunferência do braço descontando a camada gordurosa e a área óssea.

5.1.1 Classificação do perfil de desnutrição por IMC

Na classificação por IMC foram encontrados os seguintes perfis: no tempo 0 (inclusão): 11 pacientes eram eutróficos (44%) e 14 desnutridos (leve e grave) (56%). No T30, 15 pacientes eram eutróficos (60%) e 10 desnutridos (leve e grave) (40%). No T60, 16 eram pacientes eutróficos (64%), 2 pré-obesos (8%) e 7 desnutridos (leve e grave) (28%). (Gráfico 1)

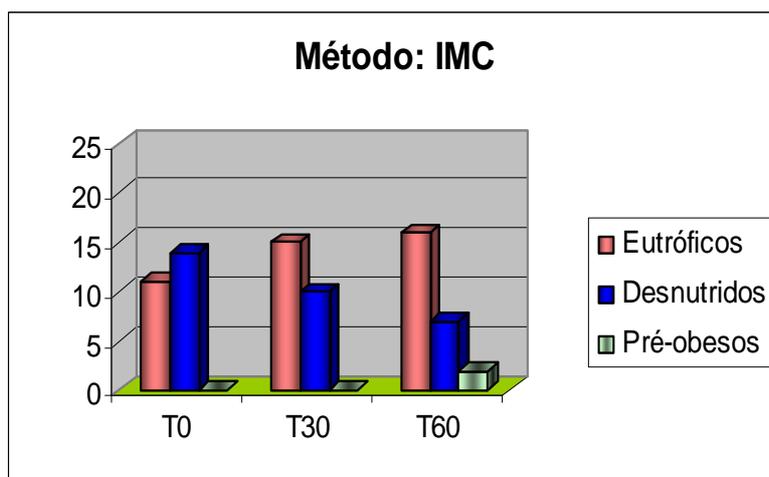


Gráfico 1: Avaliação dos pacientes por IMC.

5.1.2 Classificação do perfil de desnutrição por AMB

Na classificação pela área muscular do braço foram encontrados na inclusão (T0): 2 (8%) pacientes sem desnutrição (adequados) e 22 (92%) com desnutrição (leve em 2 e grave em 22 casos). No T30, 3 (12%) pacientes foram classificados como adequados e 22 (88%) com desnutrição (leve em 1 e grave em 21 casos). No T60, 6 (24%) classificados como adequados enquanto 19 (76%) foram classificados como desnutridos (leve em 3 e grave em 16 casos). (Gráfico 2)

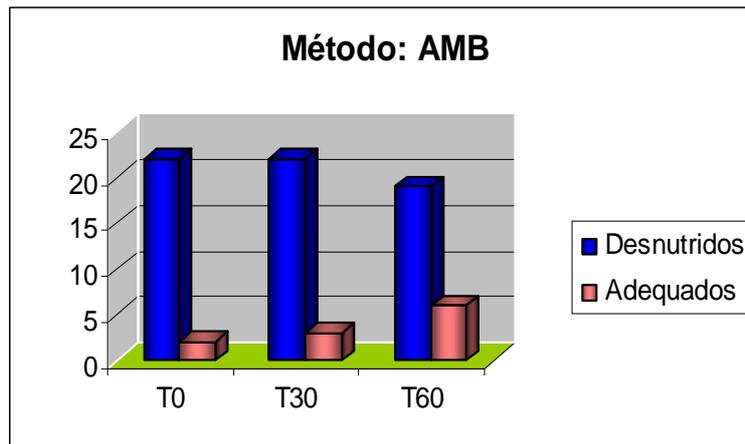


Gráfico 2: Avaliação dos pacientes pelo método da AMB.

Comparando a avaliação antropométrica dos mesmos pacientes utilizando dois métodos distintos podemos observar que enquanto a aferição pelo IMC gerou diferentes perfis de classificação antropométrica, que variou de obeso a desnutrido grave, a aferição pelo método de área muscular do braço, gerou apenas dois grupos: desnutridos (graves e leve) e não desnutridos (adequados).

5.2 Perfil nutricional e bacteriológico dos pacientes

	Hosp.	IMC T0	AMB T0	BAAR T0	BAAR T60	Cult T0	Cult T60	RX T0
Paciente 1	AP	Leve	grave	1+	neg	3+	neg	> 10 cavidades
Paciente 2	AP	Eutrófico	Adequado	1+	neg	1+	neg	> 3 cavidades
Paciente 3	AP	Leve	grave	1+	neg	1+	neg	> 6 cavidades
Paciente 4	SM	Eutrófico	Leve	1+	neg	3+	neg	1 cavidade
Paciente 5	AP	Eutrófico	grave	2+	neg	3+	neg	1 cavidade
Paciente 6	SM	Eutrófico	grave	2+	1+	1+	1+	1 cavidade
Paciente 7	AP	Eutrófico	grave	1+	1+	1+	contaminou	1 cavidade
Paciente 8	AP	Eutrófico	Adequado	1+	neg	1+	neg	1 cavidade
Paciente 9	SM	Moderada	grave	3+	1+	3+	1+	1 cavidade
Paciente 10	AP	Eutrófico	grave	1+	neg	1+	neg	1 cavidade
Paciente 11	AP	Grave	NR	1+	1+	1+	1+	1 cavidade
Paciente 12	SM	Eutrófico	grave	3+	1+	2+	1+	1 cavidade
Paciente 13	AP	Moderada	grave	1+	1+	2+	1+	2 cavidades
Paciente 14	AP	Leve	grave	1+	neg	1+	contaminou	2 cavidades
Paciente 15	SM	Grave	Leve	3+	neg	1+	neg	2 cavidades
Paciente 16	SM	Grave	grave	2+	1+	1+	1+	2 cavidades
Paciente 17	SM	Grave	grave	2+	1+	3+	1+	2 cavidades
Paciente 18	AP	Leve	grave	1+	1+	3+	neg	3 cavidades
Paciente 19	AP	Grave	grave	1+	neg	2+	1+	3 cavidades
Paciente 20	AP	Grave	grave	2+	neg	1+	neg	5 cavidades
Paciente 21	SM	Eutrófico	grave	1+	neg	2+	neg	sem cavidade
Paciente 22	AP	Eutrófico	grave	1+	neg	1+	neg	sem cavidade
Paciente 23	AP	Moderada	grave	1+	neg	1+	neg	sem cavidade
Paciente 24	AP	Leve	grave	1+	neg	1+	neg	sem cavidade
Paciente 25	SM	Eutrófico	grave	1+	neg	3+	1+	sem cavidade

Quadro 1: resultados de BAAR, cultura e raio-x dos pacientes, classificados de acordo com a unidade hospitalar e o grau de desnutrição aferido pelos dois métodos utilizados neste estudo (IMC e AMB).

Nos resultados descritos no quadro 1, de acordo com a classificação por IMC, é possível observar que entre 11 pacientes classificados como eutróficos, 27,2% (3/11) pacientes apresentaram BAAR e cultura positiva no T60. Entre os 5 pacientes classificados como desnutridos leves, 80% apresentaram baciloscopia e cultura negativa no T60. Entre os 3 desnutridos moderados, 73,3% permaneceram com baciloscopia e cultura positiva no T60. Entre os 6 pacientes classificados como desnutridos graves, 50% apresentava BAAR e cultura positiva no T60.

Utilizando a classificação pelo AMB, entre 22 pacientes classificados como desnutridos grave, 40% apresentavam BAAR e cultura positiva no T60.

Na análise das imagens radiológicas do tórax, observa-se que a maioria (80%) apresentava pelo menos 1 cavidade pulmonar no momento da inclusão, o que demonstra a gravidade da doença TB nesta população. Segundo a classificação nutricional por IMC, entre os 11 pacientes classificados como eutróficos, 27,2% não apresentavam cavidades, 63,6% apresentavam 1 cavidade. Entre os 06 pacientes classificados como desnutridos graves, todos apresentavam cavidades, e 66,6% deles apresentaram 2 ou mais cavidades no radiograma torácico.

Segundo a classificação nutricional por AMB, entre os 20 pacientes com desnutrição grave, 25% não apresentavam cavidade e 45% deles apresentavam duas ou mais cavidades no radiograma torácico.

5.3 Avaliação de marcadores inflamatórios

Para avaliar o perfil inflamatório dos pacientes escolhemos alguns marcadores: Proteína C reativa (PCR), velocidade de Hemossedimentação (VHS), ácido úrico, linfócitos totais, contagem de CD4+ e o fator de necrose tumoral nos tempos estudados (0, 30 e 60). Os grupos de pacientes foram estratificados de acordo com a classificação antropométrica obtida por meio do IMC e AMB e o perfil das medianas nos marcadores inflamatórios.

5.3.1 Estratificação dos grupos de acordo com IMC

5.3.1.1 Proteína C Reativa

No Gráfico 3, está representada a variação dos níveis de proteína c-reativa nos pacientes estratificados pelo perfil de desnutrição nos tempos zero, trinta e sessenta dias. Observa-se uma diminuição gradativa nos níveis de proteína c-reativa no decorrer do tempo: T0 variou de 4,5 a 7,48 mg/dL, tempo 30, de 0,9 a 6,2 mg/dL e tempo 60, de 1,22 a 3,99 mg/dL. Observa-se que o maior nível de proteína c-reativa foi detectada no grupo de pacientes com formas graves de desnutrição quando comparados com os demais. Observa-se também que todos os grupos apresentam ainda no tempo 60 níveis acima do valor de referência considerado normal (0,3 mg/dL).

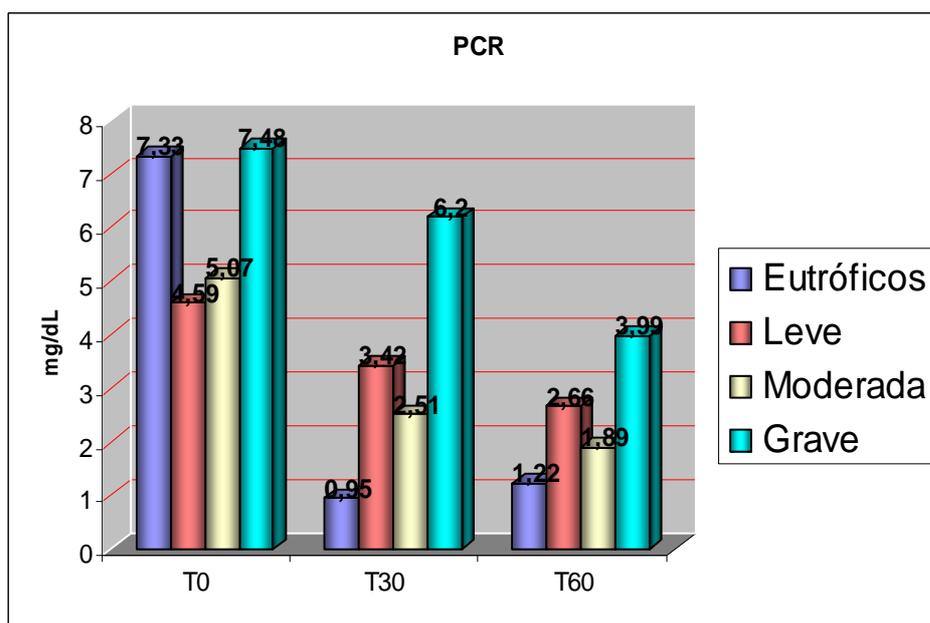


Gráfico 3: Dosagem dos níveis séricos de proteína c-reativa em mg/dL em pacientes com TB estratificados de acordo com perfil de desnutrição avaliado pelo IMC.

5.3.1.2 Ácido Úrico

No Gráfico 4, está representada a variação de ácido úrico nos pacientes estratificados pelo perfil de desnutrição nos tempos zero, trinta e sessenta dias. Observa-se uma diminuição gradativa nos níveis de ácido úrico no tempo zero para 30 e 60 para o grupo de pacientes com desnutrição grave. Para os demais grupos, observa-se um aumento nos níveis de ácido úrico no tempo 30 seguido de um decréscimo no tempo 60.

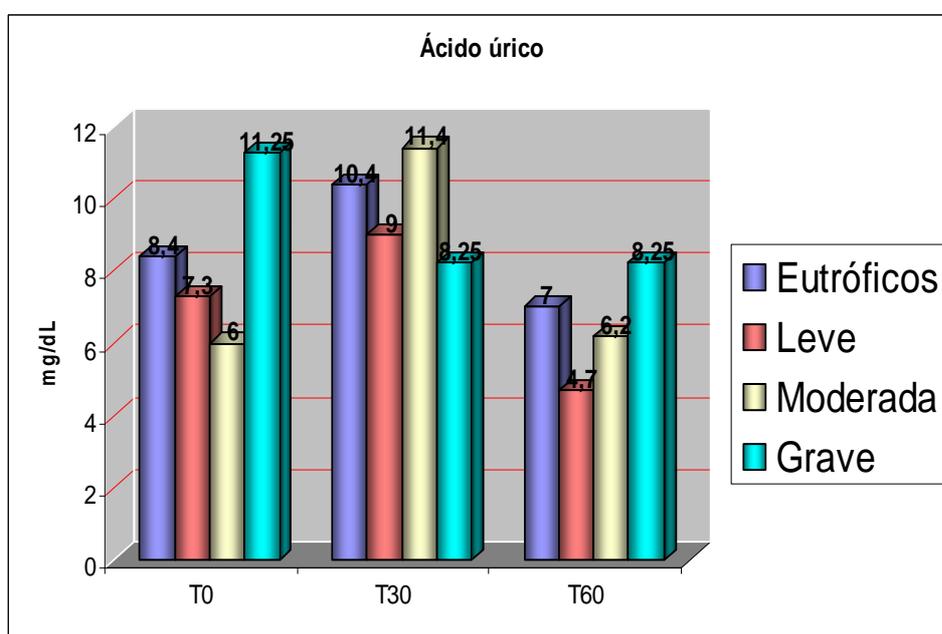


Gráfico 4: Dosagem dos níveis séricos de ácido úrico mg/dL em pacientes com TB estratificados de acordo com perfil de desnutrição avaliado pelo IMC.

5.3.1.3 Velocidade de Hemossedimentação (VHS)

No Gráfico 5, está representada a variação da velocidade de hemossedimentação nos pacientes estratificados pelo perfil de desnutrição nos tempos zero, trinta e sessenta. Observa-se uma diminuição gradativa na VHS para todos os grupos com exceção dos desnutridos leves que apresentaram um aumento na VHS no tempo 30.

Observa-se que todos os grupos e em todos os tempos os valores de VHS estão acima dos valores de referência em alguns casos chegando a quase 18 vezes maior em alguns pacientes, atingindo o valor de 130 mg/dL.

O grupo de desnutridos graves apresenta valores mais elevados de VHS durante os três tempos de até 6,6 vezes maior (T0) em relação aos demais grupos.

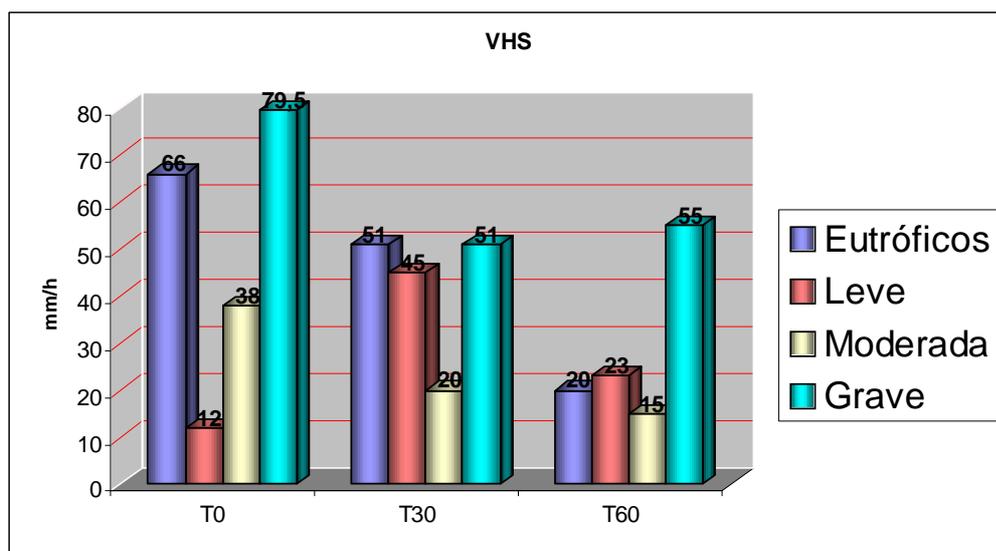


Gráfico 5: Variação da velocidade de hemossedimentação em pacientes com TB estratificados de acordo com perfil de desnutrição avaliado pelo IMC.

5.3.1.4 Contagem de linfócitos totais

No Gráfico 6, está representada a dosagem de linfócitos totais nos pacientes estratificados pelo perfil de desnutrição nos tempos zero, trinta e sessenta dias. Observa-se que todos os grupos apresentam valores normais, o grupo classificado como desnutridos graves apresenta as maiores contagens de linfócitos totais nos três tempos do estudo, acima de 2.000mm^3 incluindo os dois pacientes infectados por HIV.

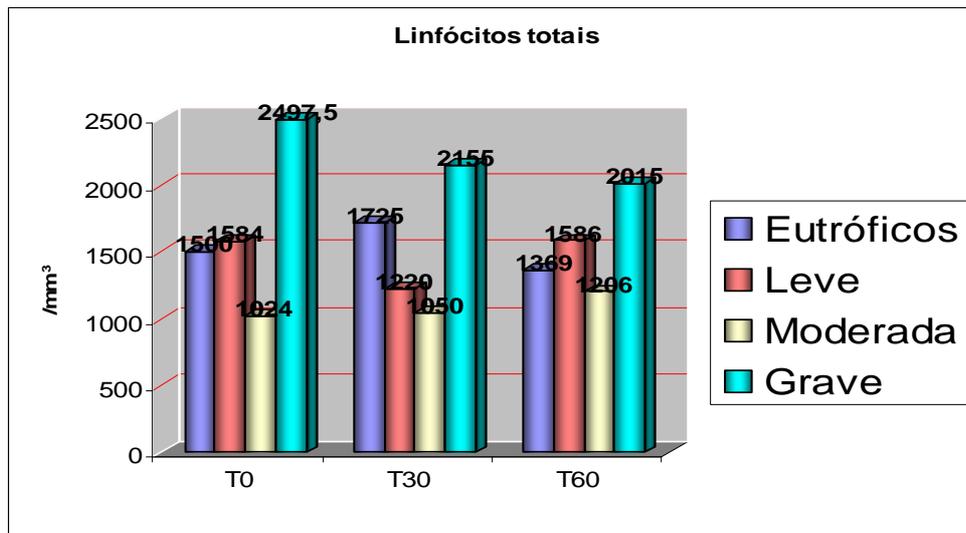


Gráfico 6: Contagem de linfócitos totais em pacientes com TB estratificados de acordo com perfil de desnutrição avaliado pelo IMC.

5.3.1.5 Contagem de linfócitos CD4+

No Gráfico 7, está representada a dosagem de linfócitos CD4+ nos pacientes estratificados pelo perfil de desnutrição nos tempos zero, trinta e sessenta dias. Todos os grupos apresentam valores normais de linfócitos CD4+ (superiores a 500mm^3). No grupo de pacientes com desnutrição grave observa-se um aumento crescente na dosagem de CD4 enquanto que nos outros grupos tal aumento não ocorre.

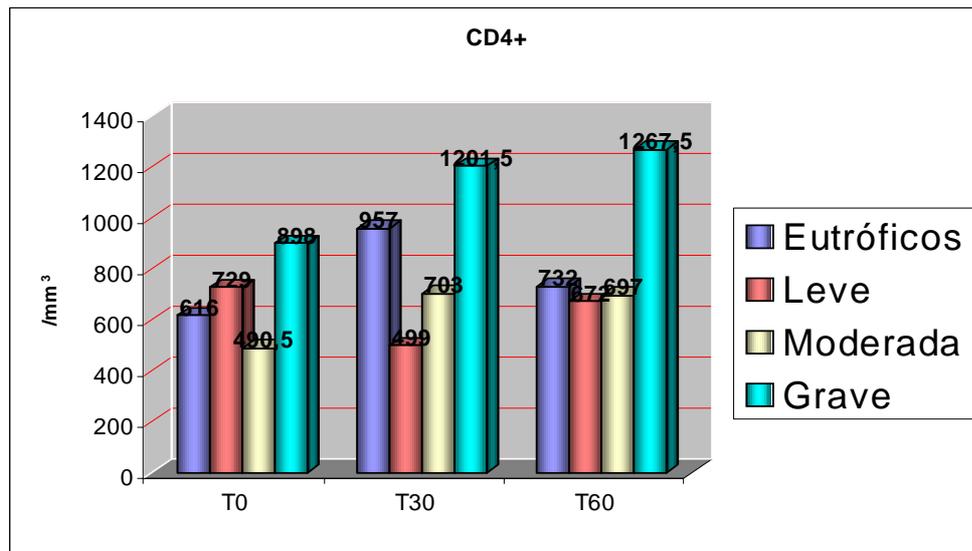


Gráfico 7: Contagem de linfócitos CD4+ em pacientes com TB estratificados de acordo com perfil de desnutrição avaliado pelo IMC.

5.3.1.6 Dosagem de TNF- α sérico

Os níveis séricos de TNF alfa estão muito abaixo dos valores normais, o que impossibilita comparação entre os grupos.

5.3.2 Estratificação dos grupos de acordo com a AMB

5.3.2.1 Proteína C Reativa

De acordo com a aferição pelo método de AMB, os grupos foram divididos em eutróficos e desnutridos. No Gráfico 8, está representada a variação de proteína c-reativa nos pacientes estratificados pelo método da AMB nos tempos zero, trinta e sessenta dias. Observa-se que todos os grupos nos três tempos analisados apresentam valores acima dos níveis de referência (0,3 mg/dL) e que há uma diminuição nos valores para ambos os grupos no decorrer do tempo. O grupo de desnutridos apresenta níveis maiores de

proteína c-reativa em todos os tempos quando comparados ao grupo de eutróficos.

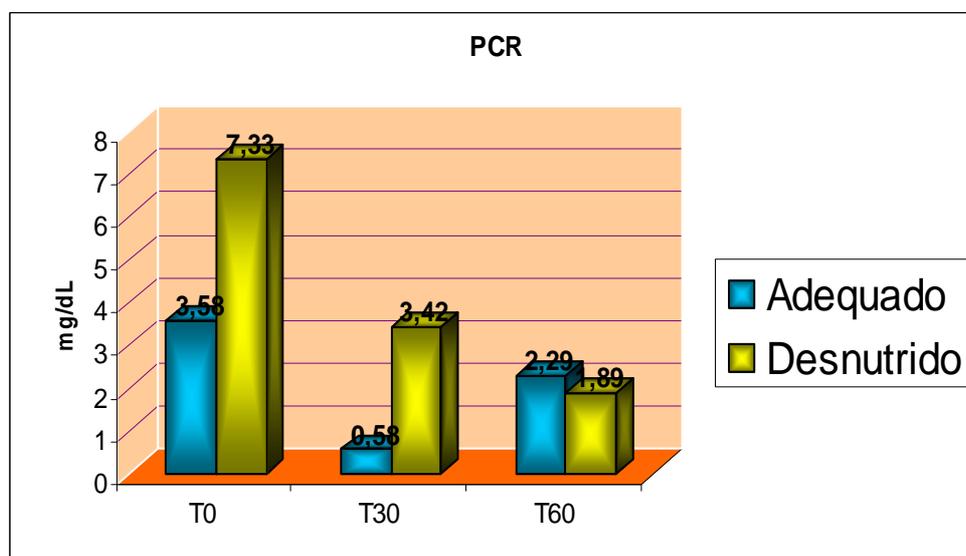


Gráfico 8: Dosagem de proteína c-reativa mg/dL em pacientes com TB estratificados de acordo com perfil de desnutrição avaliado pelo AMB.

5.3.2.2 Ácido Úrico

No Gráfico 10, está representada a variação de ácido úrico nos pacientes estratificados pelo método da AMB nos tempos zero, trinta e sessenta dias. Observa-se um aumento nos níveis séricos de ácido úrico no tempo 30 para ambos os grupos. Observa-se também que os pacientes classificados como desnutridos apresentam os níveis do ácido úrico maiores do que o padrão de referência nos três tempos do estudo. No grupo classificado como adequado, os níveis de ácido úrico se mantiveram dentro da faixa de normalidade.

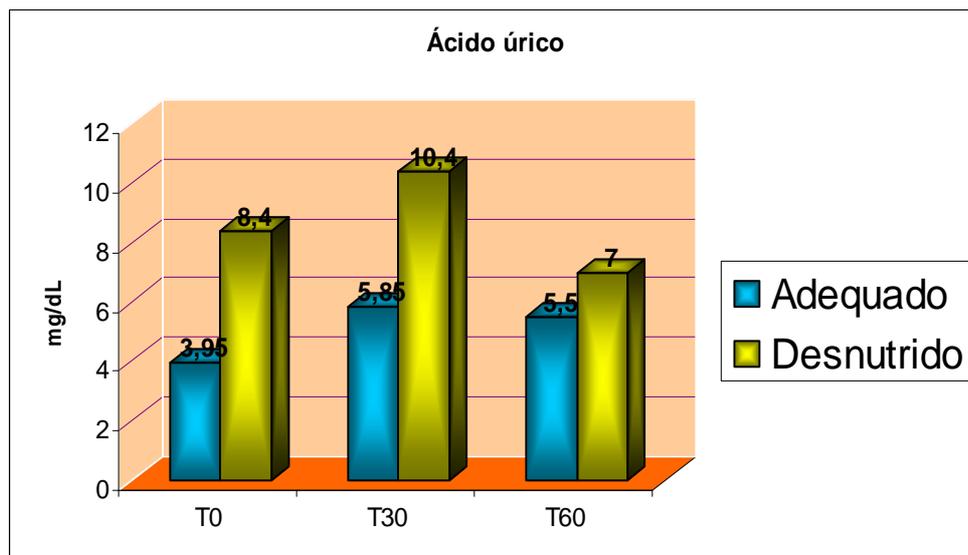


Gráfico 10: Dosagem do ácido úrico em mg/dL em pacientes com TB estratificados de acordo com perfil de desnutrição avaliado pelo AMB.

5.3.2.3 Velocidade de Hemossedimentação (VHS)

No Gráfico 9, está representada a variação da velocidade de hemossedimentação nos pacientes estratificados pelo método da AMB nos tempos zero, trinta e sessenta. Observa-se que todos os grupos e nos três tempos apresentam velocidade de hemossedimentação acima dos valores de referência, com exceção do grupo de eutrofos que no tempo 60 apresenta valores normais. Observa-se um aumento no tempo 30 seguido de uma queda significativa de VHS no tempo 60 nos valores da VHS, mas os pacientes avaliados como desnutridos ainda apresentam os valores da VHS acima dos padrões de referência.

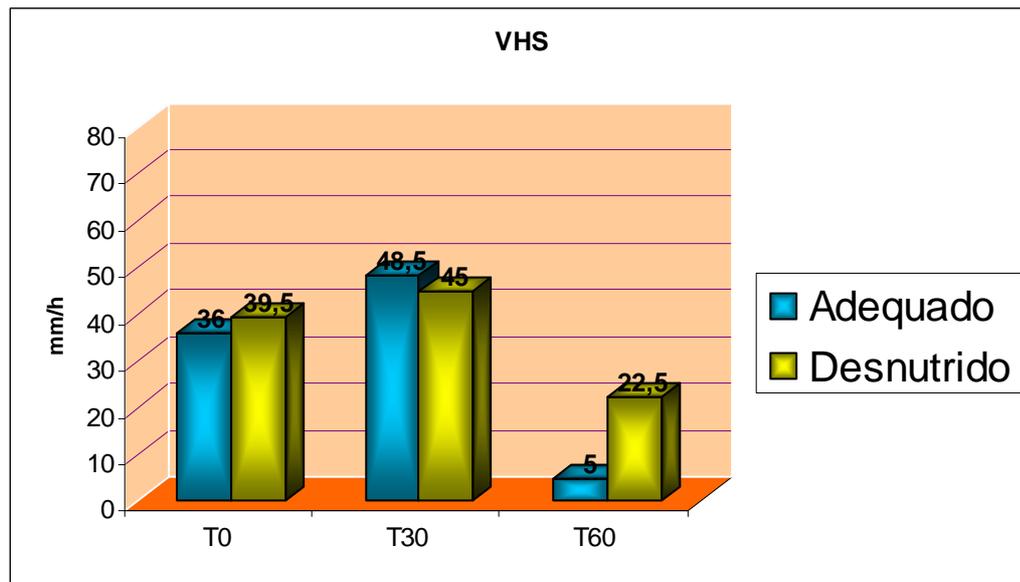


Gráfico 9: Variação da velocidade de hemossedimentação em pacientes com TB estratificados de acordo com perfil de desnutrição avaliado pelo AMB.

5.3.2.4 Contagem de linfócitos Totais

No Gráfico 11, estão representadas as contagens de linfócitos totais nos pacientes estratificados pelo método da AMB nos tempos zero, trinta e sessenta dias. Não foram encontradas diferenças relevantes entre os 2 grupos classificados pela AMB. Ambos apresentam contagem de linfócitos totais dentro da faixa considerada normal nos três tempos analisados.

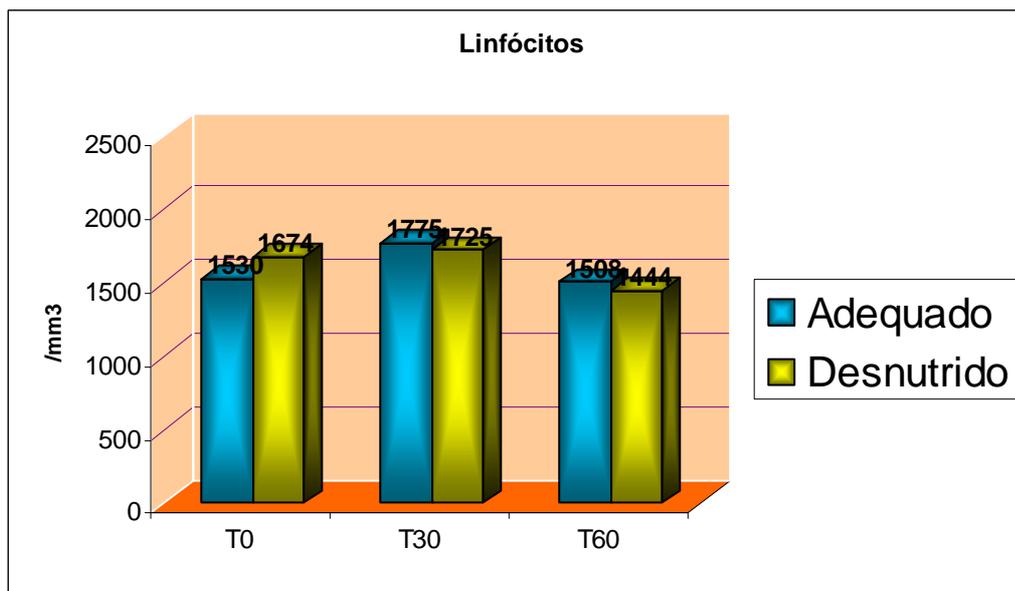


Gráfico 11: Contagem de linfócitos totais em pacientes com TB estratificados de acordo com perfil de desnutrição avaliado pelo AMB.

5.3.2.5 Contagem de linfócitos CD4+

No Gráfico 12, estão representadas as contagens de linfócitos CD4+ nos pacientes estratificados pelo método da AMB nos tempos zero, trinta e sessenta dias. Observa-se que os pacientes avaliados como desnutridos apresentam as maiores contagens de CD4+ nos três tempos analisados quando comparados com os pacientes classificados como adequados. O grupo de pacientes classificados como adequados apresentam os valores estáveis nos três tempos.

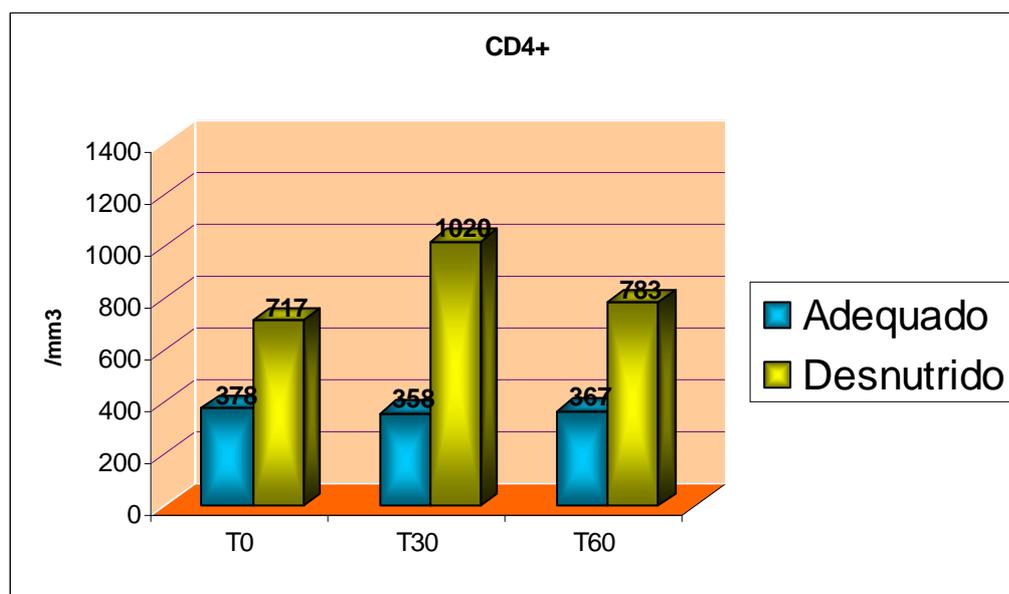


Gráfico 12: Contagem de linfócitos CD4+ em pacientes com TB estratificados de acordo com perfil de desnutrição avaliado pelo AMB.

5.3.2.6 Dosagem de TNF- α sérico

Os níveis séricos de TNF alfa estão muito abaixo dos valores normais, o que impossibilita comparação entre os grupos.

5.4 Estratificação dos grupos de acordo com os níveis séricos de Proteína C-Reativa

Os pacientes foram classificados de acordo com os valores da **proteína c-reativa** em 3 grupos: a) pacientes com **proteína c-reativa** entre 0,3 a 2,5mg/dL ; b) pacientes com 2,6 a 6,7 mg/dL mg/dL e c) pacientes com **proteína c-reativa** acima de 6,7 mg/dL mg/dL.

5.4.1 Velocidade de Hemossedimentação

No Gráfico 13, está representada a variação da velocidade de hemossedimentação nos pacientes estratificados de acordo com os valores da proteína c-reativa nos tempos zero, trinta e sessenta dias.

Uma diminuição nos valores da VHS entre os tempos 0 e 60 é observada nos 3 grupos. Observa-se que no T0 o grupo que apresenta os níveis da proteína c-reativa entre 2,6 a 6,7, também detectam-se os maiores valores da VHS. Nos T30 e T60 há uma queda acentuada nos valores da proteína c-reativa nos 2 grupos que apresentam níveis mais baixos da proteína c-reativa, O grupo com níveis de proteína c-reativa > 6,7 apresenta os maiores valores nos três tempos de VHS.

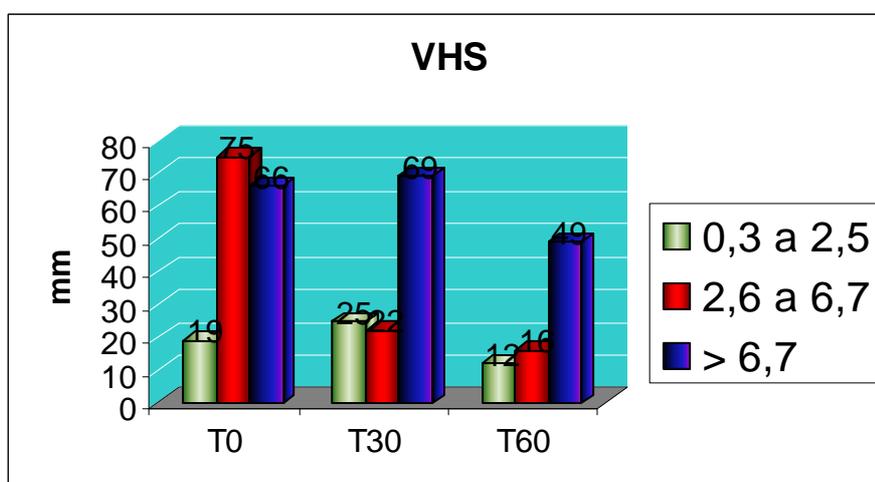


Gráfico 13: Valores da velocidade de hemossedimentação em pacientes com TB estratificados de acordo com as dosagens dos níveis da proteína c-reativa.

5.4.2 Ácido úrico

No Gráfico 14, está representada a variação dos níveis do ácido úrico nos pacientes estratificados de acordo com os valores da proteína c-reativa nos tempos zero, trinta e sessenta dias.

Observa-se que, no T0, no grupo que apresenta os níveis da proteína c-reativa entre 2,6 a 6,7, também detectam-se os menores níveis de ácido úrico. Nos T30 há uma elevação nos níveis do ácido úrico nos 3 grupos, sendo mais elevados no grupo que possuía os níveis da proteína c-reativa > 6,7mg/dL. No

T60, o grupo que apresenta os níveis menores da proteína c-reativa, detectam-se os menores níveis de ácido úrico.

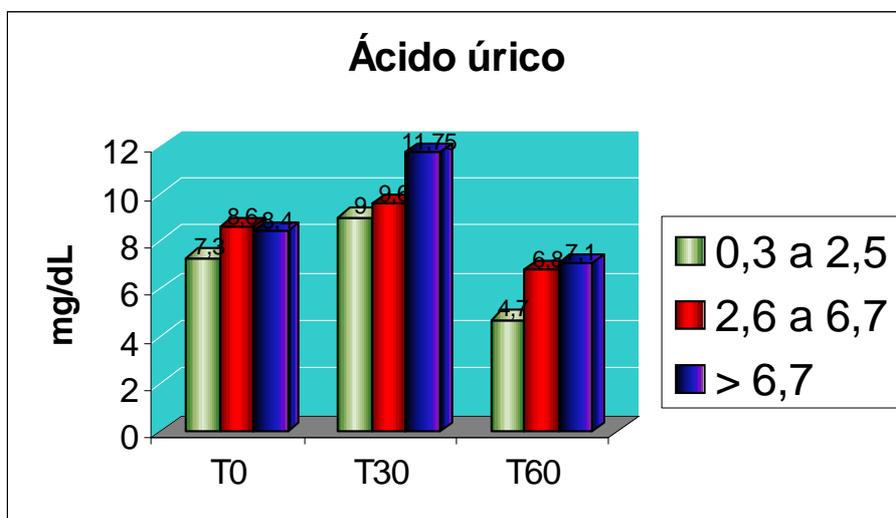


Gráfico 14: Dosagens do ácido úrico mg/dL em pacientes com TB estratificados de acordo com as dosagens dos níveis da proteína c-reativa.

5.4.3 Contagem de linfócitos totais

No Gráfico 15, está representada a contagem de linfócitos totais nos pacientes estratificados de acordo com os valores da proteína c-reativa nos tempos zero, trinta e sessenta dias. No tempo 30, observa-se que a maior contagem de linfócitos ocorre no grupo de pacientes com os níveis séricos mais elevados de proteína c-reativa (>6,7 mg/dL), nos outros tempos não observam-se diferenças nos grupos avaliados.

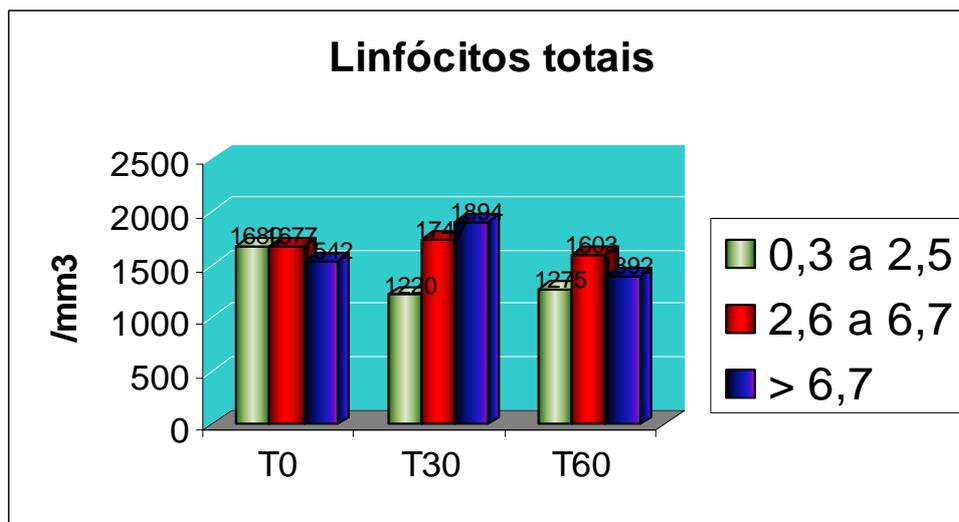


Gráfico 15: Contagens de linfócitos totais em pacientes com TB estratificados de acordo com as dosagens dos níveis da proteína c-reativa.

5.4.4 Contagem de linfócitos CD4+

No Gráfico 16, está representada a contagem de linfócitos CD4+ nos pacientes estratificados de acordo com os valores da proteína c-reativa nos tempos zero, trinta e sessenta dias. No tempo 30, observa-se que a maior contagem de linfócitos CD4+ ocorre no grupo de pacientes com os níveis séricos mais elevados de proteína c-reativa (>6,7 mg/dL), enquanto que nos outros tempos não observam-se diferenças nos grupos avaliados. No tempo 60 a maior contagem de linfócitos CD4+ é observada no grupo que possui os níveis da proteína c-reativa entre 2,6 e 6,7 mg/dL.

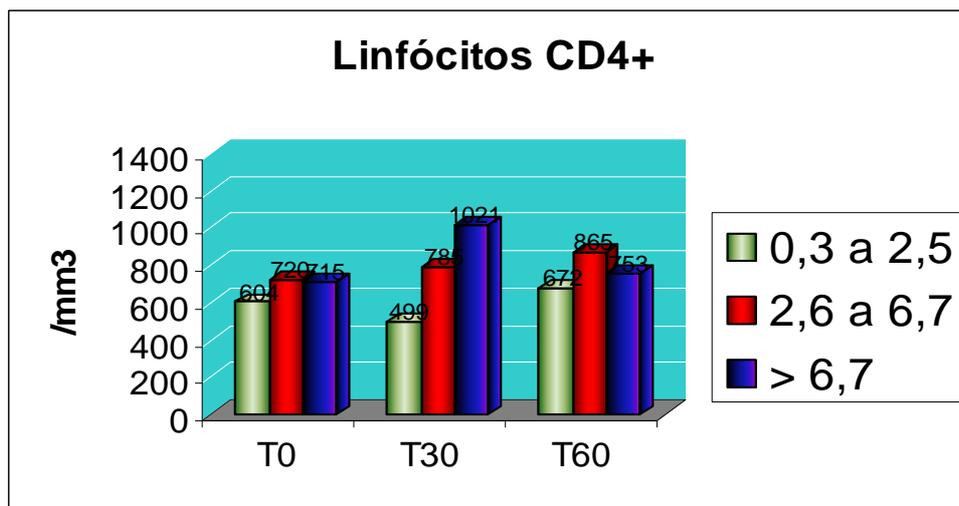


Gráfico 16: Contagens de linfócitos CD4+ em pacientes com TB estratificados de acordo com as dosagens dos níveis da proteína c-reativa.

5.4.5 Dosagem de TNF- α

Não foi possível analisar os níveis séricos de TNF alfa, pois foram muito abaixo da normalidade.

5.5 Tabelas com as diferenças encontradas Desnutrição versus Marcadores inflamatórios

As tabelas 2 e 3 a seguir resumem as diferenças encontradas entre os marcadores inflamatório e o perfil nutricional dos pacientes de acordo com as metodologias empregadas para aferição de desnutrição.

IMC		
	Eutróficos	Desnutridos
Proteína c-reativa	Diminuiu com o tratamento; Valores acima do padrão de referência nos 3 tempos.	Níveis mais elevados quanto mais grave a desnutrição; Diminuiu com o tratamento; Valores acima do padrão de referência nos 3 tempos.
Ácido úrico	Aumentou T30 e diminuiu no T60; Valores acima do padrão de referência nos 3 tempos.	Aumentou T30 e diminuiu no T60; Valores acima do padrão de referência nos 3 tempos.
VHS	Diminuiu com o tratamento; Valores acima do padrão de referência nos 3 tempos.	Diminuiu com o tratamento; Valores acima do padrão de referência nos 3 tempos. Após os 60 dias os desnutridos graves continuam com os níveis muito elevados.
Linfócitos totais	Contagem Normal.	Contagem mais elevada nos desnutridos graves.
Linfócitos CD4+	Contagem normal.	Contagem mais elevada nos desnutridos graves.

Tabela 2: Perfil nutricional e comportamento dos marcadores inflamatórios de acordo com o IMC.

AMB		
	Adequados	Desnutridos
Proteína c-reativa	Variou com o tratamento; Valores acima do padrão de referência nos 3 tempos.	Diminuiu com o tratamento; Valores acima do padrão de referência nos 3 tempos.
Ácido úrico	Aumentou T30 e diminuiu no T60; Valores acima do padrão de referência nos 3 tempos.	Aumentou T30 e diminuiu no T60; Valores maiores quando comparado ao grupo não desnutrido; Valores acima do padrão de referência nos 3 tempos.
VHS	Aumentou T30 e diminuiu no T60; Valores dentro do padrão de referência no T60.	Aumentou T30 e diminuiu no T60; Valores acima do padrão de referência nos 3 tempos. Após os 60 dias os desnutridos graves com os níveis muito elevados.
Linfócitos totais	Aumentou T30 e diminuiu no T60; Contagem Normal.	Aumentou do T0 ao T60; Contagem Normal.
Linfócitos CD4+	Contagem normal.	Contagem mais elevada nos desnutridos.

Tabela 3: Perfil nutricional e comportamento dos marcadores inflamatórios de acordo com o AMB.

5.6 Avaliação da presença de Polimorfismos na região promotora dos genes que codificam para TNF- α região -238 e Proteína C reativa - 1059

Avaliou-se a frequência do polimorfismo no gene que codifica para TNF- α na posição -238G/A entre os indivíduos estudados. O gráfico 17 representa a distribuição genotípica e alélica: encontramos 2 (8%) homozigotos selvagens (GG), 23 (92%) heterozigotos (GA) e não se observa nenhum homozigoto mutante (AA). A frequência alélica mutante no grupo estudado é de 46%. Este resultado talvez possa explicar o porquê das dosagens do TNF- α , dosado neste grupo terem sido tão abaixo dos valores considerados normais, pois a presença do alelo A na posição -238 no gene desta citocina diminui a expressão da mesma.

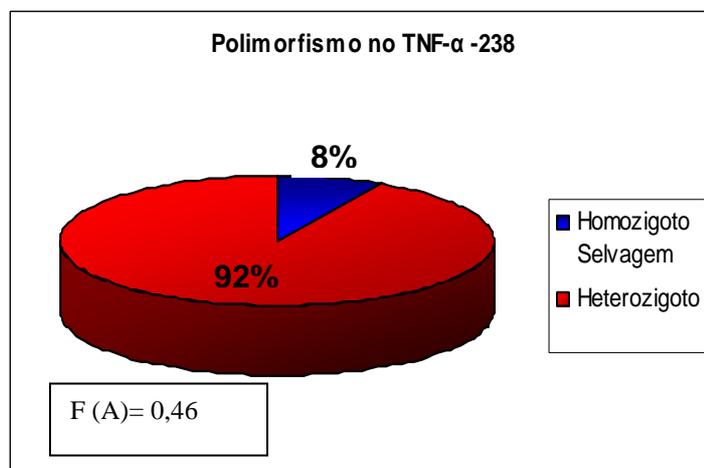


Gráfico 17: Resultado da genotipagem dos pacientes para o gene de TNF- α na região -238.

Avaliou-se também a frequência do polimorfismo no exon 2 do gene que codifica para a expressão da proteína C-reativa na posição 1059G/C entre os 25 indivíduos estudados. O gráfico 18 representa a distribuição genotípica e alélica: 19 (76%) apresentam o genótipo de homozigoto selvagem (GG) e 6 (24%) apresentam o genótipo heterozigoto mutante (GC). Não se observa caso

de homocigoto mutante (CC). A frequência alélica mutante no grupo estudado é de 12%.

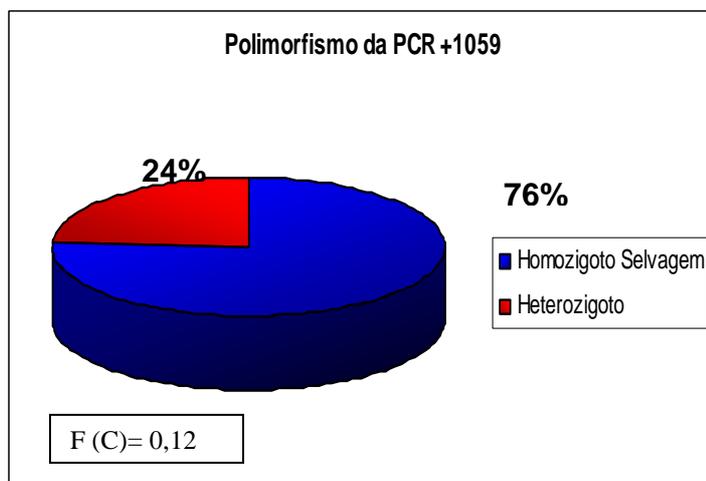


Gráfico 18: Resultado da genotipagem dos pacientes para o gene de proteína c-reativa na região +1059.

Entre os 6 pacientes que apresentam a presença do alelo C, 5 demonstram possuir níveis muito baixos da proteína c-reativa quando comparados aos pacientes sem a presença do alelo C (Gráfico 19).

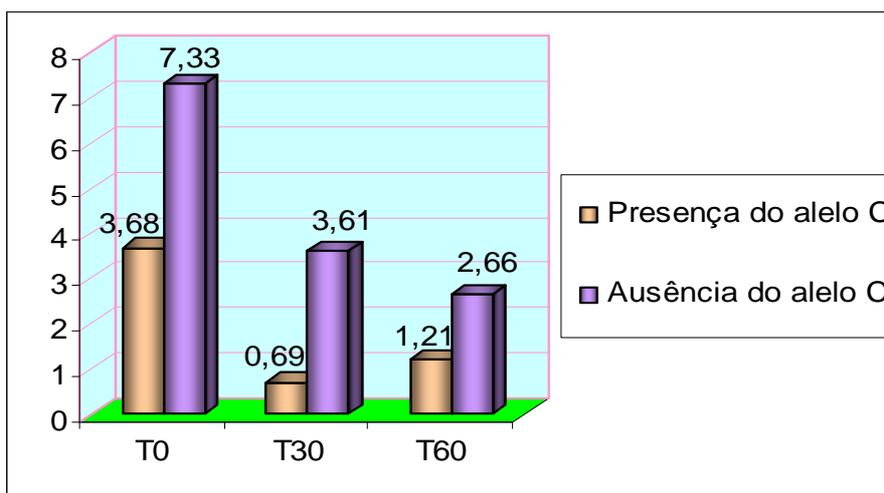


Gráfico 19: Diferença nos níveis da proteína c-reativa quando há a presença do alelo C comparado à ausência do Alelo C.

6 Discussão

A TB está associada a vários fatores sócio-econômicos e freqüentemente acomete populações com maior nível de pobreza, moradores de favelas e expostos à privações econômicas. Nesta população é mais prevalente a carência de ingestão de alimentos, micronutrientes, maior ocorrência de desnutrição (E. A. Dodor. 2008) e possivelmente menor efetividade na resposta imune (Cegielski e cols. 2004). A reativação de TB latente ou TB sub-clínica tem sido associada ao *status* nutricional deteriorado e ao aumento da ocorrência de TB entre pacientes infectados por HIV (Cegielski e cols. 2004). No presente estudo descritivo e observacional que incluiu pacientes com TB pulmonar admitidos em dois hospitais no Rio de Janeiro, foi realizada uma análise sobre a evolução de variáveis bioquímicas, imunogenéticas e nutricionais durante fase inicial do tratamento anti-TB (60 dias).

Os resultados observados mostram a necessidade de se incluir uma avaliação nutricional dos pacientes internados, aliada a avaliação clínica, radiológica e bacteriológica, pois entre 25 pacientes incluídos no estudo, 22 apresentaram desnutrição segundo a aferição por AMB. Apenas três pacientes eram portadores de infecção por HIV, sem imunodeficiência grave.

Internacionalmente, a medida de aferição nutricional mais utilizada em enfermidades agudas é baseada no Índice de Massa Corporal (IMC). Apesar de ser uma doença crônica, o IMC também tem sido utilizado entre os pacientes com TB (Dodor e cols. 2008; Kim e cols 2008; Iwanaga e cols. 2006; Baldwin e cols. 2004).

Em nosso estudo, de modo inovador utilizamos a IMC e AMB para avaliar o estado nutricional dos pacientes com TB. Nossos resultados mostram que o perfil de desnutrição entre os pacientes difere de acordo com o indicador utilizado. Os dados observados com a medida da área média do braço (AMB) difere muito quando comparada com o IMC na análise nutricional e sua associação com perfil clínico dos pacientes com TB pulmonar. Entre 25 pacientes incluídos, apenas 2 pacientes foram classificados como eutróficos por este método. Na classificação com IMC, 11 pacientes foram classificados como eutróficos, apesar da grave apresentação clínica e radiológica. Tais dados sugerem que deve ser revista a aferição nutricional com IMC em pacientes com TB, uma vez que seus resultados de baixa acurácia podem impedir a adoção de prescrição dietética indicada em pacientes internados.

6.1 Status Nutricional e Inflamação

Em nossa casuística, em todos os 25 pacientes incluídos no estudo, observa-se uma elevada resposta inflamatória desde o início até o segundo mês de tratamento anti-TB, uma vez que os níveis de proteína c-reativa se apresentam acima dos valores de referência. No segundo mês, os níveis de proteína c-reativa foram menores do que no início de tratamento. Tais resultados estão de acordo com Silva e cols (2007) onde, num período de 12 meses, em pacientes com diferentes formas clínicas de hanseníase, observou-se que os níveis de proteína c-reativa foram mais elevados no início do tratamento e maior no grupo que apresentava reação reversa. No presente estudo, entre os 25 pacientes incluídos, 20 apresentavam pelo menos uma cavidade pulmonar similar ao descrito por Siawaya e cols 2008 e Masako e

cols. 2008 que observaram uma associação significativa entre a presença de cavidades no radiograma torácico e níveis elevados de proteína c-reativa.

A desnutrição pode estar associada com maior taxa de mortalidade ou em ser considerada como marcador predisponente para a ocorrência de doenças (Qureshi e cols. 2002). Em nossa casuística, há tendência de maiores níveis da proteína c-reativa entre os pacientes desnutridos, similar ao relatado por Qureshi e cols, ao observarem níveis séricos elevados de proteína c-reativa em pacientes sob hemodiálise desnutridos em comparação aos pacientes eutróficos.

Observou-se níveis elevados de VHS na fase inicial seguido de diminuição durante o tratamento anti-TB. Estes resultados estão de acordo com aqueles relatados por Ostrowski e cols (2006), que ao estudarem uma coorte de pacientes com tuberculose extrapulmonar observaram queda do VHS no decorrer do tratamento anti-TB. Observamos também que os valores de VHS se apresentam maior no grupo de pacientes classificados como desnutridos graves, seja pelo método do IMC ou da AMB, o que evidencia um estado inflamatório mais persistente nestes pacientes.

Tem sido descrito níveis elevados do ácido úrico e efeitos adversos na fase inicial do tratamento anti-TB, associados com uso de pirazinamida (Taki e cols. 2008; Solangi e cols. 2004). Entretanto, a hiperuricemia pode também ocorrer em distúrbios do metabolismo, como a desnutrição (Tausche e cols. 2006). As taxas elevadas do nível sérico de ácido úrico na fase inicial foram seguidas de diminuição durante o tratamento, principalmente entre os pacientes desnutridos, o que sugerem neste estudo que sua dosagem pode ser utilizada para monitorar resposta inflamatória.

Na fase inicial do tratamento anti-TB, observa-se uma redução na contagem absoluta e relativa de CD3 + e linfócitos CD4 + e na produção de citocinas em culturas de células mononucleares de sangue periférico de pacientes com TB (Khasanova e cols. 2008). Não se observou a diferença na contagem linfocitária entre os grupos de pacientes desnutridos e eutróficos por meio da classificação da AMB. Com uso da classificação de IMC, observou-se uma tendência de níveis mais elevados de linfócitos circulantes entre os desnutridos graves. Há evidências científicas que a desnutrição protéica prejudica a resposta imunológica e inflamatória (Hassanein e cols. 2006). O aumento de níveis circulantes de linfócito CD4+ durante os primeiros 60 dias de tratamento anti-TB efetivo relatado na literatura foi observado entre os pacientes com desnutrição grave. Provavelmente, caso fosse disponibilizado em nossa casuística o perfil funcional sobre a qualidade da resposta celular, poderíamos talvez identificar as diferenças esperadas na dosagem de linfócitos CD4+ durante o tratamento nas respostas inflamatórias a processos infecciosos (Alimonti e cols 2005; Migueles e cols 2002).

A resposta efetiva à infecção por *M.tuberculosis* é determinada pela interação patógeno-hospedeiro, e o paciente considerado bem sucedido apresenta uma resposta imune com formação de granulomas e doença limitada. Por outro lado, a presença de cavidades no radiograma torácico indica falha da resposta imune. (Barry e cols. 2008).

Apesar de pequena casuística, nossos resultados sugerem que os pacientes com maior grau de desnutrição apresentam resposta inflamatória mais aguda e persistente.

6.2 Avaliação Genética dos mediadores Inflamatórios

O uso potencial da avaliação dos níveis de citocinas no soro e sua atuação como marcadores de resposta anti-TB tem sido proposto na literatura (Ribeiro-Rodrigues e cols 2002).

No presente estudo, utilizando o método de IMC ou AMB, em razão dos níveis séricos muito baixos de TNF alfa, não foi possível identificar diferenças entre pacientes eutróficos e desnutridos. Tais resultados diferem daquele descrito por De Andrade e cols (Bras J Infec Dis 2008), que mostraram uma associação entre níveis elevados de TNF alfa com perda de peso, e queda de seus níveis durante o tratamento anti-TB. Os resultados obtidos em nosso estudo podem ser parcialmente explicados pela elevada presença (92%) de polimorfismos no promotor do gene que codifica para TNF- α , na posição -238, usualmente associada com menor produção de proteína TNF- α . Esta mutação altera negativamente a taxa de transcrição do gene. Nestes pacientes apesar de elevada resposta pró-inflamatória (níveis elevados de proteína c-reativa, VHS e ácido úrico) pode não ter ocorrido produção elevada de níveis de TNF- α . Tais dados reforçam a necessidade de se analisar o perfil de citocinas e a presença ou não de polimorfismos para a melhor compreensão dos fenômenos da patogenia da TB.

O polimorfismo 1059G> C no exon 2 da proteína c-reativa utilizado neste estudo pretendia confirmar a associação do genótipo tipo-selvagem G/G com níveis séricos elevados de proteína c-reativa observado pacientes após a síndrome coronária aguda (Revilla e cols 2002). Os resultados encontrados em nosso estudo confirmaram tais dados, uma vez que os níveis elevados de proteína c-reativa ocorrem em pacientes com uma frequência elevada do

homozigoto selvagem (GG), e nenhum paciente mutante homozigoto (CC - associado com menor produção de proteína c-reativa) foi encontrado. Pois, a maioria dos 25 pacientes incluídos no estudo apresenta níveis elevados de proteína c-reativa. Entretanto, entre os seis pacientes que apresentaram perfil heterozigoto (alelo G e C), em cinco deles, os níveis da proteína c-reativa foram mais baixos, ou caíram mais rapidamente quando comparados aos pacientes que eram homozigotos selvagens. Estes resultados são similares ao descrito por Rizello e cols. (Rizello, 2007) que mencionaram uma associação entre a presença do alelo C e diminuição da expressão da proteína c-reativa. Importante enfatizar que são escassas as informações na literatura, mas é possível que a presença de polimorfismos de outros genes também possam participar na expressão de proteína c-reativa durante o processo inflamatório.

No presente estudo longitudinal, de maneira inédita em nosso meio, foi possível descrever marcadores bioquímicos, inflamatórios e imunogenéticos durante o tratamento de pacientes com TB pulmonar. Tais informações podem ser úteis na identificação de estratégias mais custo-efetivas na abordagem terapêutica suplementar na fase inicial do tratamento da TB

7 Conclusões

- para a avaliação do estado inflamatório, a classificação por AMB se mostrou mais apropriada para análise nutricional e resposta de fase aguda em pacientes sob tratamento anti-TB em relação ao IMC;
- o status inflamatório dos pacientes submetidos ao tratamento medicamentoso e nutricional melhorou ao longo dos 60 dias uma vez que os níveis séricos inicialmente elevados de proteína c-reativa, VHS, e ácido úrico diminuíram no seguimento, sobretudo nos pacientes desnutridos quando comparados com os pacientes eutróficos,
- polimorfismo no gene de TNF- α na região -238 identificado em 92% dos pacientes,
- polimorfismo no exon 2 da proteína c-reativa na posição 1059G>C identificado em 6 (24%) pacientes com níveis baixos de proteína c-reativa em 5 deles.

8 Limitações do estudo

- Não foi possível confirmar a tratamento diretamente observado dos pacientes incluídos no estudo, pois tal atividade era exercida pelos profissionais de saúde dos hospitais; e, pela ausência da realização de exames de urina e/ou dosagem dos níveis séricos dos medicamentos;
- Não foram realizados questionários de frequência alimentar.
- Amostra de conveniência resultou em pequena casuística de pacientes em sub-grupos para identificar tendências de algumas mensurações clínicas, radiológicas e laboratoriais.
- Número limitado de mediadores e citocinas avaliados uma vez que a resposta imunológica e inflamatória funciona em rede integrada.

9 Perspectivas do estudo

- A avaliação nutricional realizada em pacientes portadores de TB deve ser cuidadosa no intuito de que sejam identificadas terapias nutricionais adjuvantes mais adequadas seguidas de melhor prognóstico.
- Necessária a realização de estudos genéticos e funcionais que incluam outros genes alvos associados a modulação da resposta imunológica, tais como IL-1 β , IL-10, IFN- γ , com o intuito de melhorar a compreensão sobre a resposta imune e inflamatória em pacientes sob tratamento medicamentoso anti-TB

10 Referências Bibliográficas

ADDO,K.; OWUSU DARKO,K.;YEBOAH MANU,D.; CAULLEY,P.; MINAMIKAWA,M.; BONSU,F.; LEINHARDT,C.; AKPEDONU,P.; OFORI-ADJEI,D. Mycobacterial species causing pulmonary tuberculosis at the korle bu teaching hospital, accra, ghana. Ghana Med J, v. 41, n. 2, p. 52-57, 2007.

AMIM, LH; RABAHI, M; MOREIRA, AS; MELLO, MH; RIBEIRO, FC; MELLO, FCQ; KRITSKI, AL; SANTOS, AL. A significant association of the vitamin D receptor gene Fok1 polymorphism with tuberculosis occurrence in Brazilians. Am J Respir Crit Care Med 2006, 3: A 218

AISU,T.; RAVIGLIONE,M.C.; VAN PRAAG,E.; ERIKI,P.;NARAIN,J.P.; BARUGAHARE,L.; TEMBO,G.; MCFARLAND,D.; ENGWAU,F.A. Preventive chemotherapy for HIV-associated tuberculosis in Uganda: an operational assessment at a voluntary counselling and testing centre. AIDS, v. 9, n. 3, p. 267-273, 1995.

ALIMONTI,J.B.;KOESTERS,S.A.;KIMANI,J.;MATU,L.;WACHIHI,C.;PLUMMER, F.A.;FOWKE,K.R. CD4+ T cell responses in HIV-exposed seronegative women are qualitatively distinct from those in HIV-infected women. J Infect Dis, v. 191, n. 1, p. 20-24, 2005.

ANDRADE JUNIOR,D.R.; DOS SANTOS,S.A.; DE,C., I; DE ANDRADE,D.R. Correlation between serum tumor necrosis factor alpha levels and clinical severity of tuberculosis. Braz J Infect Dis, v. 12, n. 3, p. 226-233, 2008.

ANKER,S.D.; EGERER,K.R.; VOLK,H.D.; KOX,W.J.; POOLE-WILSON,P.A.; COATS,A.J. Elevated soluble CD14 receptors and altered cytokines in chronic heart failure. *Am J Cardiol*, v. 79, n. 10, p. 1426-1430, 1997.

ASHRAF,M. e SAMRA,Z.Q. Subcellular distribution of xanthine oxidase during cardiac ischemia and reperfusion: an immunocytochemical study. *J Submicrosc Cytol Pathol*, v. 25, n. 2, p. 193-201, 1993.

BALDWIN,M.R.; YORI,P.P.; FORD,C.; MOORE,D.A.; GILMAN,R.H.; VIDAL,C.; TICONA,E.; EVANS,C.A. Tuberculosis and nutrition: disease perceptions and health seeking behavior of household contacts in the Peruvian Amazon. *Int J Tuberc Lung Dis*, v. 8, n. 12, p. 1484-1491, 2004.

BALKWILL, F.R. Tumour necrosis factor. *Br Med Bull*, v. 45, n. 2, p. 389-400, 1989.

BARRY,S.; BREEN,R.; LIPMAN,M.; JOHNSON,M.; JANOSSY,G. Impaired antigen-specific CD4(+) T lymphocyte responses in cavitary tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*, 2008.

BEISEL,W.R. Vitamins and the immune system. *Ann N Y Acad Sci*, v. 587, p. 5-8, 1990.

BEISEL,W.R. Future role of micronutrients on immune functions. *Ann N Y Acad Sci*, v. 587, p. 267-274, 1990.

BEKKER,L.G.; MOREIRA,A.L.; BERGTOLD,A.; FREEMAN,S.; RYFFEL,B.; KAPLAN,G. Immunopathologic effects of tumor necrosis factor alpha in murine mycobacterial infection are dose dependent. *Infect Immun*, v. 68, n. 12, p. 6954-6961, 2000.

BELLAMY,R.; RUWENDE,C.; CORRAH,T.; MCADAM,K.P.; WHITTLE,H.C.; HILL,A.V. Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. *N Engl J Med*, v. 338, n. 10, p. 640-644, 1998.

BIDWELL,J.; KEEN,L.; GALLAGHER,G.; KIMBERLY,R.; HUIZINGA,T.; MCDERMOTT,M.F; OKSENBERG,J.; MCNICHOLL,J.; POCIOT,F.; HARDT,C.; D'ALFONSO,S.Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes Immun*, v. 1, n. 1, p. 3-19, 1999.

Boletim Eletrônico Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro. 2007.
www.saude.rio.rj.gov.br/

Boletim do Sistema de Informação de Agravos Notificados (SINAN 2006).
<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/novo/>

BOTHAMLEY,G.H.; BECK,J.S.; SCHREUDER,G.M.; D'AMARO,J.;DEVRIES,R.R.; KARDJITO,T.; IVANYI,J. Association of tuberculosis and M. tuberculosis-specific antibody levels with HLA. *J Infect Dis*, v. 159, n. 3, p. 549-555, 1989.

BRAHMAJOTHI,V.; PITCHAPPAN,R.M.; KAKKANAI AH,V.N.; SASHIDHAR,M.;
RAJARAM,K.S.; PALANIMURUGAN,K.; PARAMASIVAN,C.N.;
PRABHAKAR,R. Association of pulmonary tuberculosis and HLA in south India.
Tubercle, v. 72, n. 2, p. 123-132, 1991.

BRULL,D.J.;SERRANO,N.;ZITO,F.;JONES,L.;MONTGOMERY,H.E.;RUMLEY,
A.;SHARMA,P.;LOWE,G.D.;WORLD,M.J.;HUMPHRIES,S.E.;HINGORANI,A.D.
Human CRP gene polymorphism influences CRP levels: implications for the
prediction and pathogenesis of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb
Vasc Biol*, v. 23, n. 11, p. 2063-2069, 2003.

CAHN,P.;PEREZ,H.;BEN,G.;OCHOA,C. Tuberculosis and HIV: a partnership
against the most vulnerable. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic Ill)*, v. 2,
n. 3, p. 106-123, 2003.

CASANOVA,J.L. e ABEL,L. Genetic dissection of immunity to mycobacteria: the
human model. *Annu Rev Immunol*, v. 20, p. 581-620, 2002.

CARDOSO, AMC; HABIB FRAIHA NETO; HELENA SATOS; NINAROSO
CALZAVARA CARDOSO. Diagnostico Nutricional de pacientes internados por
TB em Belém do Para. *Bol. Pneumol. Sanit.* 12(2): 69-13. 2004

CEGIELSKI,J.P. e MCMURRAY,D.N. The relationship between malnutrition and
tuberculosis: evidence from studies in humans and experimental animals. *Int J
Tuberc Lung Dis*, v. 8, n. 3, p. 286-298, 2004.

COMSTOCK,G.W. Tuberculosis in twins: a re-analysis of the Prophit survey. *Am Rev Respir Dis*, v. 117, n. 4, p. 621-624, 1978.

COOVADIA,H.M.;JEENA,P.;WILKINSON,D. Childhood human immunodeficiency virus and tuberculosis co-infections: reconciling conflicting data. *Int J Tuberc Lung Dis*, v. 2, n. 10, p. 844-851, 1998.

CORRÊA, CR; ANGELALEI, AYO; CAMARGO, NR; BARBOSA, L; BURINI, RC. Comparação entre a relação PCR/albumina e o índice prognóstico inflamatório nutricional (IPIN). *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, Rio de Janeiro: v. 38, n. 3, 2002.

CORREIA, MARIA ISABEL TC; CAIAFFA, WALESKA T; WAITZBERG, DAN L. Inquérito brasileiro de avaliação nutricional hospitalar (IBRANUTRI): Metodologia do estudo multicêntrico. *Rev. Bras. Clin.*, n. 13, p. 30-40, 1998.

DACIE,J.V. Mechanism of haemolysis in auto-immune haemolytic anaemias. *Nouv Rev Fr Hematol*, v. 12, n. 3, p. 371-374, 1972.

DJOBA SIAWAYA,J.F.; BAPELA,N.B.;RONACHER,K.; VEENSTRA,H.; KIDD,M.;GIE,R.; BEYERS,N.; VAN HELDEN,P.; WALZL,G. Immune parameters as markers of tuberculosis extent of disease and early prediction of anti-tuberculosis chemotherapy response. *J Infect*, v. 56, n. 5, p. 340-347, 2008.

DODOR,E. Evaluation of nutritional status of new tuberculosis patients at the effia-nkwanta regional hospital. Ghana Med J, v. 42, n. 1, p. 22-28, 2008.

DUARTE, ANTÔNIO CLÁUDIO GOULART. Semiologia Imunológica Nutricional. Rio de Janeiro: Axcel Books, 2003. 255p.

DODOR,E.A.;NEAL,K.;KELLY,S. An exploration of the causes of tuberculosis stigma in an urban district in Ghana. Int J Tuberc Lung Dis, v. 12, n. 9, p. 1048-1054, 2008.

ELLNER,J.J. The human immune response to Mycobacterium Tuberculosis infection and disease. Kekkaku, v. 76, n. 2, p. 83-91, 2001.

FEINGOLD,K.R.;MARSHALL,M.;GULLI,R.;MOSER,A.H.;GRUNFELD,C. Effect of endotoxin and cytokines on lipoprotein lipase activity in mice. Arterioscler Thromb, v. 14, n. 11, p. 1866-1872, 1994.

FERRARI,R.;BACHETTI,T.;CONFORTINI,R.;OPASICH,C.;FEBO,O.;CORTI,A.;CASSANI,G.;VISIOLI,O. Tumor necrosis factor soluble receptors in patients with various degrees of congestive heart failure. Circulation, v. 92, n. 6, p. 1479-1486, 1995.

FERRAZ,J.C.;MELO,F.B.;ALBUQUERQUE,M.F.;MONTENEGRO,S.M.;ABATH,F.G. Immune factors and immunoregulation in tuberculosis. Braz J Med Biol Res, v. 39, n. 11, p. 1387-1397, 2006.

FERRELL,M.;FUSTER,V.;GOLD,H.K.;CHESEBRO,J.H. A dilemma for the 1990s. Choosing appropriate experimental animal model for the prevention of restenosis. *Circulation*, v. 85, n. 4, p. 1630-1631, 1992.

FLOYD-SMITH,G.;WHITEHEAD,A.S.;COLTEN,H.R.;FRANCKE,U. The human C-reactive protein gene (CRP) and serum amyloid P component gene (APCS) are located on the proximal long arm of chromosome 1. *Immunogenetics*, v. 24, n. 3, p. 171-176, 1986.

FLYNN,J.L. e CHAN,J. Immunology of tuberculosis. *Annu Rev Immunol*, v. 19, p. 93-129, 2001.

FLYNN,J.L. e CHAN,J. What's good for the host is good for the bug. *Trends Microbiol*, v. 13, n. 3, p. 98-102, 2005.

GABOURY,J.;WOODMAN,R.C.;GRANGER,D.N.;REINHARDT,P.;KUBES,P. Nitric oxide prevents leukocyte adherence: role of superoxide. *Am J Physiol*, v. 265, n. 3 Pt 2, p. H862-H867, 1993.

GAO,P.S.;FUJISHIMA,S.;MAO,X.Q.;REMUS,N.;KANDA,M.;ENOMOTO,T.;DAK E,Y.;BOTTINI,N.;TABUCHI,M.;HASEGAWA,N.;YAMAGUCHI,K.;TIEMESSEN,C .;HOPKIN,J.M.;SHIRAKAWA,T.;KISHI,F. Genetic variants of NRAMP1 and active tuberculosis in Japanese populations. International Tuberculosis Genetics Team. *Clin Genet*, v. 58, n. 1, p. 74-76, 2000.

GINZBURG,V.S. e DADAMUKHAMEDOV,A.A. [Absorption of nutrients in patients with pulmonary tuberculosis]. *Probl Tuberk*, n. 10, p. 44-46, 1990.

GLADYS FIORENZAB; LILIANA RATENIB; MIGUEL A. FARRONIC; CRISTINA BOGU; DIANA G. GLUGOVITZKYA. TNF- α , TGF- β and NO relationship in sera from tuberculosis (TB) patients of different severity *Immunology Letters* 98 (2005) 45–48.

GOLDFELD,A.E.;DELGADO,J.C.;THIM,S.;BOZON,M.V.;UGLIALORO,A.M.;TURBAY,D.;COHEN,C.;YUNIS,E.J. Association of an HLA-DQ allele with clinical tuberculosis. *JAMA*, v. 279, n. 3, p. 226-228, 1998.

GREENWOOD,C.M.;FUJIWARA,T.M.;BOOTHROYD,L.J.;MILLER,M.A.;FRAPPIER,D.;FANNING,E.A.;SCHURR,E.;MORGAN,K. Linkage of tuberculosis to chromosome 2q35 loci, including NRAMP1, in a large aboriginal Canadian family. *Am J Hum Genet*, v. 67, n. 2, p. 405-416, 2000.

GRUM,C.M.;GROSS,T.J.;MODY,C.H.;SITRIN,R.G. Expression of xanthine oxidase activity by murine leukocytes. *J Lab Clin Med*, v. 116, n. 2, p. 211-218, 1990.

HAGE,F.G. e SZALAI,A.J. C-reactive protein gene polymorphisms, C-reactive protein blood levels, and cardiovascular disease risk. *J Am Coll Cardiol*, v. 50, n. 12, p. 1115-1122, 2007.

HAGHIGHI,L. e DOUST,J.Y. C-reactive protein in pulmonary tuberculosis. *Dis Chest*, v. 50, n. 6, p. 624-626, 1966.

HAJEER,A.H. e HUTCHINSON,I.V. Influence of TNFalpha gene polymorphisms on TNFalpha production and disease. *Hum Immunol*, v. 62, n. 11, p. 1191-1199, 2001.

HARRIES,A.D.; NKHOMA,W.A.; THOMPSON,P.J.; NYANGULU,D.S.; WIRIMA,J.J. Nutritional status in Malawian patients with pulmonary tuberculosis and response to chemotherapy. *Eur J Clin Nutr*, v. 42, n. 5, p. 445-450, 1988.

HASSANEIN,N.M.;TALAAT,R.M.;BASSIOUNY,K.;HAMED,M.R. Influence of protein malnutrition on induction and treatment of inflammation in mice. *Egypt J Immunol*, v. 13, n. 2, p. 49-60, 2006.

HELLSTEN,Y.;FRANDBSEN,U.;ORTHENBLAD,N.;SJODIN,B.;RICHTER,E.A. Xanthine oxidase in human skeletal muscle following eccentric exercise: a role in inflammation. *J Physiol*, v. 498 (Pt 1), p. 239-248, 1997.

HO,D. HIV research overview: interview with David Ho, M.D. Interview by John S. James. *AIDS Treat News*, n. No 282, p. 1-6, 1997.

HOAL-VAN HELDEN,E.G.; EPSTEIN,J.; VICTOR,T.C.; HON,D.; LEWIS,L.A.; BEYERS,N.; ZURAKOWSKI,D.; EZEKOWITZ,A.B.;VAN HELDEN,P.D. Mannose-binding protein B allele confers protection against tuberculous meningitis. *Pediatr Res*, v. 45, n. 4 Pt 1, p. 459-464, 1999.

HOHLER,T.; SCHAPER,T.; SCHNEIDER,P.M.; MEYER ZUM BUSCHENFELDE,K.H.; MARKER-HERMANN,E. Association of different tumor necrosis factor alpha promoter allele frequencies with ankylosing spondylitis in HLA-B27 positive individuals. *Arthritis Rheum*, v. 41, n. 8, p. 1489-1492, 1998.

INUI,A. Cancer anorexia-cachexia syndrome: current issues in research and management. *CA Cancer J Clin*, v. 52, n. 2, p. 72-91, 2002.

IWANAGA,T.;IKEDA,T.;MACHIDA,K.;KAWASHIRO,T. [Clinical analysis of patients with sequelae of pulmonary tuberculosis undergoing home oxygen therapy]. *Kekkaku*, v. 81, n. 6, p. 407-412, 2006.

KARYADI,E.;SCHULTINK,W.;NELWAN,R.H.;GROSS,R.;AMIN,Z.;DOLMANS, W.M.;VAN DER MEER,J.W.;HAUTVAST,J.G.;WEST,C.E. Poor micronutrient status of active pulmonary tuberculosis patients in Indonesia. *J Nutr*, v. 130, n. 12, p. 2953-2958, 2000.

KENNEDY,N.; RAMSAY,A.; UIISO,L.; GUTMANN,J.; NGOWI,F.I.; GILLESPIE,S.H. Nutritional status and weight gain in patients with pulmonary tuberculosis in Tanzania. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, v. 90, n. 2, p. 162-166, 1996.

KHASANOVA,R.R.;VORONKOVA,O.V.;URAZOVA,O.I.;NOVITSKII,V.V.;STRELIS,A.K.;KOLOSOVA,A.E.;STAMBULA,I.;SEREBRIAKOVA,V.A.;NASLEDNIKOV A,I.O.;KOLOKOVA,O.V.;VASIL'EVA,O.A.;BUDKINA,T.E. [Role of cytokines in

the modulation of lymphocytic subpopulational composition in patients with pulmonary tuberculosis]. *Probl Tuberk Bolezn Legk*, n. 3, p. 31-35, 2008.

KIM,D.K.;KIM,H.J.;KWON,S.Y.;YOON,H.I.;LEE,C.T.;KIM,Y.W.;CHUNG,H.S.;HAN,S.K.;SHIM,Y.S.;LEE,J.H. Nutritional deficit as a negative prognostic factor in patients with miliary tuberculosis. *Eur Respir J*, v. 32, n. 4, p. 1031-1036, 2008.

KLAUSNER,J.D.;MAKONKAWKEYOON,S.;AKARASEWI,P.;NAKATA,K.;KASINRERK,W.;CORRAL,L.;DEWAR,R.L.;LANE,H.C.;FREEDMAN,V.H.;KAPLAN,G. The effect of thalidomide on the pathogenesis of human immunodeficiency virus type 1 and M. tuberculosis infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*, v. 11, n. 3, p. 247-257, 1996.

KORNMAN,K.S.;MARTHA,P.M.;DUFF,G.W. Genetic variations and inflammation: a practical nutrigenomics opportunity. *Nutrition*, v. 20, n. 1, p. 44-49, 2004.

KOTLER,D.P. Cachexia. *Ann Intern Med*, v. 133, n. 8, p. 622-634, 2000.

KRITSKI,A.L. e RUFFINO-NETTO,A. Health sector reform in Brazil: impact on tuberculosis control. *Int J Tuberc Lung Dis*, v. 4, n. 7, p. 622-626, 2000.

LANZARA G. A.; PROVENZA J. R.; BONFIGLIOLI R. Velocidade de hemossedimentação (VHS) de segunda hora: qual o seu valor? *Rev Bras Reumatol – Vol. 41 – Nº 4 –2001: 237-241.*

LARSSON,A. e HANSSON,L.O. Inflammatory activity: capillary electrophoresis provides more information than erythrocyte sedimentation rate. *Ups J Med Sci*, v. 110, n. 2, p. 151-158, 2005.

LAZZARINO,G.; RAATIKAINEN,P.; NUUTINEN,M.; NISSINEN,J.; TAVAZZI,B.; DI PIERRO,D.;GIARDINA,B.;PEUHKURINEN,K. Myocardial release of malondialdehyde and purine compounds during coronary bypass surgery. *Circulation*, v. 90, n. 1, p. 291-297, 1994.

LEVINE,B.; KALMAN,J.; MAYER,L.; FILLIT,H.M.; PACKER,M. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med*, v. 323, n. 4, p. 236-241, 1990.

LEYVA,F.; ANKER,S.D.; GODSLAND,I.F.; TEIXEIRA,M.; HELLEWELL,P.G.; KOX,W.J.; POOLE-WILSON,P.A.; COATS,A.J. Uric acid in chronic heart failure: a marker of chronic inflammation. *Eur Heart J*, v. 19, n. 12, p. 1814-1822, 1998.

LIAO,W. e FLOREN,C.H. Upregulation of low density lipoprotein receptor activity by tumor necrosis factor, a process independent of tumor necrosis factor-induced lipid synthesis and secretion. *Lipids*, v. 29, n. 10, p. 679-684, 1994.

MACALLAN,D.C. e GRIFFIN,G.E. Metabolic disturbances in AIDS. *N Engl J Med*, v. 327, n. 21, p. 1530-1531, 1992.

MAINALI,E.S. e MCMURRAY,D.N. Protein deficiency induces alterations in the distribution of T-cell subsets in experimental pulmonary tuberculosis. *Infect Immun*, v. 66, n. 3, p. 927-931, 1998.

MASTER,S.S.;SPRINGER,B.;SANDER,P.;BOETTGER,E.C.;DERETIC,V.;TIMMINS,G.S. Oxidative stress response genes in *Mycobacterium tuberculosis*: role of *ahpC* in resistance to peroxynitrite and stage-specific survival in macrophages. *Microbiology*, v. 148, n. Pt 10, p. 3139-3144, 2002.

MEHRA,N.K.;RAJALINGAM,R.;MITRA,D.K.;TANEJA,V.;GIPHART,M.J. Variants of HLA-DR2/DR51 group haplotypes and susceptibility to tuberculoid leprosy and pulmonary tuberculosis in Asian Indians. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*, v. 63, n. 2, p. 241-248, 1995.

METCALFE,N. A study of tuberculosis, malnutrition and gender in Sri Lanka. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, v. 99, n. 2, p. 115-119, 2005.

MIGUELES,S.A.; LABORICO,A.C.; SHUPERT,W.L.; SABBAGHIAN,M.S.; RABIN,R.; HALLAHAN,C.W.; VAN BAARLE,D.; KOSTENSE,S.; MIEDEMA,F.; MCLAUGHLIN,M.; EHLER,L.; METCALF,J.; LIU,S.; CONNORS,M. HIV-specific CD8+ T cell proliferation is coupled to perforin expression and is maintained in nonprogressors. *Nat Immunol*, v. 3, n. 11, p. 1061-1068, 2002.

MIRA, J. Association of TNF2, a TNF- α promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality: a multicenter study. *JAMA*;282:561.

MITCH,W.E. e GOLDBERG,A.L. Mechanisms of muscle wasting. The role of the ubiquitin-proteasome pathway. *N Engl J Med*, v. 335, n. 25, p. 1897-1905, 1996.

MITRA,A.K.; ALVAREZ,J.O.; GUAY-WOODFORD,L.; FUCHS,G.J.; WAHED,M.A.; STEPHENSEN,C.B. Urinary retinol excretion and kidney function in children with shigellosis. *Am J Clin Nutr*, v. 68, n. 5, p. 1095-1103, 1998.

MIZUSAWA,M.;KAWAMURA,M.;TAKAMORI,M.;KASHIYAMA,T.;FUJITA,A.;USUZAWA,M.;SAITOH,H.;ASHINO,Y.;YANO,I.;HATTORI,T. Increased synthesis of anti-tuberculous glycolipid immunoglobulin G (IgG) and IgA with cavity formation in patients with pulmonary tuberculosis. *Clin Vaccine Immunol*, v. 15, n. 3, p. 544-548, 2008.

MUGUSI,F.M.;RUSIZOKA,O.;HABIB,N.;FAWZI,W. Vitamin A status of patients presenting with pulmonary tuberculosis and asymptomatic HIV-infected individuals, Dar es Salaam, Tanzania. *Int J Tuberc Lung Dis*, v. 7, n. 8, p. 804-807, 2003.

MURRAY,H.W.;RUBIN,B.Y.;MASUR,H.;ROBERTS,R.B. Impaired production of lymphokines and immune (gamma) interferon in the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med*, v. 310, n. 14, p. 883-889, 1984.

NARAIN,J.P.;RAVIGLIONE,M.C.;KOCHI,A. HIV-associated tuberculosis in developing countries: epidemiology and strategies for prevention. *Tuber Lung Dis*, v. 73, n. 6, p. 311-321, 1992.

NETH,O.;JACK,D.L.;DODDS,A.W.;HOLZEL,H.;KLEIN,N.J.;TURNER,M.W.

Mannose-binding lectin binds to a range of clinically relevant microorganisms and promotes complement deposition. *Infect Immun*, v. 68, n. 2, p. 688-693, 2000.

NIYONGABO,T.;HENZEL,D.;IDI,M.;NIMUBONA,S.;GIKORO,E.;MELCHIOR,J.C.;MATHERON,S.; KAMANFU,G.; SAMB,B.; MESSING,B.; BEGUE,J.; AUBRY,P.; LAROUZE,B. Tuberculosis, human immunodeficiency virus infection, and malnutrition in Burundi. *Nutrition*, v. 15, n. 4, p. 289-293, 1999.

NORTH,R.J. e JUNG,Y.J. Immunity to tuberculosis. *Annu Rev Immunol*, v. 22, p. 599-623, 2004.

NUNN,P.;BRINDLE,R.;CARPENTER,L.;ODHIAMBO,J.;WASUNNA,K.;NEWNH AM,R.;GITHUI,W.;GATHUA,S.;OMWEGA,M.;MCADAM,K. Cohort study of human immunodeficiency virus infection in patients with tuberculosis in Nairobi, Kenya. Analysis of early (6-month) mortality. *Am Rev Respir Dis*, v. 146, n. 4, p. 849-854, 1992.

OLIVEIRA, MM; SIMIÃO DA SILVA, JCS; FONSECA-COSTA, JF; AMIM, LH; LOREDO, CCS; MELLO, H; QUEIROZ, LF; MELLO, FCQ; LAPA E SILVA, JR; KRITSKI, AL; SANTOS, AR. Distribuição de Polimorfismos de Base única (SNPs) no gene de TNF- α (-238/-308) entre pacientes com TB e outras pneumopatias: Marcadores genéticos de susceptibilidade a ocorrência de TB? *Jornal Brás Pneumol*, 2004: 30 (4): 263-271

OLIVEIRA, HMMG; RUFFINO-NETTO, A; BRITO, RC; KRITSKI, AL. Aspectos Epidemiológicos dos Pacientes Portadores de Tuberculose Internados no Hospital Estadual Santa Maria – Rio de Janeiro. J Bras Pneumol (In press, 2008)

ONWUBALILI, J.K. Malnutrition among tuberculosis patients in Harrow, England. Eur J Clin Nutr, v. 42, n. 4, p. 363-366, 1988.

OSTROWSKI, S.R.; RAVN, P.; HOYER-HANSEN, G.; ULLUM, H.; ANDERSEN, A.B. Elevated levels of soluble urokinase receptor in serum from mycobacteria infected patients: still looking for a marker of treatment efficacy. Scand J Infect Dis, v. 38, n. 11-12, p. 1028-1032, 2006.

OTTENHOFF, T.H.; VERRECK, F.A.; HOEVE, M.A.; VAN, D., V. Control of human host immunity to mycobacteria. Tuberculosis (Edinb), v. 85, n. 1-2, p. 53-64, 2005.

PENDE, A.; MUSSO, N.R.; VERGASSOLA, C.; PUPPO, F.; IOVERNO, A.; CRISCUOLO, D.; INDIVERI, F.; LOTTI, G. Neuroendocrine effects of interferon alpha 2-a in healthy human subjects. J Biol Regul Homeost Agents, v. 4, n. 2, p. 67-72, 1990.

POCIOT, F.; D'ALFONSO, S.; COMPASSO, S.; SCORZA, R.; RICHIARDI, P.M. Functional analysis of a new polymorphism in the human TNF alpha gene promoter. Scand J Immunol, v. 42, n. 4, p. 501-504, 1995.

QURESHI,A.R.; ALVESTRAND,A.; DIVINO-FILHO,J.C.; GUTIERREZ,A.; HEIMBURGER,O.; LINDHOLM,B.; BERGSTROM,J. Inflammation, malnutrition, and cardiac disease as predictors of mortality in hemodialysis patients. J Am Soc Nephrol, v. 13 Suppl 1, p. S28-S36, 2002.

RAJA,A. Immunology of tuberculosis. Indian J Med Res, v. 120, n. 4, p. 213-232, 2004.

RAJALINGAM,R.;MEHRA,N.K.;JAIN,R.C.;MYNEEDU,V.P.;PANDE,J.N.

Polymerase chain reaction--based sequence-specific oligonucleotide hybridization analysis of HLA class II antigens in pulmonary tuberculosis: relevance to chemotherapy and disease severity. J Infect Dis, v. 173, n. 3, p. 669-676, 1996.

Ramalho, D, dissertação mestrado, UFRJ,2008

.RAVIKUMAR,M.;DHEENADHAYALAN,V.;RAJARAM,K.;LAKSHMI,S.S.;KUMARAN,P.P.;PARAMASIVAN,C.N.;BALAKRISHNAN,K.;PITCHAPPAN,R.M.

Associations of HLA-DRB1, DQB1 and DPB1 alleles with pulmonary tuberculosis in south India. Tuber Lung Dis, v. 79, n. 5, p. 309-317, 1999.

RIBEIRO-RODRIGUES,R.; RESENDE,C.T.; JOHNSON,J.L.; RIBEIRO,F.; PALACI,M.; SA,R.T.; MACIEL,E.L.; PEREIRA LIMA,F.E.; DETTONI,V.; TOOSI,Z.; BOOM,W.H.; DIETZE,R.; ELLNER,J.J.; HIRSCH,C.S. Sputum cytokine levels in patients with pulmonary tuberculosis as early markers of mycobacterial clearance. Clin Diagn Lab Immunol, v. 9, n. 4, p. 818-823, 2002.

RICEVUTI,G.;MAZZONE,A.;PASOTTI,D.;DE SERVI,S.;SPECCHIA,G. Role of granulocytes in endothelial injury in coronary heart disease in humans. *Atherosclerosis*, v. 91, n. 1-2, p. 1-14, 1991.

RIZZELLO,V.;LIUZZO,G.;GIANNUARIO,G.D.;TRABETTI,E.;BRUGALETTA,S.;SANTAMARIA,M.;PIRO,M.;PIGNATTI,P.F.;MASERI,A.;BIASUCCI,L.M.;CREA,F. 1059G/C polymorphism within the exon 2 of the C-reactive protein gene: relationship to C-reactive protein levels and prognosis in unstable angina. *Coron Artery Dis*, v. 18, n. 7, p. 533-538, 2007.

ROCKETT,K.A.; BROOKES,R.; UDALOVA,I.; VIDAL,V.; HILL,A.V.; KWIATKOWSKI,D. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 induces nitric oxide synthase and suppresses growth of *Mycobacterium tuberculosis* in a human macrophage-like cell line. *Infect Immun*, v. 66, n. 11, p. 5314-5321, 1998.

ROOK,G.A.;STEELE,J.;FRAHER,L.;BARKER,S.;KARMALI,R.;O'RIORDAN,J.;S TANFORD,J. Vitamin D3, gamma interferon, and control of proliferation of *Mycobacterium tuberculosis* by human monocytes. *Immunology*, v. 57, n. 1, p. 159-163, 1986.

ROUBENOFF,R.;PARISE,H.;PAYETTE,H.A.;ABAD,L.W.;D'AGOSTINO,R.;JACQUES,P.F.;WILSON,P.W.;DINARELLO,C.A.;HARRIS,T.B. Cytokines, insulin-like growth factor 1, sarcopenia, and mortality in very old community-dwelling men and women: the Framingham Heart Study. *Am J Med*, v. 115, n. 6, p. 429-435, 2003.

RYU,S.;PARK,Y.K.;BAI,G.H.;KIM,S.J.;PARK,S.N.;KANG,S. 3'UTR polymorphisms in the NRAMP1 gene are associated with susceptibility to tuberculosis in Koreans. *Int J Tuberc Lung Dis*, v. 4, n. 6, p. 577-580, 2000.

SAADEH,C. The erythrocyte sedimentation rate: old and new clinical applications. *South Med J*, v. 91, n. 3, p. 220-225, 1998.

SANTO,A.H.;PINHEIRO,C.E.;JORDANI,M.S. [Multiple-causes-of-death related to tuberculosis in the State of Sao Paulo, Brazil, 1998]. *Rev Saude Publica*, v. 37, n. 6, p. 714-721, 2003.

SANTOS,W.B.;MESQUITA,E.T.;VIEIRA,R.M.;OLEJ,B.;COUTINHO,M.;AVEZU M,A. [C-reactive protein and cardiovascular disease. Basis of scientific evidence]. *Arq Bras Cardiol*, v. 80, n. 4, p. 452-456, 2003.

SAUNDERS,B.M. e COOPER,A.M. Restraining mycobacteria: role of granulomas in mycobacterial infections. *Immunol Cell Biol*, v. 78, n. 4, p. 334-341, 2000.

SCALCINI,M.;OCCENAC,R.;MANFREDA,J.;LONG,R. Pulmonary tuberculosis, human immunodeficiency virus type-1 and malnutrition. *Bull Int Union Tuberc Lung Dis*, v. 66, n. 1, p. 37-41, 1991.

SELIG,L.;BELO,M.T.;TEIXEIRA,E.G.;CUNHA,A.J.;BRITO,R.;SANCHES,K.;LUNA,A.L.;MULLER,M.;GAMBA,C.;BELO,C.;VENTO,F.;TRAJMAN,A. The study

of tuberculosis-attributed deaths as a tool for disease control planning in Rio de Janeiro, Brazil. *Int J Tuberc Lung Dis*, v. 7, n. 9, p. 855-859, 2003.

SELIG, L; KRITSKI, AL; LAPA E SILVA, JR; GUEDES, R; BRAGA, JU; TRAJMAN, A. Tuberculosis-death surveillance in Rio de Janeiro Hospitals. (submitted, 2008)

SELVARAJ,P.;NARAYANAN,P.R.;REETHA,A.M. Association of functional mutant homozygotes of the mannose binding protein gene with susceptibility to pulmonary tuberculosis in India. *Tuber Lung Dis*, v. 79, n. 4, p. 221-227, 1999.

SHEU,W.H.;CHEN,Y.D.;YU,C.Y.;GUO,X.;LEE,T.C.;LEE,W.J.;CHEN,Y.T.;ROTT ER,J.I. C-reactive protein gene polymorphism 1009A>G is associated with serum CRP levels in Chinese men: a TCVGHAGE study. *Clin Chim Acta*, v. 382, n. 1-2, p. 117-123, 2007.

SHINTANI,F.;NAKAKI,T.;KANBA,S.;KATO,R.;ASAI,M. Role of interleukin-1 in stress responses. A putative neurotransmitter. *Mol Neurobiol*, v. 10, n. 1, p. 47-71, 1995.

SIAWAYA, J.F.; BAPELA, N.B.; RONACHER, K.; BEYERS,N.; VAN HELDEN,P.;WALZL,G. Differential expression of interleukin-4 (IL-4) and IL-4 delta 2 mRNA, but not transforming growth factor beta (TGF-beta), TGF-beta RII, Foxp3, gamma interferon, T-bet, or GATA-3 mRNA, in patients with fast and slow responses to antituberculosis treatment. *Clin Vaccine Immunol*, v. 15, n. 8, p. 1165-1170, 2008.

SILVA,E.A.; IYER,A.; URA,S.; LAURIS,J.R.; NAAFS,B.; DAS,P.K.; VILANI-MORENO,F. Utility of measuring serum levels of anti-PGL-I antibody, neopterin and C-reactive protein in monitoring leprosy patients during multi-drug treatment and reactions. *Trop Med Int Health*, v. 12, n. 12, p. 1450-1458, 2007.

SKAMENE,E.; GROS,P.; FORGET,A.; KONGSHAVN,P.A.; ST CHARLES,C.; TAYLOR,B.A. Genetic regulation of resistance to intracellular pathogens. *Nature*, v. 297, n. 5866, p. 506-509, 1982.

SLUITER,W.;PIETERSMA,A.;LAMERS,J.M.;KOSTER,J.F. Leukocyte adhesion molecules on the vascular endothelium: their role in the pathogenesis of cardiovascular disease and the mechanisms underlying their expression. *J Cardiovasc Pharmacol*, v. 22 Suppl 4, p. S37-S44, 1993.

SOLANGI,G.A.;ZUBERI,B.F.;SHAIKH,S.;SHAIKH,W.M. Pyrazinamide induced hyperuricemia in patients taking anti-tuberculous therapy. *J Coll Physicians Surg Pak*, v. 14, n. 3, p. 136-138, 2004.

SUK,H.J.;RIDKER,P.M.;COOK,N.R.;ZEE,R.Y. Relation of polymorphism within the C-reactive protein gene and plasma CRP levels. *Atherosclerosis*, v. 178, n. 1, p. 139-145, 2005.

SUTTMANN,U.;OCKENGA,J.;SELBERG,O.;HOOGESTRAAT,L.;DEICHER,H.;MULLER,M.J. Incidence and prognostic value of malnutrition and wasting in human immunodeficiency virus-infected outpatients. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*, v. 8, n. 3, p. 239-246, 1995.

TAKI,H.;OGAWA,K.;MURAKAMI,T.;NIKAI,T. Epidemiological survey of hyperuricemia as an adverse reaction to antituberculous therapy with pyrazinamide. *Kekkaku*, v. 83, n. 7, p. 497-501, 2008.

TANEJA,D.P. Observations on serum zinc in patients of pulmonary tuberculosis. *J Indian Med Assoc*, v. 88, n. 10, p. 280-1, 275, 1990.

TAUSCHE,A.K.;UNGER,S.;RICHTER,K.;WUNDERLICH,C.;GRASSLER,J.;ROCH,B.;SCHRODER,H.E. [Hyperuricemia and gout: diagnosis and therapy]. *Internist (Berl)*, v. 47, n. 5, p. 509-520, 2006.

TERAN-ESCANDON,D.; TERAN-ORTIZ,L.; CAMARENA-OLVERA,A.; GONZALEZ-AVILA,G.;VACA-MARIN,M.A.;GRANADOS,J.;SELMAN,M. Human leukocyte antigen-associated susceptibility to pulmonary tuberculosis: molecular analysis of class II alleles by DNA amplification and oligonucleotide hybridization in Mexican patients. *Chest*, v. 115, n. 2, p. 428-433, 1999.

THALMAIER,D.;DAMBACHER,J.;SEIDERER,J.;KONRAD,A.;SCHACHINGER,V.;PFENNIG,S.;OTTE,J.M.;CRISPIN,A.;GOKE,B.;OCHSENKUHN,T.;LOHSE,P.;BRAND,S. The +1059G/C polymorphism in the C-reactive protein (CRP) gene is associated with involvement of the terminal ileum and decreased serum CRP levels in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*, v. 24, n. 7, p. 1105-1115, 2006.

TISDALE,M.J. Cancer anorexia and cachexia. *Nutrition*, v. 17, n. 5, p. 438-442, 2001.

TSENOVA,L.; BERGTOLD,A.; FREEDMAN,V.H.; YOUNG,R.A.; KAPLAN,G.
Tumor necrosis factor alpha is a determinant of pathogenesis and disease progression in mycobacterial infection in the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 96, n. 10, p. 5657-5662, 1999.

TSUTAMOTO,T.;HISANAGA,T.;FUKAI,D.;WADA,A.;MAEDA,Y.;MAEDA,K.;KINOSHITA,M. Prognostic value of plasma soluble intercellular adhesion molecule-1 and endothelin-1 concentration in patients with chronic congestive heart failure. *Am J Cardiol*, v. 76, n. 11, p. 803-808, 1995.

ULRICHS,T. e KAUFMANN,S.H. New insights into the function of granulomas in human tuberculosis. *J Pathol*, v. 208, n. 2, p. 261-269, 2006.

VAN LETTOW,M.; KUMWENDA,J.J.; HARRIES,A.D.; WHALEN,C.C.; TAHA,T.E. ;KUMWENDA,N.; KANG'OMBE,C.; SEMBA,R.D. Malnutrition and the severity of lung disease in adults with pulmonary tuberculosis in Malawi. *Int J Tuberc Lung Dis*, v. 8, n. 2, p. 211-217, 2004.

VASSALLI,P. The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Immunol*, v. 10, p. 411-452, 1992.

VOLKMAN,H.E.; CLAY,H.; BEERY,D.; CHANG,J.C.; SHERMAN,D.R.; RAMAKRISHNAN,L. Tuberculous granuloma formation is enhanced by a mycobacterium virulence determinant. *PLoS Biol*, v. 2, n. 11, p. e367-2004.

WAITZBERG,D.L.;PLOPPER,C.;TERRA,R.M. Access routes for nutritional therapy. *World J Surg*, v. 24, n. 12, p. 1468-1476, 2000.

WALSH,M.T.;DIVANE,A.;WHITEHEAD,A.S. Fine mapping of the human pentraxin gene region on chromosome 1q23. *Immunogenetics*, v. 44, n. 1, p. 62-69, 1996.

WIGMORE,S.J.;WALSH,T.S.;LEE,A.;ROSS,J.A. Pro-inflammatory cytokine release and mediation of the acute phase protein response in fulminant hepatic failure. *Intensive Care Med*, v. 24, n. 3, p. 224-229, 1998.

WILKINSON,R.J.;PATEL,P.;LLEWELYN,M.;HIRSCH,C.S.;PASVOL,G.;SNOUN OU,G.;DAVIDSON,R.N.;TOOSI,Z. Influence of polymorphism in the genes for the interleukin (IL)-1 receptor antagonist and IL-1beta on tuberculosis. *J Exp Med*, v. 189, n. 12, p. 1863-1874, 1999.

World Health Organization. 2008 Omd S-W. Global Tuberculosis Control - Surveillance Planning.

YAMAMOTO-FURUSHO,J.K.; USCANGA,L.F.; VARGAS-ALARCON,G.; RODRIGUEZ-PEREZ,J.M.; ZUNIGA,J.; GRANADOS,J. Polymorphisms in the promoter region of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) and the HLA-DRB1 locus in Mexican mestizo patients with ulcerative colitis. *Immunol Lett*, v. 95, n. 1, p. 31-35, 2004.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)