

# Correlação entre mediadores inflamatórios e marcadores bioquímicos em pacientes com tuberculose pulmonar ativa

Danyelle Cristina Pereira Santos<sup>1</sup> , Amanda Caroline de Souza Sales<sup>1</sup> , Douglas Henrique dos Santos Silva<sup>1</sup> , Érika Alves da Fonseca Amorim<sup>1</sup> , Silvana Jozie Assunção Braga Bacelar Lobato<sup>1</sup> , Eduardo Martins de Sousa<sup>2</sup> , Luís Cláudio Nascimento da Silva<sup>1</sup> , Adrielle Zagmignan<sup>1</sup> 

## RESUMO

**Objetivo:** Correlacionar mediadores inflamatórios e parâmetros bioquímicos em pacientes com tuberculose (TB) pulmonar ativa atendidos em um hospital público, em São Luís, MA. **Métodos:** Trata-se um caso-controle de pacientes com diagnóstico positivo para TB pulmonar ativa. Amostras de soro dos pacientes e grupo controle foram coletadas para os experimentos clínicos e os dados epidemiológicos foram coletados por meio de prontuários e entrevistas. O grupo controle foi formado por voluntários saudáveis sem contato prévio com casos de TB, pareados com idade e sexo ao grupo clínico. Para dosar citocinas inflamatórias, utilizaram-se os kits Human IL-6 ELISA Set e Human IFN- $\gamma$  ELISA Set. Mediu-se o estresse oxidativo pela quantificação das espécies reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) e óxido nítrico (ON). Na bioquímica, mediram-se os níveis de ácido úrico, anti-estreptolisina-O (AEO), alanina aminotransferase (ALT), amilase, aspartato aminotransferase (AST), cálcio, colesterol total, gama glutamil transferase (Gama GT), glicose, fosfatase alcalina, lipoproteína de alta densidade (HDL), proteína C reativa (PCR) e triglicérides. A análise estatística foi realizada pelo *software GraphPad Prism 8*, com  $p < 0,05$  significativo. **Resultados:** O grupo clínico foi formado por 53 pacientes. Houve uma diminuição significativa de IFN- $\gamma$  ( $p < 0,0001$ ), e aumento significativo de IL-6 ( $p < 0,0001$ ). A produção de TBARS aumentou significativamente ( $p = 0,0414$ ). Não houve diferença significativa na produção de ON ( $p = 0,3194$ ). Na bioquímica, houve aumento significativo em ALT ( $p = 0,0072$ ), AST ( $p = 0,0016$ ), gama GT ( $p = 0,0011$ ), fosfatase alcalina ( $p < 0,0001$ ), PCR ( $p < 0,0001$ ) e triglicérides ( $p = 0,0343$ ), e diminuição significativa de cálcio ( $p < 0,0001$ ). Encontrou-se correlação positiva significativa entre IL-6 e IFN- $\gamma$  ( $p = 0,0448$ ), assim como AST e ALT ( $p < 0,0001$ ); PCR e gama GT ( $p < 0,0001$ ); gama GT e ALT ( $p = 0,0016$ ); gama GT e AST ( $p = 0,0004$ ); triglicérides e colesterol ( $p = 0,0002$ ); fosfatase alcalina e gama GT ( $p < 0,0001$ ); PCR e fosfatase alcalina ( $p < 0,0001$ ); triglicérides e cálcio ( $p = 0,0121$ ); colesterol e cálcio ( $p = 0,0261$ ); glicose e colesterol ( $p = 0,0373$ ); e triglicérides e glicose ( $p = 0,0127$ ) na bioquímica, sendo negativa significativa entre glicose e ácido úrico ( $p = 0,0092$ ); e PCR e HDL ( $p = 0,0037$ ). A correlação entre marcadores inflamatório e bioquímicos foi positiva entre IL-6 e gama GT ( $p = 0,0011$ ); IL-6 e PCR ( $p < 0,0001$ ); IL-6 e fosfatase alcalina ( $p = 0,0076$ ); e ON e triglicérides ( $p = 0,0016$ ), e negativa significativa entre IFN- $\gamma$  e colesterol ( $p = 0,0171$ ) e TBARS e colesterol ( $p = 0,0138$ ). **Conclusões:** Observou-se imunossupressão da atividade de IFN- $\gamma$ . Encontrou-se correlação entre IL-6 e marcadores bioquímicos inflamatórios, indicando dano e lesão causados por *M. tuberculosis*.

**Palavras-chave:** Bioquímica, Citocinas, Mediadores da inflamação, Tuberculose pulmonar.

## INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa foco de preocupação das autoridades de saúde mundial. É causada por bactérias do gênero *Mycobacterium* spp., principalmente *Mycobacterium tuberculosis*, e, apesar de todos os avanços em relação a melhorias nos sistemas de saúde e ampla implementação nos programas de controle, a TB continua sendo uma das grandes ameaças à saúde pública<sup>1-2</sup>.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), todos os anos, cerca de 10 milhões de pessoas são acometidas com TB, levando aproximadamente 1,6 milhões a óbito. Estima-se que um quarto da população mundial esteja infectada por *M. tuberculosis* e 5-15% dessa estimativa desenvolverão TB na forma ativa. No Brasil, em 2021, foram notificados 88 mil casos de TB, sendo 29%, mulheres e 68% homens, acima de 15 anos. A taxa de incidência é de 48 pessoas por 100 mil

<sup>1</sup> Universidade Ceuma. Laboratório de Patogenicidade Microbiana, São Luís, (MA), Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Ceuma. Laboratório Virologia, São Luís, (MA), Brasil.



habitantes com mortalidade em 2,8 casos em 100 mil habitantes. A cobertura universal de saúde e proteção social para o tratamento da TB, em 2021, foi de 76% dos casos<sup>2</sup>. No Maranhão, foram registrados 2.885 casos, no mesmo período, sendo 1.364 notificações somente na capital São Luís<sup>3</sup>.

Pertencendo a um grupo denominado Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), as micobactérias causadoras de TB são bactérias da família Mycobacteriaceae, bacilos não esporulados, aeróbicos, não móveis, com formato ligeiramente curvo, que apresentam ramificações em sua parede celular complexa de ácidos micólicos e dificulta sua permeabilidade. Essa diminuição na permeabilidade caracteriza esses microrganismos como ácido-álcool resistente, identificados por colorações específicas, como *Ziehl-Neelsen*, visto que não podem ser classificadas segundo a coloração de Gram<sup>4</sup>.

A fisiopatologia da TB humana causada por MTBC, em especial *M. tuberculosis*, é um complexo processo de interação entre o sistema imunológico do hospedeiro e fatores bacterianos. A patogenia de *M. tuberculosis* deriva de sua capacidade de manipular macrófagos, granulomas e o metabolismo celular do hospedeiro, com adaptações evolutivas de transmissibilidade e evasão do sistema imunológico<sup>5</sup>.

A patogênese começa com a inalação de partículas infecciosas transportadas pelo ar contendo gotículas com bacilos de *Mycobacterium* sp., advindas de um indivíduo com TB ativa. Uma vez nos alvéolos pulmonares, as micobactérias são fagocitadas por fagócitos, os quais servem como nicho primário favorável para a multiplicação de *M. tuberculosis*, que possui mecanismos de imunoevasão para resistir à ação dos agentes microbicidas produzidos no fagolisossomo, como as espécies reativas de oxigênio (EROs)<sup>6</sup>.

Os sistemas imune inato e adaptativo trabalham em conjunto para a contenção e eliminação da micobactéria. Na resposta inata, diferentes vias de sinalização, a exemplo a via STING (do inglês, *stimulator of IFN genes*), induzem a produção de interleucinas sinalizadoras de células *Natural Killer* (NK), como interleucina 12 (IL-12) e interleucina 23 (IL-23). Células NK ativadas produzem interferon gama (IFN- $\gamma$ ), que induz a superativação de fagócitos para o *killing* das micobactérias fagocitadas. Na imunidade adaptativa,

a resposta celular mediada por células T atua induzindo: a) o *killing* bacteriano pela secreção de IFN- $\gamma$  por células T CD4+ diferenciadas em efetores Th1, sob influência de IL-12/IL-23, resultando na ativação de fagócitos; b) o *killing* celular por células citotóxicas T CD8+, eliminando as micobactérias que escapam vesícula fagocítica<sup>5-7</sup>.

As bactérias intracelulares resistentes ao *killing* fagocitário podem causar ativação crônica e persistente de macrófagos e células T, levando a lesões teciduais e formação de granulomas circundando as micobactérias. Esse granuloma pode conter a infecção, porém pode causar perda de função associada a necrose e fibrose tecidual, características clínicas da TB. Uma falha nesse sistema de contenção, principalmente associada a imunossupressão, pode causar a liberação de *M. tuberculosis* para o meio extracelular, com ativação primária/reativação da TB<sup>8-9</sup>.

As altas taxas de incidência, adjunto com as taxas de morbimortalidade, retratam o enorme impacto da infecção por TB humana. Dessa forma, entender os fatores associados a resposta imunológica contra *M. tuberculosis* é importante para a montagem de um perfil dos pacientes e, conseqüentemente, a elaboração de estratégias de controle e tratamento. Portanto, esse trabalho objetivou correlacionar mediadores inflamatórios e parâmetros bioquímicos em pacientes com TB pulmonar ativa atendidos em um hospital público, em São Luís, MA.

## MÉTODOS

### População de estudo e coleta de dados

Trata-se de um estudo caso-controle, com coleta de amostras clínicas de pacientes com diagnóstico positivo para TB pulmonar ativa. A amostragem foi por conveniência, sendo coletada em um hospital de referência no diagnóstico de TB em São Luís, MA, entre o período de janeiro de 2021 a agosto de 2022, mediante aprovação e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelos voluntários (CEP nº 4.657.164).

Os dados clínicos-epidemiológicos foram coletados por meio de entrevistas e prontuários dos pacientes. As variáveis analisadas para

caracterizar o grupo clínico foram sexo, idade, forma de diagnóstico, sinais e sintomas, vacinação prévia com vacina BCG (*Bacilo Calmette-Guérin*), comorbidades, coinfeção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), etilismo, tabagismo, além de peso e altura para estipulação do índice de massa corporal (IMC). Para as avaliações séricas, foram coletadas amostras de soro.

Como critérios de inclusão, foram selecionados pacientes com diagnóstico de TB pulmonar ativa, que ainda não haviam iniciado o tratamento, apresentando sintomatologia característica, radiografia do tórax sugestiva, exame de baciloscopia e/ou teste rápido molecular para TB (TRM-TB) positivos. Foram excluídos pacientes em tratamento, com dados clínicos-epidemiológicos incompletos, que não permitissem a coleta da amostra de soro para as análises séricas e/ou se recusassem a assinar o TCLE.

Para a formação do grupo controle, voluntários saudáveis foram recrutados, desde que não possuíssem contato prévio com casos de TB, sem nenhum tipo de manifestação clínica, além de atenderem ao critério de idade e sexo pareados ao grupo clínico. Voluntários que faziam o uso de imunossuppressores ou gestantes foram excluídos.

### Processamento do soro das amostras clínicas e grupo controle

Foram coletadas amostras sanguíneas dos pacientes e voluntários saudáveis em tubos para coleta de sangue a vácuo sem anticoagulante e com gel separador VACUETTE® (Greiner Bio-one, Kremsmuster, Austri). O material foi enviado para o Laboratório de Patogenicidade Microbiana, da Universidade CEUMA. Os tubos com as amostras coaguladas foram centrifugados a 1.500 rpm, por 10 minutos, para separação do soro. Alíquotas com aproximadamente 500 µL foram preparadas em microtubos (KASVI, PR, Brasil) e armazenadas a -80 °C, para conservação e análises futuras.

### Análise dos níveis séricos de citocinas inflamatórias (IFN-γ e IL-6)

Para dosar os níveis séricos de citocinas inflamatórias, utilizaram-se os kits Human IFN-γ

ELISA Set e Human IL-6 ELISA Set (BD Biosciences, Oxford, UK), seguindo os protocolos do fabricante.

### Análise dos marcadores para o estresse oxidativo

Quantificação de espécies reativas do ácido tiobarbitúrico – TBARS

Para a avaliação de TBARS, utilizou-se a metodologia de Chaves et al.<sup>10</sup>, com modificações. Em microtubos de 2 mL (KASVI, PR, Brasil), adicionou-se 50 µL de soro do grupo clínico ou controle, 500 µL de ácido tiobarbitúrico 1% (v/v), 5 µL de hidróxido de sódio 10 M (p/v) e 250 µL de ácido fosfórico 20% (v/v). As soluções foram incubadas em banho-maria com água fervente durante 15 minutos. Após esse período, os tubos foram resfriados em temperatura ambiente. Adicionou-se 1 mL de álcool butílico absoluto, sendo os tubos agitados em vórtex por 1 minuto. As amostras foram centrifugadas a 1.500 rpm, por 15 a 20 minutos. Por fim, 200 µL do sobrenadante foi retirado e adicionado em microplaca de 96 poços (KASVI, PR, Brasil), sendo lido em espectrofotômetro a 535 nm. Para mensurar o valor da concentração de TBARS, foi utilizado a metodologia segundo Buege e Aust<sup>11</sup>, com coeficiente de extinção (absortividade molar) 1,53 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>.

Quantificação de óxido nítrico (ON)

Para a avaliação de ON, utilizou-se a metodologia de Griess<sup>12</sup> e Wang et al.<sup>13</sup>, com modificações. Utilizou-se o reagente de Griess, preparado em partes iguais de sulfanilamida 1% (reagente A) (p/v) e N-1-naphtyl-ethylenodiamina 0,1% (reagente B) (p/v), diluídos em ácido fosfórico 2,5% (v/v). Em uma placa de 96 poços (KASVI, PR, Brasil), adicionou-se 50 µL de soro do grupo clínico e controle, e 50 µL do reagente de Griess. A curva padrão foi criada a partir da microdiluição (1:2) de nitrito de sódio 1 nM/mL. A microplaca foi posta em repouso por 15 minutos, em ambiente escuro. Após o repouso, o resultado foi lido em espectrofotômetro a 535 nm.

### Análise dos marcadores bioquímicos

Para a avaliação de todos os marcadores bioquímicos, utilizou o analisador automático

programado LABMAX Plenno (Labtest, MG, Brasil). Mediram-se os níveis séricos de ácido úrico, anti-estreptolisina-O (AEO), alanina aminotransferase (ALT), amilase, aspartato aminotransferase (AST), cálcio, colesterol total, gama glutamil transferase (Gama GT), glicose, fosfatase alcalina, lipoproteína de alta densidade (HDL), proteína C reativa (PCR) e triglicérides. O protocolo seguiu as recomendações do fabricante.

## Análise estatística

Para análise estatística, utilizou-se o *software GraphPad Prism 8* (San Diego, CA, USA). A caracterização da curva padrão e concentração dos parâmetros foi realizada por meio de regressão linear. A comparação dos marcadores do estudo entre o grupo caso e o grupo controle foi realizada por meio de Teste t de *Student*. A análise da correlação entre os parâmetros avaliados foi realizada por meio da correlação de Pearson *r*, classificada como positiva ( $r > 0$ ), negativa ( $r < 0$ ) ou nula ( $r = 0$ ), além de fraca ( $0 < r \leq 0,39$ ), moderada ( $0,4 \leq r \leq 0,69$ ) e forte ( $r \geq 0,7$ ), seguindo a classificação proposta por Baba, Vaz e da Costa<sup>14</sup>, com adaptações. O resultado foi considerado estatisticamente significativo quando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

### Aspectos clínico-epidemiológicos do grupo de estudo

O grupo de estudo clínico foi formado por 53 pacientes, sendo 40 pacientes do sexo masculino (75,47%) e 13 pacientes do sexo feminino (24,53%), com idade média de  $37 \pm 13,36$  anos. O exame mais realizado para diagnóstico foi o exame de imagem, realizado por 51 pacientes (96,23%). Os principais sintomas apresentados foram tosse [47 casos (88,68%)], perda de peso [46 casos (86,79%)] e febre [42 casos (79,25%)]. Em relação à vacina BCG, 45 pacientes (84,91%) apresentavam sinal positivo para vacinação prévia (Tabela 1).

Abordando sobre fatores de risco dos pacientes atendidos, 12 pessoas apresentaram alguma comorbidade (22,64%), sendo a diabetes mellitus a mais relatada [9 casos (16,98%)]. Nenhum dos pacientes analisados testou positivo para coinfeção por HIV. Foi relatado 24 pacientes (45,28%) que se autodeclararam etilista (consumo ativo e frequente de bebidas alcoólicas), enquanto 18 pacientes (33,96%) relataram o hábito do tabagismo. Em relação ao IMC, encontrou-se uma média de  $20,42 \pm 3,54$  kg/m<sup>2</sup>, sendo a maioria classificada em seu peso normal [34 casos (64,15%)], enquanto 13 casos estavam abaixo do peso (24,53%) e seis casos estavam com sobrepeso (11,32%) (Tabela 1).

### Análise dos níveis séricos de citocinas inflamatórias (IFN- $\gamma$ e IL-6)

Em relação aos níveis de mediadores inflamatórios no grupo clínico, quando comparado ao grupo controle, houve uma diminuição significativa ( $p < 0,0001$ ) na produção da citocina IFN- $\gamma$  (Figura 1A), ao passo que a produção de IL-6 aumentou significativamente ( $p < 0,0001$ ) em relação aos voluntários saudáveis (Figura 1B).

### Análise dos marcadores para o estresse oxidativo

Ao se analisar a quantificação da produção de TBARS, observou-se um aumento significativo do estresse oxidativo nos pacientes com TB ativa, em relação ao grupo controle ( $p = 0,0414$ ) (Figura 2A). No entanto, quando avaliado pelo método de quantificação do ON, não houve diferença significativa entre os grupos ( $p = 0,3194$ ) (Figura 2B).

### Análise dos marcadores bioquímicos

Quando avaliados os parâmetros bioquímicos e comparados ao grupo controle (Figura 3), os marcadores que apresentaram um aumento de produção significativo foram ALT ( $p = 0,0072$ ) (Figura 3C), AST ( $p = 0,0016$ ) (Figura 3E), gama GT ( $p = 0,0011$ ) (Figura 3H), fosfatase alcalina

**Tabela 1**

Aspectos clínico-epidemiológicos dos pacientes com tuberculose pulmonar ativa atendidos em um hospital público, São Luís, Maranhão, Brasil (2022).

Variáveis	n	%	Média±DP
<b>Sexo</b>			
Masculino	40	75,47	
Feminino	13	24,53	
<b>Idade (anos)</b>			37±13,36
18-25	11	20,75	
26-33	13	24,53	
34-41	9	16,98	
42-49	8	15,09	
≥50	12	22,64	
<b>Forma de diagnóstico</b>			
Exame de imagem	51	96,23	
Baciloscopia	29	54,72	
TRM-TB	24	45,28	
Cultura	1	1,89	
<b>Sinais e sintomas</b>			
Tosse	47	88,68	
Perda de peso	46	86,79	
Febre	42	79,25	
Fraqueza	29	54,72	
Perda de apetite	27	50,94	
Mal-estar	23	43,40	
Inapetência	13	24,53	
Hemoptise	12	22,64	
Alergia	2	3,77	
<b>Vacinação com BCG</b>			
Vacinado	45	84,91	
Não vacinado	8	15,09	
<b>Comorbidades</b>			
Com comorbidade	12	22,64	
Diabetes mellitus	9	16,98	
DPOC	1	1,89	
Hipertensão	1	1,89	
Retocolite	1	1,89	
Rinite	1	1,89	
Gastrite	1	1,89	
Sem comorbidade	41	77,36	
<b>HIV</b>			
Negativo	53	100	
Positivo	-	-	
<b>Etilismo</b>			
Sim	24	45,28	
Não	29	54,72	
<b>Tabagismo</b>			
Sim	18	33,96	
Não	35	66,04	
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>			20,42±3,54
Peso normal	34	64,15	
Abaixo do peso	13	24,53	
Acima do peso	6	11,32	

Legenda - TB: Tuberculose; n: Contagem absoluta; %: Contagem percentual; BCG: Bacilo Calmette-Guérin; DP: Desvio Padrão; TRM-TB: Teste rápido molecular para tuberculose; DPOC: Doença pulmonar obstrutiva crônica.

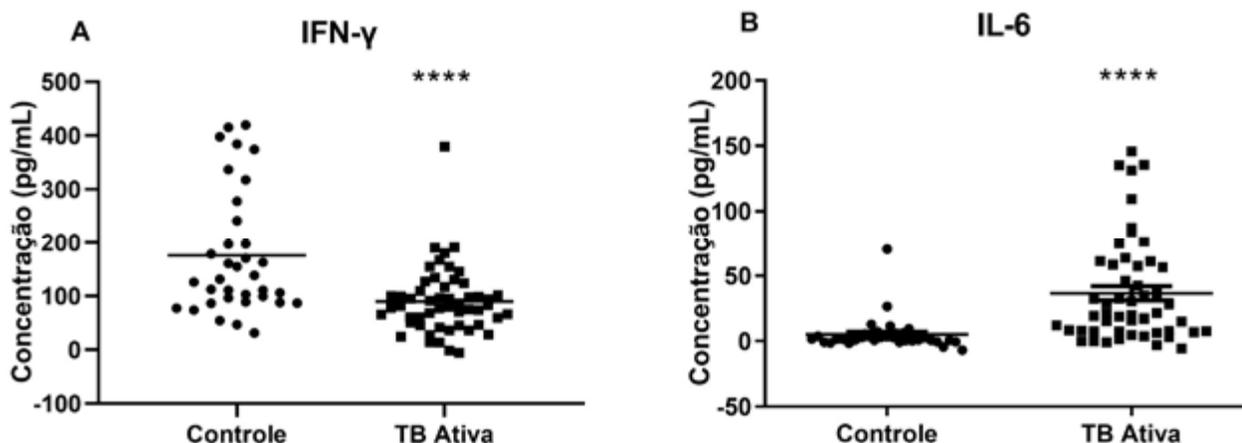
( $p < 0,0001$ ) (Figura 3J), PCR ( $p < 0,0001$ ) (Figura 3L) e triglicerídeos ( $p = 0,0343$ ) (Figura 3M). Além disso, observou-se uma diminuição significativa ( $p < 0,0001$ ) dos níveis séricos de cálcio no grupo clínico (Figura 3F).

### Correlação entre os diferentes grupos de parâmetros analisados

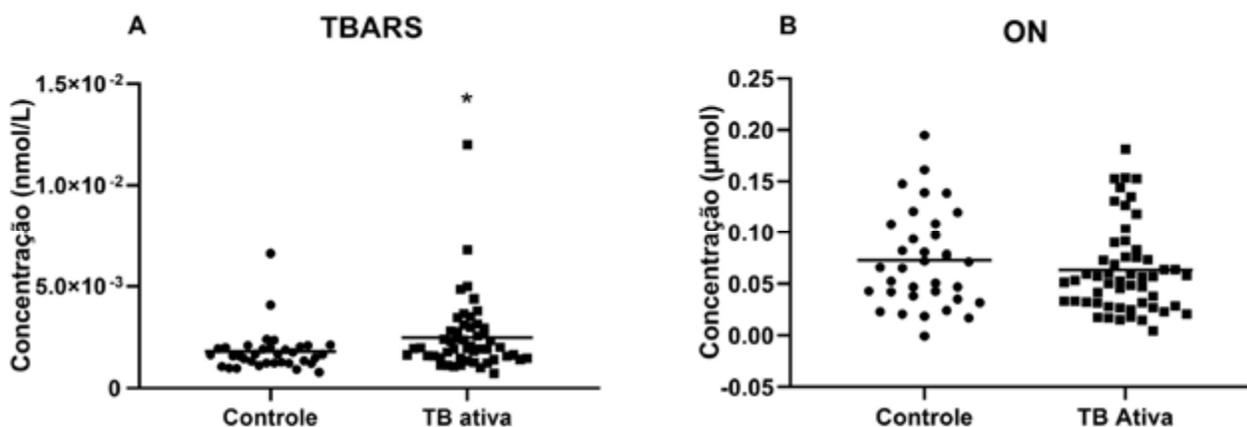
A análise de correlação permite verificar o grau de dependência estatística linear entre diferentes variáveis, ou seja, qual a afinidade entre

diferentes tipos de parâmetros. Os mediadores inflamatórios, bioquímicos e de estresse oxidativo foram contrapostos para avaliar essa correlação de parâmetros no grupo clínico, sendo os resultados a seguir expostos na Figura 4.

Quando se analisa a correlação entre as medições das citocinas, observa-se uma correlação positiva fraca ( $r = 0,2767$ ) entre IL-6 e IFN- $\gamma$ , ou seja, o aumento na produção de IL-6 pode estar relacionado ao aumento da produção de IFN- $\gamma$ , sendo diretamente proporcionais, ainda que seja uma relação fraca, porém significativa ( $p = 0,0448$ ).



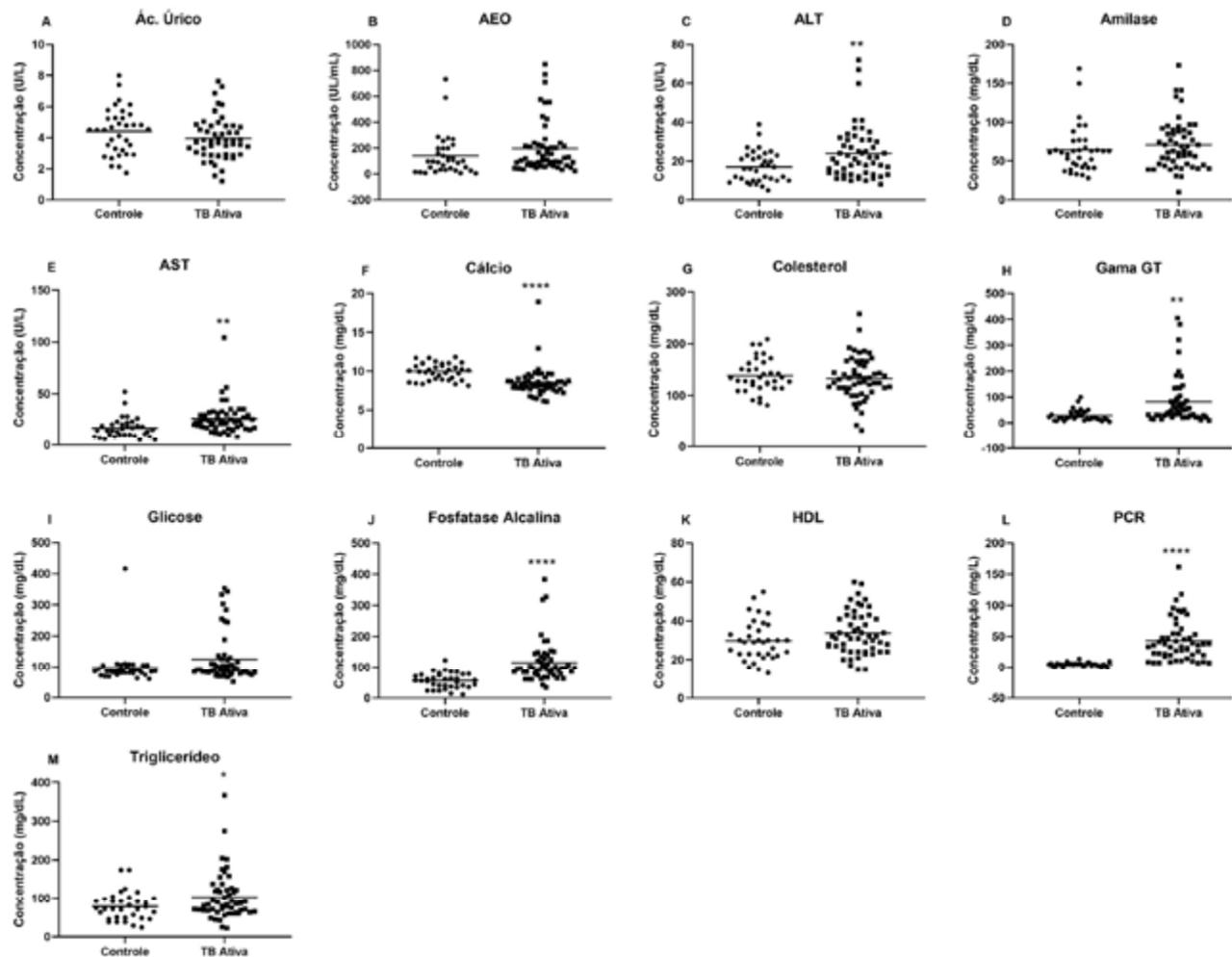
**Figura 1:** Análise de citocinas inflamatórias dos pacientes com TB pulmonar ativa atendidos em um hospital público, São Luís, Maranhão, Brasil (2022). A - Comparação dos níveis séricos de IFN- $\gamma$  entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $*p < 0,0001$ ); B - Comparação dos níveis séricos de IL-6 entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $*p < 0,0001$ ). Análise realizada utilizando o Teste t de Student. IFN- $\gamma$ : Interferon gama; IL-6: Interleucina 6; TB: Tuberculose; \*: Significância ( $p < 0,05$ ).



**Figura 2:** Análise de estresse oxidativo dos pacientes com TB pulmonar ativa atendidos em um hospital público, São Luís, Maranhão, Brasil (2022). A - Comparação dos níveis séricos de TBARS entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $*p = 0,0414$ ); B - Comparação dos níveis séricos de ON entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $p = 0,3194$ ). Análise realizada utilizando o Teste t de Student. TBARS: Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico; TB: Tuberculose; ON: Óxido Nítrico. \*: Significância ( $p < 0,05$ ).

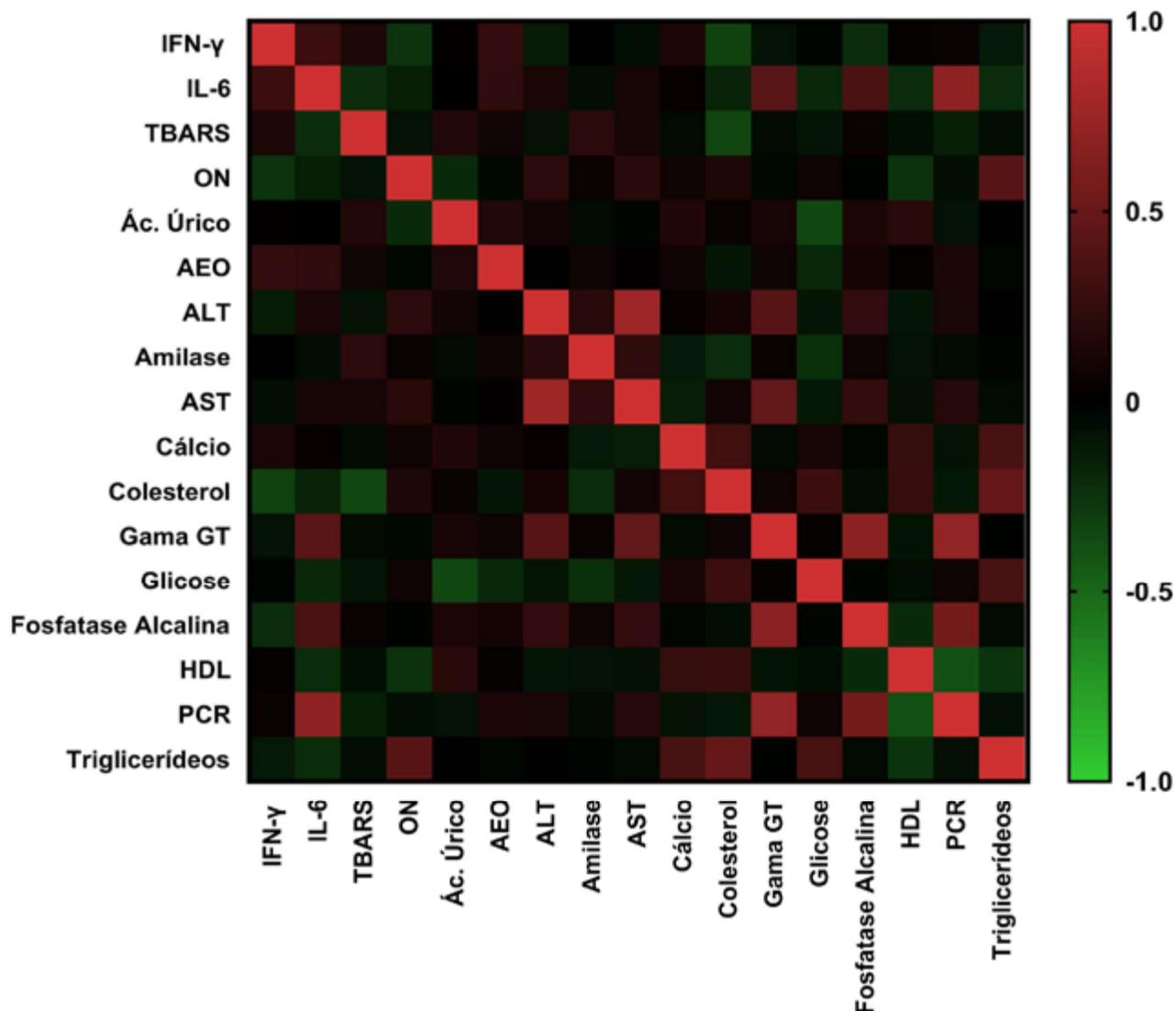
Em relação aos parâmetros bioquímicos, avalia-se que a correlação pode ser observada de forma positiva forte entre: AST e ALT ( $r= 0,7608$ ;  $p<0,0001$ ); e PCR e gama GT ( $r= 0,7029$ ;  $p<0,0001$ ). As correlações positivas moderada foram: gama GT e ALT ( $r= 0,4232$ ,

$p= 0,0016$ ); gama GT e AST ( $r= 0,4698$ ,  $p= 0,0004$ ); triglicerídeos e colesterol ( $r= 0,4838$ ;  $p= 0,0002$ ); fosfatase alcalina e gama GT ( $r= 0,6737$ ;  $p<0,0001$ ); e PCR e fosfatase alcalina ( $r= 0,5578$ ,  $p<0,0001$ ). Das correlações positivas fracas, as significativas foram: triglicerídeos e



**Figura 3:** Análise de marcadores bioquímicos dos pacientes com TB pulmonar ativa atendidos em um hospital público, São Luís, Maranhão, Brasil (2022). A - Comparação dos níveis séricos de ácido úrico entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $p= 0,1382$ ); B - Comparação dos níveis séricos de AEO entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $p= 0,1438$ ); C - Comparação dos níveis séricos de ALT entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $*p= 0,0072$ ); D - Comparação dos níveis séricos de amilase entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $p= 0,3542$ ); E - Comparação dos níveis séricos de AST entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $*p= 0,0016$ ); F - Comparação dos níveis séricos de cálcio entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $*p<0,0001$ ); G - Comparação dos níveis séricos de colesterol entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $p= 0,5326$ ); H - Comparação dos níveis séricos de gama GT entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $*p= 0,0011$ ); I - Comparação dos níveis séricos de glicose entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $p= 0,0761$ ); J - Comparação dos níveis séricos de fosfatase alcalina entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $*p<0,0001$ ); K - Comparação dos níveis séricos de HDL entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $p= 0,1057$ ); L - Comparação dos níveis séricos de PCR entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $p<0,0001$ ); M - Comparação dos níveis séricos de triglicerídeos entre o grupo TB ativa e grupo controle ( $*p= 0,0343$ ). Análise realizada utilizando o Teste t de Student. Ác. Úrico: Ácido úrico; TB: Tuberculose; AEO: Anti-estreptolisina-O; ALT: Alanina aminotransferase; AST: Aspartato aminotransferase; Gama GT: Gama glutamyl transferase; HDL: Lipoproteína de alta densidade; PCR: Proteína C reativa; \*: Significância ( $p<0,05$ ).

### Correlação entre os parâmetros



**Figura 4:** Análise da correlação entre mediadores inflamatórios e marcadores bioquímicos do grupo dos pacientes com TB pulmonar ativa atendidos em um hospital público, São Luís, Maranhão, Brasil (2022). IL-6 e IFN- $\gamma$ : positiva fraca ( $r = 0,2767$ ;  $*p = 0,0448$ ); TBARS e ON: negativa fraca ( $r = -0,0873$ ,  $p = 0,5426$ ); IL-6 e TBARS: negativa fraca ( $r = -0,2228$ ;  $p = 0,1161$ ); IFN- $\gamma$  e TBARS: positiva fraca ( $r = 0,1378$ ;  $p = 0,3350$ ); IL-6 e ON: negativa fraca ( $r = -0,1533$ ;  $p = 0,2730$ ); IFN- $\gamma$  e ON: negativa fraca ( $r = -0,2502$ ;  $p = 0,0708$ ); AST e ALT: positiva forte ( $r = 0,7608$ ;  $*p < 0,0001$ ); PCR e gama GT: positiva forte ( $r = 0,7029$ ;  $*p < 0,0001$ ); Gama GT e ALT: positiva moderada ( $r = 0,4232$ ,  $*p = 0,0016$ ); Gama GT e AST: positiva moderada ( $r = 0,4698$ ,  $*p = 0,0004$ ); Triglicerídeos e colesterol: positiva moderada ( $r = 0,4838$ ;  $*p = 0,0002$ ); Fosfatase alcalina e gama GT: positiva moderada ( $r = 0,6737$ ;  $*p < 0,0001$ ); PCR e fosfatase alcalina: positiva moderada ( $r = 0,5578$ ,  $*p < 0,0001$ ); Triglicerídeos e cálcio: positiva fraca ( $r = 0,3422$ ,  $*p = 0,0121$ ); Colesterol e cálcio: positiva fraca ( $r = 0,3055$ ;  $*p = 0,0261$ ); Glicose e colesterol: positiva fraca ( $r = 0,2868$ ;  $*p = 0,0373$ ); Triglicerídeos e glicose: positiva fraca ( $r = 0,3402$ ;  $*p = 0,0127$ ); Glicose e ácido úrico: negativa fraca ( $r = -0,3543$ ;  $*p = 0,0092$ ); PCR e HDL: negativa fraca ( $r = -0,3918$ ;  $*p = 0,0037$ ); IL-6 e gama GT: positiva moderada ( $r = 0,4373$ ;  $*p = 0,0011$ ); IL-6 e PCR: positiva moderada ( $r = 0,6893$ ;  $*p < 0,0001$ ); IL-6 e fosfatase alcalina: positiva fraca ( $r = 0,3629$ ;  $*p = 0,0076$ ); IFN- $\gamma$  e colesterol: negativa fraca ( $r = -0,3262$ ;  $*p = 0,0171$ ); TBARS e colesterol: negativa fraca ( $r = -0,3427$ ;  $*p = 0,0138$ ); ON e triglicerídeos: positiva moderada ( $r = 0,4239$ ;  $*p = 0,0016$ ). Análise realizada utilizando a Correlação de Pearson  $r$ . IL-6: Interleucina 6; IFN- $\gamma$ : Interferon gama; TBARS: Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico; ON: Óxido Nítrico; Ác. Úrico: Ácido úrico; AEO: Anti-estreptolisina-O; ALT: Alanina aminotransferase; AST: Aspartato aminotransferase; Gama GT: Gama glutamil transferase; HDL: Lipoproteína de alta densidade; PCR: Proteína C Reativa; \*: significância ( $p < 0,05$ ).

cálcio ( $r= 0,3422$ ;  $p= 0,0121$ ); colesterol e cálcio ( $r= 0,3055$ ;  $p= 0,0261$ ); glicose e colesterol ( $r= 0,2868$ ;  $p= 0,0373$ ); e triglicerídeos e glicose ( $r= 0,3402$ ;  $p= 0,0127$ ). Se tratando das correlações negativas fracas, detectou-se: glicose e ácido úrico ( $r= -0,3543$ ;  $p= 0,0092$ ); e PCR e HDL ( $r= -0,3918$ ;  $p= 0,0037$ ).

Expondo a correlação entre os mediadores inflamatórios e marcadores bioquímicos avaliados, encontra-se resultados diversos. Observam-se os níveis séricos de IL-6 demonstram uma correlação positiva moderada significativa com gama GT ( $r= 0,4373$ ;  $p= 0,0011$ ) e PCR ( $r= 0,6893$ ;  $p<0,0001$ ), além de uma correlação positiva fraca significativa com fosfatase alcalina ( $r= 0,3629$ ;  $p= 0,0076$ ). Enquanto isso, os níveis de séricos de IFN- $\gamma$  apresentaram somente uma correlação negativa fraca significativa com os níveis de colesterol ( $r= -0,3262$ ;  $p= 0,0171$ ), sem mais associações de caráter inflamatório.

Ao avaliar a correlação entre os marcadores de estresse oxidativo, se observa uma relação negativa fraca não significativa ( $r= -0,0873$ ,  $p= 0,5426$ ) entre a produção de TBARS e os níveis de ON. Fazendo o contraste com mediadores bioquímicos, encontrou-se uma correlação negativa fraca significativa entre os níveis de TBARS e colesterol ( $r= -0,3427$ ;  $p= 0,0138$ ). Comparado aos níveis de ON, somente o nível sérico de triglicerídeos apresentou uma correlação positiva moderada significativa ( $r= 0,4239$ ;  $p= 0,0016$ ).

Avaliando uma correlação entre mediadores inflamatórios e marcadores de estresse oxidativo, não se observou correlação significativa entre IL-6 e a quantificação de TBARS ( $r= -0,2228$ ;  $p= 0,1161$ ), sendo classificada como negativa fraca, enquanto contrastado com IFN- $\gamma$ , apresentou uma correlação positiva fraca não significativa ( $r= 0,1378$ ;  $p= 0,3350$ ). Encontrou-se a mesma correlação negativa fraca não significativa entre IL-6 e ON ( $r= -0,1533$ ;  $p= 0,2730$ ), da mesma forma entre IFN- $\gamma$  e ON ( $r= -0,2502$ ;  $p= 0,0708$ ).

## DISCUSSÃO

O IFN- $\gamma$  e a interleucina 6 (IL-6) são exemplos de citocinas atuantes durante o estabelecimento da resposta imune contra TB. O

IFN- $\gamma$ , pertencente a classe do interferon do tipo II, é um dos mediadores da ativação de macrófagos para o *killing* bacteriano de micobactérias fagocitadas e do combate de infecções intracelulares. Enquanto isso, a IL-6 é um importante indutor imunológico de fase aguda, produzida por estímulos teciduais em resposta ao dano ou estresse, como irradiação, EROs, infecções e outras citocinas pró-inflamatórias<sup>7</sup>.

Durante o processo de *killing* bacteriano, as citocinas, em especial a IFN- $\gamma$ , induzem o aumento da produção de EROs por fagócitos, como o ON, para uma atividade microbicida dentro do fagolisossomo e consequente inibição da respiração e crescimento de *M. tuberculosis*. Esse aumento na produção de radicais livres, se não controlado, favorece o dano celular tanto da micobactéria quanto da célula hospedeira por meio de diferentes processos de estresse oxidativo, promovendo lesão tecidual, inflamação, aumento de íons de cálcio intracelular e peroxidação lipídica das membranas que pode ser medida pela quantificação de TBARS<sup>15-18</sup>.

Entendendo esse ciclo da produção de citocinas e a promoção de estresse oxidativo, é possível avaliar os resultados desse estudo sobre a expressão de cada marcador nos pacientes com TB pulmonar ativa, além da correlação entre eles.

Como visto, os pacientes com TB pulmonar ativa avaliados apresentaram baixa produção de IFN- $\gamma$  e alta produção de IL-6, com correlação positiva fraca entre essas citocinas. Além disso, os resultados sobre estresse oxidativo foram divergentes: houve aumento na quantificação estimada de TBARS, indicando peroxidação lipídica de membranas, enquanto os níveis de ON se mantiveram ao nível basal, contrariando o aumento esperado durante a infecção por micobactérias.

Não se observou correlações significativas entre a medição de citocinas e do estresse oxidativo, como efeito do baixo nível da produção de IFN- $\gamma$ , principal citocina atuante na indução da produção de EROs. Esses resultados podem estar associados a um quadro de imunossupressão da resposta mediada por IFN- $\gamma$ , o que se revela um fator importante para o estabelecimento da TB em sua forma ativa.

Já foi relatado que os níveis plasmáticos de IFN- $\gamma$  são mais altos em pacientes com TB

avançada, com maior carga bacteriana intracelular e ativação recorrente de macrófagos, e vão diminuindo após o início do tratamento. Além disso, uma alta carga de IFN- $\gamma$  é associada com risco aumentado de progressão para TB ativa, devido ao processo inflamatório exacerbado. Uma falha na mediação por essa citocina pode favorecer a resistência da infecção por *M. tuberculosis*<sup>19-20</sup>.

Estudos apontam que a susceptibilidade para o desenvolvimento da TB em sua forma ativa está conexas à predisposição genética. A suscetibilidade mendeliana às infecções micobacterianas (MSMD) trata-se de uma imunodeficiência rara da resposta mediada por IFN- $\gamma$  ou fatores complementares, levando ao aumento da suscetibilidade a infecções causadas por micobactérias com diferentes graus de virulência – desde micobactérias não tuberculosas (BCG, por exemplo) à clássica agente da tuberculose, *M. tuberculosis*. Pacientes com MSMD podem ser predispostos a infecções por outros agentes intracelulares, como *Salmonella* spp. e vírus<sup>20-21</sup>.

A gravidade da doença e início de indícios clínicos dependem do grau de comprometimento na via do IFN- $\gamma$ , podendo ser classificado em grau completo, quando o paciente apresenta infecções disseminadas ainda na primeira infância, ou parcial, quando pode ocorrer apenas infecções leves a moderadas na adolescência ou fase adulta<sup>22</sup>.

Dos nove fatores genéticos já associados a MSMD, sete são hereditários autossômicos, nos genes da cadeia 1 do receptor de IFN- $\gamma$  (IFNGR1), da cadeia 2 do receptor de IFN- $\gamma$  (IFNGR2), dos transdutores de sinal e ativação de transcrição 1 (STAT1), da subunidade p40 comum a IL-12 e IL-23 (IL12B), da cadeia  $\beta$ 1 comum aos receptores para IL-12 e IL-23 (IL12RB1), da molécula indutora de IFN- $\gamma$  em sinergismo com IL-12 (ISG15), e/ou do fator de transcrição induzível por IFN- $\gamma$  (IRF8). As outras duas mutações são ligadas ao cromossomo X, sendo no gene modulador do fator nuclear kappa B (NEMO) e do citocromo B (CYBB)<sup>20,23</sup>.

Além da predisposição, a própria fisiopatologia de *M. tuberculosis* se caracteriza, principalmente, pela imunossupressão da resposta por IFN- $\gamma$  com base nos fatores genéticos da MSMD<sup>5</sup>. Há evidências que *M. tuberculosis* pode dificultar a resposta de macrófagos ao IFN- $\gamma$  por meio do aumento da secreção de IL-6 por macrófagos infectados, que inibe a expressão de um

subconjunto de genes responsivos a IFN- $\gamma$ , ao nível transcricional, sem inibir a ativação ou a função de STAT1. A IL-6 é uma citocina responsável pela supressão da resposta Th1, a qual IFN- $\gamma$  está associada. Esse processo resulta na incapacidade do sistema imune de erradicar a infecção<sup>24-25</sup>.

Dessa forma, é possível notar diversos mecanismos ligados direta ou indiretamente à atividade de IFN- $\gamma$ , como a produção de ON, os quais podem dificultar na resposta imunológica contra bactérias intracelulares, favorecendo imunossupressão e corroborando com a baixa expressão de IFN- $\gamma$  pelos pacientes do estudo.

Além disso, o objetivo desse estudo é a avaliação da correlação entre esses marcadores inflamatórios e os marcadores bioquímicos de pacientes com TB pulmonar ativa. Encontrou-se uma correlação positiva entre os níveis de IL-6 e marcadores bioquímicos inflamatórios, particularmente gama GT, PCR e fosfatase alcalina. A imunossupressão de IFN- $\gamma$  não permitiu uma correlação dessa citocina com marcadores bioquímicos de interesse para a pesquisa.

Na literatura, poucos estudos avaliam a correlação de marcadores imunológicos e bioquímicos em pacientes com TB. Estudos *in vitro* apontam que fagócitos mononucleares potencializam a secreção de IL-6 diante da infecção por *M. tuberculosis* e seus componentes de virulência. Esse aumento na citocina pró-inflamatória influencia diretamente muitos marcadores bioquímicos inflamatórios, em especial, os hepáticos de fase aguda, como a PCR, gama GT e fosfatase alcalina<sup>26-27</sup>.

Foi possível observar que o grupo de pacientes com TB pulmonar ativa apresentou alterações significativas em marcadores inflamatórios, se tratando de ALT, AST, gama GT, fosfatase alcalina e, principalmente, PCR, além de alterações significativas de caráter nutricional, demonstrado pelo aumento no nível de triglicérides e diminuição no nível de cálcio.

É comum que as inflamações tuberculosas causem alterações bioquímicas nos líquidos biológicos, sendo esperado que a resposta imunológica desencadeasse aumento dos marcadores bioquímico de inflamação, como PCR. A alteração em marcadores de caráter hepático pode evidenciar patologias preexistentes, ainda se considerado a possibilidade de haver hábitos de vida etilista e tabagista pelos pacientes atendidos<sup>28-29</sup>.

A hepatotoxicidade altera importantes indicadores bioquímicos diante de uma lesão, como ALT, AST, gama GT e fosfatase alcalina, indicando variados efeitos clínicos e refletindo diretamente na adesão dos pacientes ao tratamento medicamentoso e seus efeitos colaterais. Muitos estudos avaliam os efeitos hepatotóxicos dos tratamentos disponíveis para a TB, como isoniazida, rifampicina e pirazinamida. No entanto, poucos são os que fazem essa avaliação em pacientes antes do tratamento e geralmente não apresentam alterações significativas<sup>30-31</sup>.

O nível sérico de PCR é utilizado como marcador para diversas doenças de caráter inflamatório, como TB ativa. A elevação desse índice neste estudo pode ser associada à condição da fisiopatologia de *Mycobacterium* spp., juntamente com a ação do sistema imune para o combate à infecção<sup>5</sup>. Altas concentrações de PCR podem ser associadas à gravidade de TB e péssimos prognósticos, principalmente entre paciente que apresentam cavitação em comparação com pacientes que não apresentam<sup>32</sup>.

Além disso, a TB é uma doença que acomete principalmente indivíduos que vivem em condições desprivilegiadas, muitas vezes sem acesso ao básico de saúde e boa alimentação. Notou-se, ainda, que vários pacientes atendidos nesse estudo apresentaram sintomas de perda de apetite e, conseqüentemente, perda de peso, em decorrência da infecção. Diante disso, é necessário observar que esses aspectos influenciam em parâmetros bioquímicos direta ou indiretamente ligados ao estado nutricional do paciente com TB pulmonar ativa<sup>33</sup>.

O perfil lipídico está relacionado com o metabolismo de lipoproteínas, as quais podem ser avaliadas laboratorialmente pela medicação sérica de colesterol total, HDL, lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de baixíssima densidade (VLDL) e triglicérides<sup>34</sup>. Algumas avaliações não apontam diferenças significativas nos níveis desses parâmetros em pacientes com TB ativa, enquanto outros estudos apresentam baixas concentrações, associando a carências nutricionais<sup>35-36</sup>. Sugere-se que esta carência possa estar relacionada à gravidade da doença e promoção de imunossupressão do sistema imunológico<sup>37</sup>.

O cálcio é um mineral que desempenha diversas funções no organismo, como componente

da formação óssea, da transmissão de impulsos nervosos, da contração muscular, das reações de coagulação sanguínea, entre outros<sup>38</sup>. Anormalidades envolvendo os níveis de cálcio já foram relatadas em diversos estudo associados a TB, incluindo a hipocalcemia, considerada uma causa predisponente da doença com diminuição significativa de sua concentração<sup>33</sup>, e corroborando com os resultados encontrados neste estudo.

Essa diminuição nos níveis de cálcio pode ser causada por fatores como uma carência nutricional e à má absorção associada a TB. Estudos também apontam que a hipocalcemia pode ser atribuída a uma absorção intestinal prejudicada ou ingestão deficiente devido a distúrbios alimentares, além da diminuição dos níveis séricos de albumina ou de metabólitos ativos de vitamina D, importantes para a absorção do cálcio<sup>39-40</sup>.

Diante dos resultados da análise bioquímica e a correlação com os marcadores inflamatórios, é ressaltado como a imunossupressão da resposta por IFN- $\gamma$  e, principalmente, o aumento da produção de IL-6 interferem em diferentes fatores, que podem exacerbar o processo inflamatório e favorecer a infecção.

A necessidade da monitoração desses parâmetros antes, durante e após o estabelecimento da terapêutica, para se conhecer o perfil inflamatório dos pacientes, juntamente com todos os fatores associados, permite o direcionamento mais específico do tratamento, a melhor orientação dos pacientes e a redução da evasão deles à terapêutica.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao se avaliar os marcadores de inflamação, percebeu-se uma baixa expressão de IFN- $\gamma$ , enquanto houve um aumento da produção de IL-6, indicando um processo de imunossupressão com possível suscetibilidade genética dos pacientes atendidos na rede saúde pública da cidade de São Luís. Dessa forma, os níveis de ON, importante para o combate de micobactérias, também se apresentaram baixos devido à supressão de IFN- $\gamma$ . Ainda assim, observou-se uma peroxidação lipídica das membranas celulares pelos níveis de TBARS. A alteração dos marcadores bioquímicos,

em especial os de inflamação e dano hepático, permite conhecer o perfil inflamatório dos pacientes, antes do início do tratamento, e, assim, direcionar tratamentos mais específicos que visem evitar a evasão de pacientes devido os efeitos adversos da medicação ao longo do tratamento.

A correlação entre esses fatores aponta para atividade simultânea de marcadores inflamatórios e marcadores bioquímicos a estímulos de dano e lesão causados por *M. tuberculosis*, ainda

que pouco evidente devido à imunossupressão da resposta principal por IFN- $\gamma$ . O tamanho amostral relativamente pequeno do estudo caso-controle, por se tratar de amostras por conveniência, limita a discussão sobre a correlação entre os marcadores inflamatórios e bioquímicos. No entanto, os resultados encontrados nesse estudo servem por base para avaliações mais aprofundada e elaboração de estratégias de controle e tratamento desses pacientes.

## REFERÊNCIAS

- Houben RMGJ, Dodd, PJ. The global burden of latent tuberculosis infection: a re-estimation using mathematical modelling. *PLoS Med.* 2016;13(10):e1002152. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002152>.
- World Health Organization (WHO). Tuberculosis [internet]. 2023. Disponível em: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022>.
- Ministério da Saúde (Brasil). Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net. Tuberculose - casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação - Maranhão. Brasília: Ministério da Saúde; 2023.
- Koch A, Mizrahi V. Mycobacterium tuberculosis. *Trends Microbiol.* 2018;26(6):555-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.02.012>.
- Miggiano R, Rizzi M, Ferraris DM. Mycobacterium tuberculosis Pathogenesis, Infection Prevention and Treatment. *Pathogens.* 2020;9(5):385. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens9050385>.
- Dannenbergh Jr AM. Immune mechanisms in the pathogenesis of pulmonary tuberculosis. *Rev Infect Dis.* 1989;11(Suppl 2):S369-78. DOI: [https://doi.org/10.1093/clinids/11.supplement\\_2.s369](https://doi.org/10.1093/clinids/11.supplement_2.s369).
- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia Celular e Molecular.* 9a. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2019.
- Domingo-Gonzalez R, Prince O, Cooper A, Khader AS. Cytokines and chemokines in Mycobacterium tuberculosis infection. *Microbiol Spectr.* 2016;4(5): 10.1128/microbiolspec.TBTB2-0018-2016. DOI: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.tbtb2-0018-2016>.
- Palucci I, Delogu G. Host directed therapies for tuberculosis: futures strategies for an ancient disease. *Chemotherapy.* 2018;63(3):172-180. DOI: <https://doi.org/10.1159/000490478>.
- Chaves LB, Souza TF, Silva MVC, Oliveira CF, Lipp MEN, Pinto ML. Estresse em universitários: análise sanguínea e qualidade de vida. *Rev Bras Ter Cogn.* 2016;12(1):20-6. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/1808-5687.20160004>.
- Buege JA, AUST SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978;52:302-10. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(78)52032-6).
- Griess P. Bemerkungen zu der abhandlung der H.H. Welsky und Benedikt "Ueber einige azoverbindungen". *Ber Dtsch Chem Ges.* 1879;12(1):426-8. DOI: <https://doi.org/10.1002/cber.187901201117>.
- Wang Y, Xie J, Wang N, Li Y, Sun X, Zhang Y, et al. Lactobacillus casei Zhang modulate cytokine and toll-like receptor expression and beneficially regulate poly I:C-induced immune responses in RAW264.7 macrophages. *Microbiol Immunol.* 2013;57(1):54-62. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.516.x>.
- Baba RK, Vaz MSMG, da Costa J. Correlação de dados agrometeorológicos utilizando métodos estatísticos. *Rev Bras Meteorol.* 2014;29(4):515-26. DOI: <https://doi.org/10.1590/0102-778620130611>.
- Van Acker H, Coenye T. The Role of Reactive Oxygen Species in Antibiotic-Mediated Killing of Bacteria. *Trends Microbiol.* 2017;25(6):456-66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.12.008>.
- Shastri MD, Shukla SD, Chong WC, Dua K, Peterson GM, Patel RP, et al. Role of Oxidative Stress in the Pathology and Management of Human Tuberculosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:7695364. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/7695364>.
- Bolajoko EB, Arinola OG, Odaibo GN, Maiga M. Plasma levels of tumor necrosis factor-alpha, interferon-gamma, inducible nitric oxide synthase, and 3-nitrotyrosine in drug-resistant and drug-sensitive pulmonary tuberculosis patients, Ibadan, Nigeria. *Int J Mycobacteriol.* 2020;9(2):185-9. DOI: [https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy\\_63\\_20](https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy_63_20).
- Han F, Li S, Yang Y, Bai Z. Interleukin-6 promotes ferroptosis in bronchial epithelial cells by inducing reactive oxygen species-dependent lipid peroxidation and disrupting iron homeostasis. *Bioengineered.* 2021;12(1):5279-88. DOI: <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1964158>.
- Ledesma JR, Ma J, Zheng P, Ross JM, Vos T, Kyu HH. Interferon-gamma release assay levels and risk of progression to active tuberculosis: a systematic review and dose-response meta-regression analysis. *BMC Infect Dis.* 2021;21(1):467. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06141-4>.

20. Casanova JL, Abel L. Genetic dissection of immunity to mycobacteria: the human model. *Annu Rev Immunol.* 2002;20:581-620. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.081501.125851>.
21. Sologuren I, Boisson-Dupuis S, Pestano J, Vincent QB, Fernández-Pérez L, Chaggier A, et al. Partial recessive IFN- $\gamma$ R1 deficiency: genetic, immunological and clinical features of 14 patients from 11 kindreds. *Hum Mol Genet.* 2011;20(8):1509-23. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr029>.
22. Ramirez-Alejo N, Santos-Argumedo L. Innate defects of the IL-12/IFN- $\gamma$  axis in susceptibility to infections by mycobacteria and salmonella. *J Interferon Cytokine Res.* 2014;34(5):307-17. DOI: <https://doi.org/10.1089/jir.2013.0050>.
23. Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Abel L, Casanova JL. Mendelian susceptibility to mycobacterial disease: genetic, immunological, and clinical features of inborn errors of IFN- $\gamma$  immunity. *Semin Immunol.* 2014;26(6):454-70. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smim.2014.09.008>.
24. Nagabhushanam V, Solache A, Ting LM, Escaron CJ, Zhang JY, Ernst JD. Innate inhibition of adaptive immunity: Mycobacterium tuberculosis-induced IL-6 inhibits macrophage responses to IFN- $\gamma$ . *J Immunol.* 2003;171(9):4750-7. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.9.4750>.
25. Dutta RK, Kathania M, Raje M, Majumdar S. IL-6 inhibits IFN- $\gamma$  induced autophagy in Mycobacterium tuberculosis H37Rv infected macrophages. *Int J Biochem Cell Biol.* 2012;44(6):942-54. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2012.02.021>.
26. Rath S, Narasimhan R, Lumsden C. C-reactive protein (CRP) responses in neonates with hypoxic ischaemic encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2014;99(2):F172. DOI: <https://doi.org/10.1136/archdischild-2013-304367>.
27. Rajopadhye SH, Mukherjee SR, Chowdhary AS, Dandekar SP. Oxidative Stress Markers in Tuberculosis and HIV/TB Co-Infection. *J Clin Diagn Res.* 2017;11(8):BC24-BC28. DOI: <https://doi.org/10.7860/jcdr/2017/28478.10473>.
28. Soares AMSS. Tuberculose no Centro Hospitalar Cova da Beira e a sua relação com a imunodepressão. [dissertação]. Covilhã: Universidade da Beira Interior; 2014. 43 f.
29. Pinho L, Oliveira S, Serino J, Febra T, Ramos S, Silva C, et al. Tuberculose miliar no século XXI—a propósito de um caso clínico. *Nascer Crescer.* 2014;21(2):151-4.
30. Enoh JE, Cho FN, Manfo FP, Ako SE, Akum EA. Abnormal Levels of Liver Enzymes and Hepatotoxicity in HIV-Positive, TB, and HIV/TB-Coinfected Patients on Treatment in Fako Division, Southwest Region of Cameroon. *Biomed Res Int.* 2020;2020:9631731. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/9631731>.
31. Su Q, Liu Q, Liu J, Fu L, Liu T, Liang J, et al. Study on the associations between liver damage and antituberculosis drug rifampicin and relative metabolic enzyme gene polymorphisms. *Bioengineered.* 2021;12(2):11700-8. DOI: <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2003930>.
32. Brown J, Clark K, Smith C, Hopwood J, Lynard O, Toolan M, et al. Variation in C - reactive protein response according to host and mycobacterial characteristics in active tuberculosis. *BMC Infect Dis.* 2016;16:265. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1612-1>.
33. Ufoaroh CU, Onwurah CA, Mbanuzuru VA, Mmaju CI, Chukwurah SN, Umenzekwe CC, et al. Biochemical changes in tuberculosis. *Pan Afr Med J.* 2021;38:66. DOI: <https://doi.org/10.11604/pamj.2021.38.66.21707>.
34. Nordestgaard BG, Langsted A, Mora S, Kolovou G, Baum H, Bruckert E, et al. Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points—a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Eur Heart J.* 2016;37(25):1944-58. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw152>.
35. Metwally MM, Raheem H. Lipid profile in tuberculous patients: a preliminar report. *Life Sci.* 2012;9(1):719-22.
36. Gebremicael G, Amare Y, Challa F, Gebreegziabxier A, Medhin G, Wolde M, et al. Lipid Profile in Tuberculosis Patients with and without Human Immunodeficiency Virus Infection. *Int J Chronic Dis.* 2017;2017:3843291. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/3843291>.
37. Chidambaram V, Zhou L, Ruelas Castillo J, Kumar A, Ayeh SK, Gupte A, et al. Higher Serum Cholesterol Levels Are Associated With Reduced Systemic Inflammation and Mortality During Tuberculosis Treatment Independent of Body Mass Index. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8:696517. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.696517>.
38. Hall JE, Hall ME. Guyton & Hall – Tratado de Fisiologia Médica. 14a. ed. Barueri: Editora Gen – Grupo Editorial Nacional Part S/A. 2021.
39. Hafiez AA, Abdel-Hafez MA, Salem D, Abdou MA, Helaly AA, Aarag AH. Calcium homeostasis in untreated pulmonary tuberculosis. I--Basic study. *Kekkaku.* 1990;65(5):309-16.
40. Mehto S, Antony C, Khan N, Arya R, Selvakumar A, Tiwari BK, et al. Mycobacterium tuberculosis and Human Immunodeficiency Virus Type 1 Cooperatively Modulate Macrophage Apoptosis via Toll Like Receptor 2 and Calcium Homeostasis. *PLoS One.* 2015;10(7):e0131767. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131767>.

**Requisitos de autoria:**

1. Contribuição substancial no esboço do estudo ou na interpretação dos dados: DCPS; ACSS; DHSS; EAFA; SJABBL; EMS; LCNS; AZ
2. Participação na redação da versão preliminar: DCPS; ACSS; DHSS; EAFA; SJABBL; EMS; LCNS; AZ
3. Participação na revisão e aprovação da versão final: DCPS; SEM; LCNS; AZ
4. Conformidade em ser responsável pela exatidão ou integridade de qualquer parte do estudo: DCPS; AZ

**Apoio Financeiro**

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

---

Autor Correspondente:  
Adrielle Zigmignan  
adrielle004602@ceuma.com.br

Editor:  
Prof. Dr. Felipe Villela Gomes

Recebido: 13/02/2023  
Aprovado: 17/05/2023

---