

TNF- α e a conversão ao teste tuberculínico: papel dos polimorfismos de base única - 238/-308

TNF- α and tuberculin test conversion: role of single nucleotide polymorphism -238/-308

Martha Maria de Oliveira¹, Joseane da Fonseca Costa¹, Alexandre Silva de Almeida¹, Lúcia Helena Amim¹, Carla Conceição Santos Loredó¹, Marcelo F. Rabahi², Fernanda Carvalho de Queiroz Mello¹, José Roberto Lapa e Silva¹, Afrânio Lineu Kritski¹, Adalberto Rezende Santos⁴.

RESUMO

Introdução: a conversão da prova tuberculínica (PT) cutânea representa infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*. Acredita-se que indivíduos expostos ao bacilo que apresentem conversão da PT tenham imunidade inata mais eficaz. O objetivo deste trabalho foi avaliar o papel dos polimorfismos de base única no gene de uma das citocinas responsáveis pela imunidade inata, o TNF- α , em profissionais de saúde contatos de pacientes com tuberculose pulmonar. **Material e métodos:** cento e quarenta e dois profissionais da área de saúde foram submetidos a PT em duas etapas e foram avaliados com relação ao alelo -238A e em relação ao alelo -308A. **Resultados:** o alelo -238A foi avaliado em 60 (48 mulheres) profissionais da área de saúde, dos quais 16 foram convertidores, enquanto o alelo -308A foi avaliado em 82 indivíduos (67 mulheres), dos quais 22 apresentaram conversão da PT. Houve associação significativa do alelo -238A com a conversão da resposta a PT (15% em convertidores / 3% não convertidores $p=0,03$) e uma tendência de aumento do alelo -308A no grupo de não convertidores da PT (15% em convertidores / 24% não convertidores $p=0,07$). Também foi observado aumento da frequência do alelo -238A no grupo de mulheres convertoras da PT ($p = 0,03$) e uma tendência de associação entre o alelo -308A e as mulheres não convertoras de PT. **Conclusões:** resultados deste estudo corroboram os dados de literatura de associação dos alelos -238A e -308A com regulação positiva e negativa do gene de TNF- α , respectivamente.

ABSTRACT

Introduction: in tuberculosis (TB), the PPD conversion represents a recent infection. It is believed that in exposed individuals, whose do not convert the PPD response, the innate immunity be more effective. The goal of this study was to evaluate the role of these SNPs in the TNF- α gene, in health care workers exposed to patients with pulmonary TB that presented or not conversion to the PPD response. **Materials and methods:** 142 health care workers were submitted to two steps PT and were analyzed for -238A and -308A alleles. **Results:** a significant association of the -238A allele with PPD conversion was observed among exposed health care workers (15% in converters / 3% non-converters $p=0,03$). In contrast, an increased frequency (15% in converters / 24% non-converters $p=0,07$) of the -308A allele in the group of non-converters in comparison to the converters 24% and 11% respectively, ($p= 0,07$) was also observed. Regarding to the gender, significant increase of the -238A allele frequency was observed among females who converted PPD response and a tendency of association between -308A allele among females who did not converted PPD response was observed. **Conclusions:** the results corroborate with the literature data which associate respectively the alleles -238A and -308A with negative or positive regulation of the TNF- α gene.

Descritores: teste tuberculínico, tuberculose, imunologia.

Keywords: tuberculin skin test, tuberculosis, immunology.

Introdução

A mortalidade e morbidade por tuberculose (TB) é um grande problema de saúde pública. A Organização Mundial de Saúde (OMS) tem estimado que até a próxima década, 80 milhões de pessoas irão desenvolver a doença e cerca de 19 milhões evoluirão para o óbito associado à TB ⁽¹⁾. Estas projeções alarmantes são geralmente atribuídas a diversos fatores, tais como: a) a TB ser uma doença de transmissão aérea altamente contagiosa, b) a deterioração das condições sócio-econômicas, principalmente nos grandes centros urbanos, aonde é maior o risco de transmissão do bacilo da TB pelas más condições de moradia e/ou devido à ausência de biossegurança em nível hospitalar, c) a epidemia da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA, Aids), responsável pelo aumento da morbi/mortalidade e incidência da tuberculose; d) aumento de casos de pacientes portadores de cepas multi-droga resistentes devido a desestruturação dos Programas de Controle de Tuberculose, usualmente associada à elevada taxa de abandono e uso irregular dos medicamentos, e finalmente; e) a baixa efetividade da vacina BCG na prevenção das formas pulmonares da TB, principalmente na população adulta.

Cerca de dois terços da população mundial são susceptíveis a infecção pelo bacilo da TB. A infecção latente por tuberculose é usualmente demonstrada pela positividade na prova tuberculínica (PT) com PPD ⁽²⁾. São escassos os estudos que analisam os fatores associados a ausência de infecção pelo *M. tuberculosis* entre indivíduos expostos (infecção natural) ⁽³⁾. Os pacientes infectados pelo HIV aparentemente apresentam maior taxa de infecção pelo Mtb (conversão ao PPD) do que aqueles não infectados ⁽⁴⁾. A probabilidade de um indivíduo infectar-se depende do tempo de exposição ao paciente bacilífero, da virulência do bacilo da TB, e das características genéticas dos indivíduos infectados.

Provavelmente, nos indivíduos já infectados (primo-infecção) o risco de uma nova infecção é menor (reinfecção exógena). Em uma nova exposição, após uma infecção natural ou induzida pela vacina BCG, a resistência parcial está associada a uma ativação prévia

resposta imunológica ⁽⁵⁾. Entretanto, são escassos os estudos de imunopatogenia sobre este tema ⁽⁵⁾, pois torna-se fundamental, a compreensão dos diferentes mecanismos envolvidos na resposta imune protetora ou não contra *M. tuberculosis*, tanto na primo-infecção como na reinfecção ⁽⁶⁾.

Entre profissionais de saúde que atendem pacientes com TB pulmonar a nível hospitalar, a maior prevalência da TB infecção pode estar relacionada com a maior exposição, principalmente em ambientes sem cuidados de biosegurança ⁽⁷⁾. Nestes profissionais de saúde, a reação positiva a prova tuberculínica é a única indicação de infecção recente ou não e, pode representar a inabilidade do sistema imunológico em conter a invasão dos bacilos a nível alveolar ⁽⁸⁾.

Na TB, a conversão da prova tuberculínica com PPD representa uma infecção recente, sugerindo, portanto, que nos profissionais de saúde expostos, porém não convertidos da resposta ao PPD, a imunidade natural seja mais eficaz. Assim, espera-se que as citocinas envolvidas neste tipo de resposta, tais como o TNF- α esteja sendo normalmente expressas e produzidas em resposta ao estímulo neste grupo. Vários estudos têm demonstrado que polimorfismos dentro da região regulatória de um determinado gene podem estar associados com a regulação positiva ou negativa da expressão gênica levando às diferenças na produção da citocina em questão.

Com relação ao TNF- α , vários polimorfismos de base única (SNPs) têm sido descritos e associados à regulação positiva ou negativa da expressão deste gene, principalmente as SNPs nas posições -238 e -308 dentro da região promotora do mesmo ^(9; 10). Em paralelo, diversos estudos de associação com susceptibilidade à diferentes patologias têm sido reportados, dentre as quais, malária cerebral ⁽¹¹⁾, leishmaniose mucocutânea ⁽¹²⁾ e lupus eritematoso ⁽¹³⁾, e proteção, hanseníase ^(14, 15, 16) entre outras. Contudo, até o momento, nenhum estudo mostrou associação destas SNPs com TB.

O objetivo deste estudo foi avaliar prospectivamente o papel de polimorfismos de base única (SNPs) no gene que codifica para o TNF- α (nas posições -238 e -308), em profissionais de saúde expostos a pacientes

1. Unidade de Pesquisa em Tuberculose, Instituto de Doenças de Tórax, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
2. Hospital de Doenças Tropicais Anuar Auad (Goiás), Brasil
3. Laboratório de Hanseníase – Fiocruz.

Endereço para correspondência: Martha Maria de Oliveira. Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/ Universidade Federal do Rio de Janeiro (HUCFF/UFRJ), Unidade de Pesquisa em Tuberculose – 4º andar – Av Brigadeiro Trompowsky s/nº. Ilha do Fundão. Rio de Janeiro. Brasil. CEP 21 941-590 Fax : 55 21 550 6903; email: martholiveira@yahoo.com.br

Artigo recebido para publicação em 26/12/2003 e aceito no dia 13/01/2004, após revisão.

com TB pulmonar que apresentaram conversão ou não a resposta à PT.

Material e métodos

Período e Grupo de Estudo

Após assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido, e preenchimento de questionário padronizado os profissionais da área de saúde do Hospital de Doenças Tropicais - Anuar Auadd do Estado de Goiás, Brasil, que participaram do um inquérito tuberculínico realizado no período de Janeiro a Dezembro de 2001 foram incluídos no estudo para investigação sobre a presença de polimorfismos respectivamente nas posições -238 e -308 na região promotora do gene que codifica para o TNF μ de acordo com a resposta a prova tuberculínica como demonstrado no quadro 1.

Técnica da prova tuberculínica (PT)

A PT foi realizada usando a técnica de Mantoux (CDC, 1194). Foi injetado 0,1ml de PPD (purified protein derivative, PPD-Rt 23, 2TU) na face volar do antebraço esquerdo de cada aluno. O PPD-Rt23 (State Serum Institute, Denmark) foi preparado pelo Centro Nacional de Referência para Tuberculose Professor Hélio Fraga (CRPHF) para ser equivalente ao 5UT- PPD padrão. A PT foi aplicada por profissional treinado pelo Ministério da Saúde. A região de endurecimento no sítio de aplicação da PT foi medida pelo método palpatório, 48-72 horas após a injeção.

Uma PT positiva ou reator foi definido como: uma endurecimento medindo ≥ 10 mm, um fenômeno booster positivo ou uma segunda PT (uma semana mais tarde) ≥ 10 mm. Um fenômeno booster positivo foi definido como positivo se a endurecimento da segunda PT foi ≥ 10 mm e mediu, pelo menos, 6 mm a mais do que a endurecimento da primeira PT. Os profissionais de saúde com reações ≥ 10 mm foram considerados positivos ou reatores e não foram retestados. Aqueles com reações < 10 mm foram retestados uma semana mais tarde (CDC, 1194) Considerou-se conversão tuberculínica naqueles profissionais cuja leitura da endurecimento apresentou aumento de 10 mm ou mais em relação ao teste anterior, nos não vacinados com BCG ou aumento de endurecimento igual ou superior a 15 mm, naqueles com história de vacinação com BCG nos últimos dois anos.

Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada com base no protocolo descrito no kit comercial (DNAzol Invitrogen Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA), adaptado em nosso laboratório para utilização em pequena escala diretamente de sangue total (fresco ou congelado). Em

resumo, após o descongelamento das amostras 300 μ L de sangue foi transferido para um novo tubo ao qual foi adicionado 1 ml mL de NaCl 0.9 %. Após centrifugação o sedimento resultante foi ressuspenso em uma solução hipotônica de TE (20 mM Tris-HCl; 10 mM EDTA) a 4°C e após nova centrifugação o sedimento foi lisado através adição de DNAzol para a liberação do DNA, o qual, foi precipitado em seguida com etanol absoluto. Após a retirada do etanol excedente, a temperatura ambiente, o mesmo foi redissolvido em 50 μ L de 8 mM NaOH. Após a redissolução, a amostra de DNA foi analisada por eletroforese em gel de agarose 1% e coloração com brometo de etídio para verificação de integridade da amostra, sendo posteriormente armazenada a -20 °C.

Amplificação do DNA por PCR e genotipagem

A genotipagem dos polimorfismos dentro do promotor do gene de TNF- α foi feita como descrito por (Wilson e cols., 1992), resumidamente, para a posição -308 após a amplificação da região de interesse (fragmento de 107 pb) foi realizada uma digestão com a enzima NcoI; para a tipagem da mutação na posição -238, após amplificação de um fragmento de 165 pb, o produto amplificado foi submetido a digestão com a enzima BamHI.

Em resumo, aproximadamente 100 ng do DNA extraído foi adicionado a reação de PCR em um volume final de volume de 50 μ L (-308), 40 μ L (TNF -238) consistindo de 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 8.3, 1.5 mM MgCl₂, 200 μ M dNTP, 1.25 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA) e oligonucleotídeos específicos para cada mutação, 1 μ M para -308 e 12,5 pmol para TNF-238. Todas as misturas foram incubadas por 10 min a 95°C e submetidas a amplificação, sendo trinta e oito ciclos de 94°C por 1 min., 57°C por 1 min e 72°C por 1 min (TNF -308) ou 38 ciclos de 60°C por 30 seg, 72°C por 30 seg, 94°C por 30 seg e 72°C por 7 min (TNF-238).

Avaliação da população estudada em relação a presença dos polimorfismos -238/-308 no gene de TNF- α para detecção dos diferentes polimorfismos

Através da metodologia descrita, após a genotipagem de todas as amostras avaliamos as freqüências (genotípica e alélica) para cada mutação dentro de cada grupo em particular foram calculadas.

Análise Estatística

A significância estatística entre os dados sócio-demográficos, resultados da prova tuberculínica, e as diferenças nas freqüências genotípicas e alélica foi verificada usando o teste χ^2 , com correção de Yates, quando apropriado, ou Fisher's exact teste (Epi Info,

Tabela 1 - Distribuição genotípica das SNPs nas posições -238 and -308 na região promotora do gene de TNF- α nos diferentes grupos.

		convertores n = 16	não convertores n = 44	p = value	OR (IC 95%)
-238	GG	13 (81.2%)	41 (93.2%)	0.18	0.32 (0.04-2.31)
	GA	01 (6.2%)	03 (6.8%)	0.7	0.91 (inválido) ???
	AA	02 (12.5%)	0		
-308	GG	18 (81.8%)	43 (92.2%)	0.3	1.78 (0.47-7.29)
	GA	03 (13.7%)	05 (6.3%)	0.36	1.74 (0.29-9.57)
	AA	01 (4,5%)	12 (1.5%)	0.08	0.19 (0.01-1.59)

GG (homozigoto para alelo G); AA (homozigoto para alelo A); GA (heterozigoto) N (número de indivíduos analisados); p (valor de p) OR (Razão de odds), IC (intervalo de confiança).

Tabela 2 - Frequência alélica dos mutantes -238A e -308A nos grupos de indivíduos convertores e não convertores da resposta ao PPD.

	convertores (%)	não convertores (%)	p = value	OR (IC 95%)
TNF-a -238A (n=57)	15	3	0,03	5.25 (1-30)
TNF-a -308A (n=83)	11	24	0,07	0.40 (1.13-1. 20)

N = número de casos; % = porcentagem de casos.

Tabela 3 - Frequência alélica dos mutantes -238A e -308A no gênero feminino nos grupos de convertores não convertores da resposta ao PPD.

	convertores (%)	não convertores (%)	P = value	OR (IC 95%)
TNF-a -238A (n=48)	19	4	0,03	0,19 (0.99-31)
TNF-a -308A (n=64)	11	25	0,08	2,67 (0.10-1.27)

N = número de casos; % = porcentagem de casos.

versão 6, Centers for Disease Control and Prevention). A magnitude das associações foi estimada como razão de chances (*odds ratio*, OR), usando 95% de intervalo de confiança (IC 95%). O nível de significância estatística adotado foi de 0.05.

Quadro 1 - Determinação dos grupos de estudo.

População Estudada	
Para -238 SNP	Para -308 SNP
PPD convertores N = 16	PPD convertores N = 22
PPD não convertores N = 44	PPD não convertores N = 60

Resultados

Apresentar a parte inicial dos resultados na forma similar ao resumo.

A distribuição dos polimorfismos estudados nas duas posições do gene que codifica para o TNF- α nos grupos convertores e não convertores da resposta a PT foi avaliada com base nas frequências genotípicas e alélicas dentro de cada grupo especificamente. A (tabela

1) mostra as frequências genotípicas observadas na população estudada. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada entre os grupos de convertores e não convertores da resposta a PT para nenhum dos genótipos encontrados nas duas posições. Contudo, a homozigose para mutação na posição -238 foi observada somente no grupo de convertores ao PPD, enquanto que a homozigose para na posição -308 foi observada somente em um caso dentre 22 profissionais não convertores.

Na análise da frequência alélica, foi observado um aumento significativo na frequência do alelo -238A no grupo de convertores da resposta a PT quando comparado ao grupo não convertor (tabela 2). Com relação a posição -308, observa-se uma tendência da ocorrência do alelo -308A no grupo de não convertores.

A distribuição das frequências genotípicas e alélicas dos referidos polimorfismos também foi calculada entre os gêneros. A distribuição destas SNPs entre os homens e mulheres dentro de cada grupo ou somente entre os homens, entre os dois grupos não mostrou diferenças

(dados não mostrados). Porém, a distribuição no gênero feminino entre os grupos estudados, mostrou um aumento significativo da frequência do alelo -238A no grupo de convertidores, quando comparado com o grupo de não convertidores da resposta a PT. A mesma análise realizada para a posição -308, ao contrário, mostrou um aumento da frequência do alelo -308A no grupo dos não convertidores, contudo, sem significância estatística ($p = 0,07$).

Discussão

A relação entre polimorfismos e suscetibilidade à doença tem sido reportada para muitos tipos de doenças humanas. Em relação a TB, vários fatores genéticos (entre outros), têm sido relacionados com um risco aumentado para o desenvolvimento da doença ativa após a infecção com *M. tuberculosis*. (polimorfismos nos genes que codificam para IFN γ +874⁽¹⁷⁾; IFN γ R1, VDR⁽¹⁸⁾, TGF β 1⁽¹⁹⁾).

Contudo, nenhum trabalho avaliando o papel de SNPs na população brasileira em associação com TB foi publicado até o momento. Neste contexto, o presente estudo propõe-se a identificar marcadores genéticos presentes no gene que codifica para TNF- α em um grupo de profissionais de saúde expostos a pacientes com TB pulmonar. A imunopatogênese da TB é complexa, e os fatores que influenciam a susceptibilidade ou uma resposta imune protetora precisam ainda ser esclarecidos.

Sabe-se que o TNF- α tem um importante papel na patogênese desta enfermidade: participa da formação do granuloma, induz ativação de macrófagos e tem propriedade imunoregulatória⁽²⁰⁾. Na resposta imune inata que se segue a primo-infecção, esta citocina tem um papel fundamental, estando diretamente envolvida com a indução de ativação de macrófagos alveolares, com conseqüente aumento do *burst* respiratório, aumento da atividade microbicida, conseqüentemente seguido da destruição bacilar. Caso a infecção se instale, ocorre a indução da formação do granuloma, restringindo fisicamente o crescimento e disseminação bacteriana.⁽⁶⁾

Os fatores associados à infecção por TB podem ser inerentes ao hospedeiro: imunidade natural e adquirida, background genético assim como do microorganismo: virulência. Sabe-se que o grau de exposição ao bacilo pode estar diretamente ligado a maior propensão a infecção.

No presente estudo, observou-se uma associação significativa do alelo -238A com a conversão da resposta a PT entre os profissionais de saúde expostos. A frequência do referido alelo entre os convertidores foi de 15% em relação aos não convertidores 3% ($p = 0,03$).

A relação funcional do alelo -238A na regulação da expressão do gene de TNF- α foi descrita por Kaluza e cols em 2000⁽²¹⁾, os quais, mostraram através de estudos *in vitro* a associação deste alelo com uma regulação negativa do gene e conseqüente diminuição na produção da proteína. Com base nesta observação, a hipótese de que a resposta inata nos indivíduos que convertem a resposta à PT é menos eficiente que nos indivíduos que não o fazem, é corroborada pelos resultados apresentados neste manuscrito.

Acreditamos que a resposta inata no grupo de não convertidores foi mais eficaz ao conter a entrada dos bacilos em nível alveolar. Provavelmente devido à regulação negativa da expressão de TNF- α exercida com maior intensidade neste grupo devido a maior frequência do alelo -238A.

Adicionalmente, observou-se uma frequência aumentada na ocorrência do alelo -308A (embora não significativa) entre o grupo de convertidores da resposta a PT quando comparados com os não convertidores 24% e 11% respectivamente, ($p = 0,07$, tendência). Como a presença do alelo -308A está associado ao aumento da expressão do TNF- α ⁽¹⁷⁾, estes resultados sugerem fortemente a hipótese que o TNF- α pode desempenhar um papel central na indução da resposta imune inata na tuberculose, como descrito por Flynn e cols, 2001⁽⁶⁾, os quais, utilizando modelo animal de infecção, demonstraram que esta citocina é uma das mais importantes na formação do granuloma, elemento essencial para contenção da micobactéria no espaço alveolar.

A relação entre conversão da resposta a PT e o gênero têm sido descrita, com resultados controversos. Em 1996, Schwartzman e cols.⁽²²⁾, reportaram um maior risco de conversão à prova tuberculínica entre profissionais de saúde do sexo masculino. No entanto, estudo realizado por Muzy de Souza e cols, (2002)⁽²³⁾, de análise longitudinal de viragem da PT entre profissionais de saúde, mostrou que a conversão tuberculínica foi maior entre médicos e enfermeiros, independente do gênero, com idade inferior a 30 anos e tempo de exposição em local de trabalho.

O aumento significativo do alelo -238A no grupo de mulheres que converteram e uma tendência de associação entre o alelo -308A no grupo de mulheres não convertoras reforça a idéia de que a mulher possa estar mais protegida do que o homem em relação a infecção pelo *M. tuberculosis*.

Uma vez que a resposta imune pós infecção, independentemente do grau de exposição, é controlada por fatores genéticos⁽³⁾, o estudo da variabilidade genética, (principalmente em genes que codificam para

citocinas e seus receptores) e a associação com TB compreende um caminho promissor, pois contribuirão para identificar potenciais marcadores de susceptibilidade e proteção a infecção pelo *M. tb* em um grupo sabidamente propenso a infecção por TB.

Os resultados preliminares obtidos neste estudo para os polimorfismos estudados, estão em concordância com as hipóteses atribuídas com relação ao papel funcional desempenhado por cada alelo mutante. A dicotomia funcional sugerida para cada alelo mutante nas duas posições estudadas do gene que codifica para o TNF- α pode ainda ser reforçada pelo fato de que na população estudada nenhum indivíduo portador dos alelos mutantes nas duas posições simultaneamente foi observado (haplotipo -238A/-308A).

Entretanto, entre as limitações do referido estudo, é importante enfatizar que um número maior de indivíduos para ambos os grupos e (de preferência) de ambos os gêneros devem ser analisados. Adicionalmente, a inclusão de ensaios para a avaliação funcional destes polimorfismos nos diferentes grupos, certamente dará uma grande contribuição para um melhor entendimento da relação entre variabilidade genética e resposta imune inata bem como a caracterização de marcadores genéticos com papel funcional definido na população brasileira.

Agradecimento

Este trabalho recebeu apoio financeiro da FAPERJ (Projeto APQ1).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. <http://www.who.org>, acessado em x/xx/ 2003. Global Tuberculosis Control – Surveillance Planning, Financing. 2002.
2. Huebner RE & Schein MF. The tuberculin skin test. Clin Infect Dis. 1993; 17: 968-75.
3. Casanova JL & Abel L., Genetic Dissection of Immunity to Mycobacteria: The Human Model. Ann. Rev. Immunol 2002; 20: 581-620.
4. Dalcolmo M. Tuberculosis and HIV infection in Brazil — update and overview. TB HIV 1996; Jun–Aug;(11): 26.
5. Crevel RC, Ottenhoff THM, van der Meer, WM. Innate Immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. Clinical Microbiol Rev 2002; Apr. Vol .15. n.2: 239-309.
6. Flynn JL & Chan j. Immunology of tuberculosis. Ann. Rev. Immunology. 2001; 19; 93-129.
7. Kritski AL., Muzy GS, Tuberculosis among Health Care Workers in 4 Hospital in Rio de Janeiro, Brazil, 1988-1990. Am Rev Respir Dis. 1992; 143 (4): 103.
8. Weir E & Fisman D. Latent tuberculosis: revised treatment guidelines. Pract Public Health. CMAJ 2003; 28. 169 (9): 937-938.
9. Bayley JP, de Rooij H, van den Elsen PJ, Huizinga TW, Verweij CL. Functional analysis of linker-scan mutants spanning the -376, -308, -244, and -238 polymorphic sites of the TNF- α promoter. Cytokine 2001;14: 316-23.
10. Louis E, Franchimont D, Piron A, et al. Tumour necrosis factor (TNF) gene polymorphism influences TNF- α production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated whole blood cell culture in healthy humans. Clin Exp Immunol 1998; 113: 401-06
11. McGuire W., Hill A.V.S., Allsopp C.E.M., Greenwood B.M., Kwiatkowski K. Variation in the TNF α promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. Nature 1994; 371: 508-511.
12. Cabrera M., Shaw MA, Charles C, Williams H, Caste M, Convit J e Blackwell, JM. Polymorphism in TNF genes associated with Mucocutaneous Leishmaniasis. J. Exp. Med. 1995; Vol. 182: 1259-1264.
13. Wilson AG, Gordon C., di Giovani FC et al. A genetic association between systemic erythematous and tumor necrosis factor alpha. Eur J Immunol 1994; 24:191-195.
14. Santos AR, Almeida AS, Suffys PN, et al. Tumor necrosis factor promoter polymorphism (TNF2) seemed to protect against development of severe forms of leprosy in a pilot study in Brazilian patients. Int J Lepr 2000; 68: 325-7.
15. Hajeer AH. & Hutchinson V. Influence of TNF- α gene Polymorphisms on TNF- α production and Disease. Human Immunology 2001; 62: 1191-1199.
16. Santos AR, Suffys PN, Vanderborght PR, Moraes MO, Vieira LM, Cabello PH, et al. Role of tumor necrosis factor- α and interleukin-10 promoter gene polymorphisms in leprosy. J Infect Dis 2002; 186 (11):1687-91.
17. Wilson A G, di Giovine FS, Blakemore A I F, Duff G W. Single base polymorphism in the human tumor necrosis factor (TNF) alpha gene detectable by *NcoI* restriction of PCR product. Hum Mol Gen 1992; 1:353.
18. Lio D, Marino V, Serauto A, Gioia V, Scola L, Crivello A, et al. Genotype frequencies of the +874 T \rightarrow A single nucleotide polymorphism in the first intron of the interferon-g gene in a sample of Sicilian patients affected by tuberculosis. European Journal of Immunogenetics 2002; 29: 371-374.
19. Wilkinson RJ, Liewelyn M, Toossi z, Patel P, Pasvol G,

- Lalvani A, et al. Influence of vitamin D deficiency and vitamin D receptor polymorphisms on tuberculosis among Gujarati Asians in west London: a case-control study. *Lancet* 2000; 355: 618-21.
20. Niimi T, Sato S, Sugiura Y, Yoshinouchi T, Akita K, Maeda H, et al. Transforming growth factor-beta gene polymorphism in sarcoidosis and tuberculosis patients. *Int J Tuberc Lung Dis*, Jun; 6(6):510-5.
21. Algood HMS, Chan J, Flynn J. Chemokines and tuberculosis. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2003; 14: 467-477.
22. Kaluza W., Reuss E., Grossmann S et al. Different transcriptional activity and in vitro TNF- α production in psoriasis patients carrying the TNF- α 238A promoter polymorphism. *J. Invest. Dermatol* 2000;114:1180-1183.
23. Wilson A G, Symons JA, McDowell TL, McDevit HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997;94: 3195-3199.
24. Schwartzman K, Loo V, Pasztor J, Menzies D. Tuberculosis infection among health care workers in Montreal. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; v.154: 1006-1012.
25. Muzy de Souza, Gr Carvalho, ACC Cravo, R Furukawa, L DeRiermet, K Conde MC, Lapa e Silva JR e Kritski AL. Viragem da prova tuberculínica entre profissionais da área de saúde em um hospital universitário, referência para AIDS, no Rio de Janeiro, Brasil. *Pulmão RJ* 2002; VOL 11 (2). ■

"Informações resumidas do produto"

KETEK[®] (telitromicina). **Indicações:** tratamento de infecções causadas por cepas suscetíveis, incluindo as cepas resistentes de *S. pneumoniae*, e os patógenos atípicos nas condições específicas listadas abaixo, em pacientes com 18 anos de idade ou mais, exceto em amigdalite/faringite, nas quais KETEK[®] é indicado para pacientes com 13 anos de idade ou mais: pneumonia adquirida na comunidade causada por *S. pneumoniae*, incluindo as cepas resistentes à penicilina e eritromicina, *H. influenzae*, *H. parainfluenzae*, *M. catarrhalis*, *C. pneumoniae*, *L. pneumophila* e/ou *M. pneumoniae*, exacerbação bacteriana aguda da bronquite crônica causada por *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *H. parainfluenzae*, *M. catarrhalis*, *S. aureus*, *C. pneumoniae*, e/ou *M. pneumoniae*, sinusite aguda causada por *S. pneumoniae*, incluindo cepas resistentes à penicilina e eritromicina, *H. influenzae*, *H. parainfluenzae*, *M. catarrhalis* e/ou *S. aureus* e amigdalite/faringite causada por *S. pyogenes* em pacientes com 13 anos de idade ou mais. **Contra-indicações:** pacientes com hipersensibilidade à telitromicina, a qualquer dos agentes antibacterianos macrolídeos ou a qualquer componente da fórmula; a administração concomitante da telitromicina com as seguintes substâncias está contraindicada: cisaprida, pimozida, astemizol e terfenadina (ver item interações medicamentosas). **Gravidez e lactação:** a telitromicina não deve ser utilizada durante a gravidez, a não ser que os benefícios esperados à paciente superem os possíveis riscos fetais. **Precauções:** assim à paciente superem os possíveis riscos fetais. A telitromicina não deve ser utilizada durante a lactação, a não ser que os benefícios esperados à paciente superem os possíveis riscos fetais. **Precauções:** assim como ocorre com praticamente todos os agentes antibacterianos, a diarreia, particularmente se for grave, persistente e/ou com sangue, durante ou após o tratamento com a telitromicina, pode ser provocada por colite pseudomembranosa. Em caso de suspeita de colite pseudomembranosa, deve-se interromper imediatamente o tratamento com KETEK[®] e devem-se instituir medidas de suporte e/ou tratamento específico nestes pacientes. A telitromicina pode ter o potencial de prolongar o intervalo QTc no eletrocardiograma em alguns pacientes, o que pode resultar em risco aumentado para arritmias ventriculares, incluindo "torsades de pointes". Portanto, a administração de telitromicina deve ser evitada em pacientes com prolongamento congênito do intervalo QTc, com hipopotassemia não corrigida (≤ 3 mmol/L (mEq/L)), hipomagnesemia, bradicardia (< 50 bpm) e/ou em pacientes recebendo agentes antiarrítmicos classe IA (ex. quinidina e procainamida) ou classe III (ex. dofetilida). Nos estudos clínicos, o efeito no intervalo QTc foi pequeno (média de aproximadamente 1 mseg). Nos estudos clínicos de comparação, os efeitos foram semelhantes àqueles observados com a claritromicina. Nenhum dos pacientes em qualquer grupo desenvolveu variação do intervalo QTc > 60 mseg. Não houve nenhum relato de "torsades de pointes" ou de outras arritmias ventriculares sérias ou de síncope relacionada ao programa clínico e nenhum risco foi identificado nos sub-grupos de pacientes. A telitromicina pode causar efeitos indesejáveis que podem reduzir a capacidade para a conclusão de determinadas atividades. Os pacientes devem ser advertidos para avaliarem como reagem ao uso deste medicamento antes de dirigirem ou operarem máquinas. Relataram-se exacerbações de miastenia gravis com diversos antibióticos, incluindo a telitromicina. Os relatos incluíram rápido início de insuficiência respiratória aguda em pacientes miastênicos tratados para infecções do trato respiratório com telitromicina. Deve-se ter precaução quando se administrar telitromicina em pacientes com miastenia gravis. **Interações medicamentosas:** não existe nenhuma interação com alimentos. **Efeito de outros medicamentos sobre a telitromicina:** "in vitro", a telitromicina é uma inibidora da CYP3A4. A administração concomitante de medicamentos metabolizados principalmente por essas enzimas pode causar aumento das concentrações plasmáticas, possivelmente resultando em aumento de eventos adversos. Portanto, solicita-se cautela durante a administração concomitante de outros medicamentos que sejam substratos para a CYP3A4. A telitromicina é uma inibidora moderada da CYP2D6. A telitromicina é metabolizada principalmente pelo citocromo P450 3A4 (CYP3A4) e em menor extensão pelo citocromo P450 1A (CYP1A). As concentrações plasmáticas máximas da cisaprida (um agente com potencial para aumentar o intervalo QT) no estado de equilíbrio foram aumentadas em 70% quando administrada concomitantemente com doses repetidas de telitromicina, resultando em aumento significativo do QTc. Portanto, a administração concomitante de telitromicina e cisaprida é contra-indicada. A telitromicina aumenta as concentrações plasmáticas da digoxina. Os níveis plasmáticos foram aumentados 21% em voluntários sadios. Não houve nenhuma alteração significativa nos parâmetros do ECG e nenhum sinal de toxicidade por digoxina foi observado. Contudo, a monitorização do nível de digoxina sérica deve ser considerada durante a administração concomitante de digoxina e telitromicina. Estatinas: quando a sinvastatina foi administrada concomitantemente ao KETEK[®], houve um aumento de 5,3 vezes na C_{max} da sinvastatina e de 8,9 vezes na AUC da sinvastatina, um aumento de 15 vezes na C_{max} da sinvastatina ácida e de 12 vezes na AUC da sinvastatina ácida. A interação observada é em média da mesma ordem de magnitude daquela observada com a eritromicina. Deve-se ter cautela quando da administração concomitante de KETEK[®] em pacientes tratados com sinvastatina. Em particular, os pacientes devem ser cuidadosamente monitorizados para se detectar qualquer sinal ou sintoma de miopatia, visto que o risco de miopatia pode ser aumentado. Com base nos resultados destes estudos, nas propriedades farmacocinéticas de outras estatinas e nas interações relatadas para outras estatinas devido à inibição do CYP3A4, portanto, semelhante com lovastatina, uma menor interação com a atorvastatina, portanto, devendo-se empregar precauções semelhantes. Não se sabe se a pravastatina e a fluvastatina são metabolizadas pela CYP3A4, portanto, não é esperada nenhuma interação. Não há nenhuma interação farmacocinética clinicamente relevante entre telitromicina e teofilina (administrada como formulação de liberação prolongada). Entretanto, a administração não é esperada nenhuma interação. Não há nenhuma interação farmacocinética clinicamente relevante entre telitromicina e ranitidina e antiácidos contendo hidróxido de alumínio e magnésio. Não existe interação farmacocinética da telitromicina com a paroxetina, um substrato da CYP2D6. A administração concomitante da telitromicina com o midazolam intravenoso ou oral resultou em um aumento de 2 e 6 vezes, respectivamente, na AUC do midazolam devido à inibição do metabolismo do midazolam dependente da CYP 3A4. Os pacientes devem ser monitorizados com a administração concomitante do midazolam e o ajuste posológico de midazolam deve ser considerado, se necessário. Deve-se ter precaução no uso de outros benzodiazepínicos que sejam metabolizados pela CYP3A4 (ex. triazolam e, em menor extensão, alprazolam). É improvável a interação com a telitromicina para aqueles benzodiazepínicos não metabolizados pela CYP3A4 (temazepam, nitrazepam, lorazepam). KETEK[®] tem demonstrado diminuir a C_{max} em 34% e a AUC do sotalol em 20%, devido à diminuição da absorção. Durante a administração concomitante de rifampicina e KETEK[®] em doses repetidas, a concentração plasmática máxima e a AUC de KETEK[®] foram reduzidas em 79% e 86%, respectivamente. Quando metoprolol foi administrado com KETEK[®], houve aumento de aproximadamente 38% na concentração plasmática máxima e na AUC do metoprolol; contudo, não houve efeito algum na meia-vida de eliminação do metoprolol. A exposição de KETEK[®] não é alterada com a administração concomitante de dose única de metoprolol. O efeito da telitromicina sobre os medicamentos a seguir não foi estudado, porém, tem-se relatado com os macrolídeos: derivados alcalóides do ergot (tais como ergotamina e diidroergotamina): vasoconstrição grave ("ergotismo") com possível necrose das extremidades quando da associação de antibióticos macrolídeos e alcalóides do ergot vasoconstritores. Até que dados adicionais sejam obtidos, não é recomendada a administração de KETEK[®] com estes fármacos. Pimozida, astemizol, terfenadina: os macrolídeos alteram o metabolismo destes fármacos e aumentam seus níveis séricos, podendo resultar em prolongamento do intervalo QT e arritmias cardíacas, incluindo taquicardia ventricular fibrilatória ventricular e "torsades de pointes". Por analogia, a administração concomitante da telitromicina e qualquer um destes fármacos é contra-indicada. **Outras interações:** fármacos metabolizados pelo citocromo P450 tais como: quinidina, carbamazepina, ciclosporina, hexobarbital, disopiramide e fenitoína; elevação dos níveis séricos destes fármacos podem ser observados quando concomitantemente administrados com a telitromicina. **Reações adversas:** diarreia, náusea, vômito, dor gastrointestinal, flatulência, constipação, anorexia, monilíase oral e estomatite, erupção cutânea, urticária, prurido, aumento das enzimas hepáticas (TGP, TGO e fosfatase alcalina), icterícia colestática, vertigem, cefaléia, sonolência, insônia, nervosismo, parestesia, eosinofilia, alterações do paladar, visão embaçada, monilíase vaginal, eczema, câimbras musculares, exacerbação de miastenia gravis, rubor, arritmia atrial, hipotensão, bradicardia. As seguintes reações adversas foram relatadas em casos isolados: hepatite, eritema multiforme e edema facial. **Posologia:** KETEK[®] pode ser administrado com ou sem alimentos, e os comprimidos de KETEK[®] devem ser ingeridos inteiros com quantidade suficiente de água. Na exacerbação bacteriana aguda da bronquite crônica, na sinusite aguda e na amigdalite/faringite: utilizar 800 mg via oral (2 comprimidos), uma vez ao dia por 5 dias; para pneumonia adquirida na comunidade, 800 mg via oral (2 comprimidos), uma vez ao dia por 7 a 10 dias. A segurança e eficácia da telitromicina em crianças menores de 13 anos de idade ainda não foram estabelecidas. Não é necessário ajuste posológico em pacientes idosos, quando baseado na idade isoladamente. Não é necessário ajuste posológico em pacientes com insuficiência renal leve ou moderada. No caso de insuficiência renal severa (clearance de creatinina < 30 mL/min), a dose deve ser reduzida à metade (400mg uma vez ao dia). Para pacientes sob hemodiálise, nos dias de diálise, KETEK[®] deve ser administrado após a sessão de diálise. Não é necessário ajuste posológico em pacientes com insuficiência hepática leve, moderada ou severa, a menos que a função renal esteja gravemente prejudicada. **Composição e apresentações:** comprimidos revestidos: embalagens contendo 10 e 14 comprimidos. Cada comprimido revestido contém telitromicina 400 mg e excipientes q.s.p. - 1 comprimido (amido de milho, celulose microcristalina, polividona K25, croscarmellose sódica, estearato de magnésio, lactose monohidratada, macrogol 8000, hipromelose, talco, dióxido de titânio, óxido de ferro amarelo, óxido de ferro vermelho). **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA.** Registro no MS: nº 1.1300.0324. Data da revisão: 12/03/03. "Para maiores informações antes de sua prescrição, favor ler a bula completa do produto".