

Catarina Gaspar Lobato Serras

## Tuberculose: Novas Abordagens Terapêuticas

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Ana Maria Telmo Dias Pereira Vicente Cabral e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Catarina Gaspar Lobato Serras

# Tuberculose: Novas Abordagens Terapêuticas

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,  
orientada pela Professora Doutora Ana Maria Telmo Dias Pereira Vicente Cabral e apresentada à  
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Catarina Gaspar Lobato Serras, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2008025130, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 13 de julho de 2016.

---

**A Tutora**

---

(Professora Doutora Ana Maria Telmo Dias Pereira Vicente Cabral)

**A aluna**

---

(Catarina Gaspar Lobato Serras)

## **Agradecimentos**

O espaço é curto e as palavras escassas para agradecer a todas as pessoas que contribuíram para que pudesse chegar até aqui.

Muito especialmente quero agradecer:

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e aos seus professores por todo o conhecimento que me transmitiram.

À Professora Doutora Ana Maria Cabral, minha orientadora, pela disponibilidade, compreensão e generosidade dispensada ao longo da realização desta monografia.

À minha filha, Laura, pelo tempo/anos que me dispensou, pelas brincadeiras e momentos não vivenciados em prol do meu curso.

Ao meu marido, Joaquim, pela força e incentivo durante todo este período.

À minha família, em particular, aos meus pais por cuidarem tão bem da minha filha sempre que precisei. Às minhas irmãs, Guida e Andreia por estarem sempre tão presentes na minha vida, de me darem ânimo nos momentos mais difíceis. Ao meu cunhado, Tiago, pela ajuda, generosidade e carinho. Ao meu sobrinho Guilherme, que mesmo sendo uma criança de três anos me deu uma força inigualável e uma lição de vida para sempre.

Aos meus amigos pelo apoio durante todo o percurso académico.

A todos muito obrigada por acreditarem em mim! A todos dedico todo o meu trabalho!

## **Índice**

1. Abreviaturas .....	6
2. Resumo .....	7
3. Abstract.....	8
4. Introdução.....	9
5. Tuberculose: Etiologia, Transmissão e Patogénese .....	11
6. Mycobacterium tuberculosis: Morfologia e fisiologia .....	13
7. Mecanismos e fatores de virulência .....	14
8. Tuberculose: Manifestações Clínicas .....	15
9. Diagnóstico, prevenção e tratamento .....	16
10. Fármacos Clássicos utilizados no tratamento da tuberculose – Seus Mecanismos de ação e Resistências.....	18
10.1. Fármacos de 1ªLinha .....	18
10.1.1. Isoniazida (H) .....	18
10.1.2. Rifampicina (R).....	19
10.1.3. Pirazinamida (Z).....	19
10.1.4. Etambutol (E) .....	20
10.2. Fármacos de 2ªLinha .....	21
10.2.1. Ácido p-Amino salicílico (PAS) .....	21
10.2.2. Etionamida .....	22
10.2.3. Aminoglicosídeos .....	22
10.2.4. Fluoroquinolonas.....	23
11. Novos Fármacos .....	24
12. Fármacos em desenvolvimento.....	24
12.1. Diarilquinolonas e antagonistas da cadeia respiratória .....	26
12.2. Inibidores DprE1 (Benzotiazinonas).....	26
12.3. Inibidores MmpL3.....	28
12.4. Oxazolidinonas e outros inibidores da síntese de proteínas.....	29
13. Recentes Avanços nas Tecnologias.....	29
14. Conclusão .....	31
15. Bibliografia .....	32

## **I. Abreviaturas**

**VIH** – Vírus da imunodeficiência Humana

**WHO** – *World health organization*

**TB** – Tuberculose

**MTB** – *Mycobacterium tuberculosis*

**(IFN)  $\gamma$**  – Interferão  $\gamma$

**(TNF)- $\alpha$**  – Fator de necrose tumoral  $\alpha$

**BAAR** – Bacilo ácido- álcool resistente

**MDR – TB** – Tuberculose multirresistente

**XDR – TB** – Tuberculose extensivamente resistente

**TDR – TB** – Tuberculose totalmente resistente aos medicamentos disponíveis

## **2. Resumo**

Atualmente, a tuberculose permanece um problema mundial de saúde pública que afeta milhares de pessoas todos os anos em todo o mundo, continua a ser a segunda maior causa de morte por doença infecciosa a seguir ao vírus da imunodeficiência humana (HIV), tendo sido declarada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como emergência mundial, continua a ser difícil o seu controlo em muitas partes do mundo. A tuberculose é uma doença infecciosa, que tem como agente etiológico a *Mycobacterium tuberculosis* [1]. Apesar de ser uma doença registada há mais de seis mil anos, somente nos últimos cinquenta se iniciou a descoberta de terapêuticas eficazes para o seu tratamento. Seis décadas depois de encontrada a cura para a doença, a tuberculose ainda mata anualmente milhões de pessoas. Os agentes patogénicos tendem a desenvolver resistências aos fármacos usados para os tratar e a tuberculose não é exceção. A emergência da resistência aos fármacos contra a tuberculose tornou-se um grave problema, e um verdadeiro obstáculo para o controlo efetivo da tuberculose. Segundo a OMS, a chave para o controlo da tuberculose encontra-se na rápida deteção e na cura da maioria dos casos infecciosos, através de *Programas Nacionais de Controlo da Tuberculose* [2,3,4]. Existe claramente uma necessidade urgente de melhorar o tratamento quer por descoberta de novos fármacos capazes de apresentarem menores efeitos indesejáveis, maior eficácia, menor tempo de tratamento e custo reduzido, quer por melhoramento dos já existentes.

A presente monografia constitui uma visão sobre os fármacos de referência já existentes referindo os seus mecanismos de ação, assim como as novas terapêuticas farmacológicas em fase de estudo.

**Palavras – Chave:** Necessidade, Terapêutica, Resistência.

### **3. Abstract**

Currently, tuberculosis remains as a worldwide public health problem that affects thousands of people every year in all the world and still is the second leading cause of death by infectious disease following the human immunodeficiency virus (HIV). It has been declared by the world Health Organization (WHO) a global emergency, as its control continues to be difficult in many parts of the world. Tuberculosis is an infectious disease that has as etiologic agent *Mycobacterium tuberculosis* <sup>[1]</sup>. Despite being a registered disease for more than six thousand years, only in the last fifty years began the discovery of effective therapies for its treatment. Six decades after the disease cure finding, TB still kills millions of people annually. The pathogens agents tend to develop resistance to drugs used to treat them and tuberculosis isn't an exception. The emergence of tuberculosis drug resistance has become a serious problem and a real obstacle to effective TB control. According to WHO, the key to control tuberculosis is the rapid detection and cure of most infectious cases through national programs for TB control<sup>[2,3,4]</sup>. There is clearly an urgent need to improve treatment or by the discovery of new drugs capable of presenting fewer side effects, greater efficacy, less treatment time and reduced cost or by improving the current.

This monograph provides an insight into the existing reference drugs and their mechanisms of action, as well as new drug therapies under study.

**Key - words:** Need, Therapy, Resistance.

## **4. Introdução**

Seguindo a definição da OMS, a TB é uma doença infecciosa causada pelo bacilo *Mycobacterium Tuberculosis* ou Bacilo de Koch. Na forma mais comum afeta os pulmões (TB pulmonar), mas pode também afetar outras localizações (TB extra pulmonar). A propagação da doença ocorre por via aérea quando pessoas infetadas com TB pulmonar expõem a bactéria, por exemplo, tossindo ou espirrando. De uma forma geral, apenas uma pequena proporção (5-15%) das 2 a 3 bilhões de pessoas infetadas por MTB desenvolvem tuberculose durante a sua vida. Entre a população infetada com VHI a probabilidade de desenvolver a doença é bastante superior.

Os primeiros tratamentos com fármacos surgiram na década de 40. O fármaco de primeira linha mais eficaz, Rifampicina, ficou disponível na década de 60. Atualmente são reportadas à OMS taxas de sucesso no tratamento de novos casos de 85%. O tratamento da TB multirresistente é mais longo e requer fármacos mais caros e mais tóxicos, sendo as taxas de cura significativamente inferiores. A prevenção e o diagnóstico são decisivos para o controlo da propagação e diminuição da mortalidade. Em 1921 a vacina da BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) foi utilizada pela primeira vez na prevenção da TB. É indicada na prevenção de formas graves da tuberculose em crianças com menos de 5 anos, não sendo recomendada para a população adulta. Atualmente existem várias vacinas em estudo (fase I e fase II) que se prevê virem a contribuir para a erradicação da doença, mas a sua efetividade na prevenção da TB em adultos não é real nos dias de hoje. O diagnóstico resulta de uma avaliação médica completa que normalmente inclui histórico médico, exame físico, raio-X ao tórax e exame microbiológico (normalmente da expectoração) <sup>[5]</sup>.

Observando o relatório global 2015 sobre TB, da OMS, verificamos que o n.º de mortes por esta doença infecciosa continua a ser assinalável, mas registaram-se avanços muito significativos desde 1990, com uma queda de 47% da taxa de mortalidade, sendo que as melhorias mais significativas ocorreram a partir do ano 2000. Destacando as melhorias no diagnóstico e no tratamento, a OMS estima que se pouparam 43 milhões de vidas entre 2000 e 2014. Apesar dos avanços e da maior parte dos casos de TB serem curáveis, esta continua a ser uma das maiores ameaças globais. Em 2014 morreram 1,5 milhões de pessoas infetadas com TB (890 mil homens, 480 mil mulheres e 140 mil crianças). Deste valor total de mortes, estima-se que 400 mil tinham HIV positivo, valor demonstrativo de uma taxa significativa de co-infecção. Relativamente ao n.º de pessoas infetadas, em 2014 a OMS estima um valor global de 9,6 milhões de pessoas, sendo 5,4 milhões de homens, 3,2 milhões

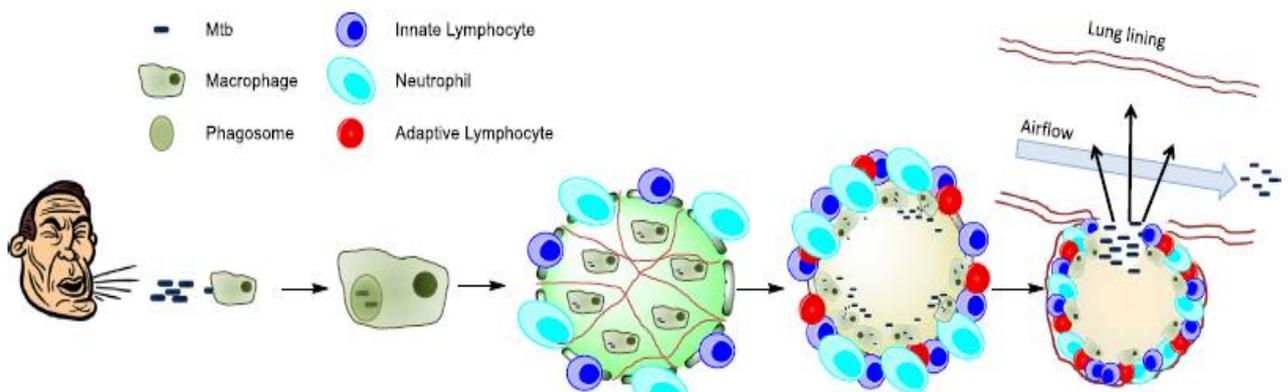
de mulheres e 1 milhão de crianças. 12% dos 9,6 milhões de infetados são também doentes com VIH positivo. Foram estimados 480 mil casos de TB multirresistente (MDR-TB) com 190 mil mortes. Estima-se também que dos 480 mil casos de MDR-TB, 9,7% foram casos de XDR-TB (tuberculose extensivamente resistente). A OMS prevê a erradicação da TB até 2035, sendo que a partir de 2025, com a introdução de novas vacinas e de novas formas de profilaxia, a média do recuo do n.º de casos por ano passará dos -5%/ano para -17%/ano<sup>[6]</sup>.

Segundo a DGS, em 2015 em Portugal foram notificados 2089 casos de TB, sendo 1925 novos casos (92,1%) e 164 (7,9%) retratamentos. A taxa de incidência de novos casos foi de 18,6/100.000 habitantes e a taxa de notificação foi de 20,2, acima do valor aproximado de taxa de notificação da EU/EEA de 12. Os fatores de risco sociais mais significativos foram a dependência de álcool e de drogas. Relativamente à TB multirresistente foram identificados 22 casos em Portugal, sendo que 18 de TB-MR e 4 de TB-XDR. Os últimos valores conhecidos de sucesso terapêutico reportam-se a 2014, em que houve uma percentagem de 85% de tratamentos completos valor que tem vindo a diminuir desde 2008 (90%). A DGS aponta como necessário para diminuir/melhorar números da TB a identificação de grupos de risco, suas necessidades e barreiras de acesso aos cuidados de saúde, sendo que as estratégias a utilizar devem centrar-se nas prioridades (melhoria do acesso aos cuidados de saúde, diagnóstico e em garantir tratamento adequado com acompanhamento), na eficácia, viabilidade e recursos disponíveis. Sendo a evolução favorável, segundo a DGS ainda não está consolidada, podendo ser um ponto de viragem para uma evolução positiva mais consistente, mais robusta e em constante melhoria. Em Portugal também é naturalmente identificada uma alta taxa de co-infecção TB/VIH (dados provisórios de 2015: +- 17% de VIH positivo sendo conhecido o VIH de 60% da população com TB). Em função do risco de infeção elevado entre infetados por VIH, foi definido em 2015 um plano de consenso sobre rastreio em população infetada por VIH<sup>[7]</sup>.

## **5. Tuberculose: Etiologia, Transmissão e Patogénese**

A Tuberculose é uma doença infeto-contagiosa que tem como agente etiológico a *Mycobacterium tuberculosis*, também designado de bacilo de Koch (BK), é transmitida através de aerossóis contendo MTB provenientes de uma pessoa infetada. Em patologia humana, a tuberculose é um exemplo típico de infeção não obrigatoriamente seguida de doença, existindo muitos indivíduos que, embora sendo infetados, não adoecem. Este fato significa que, na grande maioria dos casos, o sistema imunológico do indivíduo imunocompetente consegue impedir que a multiplicação bacilar atinja os níveis necessários ao aparecimento das lesões graves e características da doença. O número de micobactérias presentes no inóculo e a sua capacidade de multiplicação é importante no posterior evoluir da infeção<sup>[8]</sup>. Quando inalados, a maioria dos bacilos são retidos pelas barreiras físicas de defesa do corpo que promove a exclusão das partículas para o exterior. Contudo, algumas bactérias não são retiradas e são aspiradas para o interior do pulmão. Uma vez no pulmão, os bacilos são rapidamente detetados e fagocitados por macrófagos alveolares e células dendríticas. Durante este processo, os macrófagos alveolares secretam citocinas e quimiocinas induzindo uma resposta inflamatória local e a migração de monócitos da corrente sanguínea para o local da infeção. A apresentação de antígenos de MTB por células dendríticas a linfócitos T nos nódulos linfáticos induz a migração dos linfócitos para o local de infeção levando a formação do granuloma. Em alguns casos, os bacilos podem disseminar-se através do sistema linfático ou circulatório para outras partes do pulmão ou órgãos do corpo antes da formação do granuloma, nos estádios iniciais da doença. Nos granulomas, os macrófagos são ativados pelos linfócitos T através da produção de interferão (IFN)- $\gamma$  e o fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$ . Estas citocinas têm por função conter a MTB no granuloma. Esta estrutura é caracterizada por níveis baixos de oxigénio, PH e nutrientes, restringindo o crescimento do bacilo da TB e estabelecendo latência. Os granulomas podem persistir durante anos e conter eficientemente o patogénio enquanto o indivíduo se mantiver imunocompetente. Geralmente, 90% dos indivíduos infetados, controlam com sucesso a infeção, de forma assintomática, sendo os bacilos contidos num estado dormente no interior do granuloma: TB latente. Nos casos de TB latente, o controlo desta infeção crónica resulta de um equilíbrio permanente entre o hospedeiro e a micobactéria. Contudo, cerca de 5% dos indivíduos desenvolvem doença primária progressiva severa e potencialmente fatal. Os mecanismos que determinam a progressão da doença não são totalmente conhecidos, mas parecem estar relacionados com fatores ambientais, socioeconómicos, fatores do hospedeiro assim como variação genética e virulência por parte da MTB. Por outro lado

num pequeno número de indivíduos com infecção latente, ocorre reativação ou TB secundária, devido a alterações do sistema imune, envelhecimento, subnutrição, medicação imunossupressora ou infecção pelo VIH, nestes casos o granuloma perde a sua estrutura deixando de conter as bactérias viáveis, o que conduz á replicação e disseminação da doença, sendo assim o sistema imune é incapaz de conter a infecção, o centro caseoso liquidifica, levando á formação de uma cavidade. Os macrófagos não sobrevivem nestas lesões sendo ineficazes no controlo da multiplicação das bactérias, nesta fase o bacilo pode atingir números muito elevados sendo assim também um maior risco de contágio. Os linfócitos T CD8+ localizam-se na periferia do granuloma tal como os linfócitos T CD4+ com capacidades citolíticas, são capazes de lisar os macrófagos infetados, libertando o MTB, agora disponível para ser fagocitado por outros macrófagos. Este processo pode resultar na libertação de bactérias viáveis para a corrente sanguínea, originando focos de infecção à distância em vários órgãos, ou as bactérias podem ser libertadas para as vias aéreas onde podem ser expulsas dos pulmões e infectar outros indivíduos<sup>[9,10]</sup>.

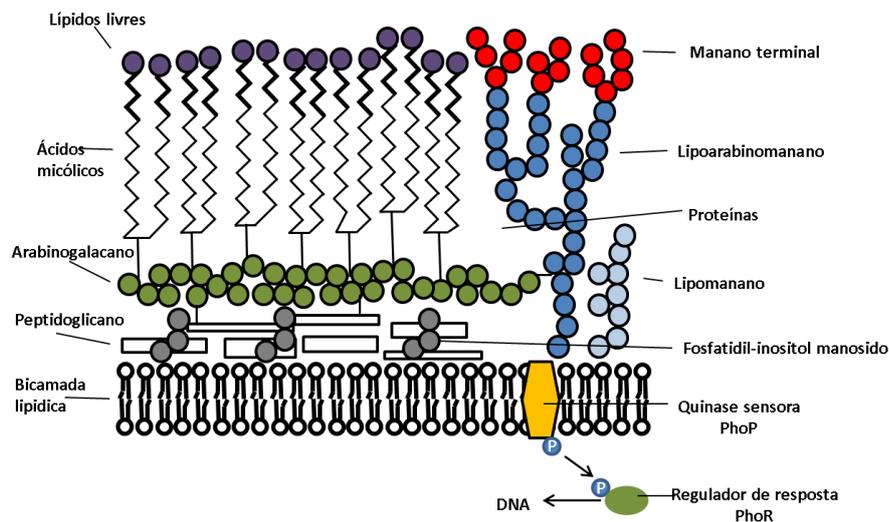


**Fig.1** - Esquema simplificado do ciclo de vida da MTB. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.026>)

## **6. Mycobacterium tuberculosis: Morfologia e fisiologia**

Pertencente à família das *Mycobacteriaceae* compreende apenas o gênero *Mycobacterium*, este com mais de 100 espécies diferentes entre os quais alguns patógenos humanos. Trata-se de bactérias aeróbias, imóveis, não capsuladas e não formadoras de esporos. Apresenta uma morfologia bacilar ou cocobacilar (muito raramente formas filamentosas). Os bacilos são finos, retos ou ligeiramente encurvados, apresentando-se isolados, aos pares ou em pequenos agrupamentos de bacilos paralelos.

A estrutura da parede celular MTB é constituída por peptidoglicano, porém é extremamente rica em lípidos complexos (mais de 60% é lipídica), que incluem ceras e ácidos micólicos com cadeias longas e ramificadas, o que, tornando a superfície hidrofóbica, confere a estas bactérias propriedades importantes, não só em termos taxonômicos, como também na patogenia das respectivas infecções, a maior determinante para a virulência da bactéria é a sua parede celular. Assim estas bactérias são resistentes à coloração por variados corantes utilizados comumente em bacteriologia, como por exemplo, os métodos de Gram ou de Giemsa. Por outro lado, uma vez coradas, resistem à descoloração por soluções ácido-alcoólicas, sendo-lhes por isso atribuída a designação de bactérias álcool-ácido-resistentes. Significa isto, que a coloração com um primeiro corante se mantém após a descoloração com solução álcool-ácida, não adquirindo as bactérias a coloração com um segundo corante administrado. Sendo talvez esta a sua característica mais importante em termos de identificação laboratorial. Existem várias metodologias de coloração ácido-resistente, sendo a coloração de Ziehl-Neelsen umas das mais utilizadas. As micobactérias têm exigências nutritivas particulares, pelo que não se desenvolvem nos meios de cultura tradicionalmente utilizados para a maioria das outras bactérias. O meio de Lowenstein-jensen, é um dos mais utilizados, desenvolvem-se em geral lentamente, sendo necessária uma incubação prolongada, de duas a seis semanas, para que se formem as colónias características. As características relevantes da MTB estão associadas à alta concentração de lípidos presentes na sua parede celular, assim como: Impermeabilidade aos corantes, resistência aos antibióticos, resistência à morte pelos compostos ácidos e alcalinos, resistência à lise osmótica e resistência à oxidação e sobrevivência nos macrófagos <sup>[11,12]</sup>.



**Fig. II** - Esquema representativo da constituição da parede celular.

<http://www.ff.ul.pt/tuberculose/tuberculose/>

## **7. Mecanismos e fatores de virulência**

A virulência da *Mycobacterium tuberculosis* é extremamente complexa e multifacetada, apesar de aparentemente não produzir nenhuma toxina, possui um enorme repertório de propriedades estruturais e fisiológicas que contribuem para a virulência bacteriana e para a patologia da tuberculose.

Algumas propriedades gerais da MTB que contribuem para a sua virulência:

- Mecanismos especiais de entrada na célula: o bacilo da tuberculose pode ligar-se diretamente ao recetor de manose nos macrófagos, ocorrendo maioritariamente em fases precoces da infeção tuberculosa e em indivíduos imunodeprimidos. Indiretamente pode ligar-se através de determinados recetores do complemento das células monócito-macrofágicas.
- Crescimento Intracelular: A MTB pode crescer intracelularmente, sendo este um meio bastante eficaz de escapar ao sistema imunológico, ou seja, aos anticorpos e ao sistema complemento. Ao sofrer fagocitose vai inibir a fusão de lisossomas com o fagossoma através da secreção de uma proteína que modifica a membrana do fagossoma permitindo assim á bactéria encontrar um ambiente apropriado á sua sobrevivência e crescimento dentro do macrófago.

- Desintoxicação dos radicais de oxigênio: possui a capacidade de interferir com os efeitos tóxicos dos intermediários das espécies reativas ao oxigênio produzidos durante o processo de fagocitose.
- Complexo do antígeno 85: complexo composto por um grupo de proteínas segregadas pela MTB denominadas como ligaduras da fibronectina, estas proteínas auxiliam na fuga ao sistema imunitário facilitando a formação dos grânulos de tubérculo.
- Crescimento lento: devido a este crescimento lento o sistema imunitário pode não reconhecer facilmente a bactéria, ou a resposta imune desencadeada pode não ser específica para a eliminar.
- Elevada concentração de Lípidos na parede celular: torna a superfície hidrofóbica, conferindo à bactéria impermeabilidade e resistência aos agentes antimicrobianos, aos compostos ácidos e alcalinos, tanto no meio intracelular como extracelular<sup>[13]</sup>.

## **8. Tuberculose: Manifestações Clínicas**

A interação entre a MTB e as células do hospedeiro é extremamente complexa, sendo determinada em parte pela virulência da estirpe, mas também pela resistência específica e não específica do hospedeiro. A imunidade mediada por células desempenham um papel importante no desenvolvimento dos sintomas da doença. A TB diferencia-se em infecção primária e infecção secundária (reinfeção). A infecção primária resulta normalmente da inalação de bacilos provenientes de doentes infetados, que ultrapassando a barreira mucociliar e brônquica, instalam-se nos pulmões e crescem. O sistema imunológico do hospedeiro desencadeia uma resposta imune, uma reação de hipersensibilidade retardada, com a formação de agregados de macrófagos (grânulos de tubérculo). O SI do indivíduo infetado normalmente destrói as micobactérias ou isolas no local da infecção, no entanto, em alguns casos, as bactérias não são destruídas, mas permanecem inativas no interior dos macrófagos durante muitos anos.

Embora a TB possa afetar qualquer órgão, a maioria das infecções em doentes imunocompetentes é restrita aos pulmões. No entanto em cerca de dois terços doentes infetados com o VIH podem desenvolver TB extrapulmonar. Na maioria dos doentes infetados, a TB ativa a imunidade celular do hospedeiro, entre 3 a 6 semanas após a primoinfecção e é responsável pelo aparecimento da doença clinicamente detetável em apenas 3 a 5% dos doentes no primeiro ano após a exposição. Cerca de 5% irão desenvolver a doença

cl clinicamente manifesta ao longo da sua vida. Decorre assim um conjunto de mecanismos bastante complexos com o objetivo de neutralizar a agressão micobacteriana. Estes mecanismos são na maioria dos casos eficazes, quer na neutralização da infeção primária, quer na sua confinação ao pulmão. No entanto, a bactéria apresenta capacidade de sobreviver e crescer dentro dos macrófagos, mesmo na presença de uma resposta imune contínua, sendo que em indivíduos imunodeprimidos essa resposta não é controlada desenvolvendo-se infeção pulmonar aguda, levando a uma destruição dos tecidos pulmonares e propagação da bactéria para outras partes do corpo e morte em casos mais graves. Por outro lado, quase sempre um número reduzido de bacilos escapa aos filtros parenquimatosos e ganglionar sendo levados pela circulação linfática e sanguínea onde se alojarão em qualquer outro local do organismo, que após um período de latência variável poderam originar TB. Habitualmente, da reativação de um foco primário ocorre a tuberculose pós-primária ou secundária resultante de circunstâncias favorecedoras por parte do hospedeiro como: diabetes, imunossupressão, desnutrição, envelhecimento, entre outros. O que distingue o tipo de infeção é a possibilidade de o bacilo ficar latente após um processo de infeção primária, que em muitos casos não chega a originar doença.

O quadro clínico é pouco característico, podendo manifestar-se por sinais clínicos inespecíficos, que por vezes simulam quadros clínicos de difícil diagnóstico. A sintomatologia da infeção ativa a nível pulmonar é frequentemente a tosse, algumas vezes com expectoração ou mesmo sangue, dores no peito, fraqueza, emagrecimento, febre e suores noturnos.

## **9. Diagnóstico, prevenção e tratamento**

O diagnóstico precoce e o início de tratamento atempado são fundamentais para minimizar a transmissão e reduzir a morbidade e mortalidade da tuberculose. O diagnóstico clínico é muitas vezes difícil, devido aos sintomas inespecíficos e frequentemente insidiosos e a apresentação radiológica pode ser muito diversificada. Na maioria dos casos, o diagnóstico da tuberculose assenta numa combinação adequada de diferentes métodos de diagnóstico. Os exames micobacteriológicos apesar das suas limitações continuam a ser os exames de referência do diagnóstico da TB. A identificação de BAAR em exame direto, das secreções brônquicas, apesar das limitações de sensibilidade continua a ser fundamental no diagnóstico precoce.

A BCG, a vacina contra a tuberculose, faz parte da rotina de prevenção da TB. No entanto em alguns países onde a prevalência é reduzida, como por exemplo, nos Estados Unidos, a

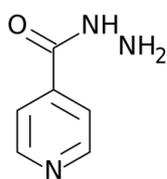
imunização pelo BCG é desaconselhada. No caso da TB latente, o diagnóstico pretende evitar a sua evolução para TB ativa. Na forma latente, as amostras de expetoração são negativas para o bacilo, as radiografias ao tórax são tipicamente normais e os doentes não apresentam sintomas nem transmitem o bacilo. O método mais usado para o rastreio é o teste da tuberculina ou teste de Mantoux, é um teste cutâneo que consiste numa injeção intradérmica de uma fração proteica extraída do MTB, ocorrendo uma reação imune localizada dentro de um a três dias, no local da injeção, indica apenas que o indivíduo foi exposto no passado ao microrganismo. Para alguns doentes esta imunidade é protetora ao longo de toda a vida, mas num número restrito de indivíduos desenvolvem infeção pós-primária através de reinfeção ou mesmo de reativação da bactéria latente em macrófagos, motivo pelo qual, os indivíduos tuberculina positivos são usualmente tratados, de modo a reduzir o potencial risco de reativação<sup>[13]</sup>.

De acordo com a OMS os objetivos do tratamento da TB são: curar o doente, evitar a morte e os efeitos tardios, evitar as recidivas, diminuir a transmissão e evitar o desenvolvimento de resistências aos antibacilares. O tratamento, quando bem conduzido, leva a uma cura em mais de 95% dos casos, se o bacilo for sensível aos fármacos antibacilares atualmente disponíveis. No último século tem-se assistido a um acréscimo preocupante de casos de TB causada por bacilos resistentes a um ou mais fármacos antibacilares, podendo relacionar-se com a deficiente aderência ao tratamento, originando assim uma diminuição global das taxas de cura<sup>[14]</sup>. A escolha do esquema terapêutico é baseada na compreensão da morfologia da MTB, na fisiologia do hospedeiro e nas atividades específicas dos fármacos. A tuberculose nunca é tratada com um único agente antimicrobiano. Os fármacos disponíveis para o tratamento podem ser divididos em duas grandes categorias com base na sua segurança e efetividade: Fármacos de 1ª linha ou essenciais (associam uma maior eficácia com uma menor toxicidade), Fármacos de 2ª linha (combinam uma menor eficácia com uma maior toxicidade), estes utilizados apenas em casos de resistência aos fármacos de 1ª linha. São dois os objetivos da terapia antituberculosa clássica, o primeiro consiste na eliminação rápida do bacilo e melhoria dos sintomas (fase intensiva), e o segundo objetivo consiste na prevenção das recidivas (fase de continuação)<sup>[15]</sup>. São considerados antibióticos de 1ª linha: rifampicina, isoniazida, etambutol, pirazinamida e estreptomina. A maioria dos doentes com TB pode ser tratada com sucesso com estes antibióticos durante 6 meses, sendo usada nos primeiros dois meses a associação isoniazida+rifampicina+pirazinamida e nos restantes 4 meses a associação isoniazida+rifampicina. Culturas positivas ao fim de 6 meses de tratamento indicam que os microrganismos são resistentes e uma terapêutica alternativa deve ser

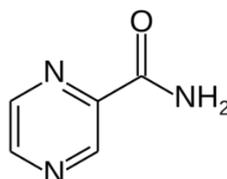
considerada. O aparecimento de estirpes multirresistentes, à rifampicina e isoniazida, criou problemas de saúde pública bem complicados. Tornou-se necessário recorrer a compostos de 2ª linha para debelar essas infecções, como por exemplo: PAS, amicacina, capreomicina, ofloxacina, ciprofloxacina, cicloserina, etionamida e canamicina. Isoniazida e rifampicina são mais ativos contra as populações de micobactérias extracelulares e rifampicina e pirazinamida têm maior efeito bactericida contra células no interior dos macrófagos e das lesões caseosas fechadas.

## **10. Fármacos Clássicos utilizados no tratamento da tuberculose – Seus Mecanismos de ação e Resistências**

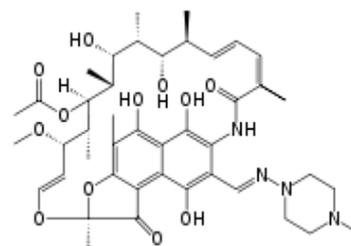
### **10.1. Fármacos de 1ª Linha**



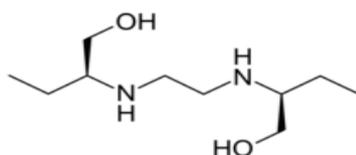
Isoniazida



Pirazinamida



Rifampicina



Etambutol

#### **10.1.1. Isoniazida (H)**

A atividade antimicobacteriana da Isoniazida foi descoberta em 1952 e ainda hoje é considerada como antibacilar base da quimioterapia anti-TB, tanto para infecções ativas como latentes. Isto deve-se à excelente atividade, ao baixo custo e à relativamente baixa toxicidade deste fármaco. Apresenta uma estrutura química simples, é um derivado pirimídico, constituído pelos grupos piridina e hidrazina, em que ambos são essenciais para a sua atividade contra MTB, o seu mecanismo de ação é bastante complexo, sabe-se que a sua ação bactericida faz-se por interferência na síntese de ADN da micobactéria. Afetando a síntese do ácido micólico. Podendo ter também um efeito bacteriostático, se utilizado em doses mais baixas.

A isoniazida é um pró-fármaco, bioprecursor, que é ativado in vivo pela enzima *KatG* (uma catalase-peroxidase micobacteriana), para originar a forma ativa que se liga covalentemente ao cofator NAD, formando um aduto no sítio ativo da enzima *InhA* (inoil redutase), inativando-a. Em consequência, há interrupção da biossíntese dos ácidos micólicos, principais constituintes da parede celular micobacteriana.

O mecanismo mais comum de resistência à isoniazida consiste em mutações na enzima *KatG*, que diminui a sua atividade, impedindo a conversão do pró-fármaco em metabolito ativo. Tem também o poder de inibir outra enzima envolvida na síntese dos ácidos micólicos, a enzima  $\beta$ -cetoacil-ACP sintase codificada pelo gene *Kasa*. Esta enzima tem como função a alongação das cadeias de ácidos micólicos fazendo parte da sua síntese<sup>[16-17]</sup>.

### **10.1.2. Rifampicina (R)**

A Rifampicina é um dos derivados semissintéticos da Rifamicina, é um dos fármacos mais importantes no tratamento da TB. É utilizada como antibiótico desde 1966, possui um bom efeito bactericida que atua no bacilo MTB em crescimento e metabolicamente ativo assim como na fase de latência, de menor atividade metabólica. Estas características e sua associação com a pirazinamida permitem o encurtamento no tratamento da TB para seis meses.

A rifampicina inibe a transcrição génica da micobactéria por bloqueio do RNA polimerase, o que impede a síntese do RNA mensageiro (RNAm) e de proteína pelo bacilo, produzindo morte celular. A resistência à rifampicina ocorre devido à mutação do gene *rpoB*, que codifica a cadeia beta da RNA polimerase, resultando assim numa alteração conformacional da enzima, determinando-se assim uma baixa afinidade para o fármaco e consequentemente o desenvolvimento de resistência. Aproximadamente 96%, das estirpes que são resistentes à rifampicina contêm uma mutação na região dos 81 pares de bases. Esta região pode ser determinante para a deteção rápida da resistência à rifampicina.

### **10.1.3. Pirazinamida (Z)**

A Pirazinamida é um derivado do ácido nicotínico, com estrutura molecular similar à da Isoniazida, mas sem resistência cruzada com a mesma. Foi sintetizado em 1936 e é utilizado como tuberculostático desde 1952. É uma molécula com atividade bactericida e tem uma

maior ação esterilizante contra microrganismos intracelulares do que os extracelulares, principalmente em meio ácido no interior dos macrófagos e em áreas de inflamação aguda.

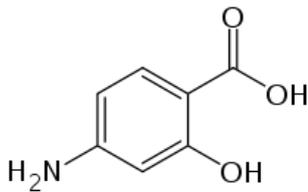
É um pró-fármaco, que como a isoniazida, também necessita de ser convertida por enzimas bacterianas (nicotinamidase/pirazinamidase) codificadas pelo gene *pncA* na forma ativa, o ácido pirazinóico.

O mecanismo de ação da pirazinamida ainda não está bem esclarecido, mas supõe-se que esta entra no bacilo de forma passiva passando o citoplasma e seja convertida em ácido pirazinóico pela pirazinamidase, sendo excretada para o exterior da célula através de um sistema de efluxo, convertendo o ácido pirazinóico na sua forma protonada. Sob condições ácidas, a forma protonada é reabsorvida, acumulando-se no interior da célula devido ao bombeamento ineficiente, acabando a célula por sofrer uma destruição ao nível da sua estrutura. A resistência à pirazinamida decorre de mutações no gene *pncA*, que codifica a enzima nicotinamidase/pirazinamidase e impede a conversão da pirazinamida para a forma ativa. As mutações a nível desta molécula estão relacionadas com a substituição de aminoácidos, podendo ocorrer inserções e deleções de nucleótidos, dispersando-se ao longo do gene *pncA*.

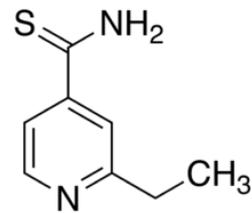
#### **10.1.4. Etambutol (E)**

O Etambutol é uma molécula que foi sintetizada em 1961 e começou a ser utilizado no tratamento da tuberculose desde 1966. Atua sobre os bacilos intra e extracelulares, principalmente nos de multiplicação rápida. Tem uma ação bacteriostática nas doses usuais, sendo ativo apenas contra bactérias em crescimento. O etambutol interfere na biossíntese de arabinogalactano, principal polissacarídeo da parede celular da MTB. Consequentemente vai inibir a enzima arabinosil transferase codificada pelo gene *embB*, responsável pela polimerização de arabinose para arabinogalactano. A resistência ao Etambutol *in vitro* desenvolve-se de maneira lenta e provavelmente acontece por mutação do gene *embB*, estudos realizados vieram comprovar que esta molécula contém três genes no operão, formando o gene *embCAB*, envolvido diretamente na resistência ao Etambutol.

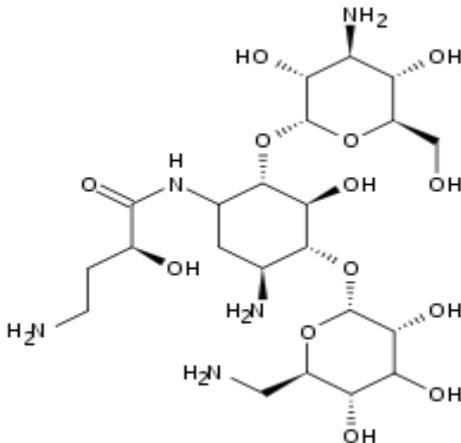
## 10.2. Fármacos de 2ª Linha



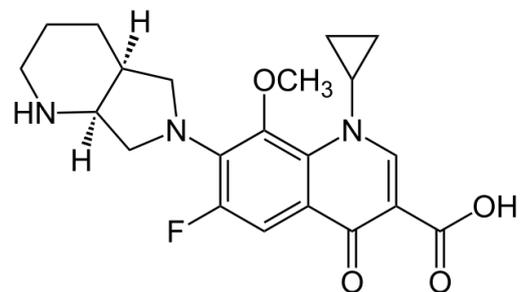
Ácido p-amino salicílico (PAS)



Etionamida



Amicacina (aminoglicosídeo)



Moxifloxacina (Fluoroquinolona)

Depois de descritos os antibióticos de 1ª linha, verificamos que são antibióticos com diversas mutações nos seus genes e que quando são utilizados durante um longo período de tempo criam estirpes resistentes. Para contornar estas resistências são utilizados os antibióticos de 2ª linha. Assim quando existe resistência à isoniazida e à Rifampicina ou à Rifampicina, isoniazida e outro antibiótico de 1ª linha, estamos perante Tuberculose Multirresistente.

### 10.2.1. Ácido p-Amino salicílico (PAS)

O PAS é um tuberculostático usado desde 1946, a partir de 1955 e por quase 15 anos, foi considerado como fármaco de 1ª linha juntamente com isoniazida e estreptomicina, foi descontinuado pouco tempo depois devido a diversos efeitos adversos e à introdução da rifampicina e pirazinamida no tratamento. Com o aparecimento de diversos casos de MDR-TB, o PAS foi novamente introduzido na terapêutica no ano de 1992. É um bacteriostático específico para MTB. O PAS tem semelhanças estruturais com as sulfonamidas, sendo estas análogas estruturais do ácido p-aminobenzoíco (PABA), substrato da enzima *dihidropteroato sintetase*, e por consequente, funciona como inibidor competitivo desta mesma enzima, necessária na biossíntese do folato, evitando a síntese deste composto. Este antibiótico só se

encontra ativo na presença da enzima *ThyA* sendo por isso considerado um pró-fármaco. O aparecimento de resistências a este antibiótico apareceu devida a alterações nos genes que codificam enzimas essenciais na via metabólica do ácido fólico, não havendo assim a ligação do PAS a estas enzimas, ocorrendo as mutações. A maioria das mutações está associada ao gene *ThyA* que codifica a enzima *timidilato sintetase*, sendo esta importante para a biossíntese de timina pela via metabólica do ácido fólico.

### **10.2.2. Etionamida**

A Etionamida é utilizada no tratamento da tuberculose desde 1956 como antibiótico de 2ª linha. Atua nos bacilos intra e extracelulares, é um fármaco bacteriostático nas doses usuais. É um pró-fármaco inativo com estrutura análoga à isoniazida, porém sem resistência cruzada com a mesma, necessita de ser ativada pela enzima bacteriana *EthA*, uma monoxigenase contendo FAD. Estudos revelam a existência de dois genes para a ativação da molécula, o gene *EthA* e o gene *EthR*. A resistência à etionamida é devido a alterações genéticas na *EthA*, estirpes resistentes à isoniazida por alterações do gene *katG* permanecem sensíveis à etionamida, indicando que as enzimas responsáveis pela ativação da isoniazida e da etionamida são diferentes. Apesar de os mecanismos de inibição da etionamida e da isoniazida diferirem, o resultado é o mesmo: inibição da síntese proteica, impedindo a biossíntese do ácido micólico com o comprometimento da membrana celular bacteriana.

### **10.2.3. Aminoglicosídeos**

No grupo dos aminoglicosídeos está inserido a estreptomicina, a canamicina e a amicacina. A estreptomicina foi isolada em 1944 e foi o primeiro fármaco eficaz utilizado no tratamento da TB. A canamicina foi sintetizada em 1957, e a amicacina é um composto semissintético derivado da canamicina, sendo utilizada desde 1972. Os aminoglicosídeos têm uma ação intracelular irrelevante, atuando sobre o bacilo extracelular. São fármacos bactericidas, inibem a síntese proteica ao ligar-se de forma irreversível à subunidade 30S do ribossoma bacteriano, interferindo na integridade da membrana celular. A resistência surge por mutações no gene *rrs*, que codifica o 16S RNA ribossomal, e no gene *rpsL*, que codifica o gene da proteína ribossomal S12.

### 10.2.4. Fluoroquinolonas

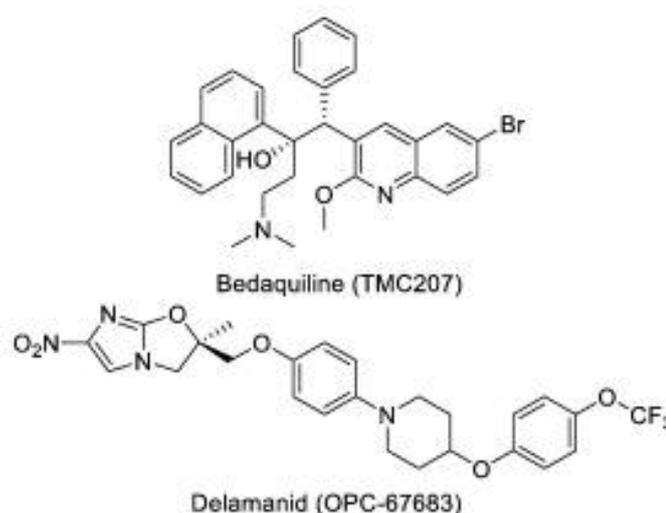
As fluoroquinolonas têm sido utilizadas como fármacos de reserva no tratamento da tuberculose desde 1985, entretanto estudos recentes com fluoroquinolonas de terceira e quarta geração (levofloxacin, moxifloxacin e gatifloxacin) demonstram um grande potencial e uma grande alternativa para estirpes MTB resistentes a antibióticos de primeira linha. Detêm características para um bom fármaco antibacilar como: boa absorção, atingem altas concentrações no aparelho respiratório e intramacrofágicas. As fluoroquinolonas são bactericidas não apresentando resistências cruzadas com outros tipos de antibióticos. O seu mecanismo de ação consiste em inibir a atividade da DNA girase ou da topoisomerase II bacteriana que regula a topologia do DNA e é essencial à sobrevivência da bactéria<sup>[18]</sup>.

Drug name	Mechanism of action	Common mechanism of resistance
Rifampicin	RNA synthesis inhibition	Mutation of <i>rpoB</i> induces a conformational change at $\beta$ -subunit of RNA polymerase causing a decrease in binding affinity
Isoniazid	Mycolic acid biosynthesis inhibitor and effects on DNA, lipid, carbohydrate, and NAD metabolism	<i>KatG</i> suppression causing decreased prodrug activation, and a mutation in the promoter region of <i>InhA</i> causing an overexpression of <i>InhA</i>
Pyrazinamide	Not fully resolved, may include membrane potential disruption	Mutations in <i>pncA</i> reducing conversion to active acid form
Ethambutol	Arabinogalactan biosynthesis inhibition	Mutations in <i>embB</i> at codon <i>embB306</i>
Amikacin/Kanamycin	Protein synthesis inhibition	16S rRNA target site modulation (1400 and 1401 <i>rrs</i> gene) Increased drug inactivation via overexpression of <i>eis</i> aminoglycoside acetyltransferase
Capreomycin	Protein synthesis inhibition	Cross-resistance with aminoglycosides plus mutation of <i>tlyA</i> which decreases rRNA methyltransferase activity
Streptomycin	Protein synthesis inhibition	Mutations in <i>rpsL</i> and <i>rrs</i> confer binding site modulation
Fluoroquinolones	DNA gyrase and topoisomerase IV inhibitor	Mutations in <i>gyrA</i> and <i>gyrB</i> causing an alteration to DNA Gyrase A/B binding site (later generations not always cross-resistant with first generation) and increased ABC-type efflux pump expression
Ethionamide	Mycolic acid biosynthesis inhibition	Mutations in <i>ethA</i> and <i>inhA</i> causing decreased prodrug activation and <i>InhA</i> overexpression (cross-resistance with Isoniazid)
Cycloserine	Peptidoglycan biosynthesis inhibition	Overexpression of <i>alrA</i> decreasing drug efficiency
Para-aminosalicylic acid	Folic acid and iron metabolism inhibition	Mutations in the <i>thyA</i> causing a decrease in activated drug concentrations and <i>folC</i> mutations which cause binding site mutations
Clofazimine	Release of Reactive Oxygen Species (ROS) and cell membrane disruption	Mutation to Rv0678 causes upregulation of MmpL5, a multisubstrate efflux pump (cross-resistance with Bedaquiline)
Linezolid	Protein synthesis inhibitor (50S subunit)	T460C mutation in <i>rplC</i> , encoding the 50S ribosomal L3 protein and possible efflux mechanisms
$\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor: Amoxicillin Meropenem Imipenem	Cell wall disruption via peptidoglycan modulation	Overexpression of $\beta$ -lactamases, ( <i>BlaC</i> ), point mutations at target site altering deacylation rate and binding affinity, cell permeability (alteration in porins and outer membrane composition), and increased efflux (Rv0194)
Thiacetazone	Inhibits methyltransferases in mycolic acid biosynthesis	<i>ethA</i> mutation minimizes prodrug activation and mutations to <i>hadABC</i> operon affecting dehydratase activity
Clarithromycin	Protein synthesis inhibition (50S subunit)	Low cell wall permeability and the expression of <i>emr37</i> , confers 23S rRNA site modulation
Bedaquiline	Inhibition of mitochondrial ATP synthase	<i>atpE</i> mutations introduces binding site modulation. Noted efflux via mmpL5 (cross-resistance with Clofazimine)
Delamanid	Mycolic acid biosynthesis inhibition	Mutation of reductive activating Rv3547 gene

**Fig. III** - Resumo de Fármacos antituberculosos clinicamente mais relevantes, seus mecanismos de ação e resistência. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.026>)

## 11. Novos Fármacos

Nos últimos anos, vimos as primeiras aprovações para novos fármacos no combate à MTB, a Bedaquilina (TMC207) e a delamanida (OPC-677683), em décadas. Ambas aprovadas condicionalmente devido a efeitos adversos anotados. O fato, é que estas drogas têm levantado algumas questões, incluindo problemas de toxicidade, assim como várias questões de ADME devido à sua alta lipofilia. A falta de alternativas viáveis em desenvolvimento clínico de fase final é indicativo do estado de descoberta de drogas neste campo, e inovação para impulsionar novos projetos é desesperadamente necessário<sup>[19]</sup>.



**Fig. IV** - Agentes antituberculosos aprovados recentemente desenvolvidos especificamente para infecções MDR-TB. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.026>)

## 12. Fármacos em desenvolvimento

Idealmente, os novos agentes antituberculosos deveriam: ter um novo mecanismo de ação para assim atenuar resistências cruzadas, rápida atividade bactericida reduzindo a duração do tratamento, otimização farmacocinética/farmacodinâmica, propriedades para administração oral uma vez por dia, baixo potencial de interações medicamentosas para poder permitir terapia combinada, especialmente com HIV, e excelente perfil de segurança para permitir o uso em crianças e mulheres grávidas. Estes critérios ideais são acoplados com outros objetivos práticos, tais como baixo custo de produção, alta estabilidade do composto, estreito espectro de atividade, alta tolerabilidade e uma baixa taxa resistências.

A necessidade urgente de desenvolver novos fármacos ativos para combater a MDR-TB foi agravado pelo surgimento de XDR-TB, definida como MDR-TB com resistência adicional às fluoroquinolonas e a um dos fármacos de 2ª linha injetável. Além disso, casos de tuberculose totalmente resistente aos medicamentos (TDR-TB) têm sido observados na China, Índia, África e Europa Ocidental, neste tipo de TB as micobactérias são resistentes a todas as terapêuticas disponíveis. Nos últimos anos surgiram as primeiras aprovações de novos medicamentos antituberculosos em mais de 50 anos, em grande parte devido a esforços coordenados dos programas de governo, organizações não-governamentais e apoio de empresas farmacêuticas. Em conjunto com estas novas entidades químicas disponíveis na prática clínica, existe ainda uma série de moléculas em curso de desenvolvimento, como em fase de fim de descoberta. A parceria com a Stop TB, tem sido fundamental na organização da informação, consolidando dados clínicos e pré-clínicos para a sensibilização da emergência da MDR-TB. Existe uma série de agentes que estão atualmente em ensaios clínicos, no entanto, o desenvolvimento de algumas drogas parece lento ou mesmo parado, fenômeno atribuído a várias falhas dos candidatos clínicos, a escassez de agentes na fase I é também uma preocupação<sup>[19]</sup>.

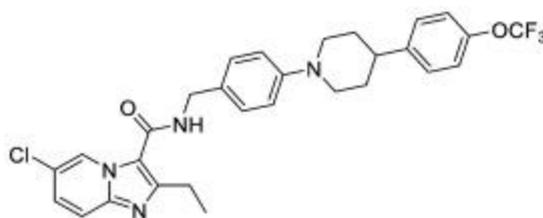


**Fig. V** - Fármacos que mantêm a promessa clínica e que estão em desenvolvimento e testes. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.026>)

## 12.1. Diarilquinolonas e antagonistas da cadeia respiratória

As diarilquinolonas são a série mais avançada de novos medicamentos antituberculosos. A bedaquilina recentemente aprovado recai sob essa classificação, é altamente seletivo inibindo especificamente a ATP sintase das micobactérias em estado dormente, fazendo da bedaquilina arma principal para destruir a subpopulação MTB latente. Com um mecanismo de ação distinto da Rifampicina e Isoniazida, bedaquilina é um complemento eficaz para um regime de MDR-TB. Descobertas durante uma tela fenotípica realizada pela Janssen farmacêutica, bedaquilina mostra uma excelente atividade contra os isolados resistentes a fármacos.

Um composto antitubercular, Q203, uma imidazopiridina, que também atua na cadeia respiratória, acabou de entrar em fase I de ensaios clínicos. É um inibidor seletivo do crescimento de MTB. O seu mecanismo de ação é ao nível do complexo citocromo *bcl* (complexo III) componente essencial da cadeia respiratória, provocando uma depleção de ATP intracelular. Q203, apresenta atividade contra MTB latente e é uma opção promissora para novos regimes de tratamento MDR-TB<sup>[19]</sup>.

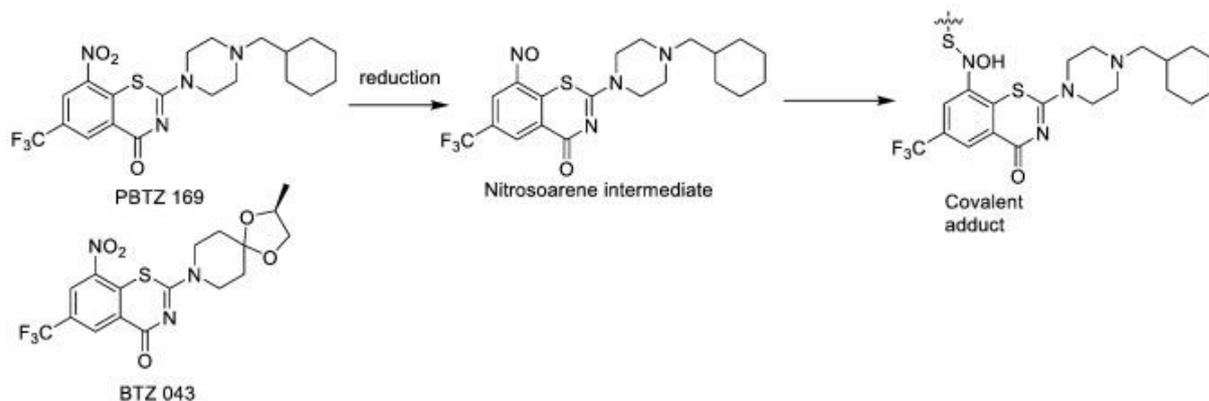


**Fig. VI** - Q203, composto em fase I de ensaios clínicos.

## 12.2. Inibidores DprEI (Benzotiazinonas)

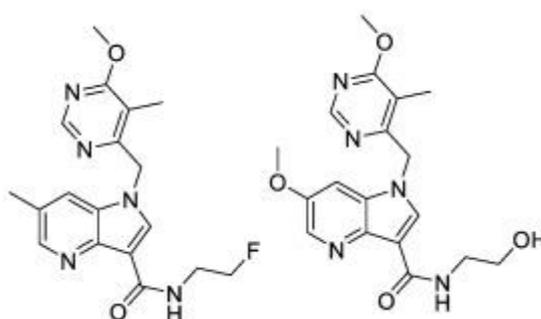
*Decaprenylphosphoryl-beta-d-ribose-2-epimerase*, *DprEI*, enzima essencial para a biossíntese dos componentes chave da parede celular, precursor essencial para o arabinogalactano, polissacárido da parede celular por meio de uma série de reações de oxidação-redução. Há uma série de compostos promissores atualmente em investigação sendo que as Benzotiazinonas se encontram num estado mais avançado de investigação.

BTZ 043 e PBTZ 169 (benzotiazinonas) ambos em estudos pré-clínicos, têm apresentado atividade contra modelos animais infetados com MTB, são inibidores irreversíveis que requerem ativação de um grupo nitro aromático para que possa exercer a sua atividade antituberculosa. O grupo nitro é necessário, assim como o grupo *meta* de remoção de elétrons. O grupo nitro aromático está assim disponível para a bioredução, o grupo nitroso reage em seguida com um resíduo de cisteína no local ativo da enzima *DprE1*.



**Fig. VII** - PBTZ 169 e BTZ 043, mecanismo de inibição covalente de *DprE1*.

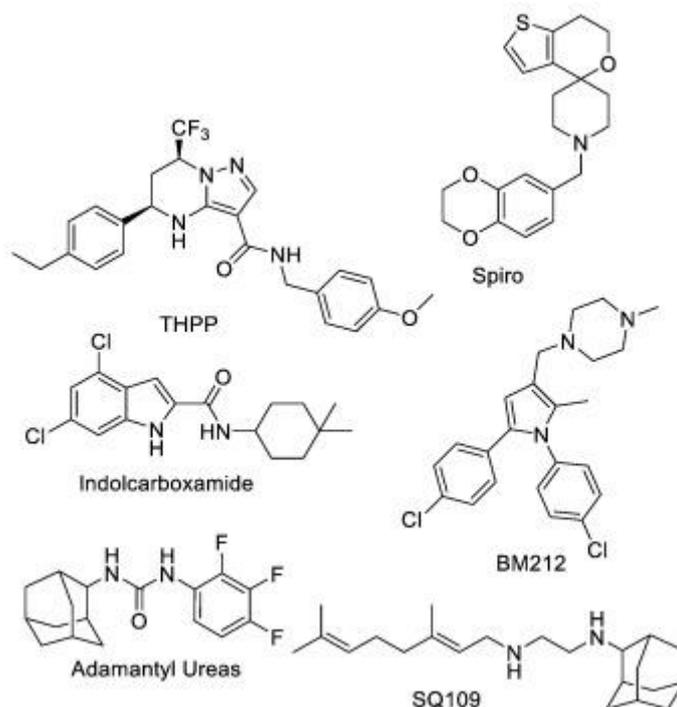
Uma classe alternativa de inibidores *DprE1*, são os 1,4-Azaindoles, inibidores reversíveis e oralmente biodisponíveis. Uma distinção importante para esta classe de compostos é a falta de resistência cruzada com as benzotiazinonas, apesar de terem o mesmo alvo molecular, isto deve-se á natureza não covalente da inibição, que não afeta a ligação dos 1,4-azaindoís, nem a sua atividade antituberculosa.



**Fig. VIII** - 1,4 azaindoles, inibidores reversíveis de *DprE1*.

### 12.3. Inibidores MmpL3

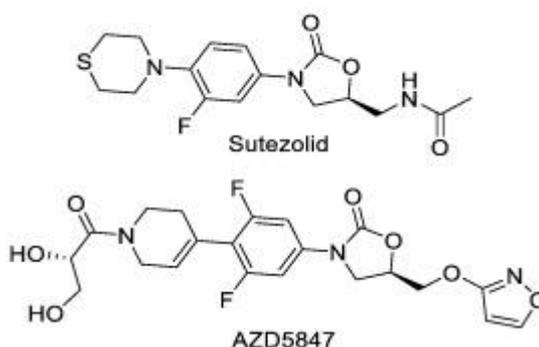
Família de proteínas da membrana celular micobacteriana (*MmpL3*), estão envolvidas no transporte de metabolitos a partir do citosol da MTB, sendo consideradas proteínas de resistência que desempenham um papel importante na patogênese de sobrevivência da micobactéria. *MmpL3* é por isso um alvo terapêutico atrativo e com imenso interesse, apresenta assim um novo mecanismo de ação para um novo agente antituberculoso. O inibidor *MmpL3* em estado mais avançado de desenvolvimento é o SQ 109, demonstrou também atividade sobre fungos e bactérias que não possuem ácidos micólicos e células latentes que não necessitem de sínteses da parede celular. Apresenta múltiplos mecanismos de ação, inibição adicional de síntese de menaquinona (respiração celular), síntese de ATP, em parte, devido à dissipação da força motriz de prótons através da membrana citoplasmática sugerindo assim que SQ 109 seria um composto eficaz para adicionar aos regimes terapêuticos em MDR-TB.



**Fig. IX** - Inibidores *MmpL3* exibem diversidade estrutural.

## 12.4. Oxazolidinonas e outros inibidores da síntese de proteínas

A Linezolida, o primeiro agente antibacteriano nesta classe, demonstrou excelente eficácia clínica no tratamento de infecções pulmonares Gram-positivas resistentes a fármacos. As oxazolidinonas são inibidores da síntese de proteínas que se ligam à subunidade ribossomal 50S do 23S. A Linezolida possui elevada eficácia no tratamento de infecções de MDR-TB, apesar de ter demonstrado fraca atividade *in vitro* em modelos de ratinhos com infecção por tuberculose aguda. Apenas dois compostos estão atualmente aprovados clinicamente, a Linezolida e Tedizolida, mas vários esforços tem sido feitas para desenvolver oxazolidinonas de próxima geração que possam apresentar maior potência antibacteriana e menores efeitos adversos. Sutezolid tem surgido como um exemplo promissor, completando um estudo clínico de fase II. Uma outra oxazolidinona de segunda geração é o composto AZD5847 que exhibe também eficácia em modelos animais e que se encontra em Fase II de ensaios clínicos. Compostos estes, destinados a combater a MDR-TB e infecções pulmonares com menos efeitos adversos do que o seu composto de origem a Linezolida.



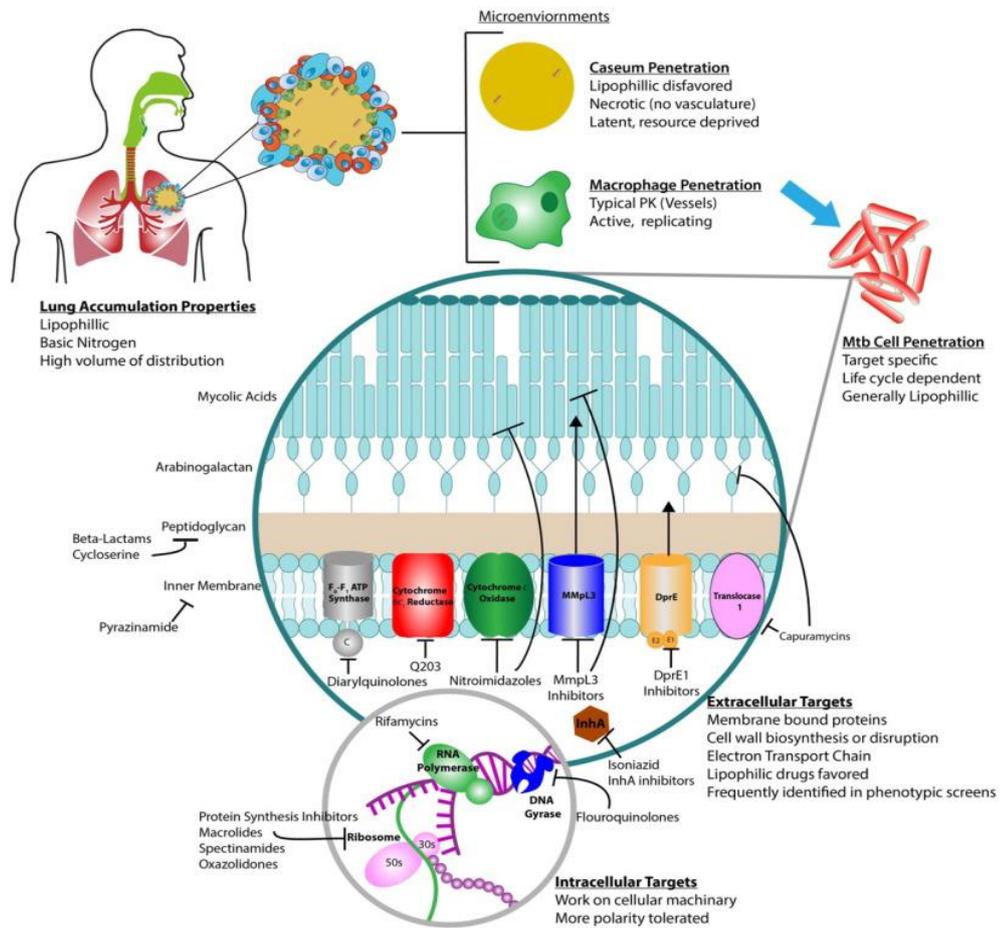
**Fig. X** - Oxazolidinonas de segunda geração.

## 13. Recentes Avanços nas Tecnologias

Assim como a descoberta e desenvolvimento de novas entidades químicas para tratar a MTB tem aumentado significativamente nos últimos anos, também novas tecnologias de imagem foram desenvolvidas para maior compreensão da biologia do ciclo de vida de MTB assim como os sucessos e fracassos de estratégias de desenvolvimento de compostos anteriores. Assumindo-se de extrema importância o apoio laboratorial, nomeadamente ao nível de

biomarcadores e farmacogenômica, pois através destes meios consegue-se prever a resposta a um determinado fármaco com base nas alterações moleculares das estirpes de cada doente, decidindo-se a melhor alternativa terapêutica em função do doente e não da doença.

Um grande avanço foi em 1998 quando toda a sequência de MTB foi descoberta, a identificação dos genes é essencial para facilitar o reconhecimento de novos alvos terapêuticos. Este avanço marcou o início de uma nova era na descoberta de novos fármacos.



**Fig. XI** - Os vários alvos terapêuticos que um novo composto deve apresentar para ser um agente antituberculoso eficaz. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.026>)

## **14. Conclusão**

Diversos esforços foram efetuados nos últimos anos de modo a reduzir a incidência da TB, no entanto esta continua a ser um grave problema de saúde pública, e os resultados apresentados deixam perceber que ainda existe muito a fazer. A patogenia da TB é um processo complexo, que envolve tanto o agente etiológico como os mecanismos de defesa do hospedeiro. Existe uma urgente necessidade de investigar novas alternativas terapêuticas, atualmente o maior desafio que encontramos é o controlo das resistências que têm surgido ao longo dos anos, tornando cada vez mais difícil o controlo da patologia. Na área da terapêutica são centenas os fármacos em investigação, tendo como objetivo a adoção de um novo esquema de tratamento que permita tratar com maior eficácia as diversas formas de TB e, simultaneamente fazê-lo em menos tempo.

## **15. Bibliografia**

1. <http://www.fundacaoportuguesadopulmao.org/tuberculose.html> (Acedido a 27 de maio de 2016).
2. <http://jpn.up.pt/2004/04/27/a-historia-da-tuberculose/> (Acedido a 25 de maio de 2016).
3. <http://www.ff.ul.pt/tuberculose/tuberculose/> (Acedido a 12 de maio de 2016).
4. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104> (Acedido a 20 de maio de 2016).
5. <http://www.who.int/topics/tuberculosis/en/> (Acedido em 25 de maio de 2016).
6. WHO, (2015), **Global Tuberculosis Report 2015** – disponível em: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059_eng.pdf) (Acedido em 29 de maio 2016).
7. file:///C:/Users/ADM/Downloads/i022082%20(1).pdf (Acedido em 25 de maio de 2016)
8. SOUSA, JOÃO; FERREIRA WANDA.2000 – **Mycobacterium**. Microbiologia . Volume 2. Lidel. Edições Técnicas, Lda; 85-98.
9. [http://www.sopterj.com.br/profissionais/\\_revista/2012/n\\_01/03.pdf](http://www.sopterj.com.br/profissionais/_revista/2012/n_01/03.pdf) (Acedido em 16 de maio de 2016).
10. FENTON MJ, VERMEULEN MW. **Immunopathology of tuberculosis: roles of macrophages and monocytes. Infect Immun 1996;64:683-90.** (Acedido a 25 de maio de 2016).
11. NIEDERWEIS, MICHAEL et al. **Mycobacteria. Metals, and Macrophage.** Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4521620/> (Acedido em 16 de maio de 2016).
12. <http://textbookofbacteriology.net/tuberculosis.html> (Acedido a 20 de maio de 2016).
13. NOGUEIRA, ANTONIO et al. **Tuberculose: uma abordagem geral dos principais aspectos.** Rev. Bras. Farm.93 (1):3-9,2012 disponível em <http://www.rbfarma.org.br/files/rbf-2012-93-1-1.pdf> (Acedido a 24 de maio de 2016).
14. <http://www.saudedireta.com.br/docsupload/13404591932.pdf> (Acedido em 20 de maio de 2016).

15. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3867229/> (Acedido em 22 de maio de 2016).
16. João BENTO et al, **Métodos diagnósticos em tuberculose**, Acta Med Port. 2011; 24(1): 145-154 <http://actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/viewFile/333/103> (Acedido em 21 de maio).
17. FERREIRA ELIZABETE; CAROLINA HORTA et al. **Abordagem racional no planeamento de novos tuberculostáticos: inibidores da InhA, enoil-ACP redutase do *M. tuberculosis***. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-933220080002000025](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-933220080002000025)
18. [http://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/4508/1/PPG\\_21962.pdf](http://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/4508/1/PPG_21962.pdf) (Acedido a 29 de maio de 2016).
19. D.T. Hoagland, et al., **New agents for the treatment of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis***, *Adv. Drug Deliv. Rev.*(2016), Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.026>