



Linfócitos e citocinas séricas: valor diagnóstico e influência no estado imunológico de pacientes com tuberculose pulmonar

Zhiqiang Ma¹, Shenghao Li¹, Yuan Liu¹, Caixin Li¹, Xiaoyan Wang¹,
Xingrui Tang¹, Rui Dong¹, Shitai Zheng¹, Lin Wang¹

1. The Third People's Hospital of Kunming, Kunming, China.

Recebido: 11 maio 2023.

Aprovado: 15 julho 2023.

Trabalho realizado no Third People's Hospital of Kunming, Kunming, China.

RESUMO

Objetivo: Determinar o número absoluto de linfócitos T séricos e os níveis de citocinas séricas, bem como as características, de pacientes com tuberculose pulmonar ativa e avaliar o efeito desses no estado imunológico desses pacientes e seu valor diagnóstico e preditivo para tuberculose. **Métodos:** Foram incluídos 1.069 pacientes com tuberculose ativa, 51 pacientes com tuberculose latente e 600 indivíduos saudáveis. Foram realizadas a contagem absoluta de linfócitos T séricos e a quantificação de citocinas séricas.

Resultados: Os linfócitos T estavam significativamente reduzidos nos pacientes com tuberculose ativa em comparação com os indivíduos saudáveis. A função imunológica dos pacientes diminuiu gradativamente com a idade e mostrou-se mais forte nas mulheres do que nos homens. As células Th1 expressaram maiores níveis de citocinas do que as células Th2. A análise de regressão logística mostrou que contagens reduzidas de células T CD3⁺, T CD8⁺ e NK e expressão reduzida de IL-4 e IFN- γ foram fatores de influência independentes para tuberculose ativa. A análise ROC mostrou que a sensibilidade e especificidade dos valores absolutos de linfócitos T CD3⁺ e T CD8⁺ e de fatores combinados foram significativamente maiores do que as da IL-4 e do IFN- γ para o diagnóstico da tuberculose ativa. **Conclusões:** A contagem de linfócitos T séricos e os níveis de citocinas séricas podem avaliar o estado imunológico de pacientes com tuberculose; também são biomarcadores úteis na predição e diagnóstico da tuberculose.

Descritores: Linfócitos; Citocinas; Tuberculose; Imunidade.

INTRODUÇÃO

A tuberculose é uma doença inflamatória causada pela infecção por *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), sendo a tuberculose pulmonar a forma mais comum de apresentação clínica.⁽¹⁾ O Relatório Global de Tuberculose da OMS de 2022⁽²⁾ relatou 10,6 milhões de novos casos de tuberculose em todo o mundo em 2021, com uma taxa de incidência de 134 por 100.000 habitantes. Embora medicamentos antituberculose estejam disponíveis e o número de óbitos relacionados tenha diminuído globalmente nos últimos anos, a tuberculose ainda é a principal causa de morte por uma única doença infecciosa.⁽³⁾

Linfócitos T CD4⁺ eficazes podem ser divididos em pelo menos três subpopulações distintas: células Th1, Th2 e Th17. Essas subpopulações são funcionalmente controladas pelas células T CD4⁺ reguladoras e possuem um alto grau de especialização, sendo que o IFN- γ produzido pelas células Th1 desempenha um papel essencial na resistência do hospedeiro à infecção primária por Mtb. Além disso, o IFN- γ aumenta a atividade antibacteriana dos macrófagos e promove a produção de intermediários reativos de nitrogênio, que podem eliminar bactérias intracelularmente.^(4,5) Tanto modelos animais quanto

testes em humanos mostraram que os níveis de expressão de IFN- γ não fornecem proteção relevante e confiável contra a infecção por Mtb.⁽³⁾

A análise do número de linfócitos T e dos níveis de citocinas, tais como IL-2, IL-4, TNF- α , IFN- α e IFN- γ , pode fornecer uma preciosa base de pesquisa para doenças por meio de métodos não invasivos para o estudo do estado do sistema imunológico dos pacientes.^(6,7) Neste estudo, analisamos o número absoluto de linfócitos T e os níveis de citocinas no soro de pacientes com tuberculose ativa (TBA), pacientes com tuberculose latente (TBL) e indivíduos saudáveis (IS) para fornecer uma referência para o diagnóstico da tuberculose e a avaliação do estado imunológico dos participantes.

MÉTODOS

Neste estudo, foram incluídos 1.069 pacientes com TBA, 600 IS e 51 pacientes com TBL. De acordo com o relatório da OMS,⁽²⁾ o diagnóstico da TBA é baseado em avaliação clínica, microbiologia, testes moleculares (tais como o GeneXpert Ultra) e achados de imagem. A TBL é definida como um resultado positivo no ensaio de liberação de IFN- γ sem outras manifestações clínicas

Endereço para correspondência:

Lin Wang. The Third People's Hospital of Kunming, 1 Ankang Road, Taiping New Town, An Ning City, Kunming, Yunnan Province, China.

Apoio Financeiro: Este estudo recebeu apoio financeiro da Fundação Nacional de Ciências Naturais da China (protocolo n. 82260408), do Projeto de Pesquisa em Saúde da Comissão de Atenção à Saúde de Kunming (protocolos n. 2022-11-01-011 e n. 2022-11-01-004) e do Projeto de Qualificação de Talentos em Ciência e Tecnologia da Saúde de Kunming denominado "Milhares" [protocolos n. 2020-SW(Reserve)-60, n. 2022-SW(Reserve)-70 e n. 2022-SW(Reserve)-85].

ou com resultados microbiológicos, moleculares e de imagem negativos (Tabela 1).

Os critérios de exclusão foram os seguintes: doenças autoimunes ou distúrbios imunológicos concomitantes; AIDS; terapia com glicocorticoides; doenças concomitantes cardíacas, hepáticas, renais ou de outros órgãos importantes; hipertensão grave; má condição mental; diabetes mellitus concomitante; gravidez ou lactação; e tuberculose resistente. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do *Third People's Hospital* de Kunming (protocolo n. KSL20230320007).

Amostras de sangue periférico dos IS, dos pacientes com TBA e daqueles com TBL foram coletadas em tubos de coleta de sangue de 3 mL. Para os ensaios de citocinas, as amostras de sangue foram centrifugadas a 1.000 × g por 10 min, e o soro foi testado com kits de ensaio de citocinas (Risskell Bio, Qingdao, China) para determinar os níveis de citocinas (IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17, TNF-α, IFN-α e IFN-γ) de acordo com as instruções do fabricante. Utilizou-se o programa MR Flow Analysis (AZE Ltd., Tóquio, Japão) para a análise dos resultados. Para os ensaios de citometria de fluxo, as amostras de sangue foram misturadas, e utilizou-se um kit de citometria de fluxo (DIALAB GmbH, Wiener Neudorf, Áustria) para determinar a contagem de linfócitos T CD3+, T CD4+, T CD8+, CD4+/CD8+, CD19+B, NK e NKT de acordo com as instruções do fabricante. Utilizou-se o programa LEGENDplex (BioLegend, San Diego, CA, EUA) para a análise dos resultados. Tanto os ensaios de citocinas quanto os de citometria de fluxo foram realizados utilizando citômetro de fluxo Bricyte E6 (Mindray, Shenzhen, China).

As análises estatísticas foram realizadas e plotadas por meio dos programas IBM SPSS Statistics, versão 24.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, EUA) e GraphPad Prism, versão 8.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA), respectivamente. Os dados quantitativos foram descritos em forma de média ± dp quando obedeceram a uma distribuição normal utilizando um teste t, enquanto aqueles com distribuição não normal foram descritos em forma de mediana [IIQ] utilizando o teste não paramétrico de Mann-Whitney. As comparações entre grupos múltiplos foram feitas por meio do teste de Kruskal-Wallis, e as diferenças entre modelos multivariados foram determinadas por meio do teste t aninhado. A análise dos fatores de influência relevantes foi realizada por regressão logística. O valor diagnóstico dessas variáveis foi analisado por meio

de curvas ROC. O nível de significância estatística adotado foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS

O número de células T CD3+, T CD4+, T CD8+ e NK foi menor nos pacientes com TBA do que nos IS, sendo que essa diferença alcançou significância estatística. Além disso, o número absoluto de células T CD3+ no grupo TBL foi menor e significativamente diferente em comparação com o grupo IS, enquanto o número absoluto de células T CD4+, T CD8+ e NK foi maior, mas sem significância estatística. No grupo TBA, os níveis de IL-1β, IL-2, IL-8 e IL-17 foram maiores e os de IL-4, IL-6, TNF-α e IFN-γ foram menores em comparação com o grupo IS. No que tange ao grupo TBL, os níveis de IL-1β, IL-5 e IFN-γ foram menores e os de IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17 e TNF-α foram maiores em comparação com o grupo IS. Todas essas diferenças alcançaram significância estatística, o que sugeriu que fatores inflamatórios se expressam diferencialmente na TBA e na TBL (Figura 1).

Analisamos a expressão dos indicadores associados a diferenças estatisticamente significativas entre os grupos TBA e IS por sexo e idade. No grupo TBA, o número de células T CD3+, T CD4+ e T CD8+ foi menor nos homens do que nas mulheres; a diferença foi estatisticamente significativa, indicando que pacientes do sexo feminino com TBA são mais imunocompetentes do que pacientes do sexo masculino (Figura 2A). A expressão do número de células T CD3+, T CD4+ e T CD8+ diminuiu gradativamente com a idade, sendo que essa diferença atingiu significância estatística. Isso sugere que pacientes mais velhos com TBA têm pior função imunológica do que pacientes adolescentes. A expressão da citocina IFN-γ foi significativamente menor nos homens do que nas mulheres, enquanto os demais níveis de expressão não diferiram significativamente entre idade e sexo (Figura 2B).

Para determinar o efeito da TBA na frequência de células Th1/Th2, analisamos os níveis de expressão de IL-1β, IL-2, TNF-α, IFN-γ, IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10 nesse grupo. Como se pode observar na Figura 3, os pacientes com TBA exibiram expressão significativa de Th1 (IFN-γ e IL-1β), enquanto apenas os níveis de IL-6 estavam aumentados (células Th2). Por outro lado, as células Th1 expressaram maiores níveis de citocinas do que as células Th2, e a diferença foi estatisticamente significativa, sugerindo que os níveis de citocinas expressos por células Th1 na TBA podem ser específicos para Mtb.

Tabela 1. Características dos participantes do estudo.^a

Característica	TBA	TBL	IS
Número de participantes	1.069	51	600
Sexo masculino	587 (54,9)	27 (52,9)	331 (55,2)
Idade, anos	45,4 ± 17,4	36,3 ± 17,6	41,7 ± 17,2
IGRA positivo	1.069 (100)	51 (100)	0 (0)
Exame de imagem positivo	1.032 (96,5)	0 (0)	0 (0)

TBA: tuberculose ativa; TBL: tuberculose latente; IS: indivíduos saudáveis; e IGRA: *interferon gamma release assay* (ensaio de liberação de IFN-γ). ^aValores expressos em n, n (%) ou média ± dp.

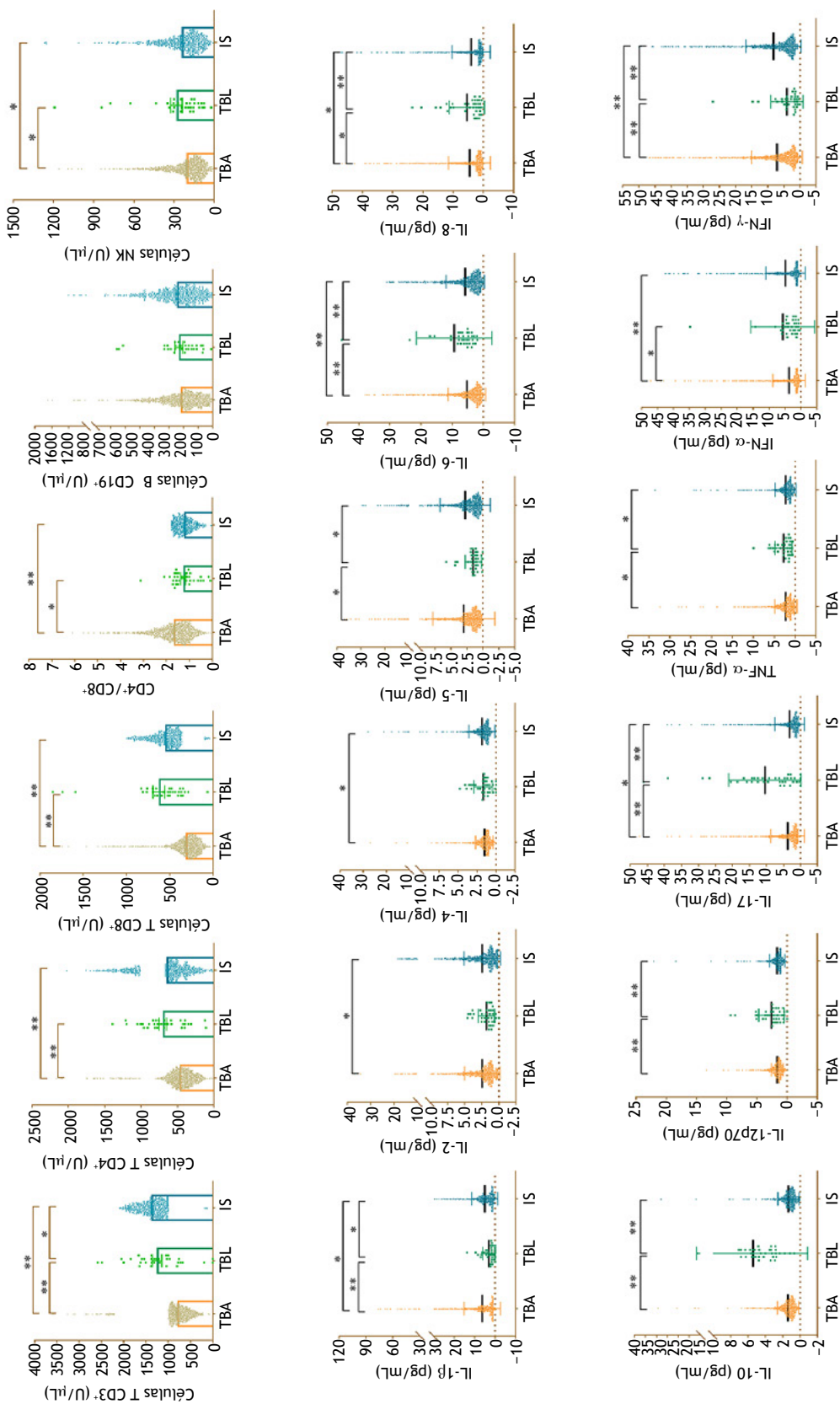


Figura 1. Expressão de linfócitos e citocinas por grupo estudado mostrando que os números absolutos de células T CD3⁺, T CD4⁺, T CD8⁺ e NK no grupo tuberculose ativa (TBA) estavam todos abaixo do normal. O grupo tuberculose latente (TBL) apresentou número de linfócitos acima do normal, com exceção do número absoluto de células T CD3⁺. O grupo TBA apresentou maiores níveis de IL-1 β , IL-2, IL-8 e IL-17, mas menores níveis de IL-4, IL-6, TNF- α e IFN- γ do que o grupo indivíduos saudáveis (IS). U: unidades. *p < 0,05. **p < 0,01.

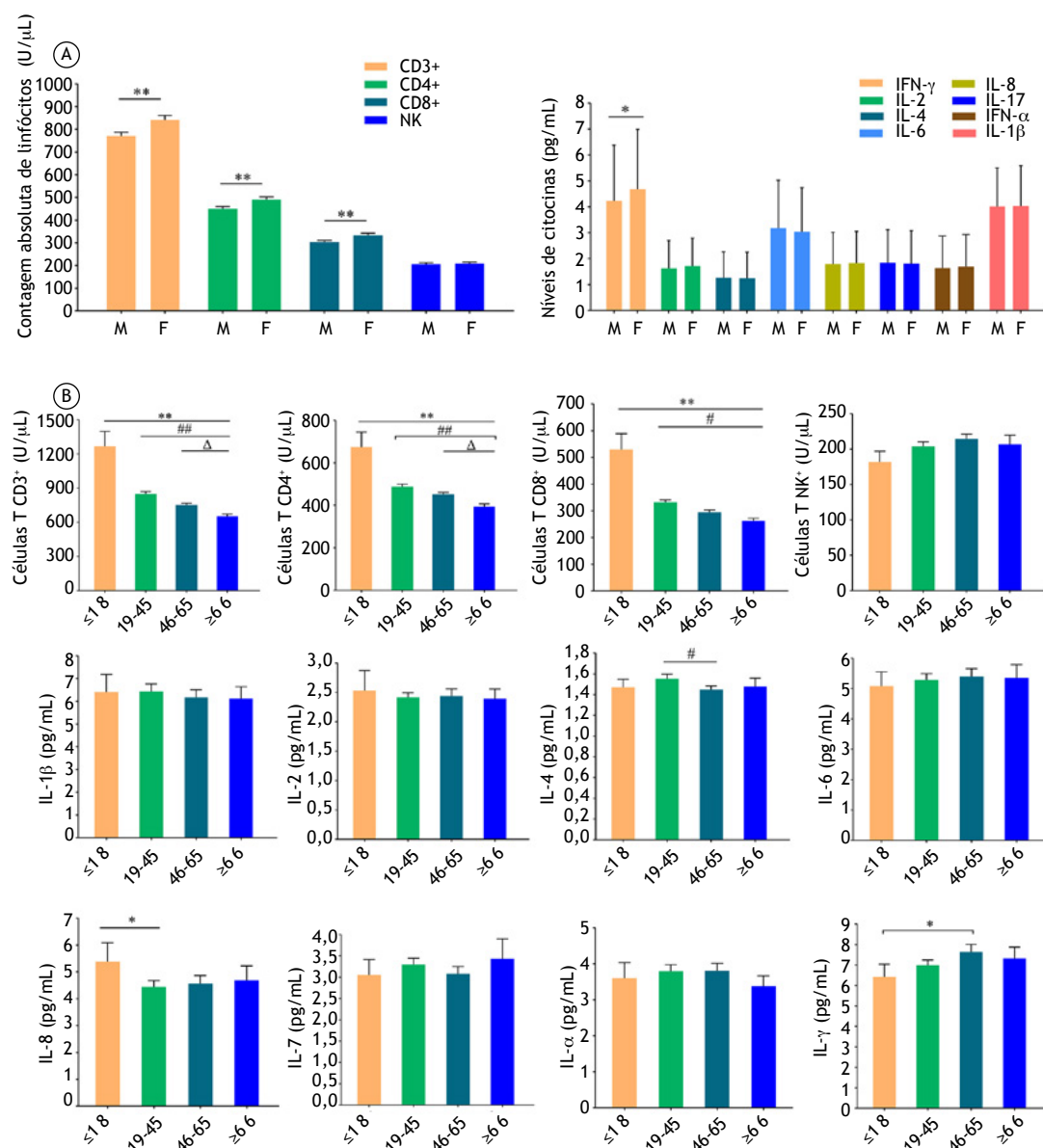


Figura 2. Em A, números absolutos de linfócitos T CD3⁺, T CD4⁺ e T CD8⁺ em pacientes com tuberculose ativa mostrando diferenças significativas entre homens e mulheres, com exceção das células NK. Não houve diferenças significativas nos níveis de citocinas entre pacientes do sexo masculino e feminino, com exceção dos níveis de IFN- γ . Em B, números absolutos de linfócitos T CD3⁺, T CD4⁺ e T CD8⁺ mostrando diferenças significativas entre as faixas etárias (em anos) de pacientes com tuberculose ativa. Os níveis globais de citocinas não diferiram significativamente entre as faixas etárias. U: unidades; M: sexo masculino; e F: sexo feminino. *p < 0,05. **p < 0,01.

Para investigar os fatores associados à influência dos linfócitos T e das citocinas na TBA e na TBL, buscamos fatores estatisticamente diferentes entre os grupos TBA, TBL e IS para serem incluídos na análise de fator de impacto (Figura 1). Os resultados da regressão logística mostraram que números absolutos reduzidos de células T CD3⁺, T CD8⁺ e NK e níveis reduzidos de expressão de IL-4 e IFN- γ foram fatores de influência independentes para TBA (Figura 4A). Níveis reduzidos de expressão de IL-1, IL-5 e IFN- γ e níveis aumentados de expressão de IL-12p70 foram fatores de influência independentes para TBL (Figura

4B). Esses fatores de influência são um guia para o diagnóstico e diferenciação da TBA e TBL.

Para avaliar o valor diagnóstico e preditivo dos fatores associados que têm impacto na TBA e na TBL, foram realizadas análises ROC desses fatores. Os resultados mostraram que a contagem absoluta de linfócitos T CD3⁺ e T CD8⁺ e fatores combinados (a sensibilidade e especificidade foram, respectivamente, de 0,955 e 0,993; 0,774 e 0,955; e 0,951 e 0,977) foram significativamente mais valiosas para o diagnóstico da TBA do que o número absoluto de células NK e os níveis de IL-4 e IFN- γ (Figura 5A). No que tange

à análise ROC para TBL, os níveis de expressão de IL-12p70 e IFN- γ e fatores combinados apresentaram valor diagnóstico (a sensibilidade e especificidade foram, respectivamente, de 0,568 e 0,862; 0,493 e 0,908; e 0,649 e 0,725), sendo que fatores combinados apresentaram o maior valor diagnóstico (Figura 5B).

DISCUSSÃO

A tuberculose é uma doença inflamatória cuja evolução ou cura é amplamente determinada pela força relativa do Mtb contra o sistema imunológico do hospedeiro, e, portanto, considera-se que seja causada por uma resposta imune desequilibrada à infecção por Mtb.⁽⁸⁾ A imunidade em pacientes com tuberculose é dominada pela imunidade celular, na qual se acredita que as células T desempenhem um papel vital na contenção da infecção por Mtb para controlar a infecção direta ou indiretamente. As citocinas do organismo são uma parte vital do sistema imunológico como mensageiras, e seu papel na luta contra a invasão do Mtb é complexo e multifacetado, sendo influenciado por diferentes estados do hospedeiro.⁽⁹⁾ Portanto, é necessária uma exploração abrangente e sistemática da relação dos linfócitos e citocinas com a infecção por Mtb para fornecer uma base teórica para melhor

compreensão do estado imunológico de pacientes com tuberculose por meio da detecção e diagnóstico baseados em imunologia.

O presente estudo mostrou que o número absoluto de linfócitos T foi menor nos pacientes com TBA do que nos IS. A diferença foi estatisticamente significativa, tendo os pacientes com TBA um pior estado imunológico do que a população saudável. Os números absolutos de células T CD4⁺, T CD8⁺ e NK foram maiores nos pacientes com TBL em comparação com os IS, embora essa diferença não tenha sido significativa; no entanto, o número de células T disponíveis no sangue periférico pode ajudar a avaliar a evolução da infecção.⁽¹⁰⁾ Este estudo também mostrou que pacientes do sexo feminino com TBA são mais imunocompetentes do que pacientes do sexo masculino. Isso é consistente com os achados de um estudo anterior sobre diferenças de gênero na função imunológica.⁽¹¹⁾ Além disso, a função imunológica do paciente diminui gradualmente com a idade. Por outro lado, no que tange às respostas inflamatórias mediadas por citocinas, as diferenças de expressão com relação à idade e sexo não foram significativas. Nossos resultados mostraram que os níveis de algumas citocinas, tais como IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-10 e TNF- α , diferiram na TBA e TBL. O motivo desse fenômeno é que as citocinas produzidas em resposta à infecção por Mtb podem reduzir sua resposta imune para limitar o dano tecidual, e a superprodução de citocinas pode levar à falha no controle da infecção.⁽¹²⁾ Isso pode nos fornecer ideias para identificar TBA e TBL.

Um fator essencial no controle da tuberculose são as características das células T CD4⁺ que reagem após a infecção.⁽¹³⁾ Em geral, as células T CD4⁺ produzem mais de uma citocina, especialmente as do tipo Th1 (IFN- γ e TNF- α), que se acredita estarem associadas a respostas imunes protetoras e desempenharem um papel essencial na imunidade antituberculose.⁽¹⁴⁾ Nossos dados mostraram que a TBA tem níveis significativamente elevados de citocinas do tipo Th1 (IFN- γ). Essas são citocinas específicas para antígenos de Mtb.⁽¹⁵⁾ Assim, nosso estudo confirma o papel vital das células Th1 na patogênese da tuberculose e sugere que a ocorrência de células Th1 pode ser

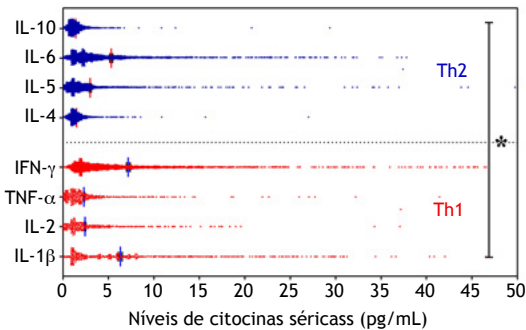


Figura 3. No grupo tuberculose ativa, os níveis de citocinas do tipo Th1 foram maiores do que os de citocinas do tipo Th2. O gráfico de pontos mostra a média e o erro-padrão de cada nível de citocinas. Diferenças entre os níveis globais de citocinas Th1/Th2 foram analisadas por meio do teste t aninhado. *p < 0,05.

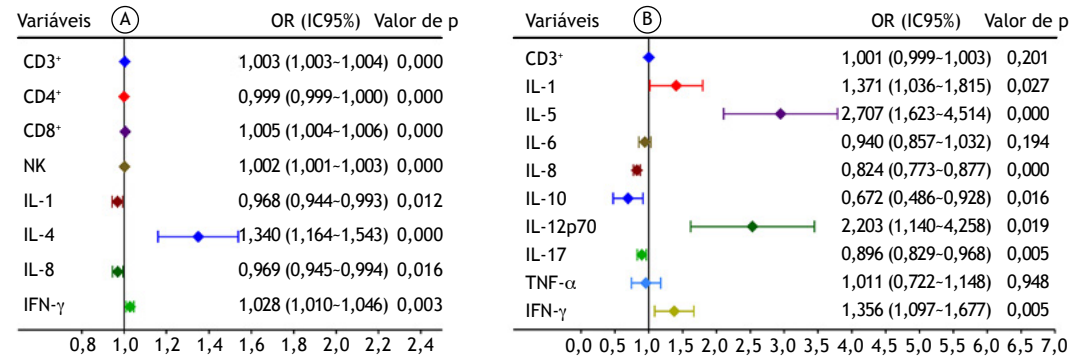


Figura 4. Em A, análise de regressão logística mostra que números absolutos reduzidos de células T CD3⁺, T CD8⁺ e NK e níveis reduzidos de expressão de IL-4 e IFN- γ foram fatores de influência independentes para tuberculose ativa (p < 0,05). Em B, a análise mostra que níveis reduzidos de expressão de IL-1, IL-5 e IFN- γ e níveis aumentados de expressão de IL-12p70 foram fatores de influência independentes para tuberculose latente (p < 0,05).

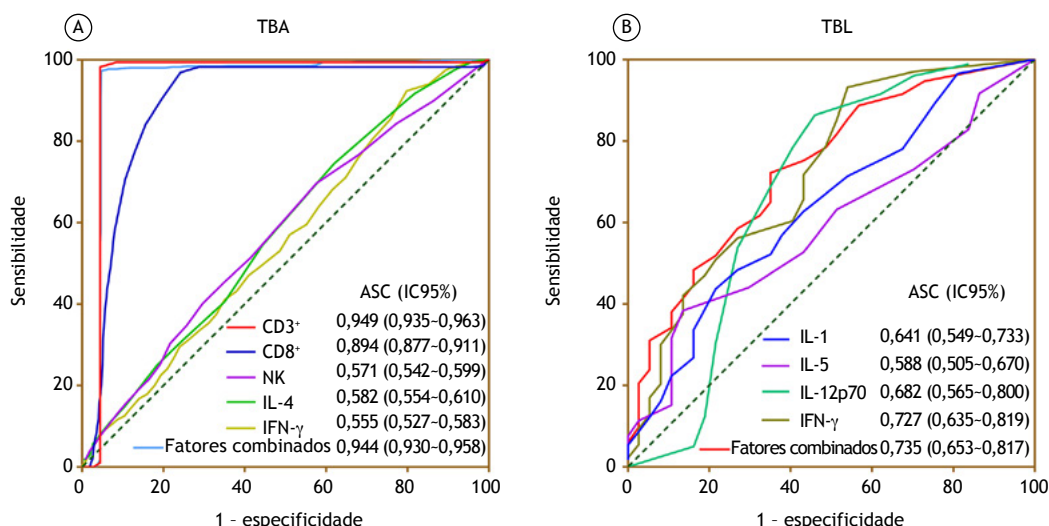


Figura 5. Em A, curvas ROC para tuberculose ativa (TBA). A contagem absoluta de linfócitos T CD3+, T CD8+ e de fatores combinados apresentaram alto valor diagnóstico para TBA ($p < 0.01$). Em B, curvas ROC para tuberculose latente (TBL). Os níveis de expressão de IL-12p70, IFN-γ e de fatores combinados apresentaram valor diagnóstico para avaliação de TBL, Fatores combinados tiveram o maior valor diagnóstico ($p < 0.01$).

específica para Mtb. No entanto, maiores quantidades de citocinas Th1 podem levar a doença mais grave que pode refletir um aumento da carga bacteriana.⁽¹⁶⁾ Em conclusão, nosso estudo sugere que as citocinas expressas por Th1 desempenham um papel vital na patogênese da TBA.

Pode-se especular sobre os correlatos de risco de TBA a partir do número absoluto de subpopulações de linfócitos T e dos níveis de algumas citocinas. A análise de regressão logística mostrou que contagens absolutas significativamente menores de células T CD3+, T CD8+ e NK e níveis significativamente menores de expressão de IL-4 e IFN-γ tiveram influência independente na TBA, podendo ser utilizados como evidência de potenciais biomarcadores para a vigilância da tuberculose. Para identificar a TBL, também foram analisados os fatores de influência, sendo que os resultados sugerem que os fatores de influência de doenças relacionadas são em sua maioria diferentes; isso pode ser uma referência para o diagnóstico diferencial de TBA e TBL. Para avaliar o valor diagnóstico e preditivo desses fatores de influência, foi realizada uma análise ROC. Os resultados mostraram que a contagem absoluta de linfócitos T CD3+ e T CD8+ e fatores combinados foram significativamente mais valiosas, sensíveis e específicas para o diagnóstico da TBA do que os níveis de expressão de IL-4, IL-12p70 e IFN-γ, e que fatores combinados são valiosos na avaliação diagnóstica da TBL. O valor diagnóstico desses biomarcadores também pode ser

avaliado a partir da sensibilidade e especificidade das curvas ROC. Quando considerados em conjunto, esses fatores têm maior valor no diagnóstico de infecção por Mtb ou TBA.

Em conclusão, os resultados deste estudo sugerem que linfócitos T e citocinas séricas são indicadores de referência essenciais para a avaliação do estado imunológico de pacientes com TBA. Os números absolutos de células T CD3+, T CD8+ e NK e os níveis de expressão de IL-4 e IFN-γ podem ser biomarcadores úteis na predição e diagnóstico da tuberculose. Esses marcadores, especialmente os fatores combinados, desempenham um papel de referência no diagnóstico e tratamento da tuberculose.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

ZM: concepção do estudo; redação, edição e revisão do manuscrito; análise dos softwares. SL: análise dos dados; preparação do esboço original; metodologia; análise estatística. YL, CL e XW: coleta de dados; observação experimental. XT, RD e SZ: operação dos testes. LW: aquisição de financiamento; edição e revisão do manuscrito. Todos os autores aprovaram a versão final do manuscrito.

CONFLITOS DE INTERESSE

Nenhum declarado.

REFERÊNCIAS

1. Netea MG, Crevel RV. BCG-induced protection: effects on innate immune memory. *Semin Immunol.* 2014;26(6):512-517. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2014.09.006>
2. World Health Organization [homepage on the Internet]. Geneva: WHO; c2022 [updated 22 Oct 27; cited 2022 Nov 1]. Global Tuberculosis Report 2022. Available from: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports>
3. La Manna MP, Shekarkar-Azgomi M, Badami GD, Tamburini B, Dieli C, Di Carlo P, et al. Impact of *Mycobacterium tuberculosis* Infection on Human B Cell Compartment and Antibody Responses. *Cells.*

- 2022;11(18):2906. <https://doi.org/10.3390/cells11182906>
4. Ritter K, Behrends J, Erdmann H, Rousseau J, Hölscher A, Volz J, et al. Interleukin-23 instructs protective multifunctional CD4 T cell responses after immunization with the Mycobacterium tuberculosis subunit vaccine H1 DDA/TDB independently of interleukin-17A [published correction appears in J Mol Med (Berl). 2021 Sep 27;]. J Mol Med (Berl). 2021;99(11):1585-1602. <https://doi.org/10.1007/s00109-021-02100-3>
 5. Pearl JE, Saunders B, Ehlers S, Orme IM, Cooper AM. Inflammation and lymphocyte activation during mycobacterial infection in the interferon-gamma-deficient mouse. Cellular Immunol. 2001;211(1):43-50. <https://doi.org/10.1006/cimm.2001.1819>
 6. Kumar NP, Moideen K, Banurekha VV, Nair D, Babu S. Plasma Proinflammatory Cytokines Are Markers of Disease Severity and Bacterial Burden in Pulmonary Tuberculosis. Open Forum Infect Dis. 2019;6(7):ofz257. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz257>
 7. Talat N, Shahid F, Perry S, Dawood G, Hussain R. Th1/Th2 cytometric bead array can discriminate cytokine secretion from endogenously activated cells in pulmonary disease, recent and remote infection in tuberculosis. Cytokine. 2011;54(2):136-143. <https://doi.org/10.1016/j.cyt.2011.01.012>
 8. Vyas SP, Goswami R. Striking the right immunological balance prevents progression of tuberculosis. Inflamm Res. 2017;66(12):1031-1056. <https://doi.org/10.1007/s00011-017-1081-z>
 9. Lewinsohn DM, Lewinsohn DA. The Missing Link in Correlates of Protective Tuberculosis Immunity: Recognizing the Infected Cell. Front Immunol. 2022;13:869057. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.869057>
 10. Urdahl KB, Shafiani S, Ernst JD. Initiation and regulation of T-cell responses in tuberculosis. Mucosal Immunol. 2011;4(3):288-293. <https://doi.org/10.1038/mi.2011.10>
 11. Takahashi T, Iwasaki A. Sex differences in immune responses. Science. 2021;371(6527):347-348. <https://doi.org/10.1126/science.abe7199>
 12. Kaplan G, Freedman VH. The role of cytokines in the immune response to tuberculosis. Res Immunol. 1996;147(8-9):565-572. [https://doi.org/10.1016/S0923-2494\(97\)85223-6](https://doi.org/10.1016/S0923-2494(97)85223-6)
 13. O'Garra A, Redford PS, McNab FW, Bloom CI, Wilkinson RJ, Berry MP. The immune response in tuberculosis. Annu Rev Immunol. 2013;31:475-527. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-095939>
 14. Marshall NB, Swain SL. Cytotoxic CD4 T cells in antiviral immunity. J Biomed Biotechnol. 2011;2011:954602. <https://doi.org/10.1155/2011/954602>
 15. Kathamuthu GR, Moideen K, Sridhar R, Baskaran D, Babu S. Enhanced Mycobacterial Antigen-Induced Pro-Inflammatory Cytokine Production in Lymph Node Tuberculosis. Am J Trop Med Hyg. 2019;100(6):1401-1406. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0834>
 16. Kathamuthu GR, Moideen K, Baskaran D, Banurekha VV, Nair D, Sekar G. Tuberculous Lymphadenitis Is Associated with Enhanced Baseline and Antigen-Specific Induction of Type 1 and Type 17 Cytokines and Reduced Interleukin-1 β (IL-1 β) and IL-18 at the Site of Infection. Clin Vaccine Immunol. 2017;24(5):e00045-17. <https://doi.org/10.1128/CVI.00045-17>