



Polimorfismos no *TLR4*, *TNFA* e *IL1B* e risco de infecção por *Mycobacterium tuberculosis* e desenvolvimento de doença ativa em contatos de casos com tuberculose no Brasil: Um estudo de coorte prospectivo

Juan Manuel Cubillos-Angulo^{1,2,3}, Maria B. Arriaga^{1,2,3}, Elisângela C. Silva^{4,5}, Beatriz L. A. Müller^{4,6}, Daniela M. Ramalho⁴, Kiyoshi F. Fukutani^{1,3}, Priscila P. Miranda⁴, Adriana S. Moreira⁴, Antonio R. Netto⁷, Jose Lapa e Silva⁴, Timothy R. Sterling⁸, Afrânio L. Kritski⁴, Martha M. Oliveira⁹, Bruno B. Andrade^{1,3,8,10,11,12}

¹Instituto Gonçalo Moniz, Fiocruz, Bahia, Brasil; ²Faculdade de Medicina, UFBA, Brasil; ³Multinational Organization Network Sponsoring Translational and Epidemiological Research (MONSTER) Initiative, Fundação José Silveira, Bahia, Brasil; ⁴Programa Acadêmico de Tuberculose, Faculdade de Medicina e HUCFF-IDT, UFRJ, Brasil; ⁵Recognize the Biology Laboratory, Center of Bioscience and Biotechnology, State University of North Fluminense Darcy Ribeiro, Brasil; ⁶Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática, Instituto Oswaldo Cruz, Brasil; ⁷Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Brasil; ⁸Division of Infectious Diseases, Vanderbilt University School of Medicine, USA; ⁹Centro de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Brasil; ¹⁰Wellcome Centre for Infectious Disease Research in Africa, Institute of Infectious Disease and Molecular Medicine, University of Cape Town, South Africa; UNIFACS, Laureate University, Bahia, Brasil; ¹²Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Bahia, Brasil

INTRODUÇÃO

Aproximadamente 1,7 bilhão de indivíduos estão infectados pelo *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), representando um quarto da população mundial¹. A infecção por Mtb e a progressão para a doença da tuberculose (TB) podem ter influências genéticas distintas, subjacentes aos mecanismos biológicos envolvidos na suscetibilidade individual². O objetivo do presente estudo foi avaliar potenciais biomarcadores genéticos de suscetibilidade à infecção por Mtb e TB. Estudamos contatos próximos de pacientes com tuberculose pulmonar confirmados microbiologicamente para estimar o risco de infecção por Mtb (conversão de PPD) e desenvolvimento de TB ativa de acordo com a presença de cinco single nucleotide polymorphisms (SNPs) relacionados a imunidade, além de considerar fatores clínicos e epidemiológicos.

MÉTODO

Foram testados os SNPs rs5743708 (*TLR2*), rs4986791 (*TLR4*), rs361525 (*TNFA*), rs2430561 (*IFNG*) rs1143627 (*IL1B*) como fatores de risco para conversão do teste tuberculínico do derivado proteico purificado (PPD) ou desenvolvimento de TB ativa em contatos de casos ativos de TB. Os contatos de casos de TB pulmonar confirmados microbiologicamente (baciloscopia e/ou cultura de escarro) foram inicialmente triados para serem avaliados longitudinalmente por até 24 meses, com exame clínico e PPD seriado (3 vezes), entre 1998 - 2004 no Hospital UCFB no Brasil. Dados e bio-espécimes foram coletados de 526 indivíduos que foram contatos de 177 casos de TB ativos. A conversão de PPD foi definida como endurecimento ≥ 5 mm após um resultado de PPD negativo (0 mm) no arrolamento ou na visita do 4º mês. Associações independentes foram testadas usando modelos de regressão logística e redes bayesianas com dados demográficos, epidemiológicos a partir de análises univariadas. Um $p < 0.05$ foi considerado estatisticamente significante.

RESULTADOS

1458 contatos de 1191 casos de TB confirmados microbiologicamente compareceram ao Hospital Universitário CFF, entre 1998 e 2004. Foram excluídos 932 casos. A exposição ao Mtb no momento da inclusão no estudo foi examinada pela triagem de PPD de 526 indivíduos. Durante o período do estudo, 60 pessoas converteram para um PPD positivo, sugerindo infecção recente por Mtb, e 40 desenvolveram a TB ativa.

Associação entre polimorfismos e conversão do PPD

Os conversores do PPD foram mais frequentemente do sexo masculino e contatos domiciliares. Análises univariadas indicaram que alelos variantes em *TLR2* ($p = 0,013$), *TLR4* ($p < 0,01$) e em *TNFA* ($p = 0,001$) foram associados à conversão de TST, enquanto os alelos mutantes de *IL1B* ($p = 0,001$) foram mais comuns naqueles que não converteram. A análise de regressão multivariada confirmou que sexo masculino e os SNPs de *TLR4* e *TNFA* foram independentemente associados com o aumento da probabilidade de conversão de PPD (Figura 1A). A Rede Bayesiana confirmou as fortes associações diretas entre sexo masculino, polimorfismos em *TLR4*, *TLR2*, *TNFA* (agrupados juntos, significando que tais SNPs são dependentes um do outro) e TB anterior com conversão de TST (Figura 1B). O polimorfismo do *IL1B* não foi diretamente ligado à conversão de PPD usando a abordagem da rede bayesiana.

Figura 1. Associação entre polimorfismos e conversão do PPD na população estudada

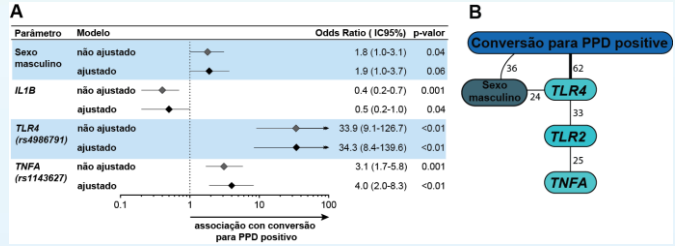
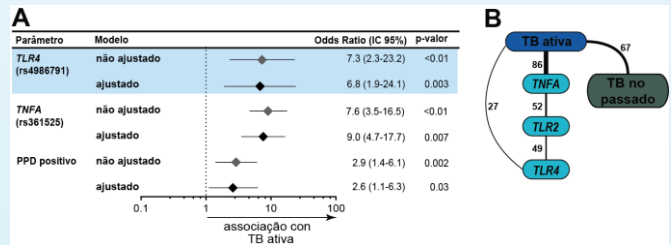


Figura 2. Associação entre polimorfismos e TB ativa na população estudada.



Associação entre polimorfismos e TB ativa

Os contatos domiciliares que relataram mais de 20 h de contato com o caso de TB índice desenvolveram mais frequentemente TB ativa. Aqueles que foram positivos ao PPD tinham maior probabilidade de desenvolver TB ativa ($p = 0,002$). Além disso, os casos-índice de participantes que desenvolveram TB ativa apresentavam mais cavitações pulmonares em comparação com os casos-índice de contatos que não desenvolveram TB ($p = 0,04$). Por fim, a TB ativa foi mais frequente nos subgrupos de participantes que apresentavam variantes alélicas nos genes *TLR4* ($p < 0,01$) e *TNFA* ($p < 0,01$).

A regressão multivariada revelou que os contatos positivos ao PPD no início do estudo tinham quase 3 vezes mais chances de desenvolver TB ativa do que os contatos que eram negativos ao PPD (Figura 2A). Ocorrência de variantes alélicas nos genes *TLR4* e *TNFA* foram independentemente associadas com a probabilidade de TB (Figura 2A). A análise da rede confirmou as associações entre os SNPs do *TNFA* e *TLR4* e a TB ativa (Figura 2B). Além disso, a história de TB no passado mostrou-se fortemente associada ao desenvolvimento de TB ativa (Figura 2B). Curiosamente, este modelo indicou que os polimorfismos do *TLR2* foram indiretamente associados à TB ativa por meio de polimorfismos do *TNFA*, sugerindo que a combinação de variantes alélicas nesses genes pode estar associada ao aumento do risco de TB ativa.

CONCLUSÃO

Nosso estudo fornece fortes evidências de associações entre polimorfismos em genes da imunidade inata e o risco de infecção por Mtb e desenvolvimento de TB ativa no Brasil. Mais estudos são necessários para delinear os eventos moleculares por trás dessas associações.

REFERÊNCIAS

- Houben RM, Dodd PJ. The Global Burden of Latent Tuberculosis Infection: A Re-estimation Using Mathematical Modelling. *PLoS Med* 2016; 13(10): e1002152.
- Commandeur S, van Meijgaarden KE, Prins C, et al. An unbiased genome-wide *Mycobacterium tuberculosis* gene expression approach to discover antigens targeted by human T cells expressed during pulmonary infection. *J Immunol* 2013; 190(4): 1659-71.