



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA

**AVALIAÇÃO DE VARIANTES DE BASE ÚNICA
(SNVs) EM RECEPTORES DA VITAMINA D (VDR)
EM PACIENTES COM TUBERCULOSE**

LAIANNE LOPES ROCHA

AGOSTO - 2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA

LAIANNE LOPES ROCHA

**AVALIAÇÃO DE VARIANTES DE BASE ÚNICA
(SNVs) EM RECEPTORES DA VITAMINA D (VDR)
EM PACIENTES COM TUBERCULOSE**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada da Universidade Federal do Amazonas como pré-requisito para obtenção do título de Doutor(a) em Imunologia.

Área de concentração: Imunologia Básica e Aplicada.

Linha de pesquisa: Genômica, imunogenética e epidemiologia de doenças infecciosas e inflamatórias.

Orientadora: Prof^a Dr^a Aya Sadahiro

Coorientador: Prof Dr. Mauricio Morishi Ogusku

AGOSTO – 2025

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

R672a Rocha, Laianne Lopes
Avaliação de variantes de base única (SNVs) em
receptores da vitamina D (VDR) em pacientes com
tuberculose / Laianne Lopes Rocha. - 2025.
118 f. : il., color. ; 31 cm.

Orientador(a): Aya Sadahiro.

Coorientador(a): Mauricio Morishi Ogusku.

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Amazonas,
Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e
Aplicada, Manaus, 2025.

1. Tuberculose. 2. SNVs - variantes de nucleotídeo único.
3. Vitamina D. 4. VDR - receptor de vitamina D. 5.
Imunogenética. I. Sadahiro, Aya. II. Ogusku, Mauricio
Morishi. III. Universidade Federal do Amazonas. Programa
de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada. IV.
Título

**AVALIAÇÃO DE VARIANTES DE BASE ÚNICA
(SNVs) EM RECEPTORES DA VITAMINA D (VDR)
EM PACIENTES COM TUBERCULOSE**

LAIANNE LOPES ROCHA

Tese de Doutorado aprovada na data
29/08/2025 pelos Membros da Banca
Examinadora indicada pelo Programa de
Pós-graduação em Imunologia Básica e
Aplicada da Universidade Federal do
Amazonas.

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Aya Sadahiro
Universidade Federal do Amazonas - UFAM

Profa. Dra. Marlúcia da Silva Garrido
Secretaria de Estado de Saúde – SES

Profa. Dra. Karen Spadari Ferreira
Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP

Prof. Dr. Rajendranath Ramasawmy
Universidade Federal do Amazonas - UFAM

Prof. Dr. José Fernando Marques Barcellos
Universidade Federal do Amazonas - UFAM

Agradecimentos

Agradeço a **Deus** por tudo que tem proporcionado na minha vida.

Aos meus pais, **José Rocha** e **Ednair Lopes**, e ao meu irmão **Jonathas Lopes**, obrigada por todo amor e apoio. Cada conquista carrega o esforço de vocês.

Ao meu marido, **Luan Pedro**, por ser meu maior incentivador e companheiro em absolutamente tudo.

À minha querida orientadora, Profa. Dra. **Aya Sadahiro**, por todo acolhimento, compreensão e ensinamento. Obrigada por inspirar tantos alunos, por confiar em mim e me apresentar esse mundo belíssimo da imunologia.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. **Maurício Ogusku**, por todo conhecimento transmitido e por todo suporte na realização dos experimentos.

À melhor equipe que o LIM já teve: **Allyne Almeida**, **Gilberto Bazé**, **Marcos Gurgel**, **Mariana Brasil** e **Renata Gualberto**. Obrigada por toda a ajuda no laboratório e por sempre serem tão acolhedores.

À **UFAM**, à **Coordenação** e à **Secretaria** do Programa de Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada, especialmente à **Magda**, à **Ana Paula** e ao **Edson**, bem como aos **professores do PPGIBA**, por sempre serem tão solícitos e por nos transmitirem tanto conhecimento.

Aos professores Dra. **Marlúcia Garrido**, Dra. **Karen Spadari** e Dr. **Fernando Marques**, por aceitarem novamente contribuir com sugestões para este projeto, assim como ao Dr. **Rajendranath Ramasawmy**. Agradeço também à Profa. Dra. **Jerusa Quintão**, pelo projeto inicial sobre tuberculose.

Aos técnicos do Laboratório de Micobacteriologia do INPA: **Maisa**, **Tânia** e **Ray**, por todo suporte laboratorial.

Aos **funcionários** da **Policlínica Cardoso Fontes**, pelo auxílio nas coletas, e aos **pacientes**, pelo aceite em participar da nossa pesquisa.

Aos meus amigos **David**, **Thyago** e **Leidyane**, que estão comigo desde a graduação. À minha amiga swifter de doutorado, **Távila**. E aos meus colegas de trabalho, que sempre foram muito compreensivos, **Paula**, **Márcio**, **Thiago** e **Rodrigo**.

À minha cachorrinha **Bonnie**, que é meu suporte emocional... mesmo reclamando.

Por fim, agradeço imensamente à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**) pela concessão da bolsa, bem como à **FAPEAM** pelo apoio financeiro - Edital Nº. 002/2021 - Programa Amazônidas - "Mulheres e Meninas na Ciência".

“Parte de crescer e passar para novos capítulos da vida é saber o que segurar e o que deixar ir. Coisas difíceis vão acontecer conosco. Vamos nos recuperar. Vamos aprender com isso.”

— *Taylor Swift, Discurso na NYU, 2022.*

RESUMO

A tuberculose (TB), causada por *Mycobacterium tuberculosis*, permanece como um dos principais desafios da saúde pública global, com altas taxas de incidência especialmente em regiões como o Norte do Brasil. Em 2024, o estado do Amazonas liderou os índices nacionais, com 94,7 casos por 100 mil habitantes. A suscetibilidade à TB é influenciada por fatores sociais, ambientais e genéticos, sendo a vitamina D e seu receptor (VDR) reconhecidos como moduladores importantes da resposta imune frente à infecção. Este estudo teve como objetivo investigar a associação entre variantes de nucleotídeo único (SNVs) no gene *VDR* e a ocorrência de tuberculose pulmonar. Foram incluídos 640 indivíduos, sendo 321 pacientes e 319 controles, submetidos à genotipagem por qPCR para os SNVs rs2228570, rs7975232, rs731236 e rs1544410. A variante rs2228570 apresentou associação significativa no modelo log-aditivo ($p=0,046$; OR = 1,26; IC95% = 1,01–1,57), sugerindo aumento de risco com a presença crescente do alelo A. Observou-se efeito protetor estatisticamente significativo para as variantes rs731236 (modelo dominante: $p = 0,012$; OR = 0,67; IC95% = 0,49–0,92) e rs1544410 (modelo recessivo: $p = 0,0002$; OR = 0,33; IC95% = 0,18–0,61), cujos alelos G e T, respectivamente, estiveram associados a menor risco da doença. Em contraste, a variante rs7975232 não apresentou associação significativa com a TB nos modelos avaliados. A análise de haplótipos revelou que a combinação ACCA esteve significativamente associada ao risco aumentado de TB ($p = 0,0099$), enquanto o haplótipo GATG esteve associado a efeito protetor ($p = 0,0151$). Além disso, a dosagem de 25(OH)D indicou hipovitaminose D em parte expressiva dos indivíduos, com concentrações mais baixas observadas nos pacientes. Esses achados reforçam o papel potencial da vitamina D e das variantes do gene *VDR* na imunorregulação da TB, contribuindo para o entendimento da suscetibilidade genética à doença em uma população de alta carga endêmica. Tais evidências podem orientar futuras investigações sobre biomarcadores genéticos e fatores modificáveis de risco em contextos similares.

Palavras-chave: Tuberculose; SNVs; Vitamina D; *VDR*; Imunogenética.

ABSTRACT

Tuberculosis (TB), caused by *Mycobacterium tuberculosis*, remains one of the major global public health challenges, with high incidence rates particularly in regions such as Northern Brazil. In 2024, the state of Amazonas recorded the highest national incidence rate, with 94.7 cases per 100,000 inhabitants. Susceptibility to TB is influenced by social, environmental, and genetic factors, with vitamin D and its receptor (VDR) recognized as important modulators of the immune response to infection. This study aimed to investigate the association between single nucleotide variants (SNVs) in the *VDR* gene and the occurrence of pulmonary tuberculosis. A total of 640 individuals were included, comprising 321 patients and 319 controls, genotyped by qPCR for the SNVs rs2228570, rs7975232, rs731236, and rs1544410. The rs2228570 variant showed a significant association under the log-additive model ($p = 0.046$; OR = 1.26; 95% CI = 1.01–1.57), suggesting increased risk with higher frequency of the A allele. A significant protective effect was observed for rs731236 (dominant model: $p = 0.012$; OR = 0.67; 95% CI = 0.49–0.92) and rs1544410 (recessive model: $p = 0.0002$; OR = 0.33; 95% CI = 0.18–0.61), with the G and T alleles, respectively, associated with reduced disease risk. In contrast, the rs7975232 variant showed no significant association with TB in the tested models. Haplotype analysis revealed that the combination ACCA was significantly associated with increased TB risk ($p = 0.0099$), whereas the GATG haplotype was associated with a protective effect ($p = 0.0151$). Additionally, 25(OH)D quantification indicated hypovitaminosis D in a substantial proportion of individuals, with lower concentrations observed in TB patients. These findings reinforce the potential role of vitamin D and *VDR* gene variants in TB immunoregulation and contribute to the understanding of genetic susceptibility to the disease in a highly endemic population. Such evidence may guide future research on genetic biomarkers and modifiable risk factors in similar settings.

Keywords: Tuberculosis; SNVs; Vitamin D; *VDR*; Immunogenetics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema representativo do envelope celular de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	25
Figura 2 – Distribuição estimada dos casos incidentes de tuberculose em 2023....	26
Figura 3 – Coeficiente de incidência de tuberculose - UFs, Brasil 2025.....	27
Figura 4 – Mecanismo de ação da vitamina D na resposta antimicrobiana dos macrófagos.....	41
Figura 5 – Curvas de amplificação para a variante rs2228570 do gene <i>VDR</i>	64
Figura 6 – Curvas de amplificação para a variante rs7975232 do gene <i>VDR</i>	65
Figura 7 – Curvas de amplificação para a variante rs731236 do gene <i>VDR</i>	66
Figura 8 – Curvas de amplificação para a variante rs1544410 do gene <i>VDR</i>	67
Figura 9 – Análise de desequilíbrio de ligação entre as variantes do gene <i>VDR</i>	76
Figura 10 – Frequências alélicas dos SNVs do gene <i>VDR</i> em população controle da região amazônica em comparação a dados globais.....	78
Figura 11 – Concentração de 25(OH)D em grupos controle e com tuberculose pulmonar.....	81
Figura 12 – Concentração de 25(OH)D em indivíduos do sexo feminino e masculino.....	82
Figura 13 – Distribuição dos níveis de 25(OH)D por genótipo dos SNVs do gene <i>VDR</i> , estratificados por grupo clínico.....	83
Figura 14 – Curvas suavizadas dos níveis de 25(OH)D (ng/mL) por genótipos dos SNVs do gene <i>VDR</i> , estratificadas por sexo biológico.....	84
Figura 15 – Concentração plasmática de IFN- γ nos grupos controle e com tuberculose pulmonar.....	85

Figura 16 – Concentração plasmática de IFN- γ por genótipos dos SNVs do gene <i>VDR</i>	86
Figura 17 – Concentração de IFN- γ (pg/mL) por genótipos dos SNVs do gene <i>VDR</i> , estratificada por grupo.....	87

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Identificação das variantes de nucleotídeo único (SNVs) analisadas no gene <i>VDR</i>	54
Quadro 2 – Composição da reação de qPCR para genotipagem dos SNVs do gene <i>VDR</i>	55
Quadro 3 – Condições de amplificação por qPCR em sistema QuantStudio 3 para genotipagem de SNVs do gene <i>VDR</i>	55
Quadro 4 – Teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE).....	68
Quadro 5 – Frequência dos alelos dos SNVs de genes de <i>VDR</i> na população estudada e de outras populações do mundo.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Efeitos imunológicos da vitamina D sobre diferentes células do sistema imune.....	38
Tabela 2 – Características gerais dos pacientes de TB e controles	60
Tabela 3 – Resultados das análises de associação da variante rs2228570.....	69
Tabela 4 – Resultados das análises de associação da variante rs7975232.....	70
Tabela 5 – Resultados das análises de associação da variante rs731236.....	72
Tabela 6 – Resultados das análises de associação da variante rs1544410.....	73
Tabela 7 – Resultado de combinações de haplótipos das variantes nos genes <i>VDR</i>	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1,25(OH) ₂ D	1,25-di-hidroxivitamina D
25(OH)D	25-hidroxivitamina D
AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i> - Síndrome da imunodeficiência adquirida
APC	<i>Antigen Presenting Cells</i> - Células Apresentadoras de Antígeno
BAAR	Bacilos Álcool-Ácido Resistentes
BCG	Bacillus Calmette-Guérin
CLIA	<i>Chemiluminescent Immunoassay</i> - Imunoensaio por quimioluminescência
CYP27B1	Gene da 1-alfa-hidroxilase
COVID	Corona Virus Disease - Doença do Coronavírus
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EHW	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
IFN γ	Interferon gama
IL	Interleucina
LAM	Lipoarabinomanana
LD	<i>Linkage Disequilibrium</i> - Desequilíbrio de ligação
LL-37	Peptídeo antimicrobiano derivado da catelicidina
LM	Lipomanana
MDR	Multidrogas resistentes
MTBC	Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
NF-kB	<i>Nuclear factor</i> – kB - Fator de transcrição nuclear Kappa B
NK	Células <i>Natural killer</i>
NO	Óxido Nítrico
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAMP	<i>Pathogen-associated molecular pattern</i> - Padrões moleculares associados a patógenos

PCR	Reação em cadeia da polimerase
PGN	Peptidoglicano
PILAM	Lipoarabinomanano fosfoinositido-capped
PIM	<i>Phosphatidylinositol mannosides</i> - Fosfatidil inositol-manosídeo
PRR	Receptores de reconhecimento de padrão
qPCR	PCR Quantitativa em Tempo Real
RNA	Ácido Ribonucleico
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase transcriptase reversa
SNV	<i>Single nucleotide variant</i> - Variante de Base Única
TB	Tuberculose
TLR	Toll-like receptor - Receptores semelhantes a toll
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor alpha</i> - Fator de Necrose Tumoral Alfa
UV	Ultravioleta
VDR	Receptor da Vitamina D
WHO	<i>World Health Organization</i> – Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1 Aspectos gerais da tuberculose	22
2.2 Constituição geral do bacilo	23
2.3 Aspectos epidemiológicos da tuberculose	26
2.3.1 Cenário mundial.....	26
2.3.2 Situação nacional	27
2.3.3 Perfil sociodemográfico dos casos	28
2.3.4 Epidemiologia Regional da Tuberculose na Amazônia.....	28
2.3.5 Resposta do Brasil.....	29
2.4 Aspectos imunopatogênicos da tuberculose.....	30
2.5 Variantes genéticas	33
2.6 Vitamina D	35
2.7 Influência da Vitamina D na imunidade contra TB	37
2.8 Variantes no gene <i>VDR</i>	42
3. JUSTIFICATIVA	45
4. OBJETIVOS	48
4.1 Objetivo geral.....	48
4.2 Objetivos específicos	48
5. MATERIAL E MÉTODOS	50
5.1 Tipo de estudo	50
5.2 População de estudo	50
5.3 Local de coleta de amostra biológica	50
5.4 Cálculo da amostra	51
5.5 Aspectos éticos.....	51
5.6 Critérios de inclusão	51
5.7 Critério de exclusão	52

5.8 Exames micobacteriológicos nas amostras de escarro	52
5.9 Processamento e extração de DNA das amostras de sangue	53
5.10 Genotipagem por PCR Quantitativa em Tempo Real (qPCR)	53
5.11 Dosagem de hidroxivitamina D e IFN- γ	56
5.12 Limitações do estudo	57
5.13 Plano analítico dos dados	57
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
6.1 Descrição da população recrutada	60
6.2 Características gerais da população estudada	60
6.3 Análise das variantes nos genes <i>VDR</i>	63
6.3.1 Associação do rs2228570 (FokI) com tuberculose pulmonar	68
6.3.2 Ausência de associação do rs7975232 (ApaI)	70
6.3.3 Associação protetora do rs731236 (TaqI)	71
6.3.4 Associação significativa do rs1544410 (BsmI)	72
6.4 Análise de haplótipos	75
6.5 Frequência alélica	77
6.6 Dosagem de 25-hidroxivitamina D (25(OH)D)	81
6.7 Quantificação IFN- γ	84
7. CONCLUSÃO	88
8. CRONOGRAMA	91
9. EQUIPE DO PROJETO	94
10. REFERÊNCIAS	96
11. ANEXOS	117

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) permanece como uma doença infecciosa de elevada magnitude e representa um problema significativo de saúde pública global. Apesar dos avanços no diagnóstico e tratamento, o controle da morbimortalidade por TB continua sendo um desafio para a comunidade científica e os programas de saúde pública em diferentes países. Em 2023, a TB permaneceu entre as principais causas de morte por um único agente infeccioso, destacando a necessidade de intensificar estratégias para prevenção, diagnóstico precoce e tratamento eficaz (WHO, 2024).

Segundo o relatório global da Organização Mundial da Saúde (OMS), foram notificados 10,8 milhões de novos casos de TB e cerca de 1,25 milhão de mortes em 2023 (WHO, 2024). Estima-se que um quarto da população mundial esteja infectada.

Segundo o Ministério da Saúde, foram registrados 84.308 casos novos de tuberculose no Brasil em 2024, resultando em um coeficiente de incidência de 39,7 casos por 100 mil habitantes, o que mantém o país entre os 30 com maior carga da doença no mundo (Brasil, 2025). A região Norte, especialmente o estado do Amazonas, apresenta taxas significativamente superiores à média nacional, refletindo desigualdades socioeconômicas e desafios estruturais no enfrentamento da TB.

Além dos fatores socioeconômicos, diversos elementos intrínsecos ao patógeno e ao hospedeiro influenciam a suscetibilidade e a evolução da TB. Do lado do *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), aspectos como a carga bacilar, a presença de infecção policlonal, o genótipo específico da bactéria e o desenvolvimento de resistência aos medicamentos antituberculose desempenham papéis cruciais na patogenicidade e nos desfechos clínicos da doença. Quanto ao hospedeiro, fatores genéticos e comorbidades, como coinfeção HIV/TB e diabetes mellitus, são determinantes na resposta imunológica e na vulnerabilidade à TB (Caws *et al.*, 2008; Abbadi *et al.*, 2009; Casanova *et al.*, 2011).

Dessa forma, tanto os fatores relacionados ao patógeno quanto aqueles intrínsecos ao hospedeiro têm papel determinante na imunopatogênese e nas manifestações clínicas resultantes da tuberculose. Essa interação ressalta a complexidade da relação entre o Mtb e o organismo humano, a qual ainda não foi

completamente elucidada. (Vannberg *et al.*, 2011; Cohen *et al.*, 2012; Shaler *et al.*, 2012; Ford *et al.*, 2013). Estudos têm demonstrado que variantes de nucleotídeo único (SNVs), presentes em diversos genes do hospedeiro, influenciam a suscetibilidade à infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*, sendo o componente genético progressivamente reconhecido como um fator-chave na modulação da resposta imune (Moller *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2014).

Nesse contexto, há crescente interesse na influência da vitamina D, um hormônio esteroide com reconhecida função imunomodulatória. Na era pré-antibiótica, a vitamina D e a exposição solar foram historicamente utilizadas no tratamento da TB. Além disso, evidências crescentes provenientes de estudos *in vitro* sugerem que a vitamina D tem o potencial de aumentar a atividade antimicobacteriana (Martineau *et al.*, 2012). A forma ativa da vitamina D, 1,25(OH)₂D, atua no sistema imune inato ao estimular a expressão de peptídeos antimicrobianos como a catelicidina (LL-37), além de regular a produção de citocinas pró e anti-inflamatórias, como IFN- γ , IL-10 e IL-2, promovendo uma resposta mais eficiente à infecção micobacteriana (Liu *et al.*, 2006; Meng-Shiuan *et al.*, 2024).

A atividade da vitamina D é mediada pelo receptor de vitamina D (VDR), uma proteína nuclear expressa em diversos tipos celulares, incluindo monócitos, macrófagos e células T. O gene *VDR* localiza-se no cromossomo 12q13.11 e possui diversas variantes de nucleotídeo único (SNVs) que podem influenciar a transcrição, estabilidade do mRNA ou a função da proteína codificada (Agliardi *et al.*, 2025).

Dentre as variantes de nucleotídeo único (SNVs) mais investigadas do gene *VDR*, destacam-se: **rs2228570** (FokI), **rs1544410** (BsmI), **rs731236** (TaqI) e **rs7975232** (ApaI). Estudos sugerem que variações genéticas nesse gene estão associadas à suscetibilidade ou resistência à TB, embora os resultados ainda sejam inconsistentes entre diferentes populações (Uitterlinden *et al.*, 2004; Wang; Li, 2019).

Pesquisas sobre o perfil genético dos pacientes têm desempenhado um papel significativo na compreensão da variabilidade na resposta à infecção pelo *M. tuberculosis* (Paramel *et al.*, 2015). Consequentemente, a comunidade científica tem direcionado sua atenção para os estudos moleculares, os quais podem contribuir para

um melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na interação entre o patógeno e o hospedeiro (Cooke; Hill, 2001; Coscolla; Gagneux, 2014).

Apesar de sua relevância, há uma escassez de estudos sobre essas variantes em populações amazônicas, que apresentam diversidade genética própria, elevada carga de TB e peculiaridades ambientais que podem influenciar tanto os níveis séricos de vitamina D quanto a dinâmica de transmissão da doença. Neste contexto, investigar a influência de variantes genéticas relacionadas à via da vitamina D nessas populações representa uma oportunidade estratégica para compreender melhor os determinantes regionais da TB.

Diante do exposto, este estudo tem como objetivo avaliar a associação entre variantes de nucleotídeo único (SNVs) em genes da via da vitamina D e a ocorrência de tuberculose pulmonar em indivíduos residentes na região amazônica.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos gerais da tuberculose

A concepção de que a tuberculose pudesse ser uma doença infecciosa foi inicialmente proposta por Benjamin Marten, em 1720 e, posteriormente, corroborada por Antoine Villemin, que demonstrou a transmissibilidade da doença entre animais (Doetsch, 1978). Evidências arqueológicas apontam para a presença de lesões tuberculosas em múmias egípcias e peruanas, sugerindo que a TB acomete a humanidade há milhares de anos (Balows *et al.*, 1991).

Em 1882, o bacilo foi identificado por Robert Koch, um renomado cientista alemão (Bechler, 2012). Sua descoberta, que ficou conhecida como o bacilo de Koch, representou um marco no entendimento da doença e pavimentou o caminho para avanços no diagnóstico e tratamento (Barberis *et al.*, 2017). Em 1883, Zopf o nomeou como *Bacterium tuberculosis*, porém, em 1886, Lehmann e Neumann o renomearam para *Mycobacterium tuberculosis*, nomenclatura ainda vigente, atribuída à sua morfologia semelhante à de fungos e ao crescimento lento em cultura (Balows *et al.*, 1991).

As micobactérias pertencentes ao Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) compartilham elevada identidade genética, mas diferem quanto à patogenicidade, espectro de hospedeiros e distribuição geográfica. Além do *M. tuberculosis*, responsável pela maioria dos casos em humanos, o complexo inclui outras espécies clinicamente relevantes, como *M. bovis*, *M. africanum*, *M. caprae*, *M. microti* e *M. pinnipedii* (Tientcheu *et al.*, 2017; Galagan, 2014). Essas espécies integram a família *Mycobacteriaceae*, na ordem *Actinomycetales*.

A origem evolutiva do *M. tuberculosis* tem sido amplamente estudada, e acredita-se que tenha resultado da adaptação de micobactérias ambientais ao hospedeiro humano, acompanhando a expansão demográfica e o surgimento de aglomerados populacionais com condições sanitárias precárias, contexto que favoreceu a disseminação da doença (Gagneux *et al.*, 2006; Wirth *et al.*, 2008). Evidências moleculares baseadas em marcadores genéticos têm contribuído para estimativas

mais precisas sobre o tempo de divergência, diversidade e distribuição das espécies do complexo.

Estudos genômicos modernos, como os de Comas *et al.* (2013), que analisaram 259 genomas de cepas de *M. tuberculosis*, identificaram sete linhagens humanas principais, com distribuições geográficas específicas, reforçando a origem africana e a adaptação global à medida que os humanos migraram para outros continentes.

Avanços mais recentes expandem essa compreensão, Bahk *et al.* (2024) propuseram uma referência pan-genômica construída a partir da análise de 3.614 genomas de *M. tuberculosis* pertencentes às principais linhagens globais (L1–L4). Essa referência incorporou regiões anteriormente não capturadas pela cepa que era tradicionalmente usada como modelo, adicionando 1,18% de sequência genômica e recuperando mais de 60% das leituras antes descartadas. Essa atualização amplia a visão da diversidade evolutiva do bacilo e fortalece as evidências de sua origem ancestral comum.

Complementarmente, Segretier *et al.* (2024) aplicaram algoritmos evolutivos sobre dados proteômicos, demonstrando que padrões de presença ou ausência de determinadas proteínas são suficientes para classificar linhagens filogenéticas do bacilo com elevada acurácia. Esses achados indicam que a evolução de *M. tuberculosis* reflete não apenas mutações genéticas, mas também pressões seletivas sobre seu repertório proteico, reforçando a hipótese de coevolução com o hospedeiro humano.

2.2 Constituição geral do bacilo

As diferentes espécies pertencentes ao complexo MTB compartilham características genéticas e bioquímicas, embora possam exibir variações em termos de patogenicidade e distribuição geográfica (Tientcheu *et al.*, 2017). São classificadas como bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR), uma característica fundamental para sua detecção laboratorial e relacionada à sua estrutura celular peculiar.

Morfologicamente, são bacilos retos em forma de bastonete ou levemente curvos, de crescimento lento, aeróbios obrigatórios, imóveis, não esporulados e não

encapsulados, com dimensões que variam entre 1 a 10 µm de comprimento por 0,2 a 0,6 µm de largura (Brasil, 2002). Seu tempo de geração prolongado (15 a 20h) contribui para a dificuldade no cultivo e no diagnóstico laboratorial.

A estrutura da parede celular das micobactérias é singular e complexa, composta por proteínas, lipídios e carboidratos, incluindo componentes altamente virulentos que representam alvos terapêuticos promissores (Smith, 2003). Mais externamente, é composta por uma espessa camada lipídica rica em ácidos micólicos, arabinogalactano e peptidoglicano, além de glicolipídios como a lipoarabinomanana (LAM) e fosfatidilinositol mannosídeos (PIMs), que atuam como PAMPs reconhecidos por receptores Toll-like (TLRs). Essa estrutura proporciona uma barreira hidrofóbica altamente resistente a agentes antimicrobianos, à dessecação e à ação de enzimas lisossomais, favorecendo a persistência intracelular nos macrófagos hospedeiros e dificultando o reconhecimento e a destruição por mecanismos imunológicos do hospedeiro (Dulberger *et al.*, 2020; Abdalla *et al.*, 2012) (**Figura 1**).

Além disso, a parede celular do *M. tuberculosis* é um importante PAMP (padrão molecular associado a patógeno), reconhecido por receptores do sistema imune inato, como TLR2 e Dectin-1. Essa interação inicial é essencial para a ativação de mecanismos inflamatórios, fagocíticos e antimicrobianos, sendo também alvo de pesquisas para desenvolvimento de novas terapias e vacinas (Cambier *et al.*, 2014).

Estudos recentes têm destacado a relevância de sistemas adicionais que favorecem a adaptação e a virulência do bacilo. Dentre eles, destaca-se o sistema de secreção tipo VII (ESX-1), responsável por mediar a interação com células fagocíticas e contribuir para a evasão imunológica e formação de nichos permissivos à replicação bacilar no tecido pulmonar (Stewart *et al.*, 2019).

Possui também sistemas genéticos especializados que regulam sua sobrevivência em condições de estresse e desempenham papel na virulência. Esses sistemas auxiliam o bacilo na adaptação a ambientes hostis, como a hipóxia e o ataque oxidativo dentro dos macrófagos. Eles atuam interrompendo temporariamente processos metabólicos, contribuindo para a persistência do bacilo no hospedeiro. Além disso, variações na expressão desses sistemas modulam a resposta imune do

hospedeiro e influenciam a expressão de proteínas de virulência (Belardinelli *et al.*, 2025; Dutta *et al.*, 2019).

Recentemente, novas abordagens biofísicas, como a espectroscopia Raman aprimorada por superfície (SERS), têm sido aplicadas para caracterizar, em nível celular, as variações estruturais associadas à resistência medicamentosa, identificando assinaturas moleculares que reforçam a heterogeneidade fenotípica do bacilo (Zyubin *et al.*, 2025).

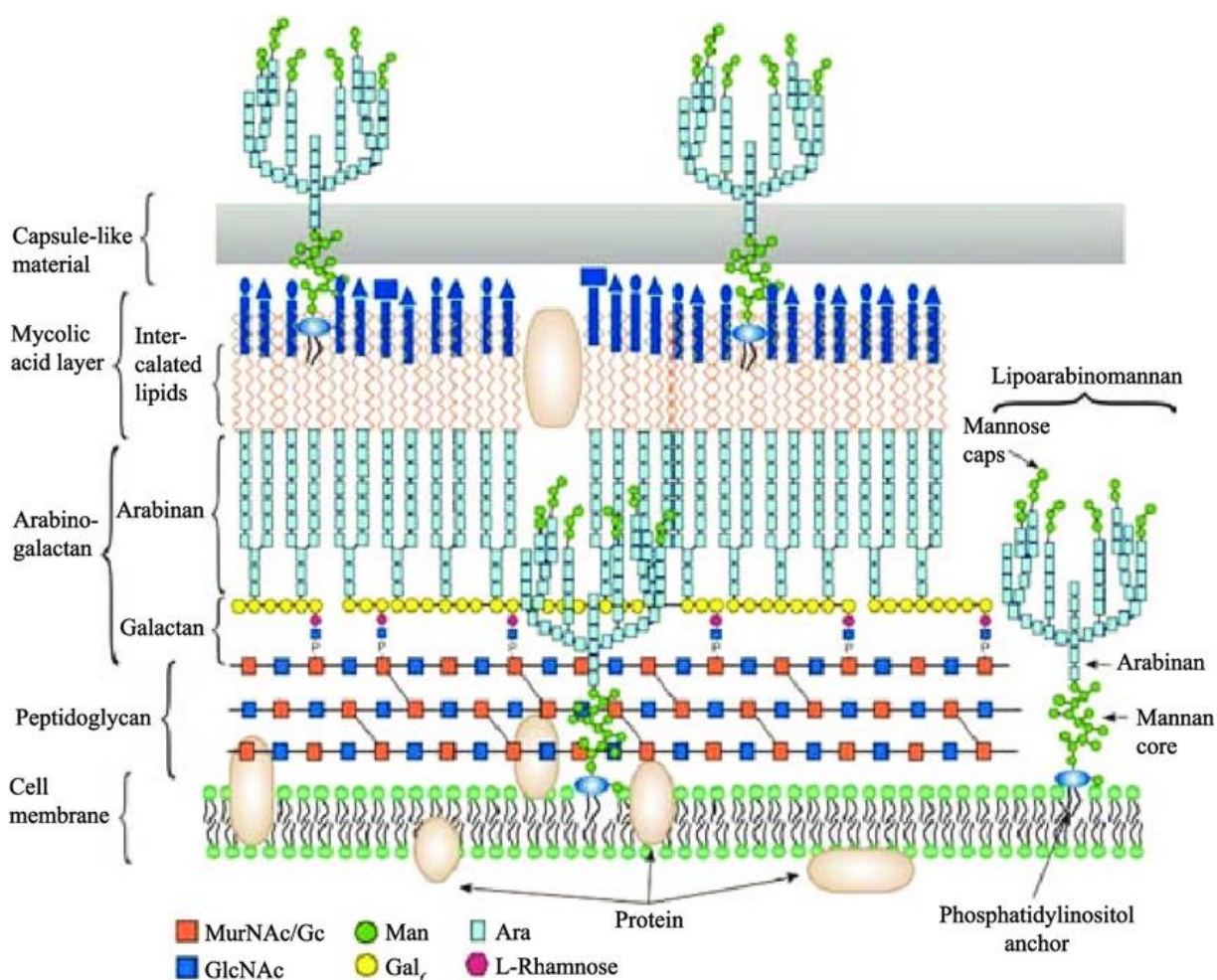


Figura 1 – Esquema representativo do envelope celular de *Mycobacterium tuberculosis*, destacando os principais componentes estruturais. Fonte: Adaptado de Kinatukara, P, 2014.

2.3 Aspectos epidemiológicos da tuberculose

2.3.1 Cenário mundial

Em 2023, a tuberculose (TB) voltou a ocupar o primeiro lugar entre as causas de morte por um único agente infeccioso, com um total estimado de 1,25 milhão de óbitos, incluindo 1,09 milhão entre pessoas HIV-negativas e 161 mil entre pessoas vivendo com HIV. No mesmo ano, cerca de 10,8 milhões de pessoas adoeceram por TB em todo o mundo. A **Figura 2** ilustra a distribuição geográfica dos casos incidentes, com a maioria dos casos concentrados nas regiões do Sudeste Asiático (45%), África (24%) e Pacífico Ocidental (17%) (WHO, 2024).

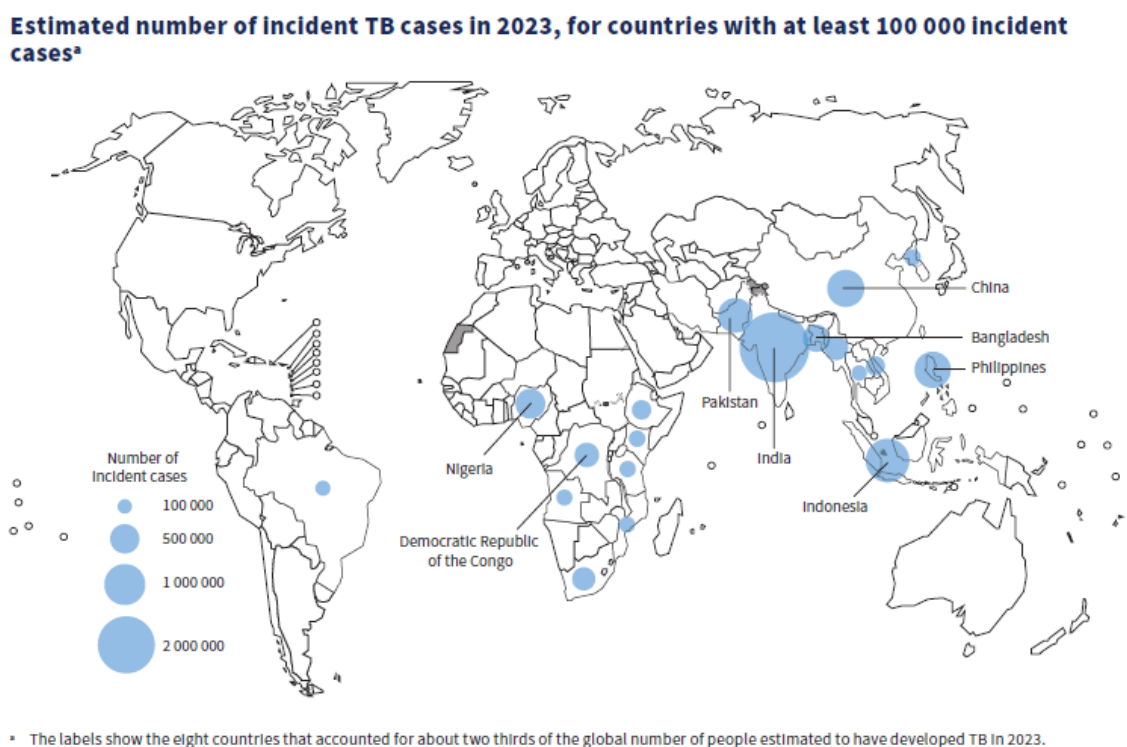


Figura 2 – Distribuição estimada dos casos incidentes de tuberculose em 2023, por países com ≥ 100.000 casos. Os círculos representam o número relativo de casos novos. Fonte: *Global Tuberculosis Report* - OMS 2024.

2.3.2 Situação nacional

No Brasil, foram registrados 84.308 casos novos de TB em 2024, o que representa uma taxa de incidência de 39,7 por 100 mil habitantes. Esse número reflete um aumento de 21% no período pós-pandemia (2020–2024). Em relação à mortalidade, 6.025 óbitos foram notificados por TB em 2023, com uma taxa de 2,8 mortes por 100 mil habitantes, representando um aumento de 3% em relação a 2022 (Brasil, 2025).

A doença apresenta uma distribuição heterogênea no território nacional, com maior concentração de casos nas regiões Norte, Sudeste e Nordeste. Em 2024, as taxas de incidência mais elevadas foram registradas nos estados do Amazonas (94,7/100 mil habitantes), Rio de Janeiro (84,6/100 mil) e Roraima (64,3/100 mil), todos com valores significativamente superiores à média nacional de 39,7 casos por 100 mil habitantes (**Figura 3**) (Brasil, 2025).

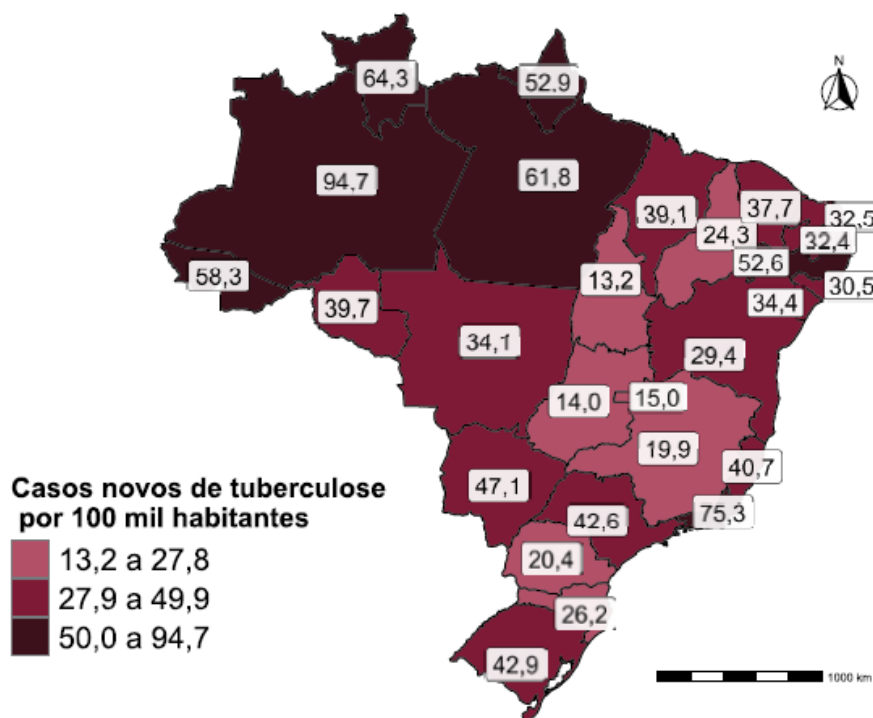


Figura 3 – Coeficiente de incidência de tuberculose (casos por 100 mil hab.) por Unidades da Federação. Fonte: Brasil, 2025.

2.3.3 Perfil sociodemográfico dos casos

A maioria dos casos notificados ocorreu entre indivíduos do sexo masculino (68,2%) e entre pessoas autodeclaradas pardas ou pretas (63,8%) (Brasil, 2025). Os homens apresentaram um risco maior de contrair TB em praticamente todas as faixas etárias (Brasil, 2024). Enquanto que pessoas pretas e pardas historicamente possuem menor escolaridade, menor renda e acesso mais limitado aos serviços de saúde (Chiavegatto Filho; Laurenti, 2013). A pobreza representa um fator de risco significativo para a tuberculose, como resultado, é mais prevalente em grupos populacionais com baixa renda.

É importante ressaltar que houve uma redução na cobertura da vacina BCG nos últimos anos (Brasil, 2023), destacando a necessidade de vigilância diante da possível manifestação de casos mais graves da doença nessa população. Observa-se ainda um cenário preocupante de coinfeção TB-HIV: 11,4% dos casos novos apresentaram sorologia positiva para HIV no momento da notificação.

Quanto ao diagnóstico, 73,9% dos casos pulmonares foram confirmados por métodos laboratoriais em 2024, com aumento de 60% no uso de testes rápidos moleculares (TRM-TB) em relação a 2020. Os dados também revelam vulnerabilidade social importante: 8,1% dos casos ocorreram em pessoas privadas de liberdade, 3,0% em situação de rua e 1,0% em indígenas (Brasil, 2025).

2.3.4 Epidemiologia Regional da Tuberculose na Amazônia

A região Norte do Brasil, caracterizada por vastas áreas geográficas, acesso limitado aos serviços de saúde e presença significativa de populações vulneráveis, apresenta os maiores coeficientes de incidência de TB do país (Brasil, 2025).

Em 2024, o estado do Amazonas destacou-se com o maior coeficiente de incidência do país, registrando 94,7 casos por 100 mil habitantes, totalizando 2.463 casos novos e 212 óbitos por TB. A capital, Manaus, historicamente figura como um dos principais epicentros da doença na região, registrou 127,3 casos por 100 mil habitantes no mesmo ano (Brasil, 2025). Nos seis primeiros meses de 2025, já foram

notificados 2.236 novos casos e 146 óbitos, evidenciando a persistente transmissão ativa na área urbana e a influência de determinantes sociais e estruturais na manutenção da elevada carga da doença (FVS-AM, 2025).

A distribuição desigual reflete não apenas o impacto da doença em áreas endêmicas, mas também a influência de fatores socioeconômicos e estruturais como aglomeração domiciliar, dificuldade de acesso aos serviços de saúde, e maior vulnerabilidade em populações indígenas, ribeirinhas e privadas de liberdade, fortemente presentes na região amazônica (Brasil, 2025).

Além disso, o Amazonas apresenta desafios adicionais relacionados à interiorização da doença, uma vez que parte expressiva da população reside em áreas rurais, de difícil acesso, onde o diagnóstico oportuno e a continuidade do tratamento ainda enfrentam barreiras logísticas e operacionais importantes.

Esse cenário reforça a necessidade de estratégias de enfrentamento adaptadas às especificidades da região, incluindo ações intersetoriais voltadas à redução das desigualdades sociais, ampliação da cobertura de diagnóstico laboratorial e fortalecimento das redes locais de atenção primária à saúde com enfoque na vigilância ativa e no acompanhamento dos casos.

2.3.5 Resposta do Brasil

Para enfrentar esses desafios, o Brasil lançou a iniciativa Brasil Saudável, posicionando-se como referência internacional ao propor a eliminação ou redução de 14 doenças e infecções relacionadas à vulnerabilidade social, em alinhamento com metas da OMS, OPAS e os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Agenda 2030.

Como parte dessa estratégia, o Comitê Interministerial para a Eliminação da Tuberculose e Outras Doenças Determinadas Socialmente (CIEDDS) selecionou 175 municípios prioritários, com base em altas incidências de doenças socialmente determinadas. No estado do Amazonas, foram priorizados 12 municípios, incluindo Manaus, Tefé, Lábrea e Coari, entre outros (Brasil, 2024). A priorização reflete o

reconhecimento da necessidade de estratégias adaptadas às realidades locais e intersetoriais.

2.4 Aspectos imunopatogênicos da tuberculose

A transmissão da tuberculose ocorre de pessoa a pessoa, quando pacientes bacilíferos, ao falar, espirrar ou tossir, lançam no ar gotículas contaminadas de tamanhos variados. As gotículas mais pesadas sedimentam rapidamente, enquanto as mais leves permanecem em suspensão no ar. A maioria das partículas contidas nas gotículas são retidas pela mucosa do trato respiratório superior através do mecanismo muco-ciliar. Apenas os núcleos secos das gotículas (núcleos de Wells), com diâmetros de até 5 µm (micrômetros) e contendo 1 a 2 bacilos em suspensão, podem atingir os bronquíolos e alvéolos pulmonares, iniciando o processo infeccioso (Brasil, 2008).

No local de entrada do patógeno, os macrófagos alveolares residentes, acompanhados por neutrófilos e células dendríticas, realizam a fagocitose dos bacilos (Behar *et al.*, 2014). A ativação do sistema imune inato é mediada por receptores de reconhecimento de padrão (PRRs) que reconhecem os PAMPs presentes na parede celular da micobactéria e realizam sua internalização pelas células fagocíticas (Amaral *et al.*, 2016). Essa interação é responsável por ativar as cascatas de sinalização intracelular, como a via do NF-κB, induzindo a transcrição de citocinas pró-inflamatórias, ativação do inflamassoma e mecanismos de autofagia (Dey; Bishai, 2014).

Caso o bacilo escape dos mecanismos iniciais de contenção mediados por macrófagos e células dendríticas, a infecção progride para a fase de ativação da resposta imune adaptativa, que se torna crucial para o controle da infecção a longo prazo. Os bacilos são internalizados por células apresentadoras de antígenos (APCs) e migram para os linfonodos, onde interagem com os linfócitos T helper *naïve*. A partir da ativação por dois sinais (reconhecimento antigênico e coestimulação), ocorre expansão clonal e diferenciação celular guiadas pelo perfil de citocinas do microambiente (Behar *et al.*, 2014).

Ao longo da infecção, ocorre a formação do granuloma, uma das principais características imunopatológicas da TB. Trata-se de uma estrutura composta por macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, linfócitos e fibroblastos, organizados ao redor de uma região necrótica central, chamada de tubérculo de Ghon (Cheever; Hinkle, 2016). Ele representa não apenas uma barreira física, mas um microambiente imunológico dinâmico, onde citocinas como TNF- α , IFN- γ e IL-10 modulam a ativação ou supressão de macrófagos, influenciando o destino da infecção enquanto a eliminação, contenção ou reativação do bacilo (Flynn & Chan, 2004).

Esse equilíbrio imunológico pode ser comprometido por condições de imunossupressão ou por alterações genéticas do hospedeiro, favorecendo à reativação da infecção latente. A capacidade do *M. tuberculosis* de modular a resposta imune e adaptar-se ao ambiente intracelular, aliada à variabilidade genética e ao estado imunológico dos indivíduos infectados, contribui para a complexidade do controle imunológico da TB (Stucki; Gagneux, 2013).

Após a infecção inicial, o sistema imunológico do hospedeiro pode eliminar o bacilo, mantê-lo sob controle em estado de latência, com ausência de sintomas clínicos, ou permitir sua multiplicação e progressão para a forma ativa da doença (Aguilar-Ayala *et al.*, 2016). Na maioria dos casos, a infecção primária acomete os pulmões, caracterizando a forma pulmonar da TB, a mais prevalente. No entanto, em aproximadamente 25% dos casos, observa-se a forma extrapulmonar, resultante da disseminação hematogênica do bacilo para outros tecidos e órgãos, como linfonodos, pleura, sistema geniturinário, sistema nervoso central, ossos e meninges (Angela Houston, 2014; Ruan *et al.*, 2012).

A resposta ao *M. tuberculosis* varia consideravelmente entre indivíduos. Após a exposição ao bacilo, estima-se que cerca de 30% dos indivíduos sejam infectados. Desses, aproximadamente 90% desenvolvem uma resposta imune eficaz, levando à forma latente da infecção. Menos de 10% desenvolvem TB ativa, geralmente por falhas na contenção imunológica. Contudo, mesmo na latência, existe risco de reativação (estimado entre 5% a 10% ao longo da vida), especialmente em cenários de imunocomprometimento (Ahmad, 2011; Vannberg *et al.*, 2011; Shaler *et al.*, 2012).

Fatores como pobreza, desnutrição, comprometimento do sistema imune, diabetes, tabagismo, coinfeção com HIV e falhas nos programas de controle têm sido associados ao aumento da incidência e gravidade da TB, inclusive à forma multirresistente (MDR) (Kritski, 2007; Warner *et al.*, 2015).

Estudos genômicos têm revelado importante diversidade genética dentro do complexo MTBC, com implicações na virulência, resistência a drogas e resposta imune. A compreensão dessas variações é fundamental para o desenvolvimento de estratégias eficazes de diagnóstico, tratamento e prevenção da TB (Queval *et al.*, 2017).

Além dos mecanismos celulares clássicos, o papel do IFN- γ destaca-se como um dos principais mediadores da resposta protetora contra o *M. tuberculosis* (Cooper, *et al.*, 1993). Estudos demonstraram que sua produção precoce por linfócitos T CD4⁺ e células NK é crucial para a ativação dos macrófagos e contenção da infecção. Recentemente, foi evidenciado que o momento da exposição ao IFN- γ é determinante, sua presença antes da infecção promove uma resposta antimicrobiana mais eficaz, enquanto a exposição tardia, após a infecção estabelecida, apresenta eficácia reduzida (Sarti *et al.*, 2025).

Em infecções crônicas, observou-se que as células T CD4⁺ passam por um processo de exaustão funcional, com redução da capacidade de produção de IFN- γ e TNF- α , além da expressão de receptores inibitórios, comprometendo a contenção bacilar e favorecendo a reativação da infecção (Chang *et al.*, 2025). A quantificação de IFN- γ e de proteínas induzidas por ele, como a IP-10, tem sido explorada como ferramenta diagnóstica. Embora ambos estejam elevados tanto na TB ativa quanto na latente, ainda não se demonstrou diferença estatisticamente significativa entre essas formas clínicas em crianças vacinadas com BCG; no entanto, o IFN- γ permanece como um biomarcador de interesse para investigações futuras (Druszczyńska *et al.*, 2025).

O papel funcional das células T CD8⁺ na contenção da TB latente também tem ganhado destaque. Estudos em modelos murinos demonstraram que, mesmo na ausência de células T CD4⁺ funcionais, a vacinação com cepas recombinantes de BCG promoveu contenção da TB latente no sistema linfático, evidenciando o papel

essencial das células CD8⁺ T na prevenção da reativação da infecção (Miranda-Hernandez *et al.*, 2025).

A suscetibilidade ou resistência à tuberculose apresenta variações interindividuais e interpopulacionais, refletindo uma complexa interação entre fatores ambientais, imunológicos e genéticos. Estudos em genética populacional têm demonstrado que variantes em genes envolvidos na resposta imune podem influenciar significativamente o risco de desenvolvimento da doença (Ahmad, 2011; Vannberg *et al.*, 2011; Shaler *et al.*, 2012).

Dentre os genes candidatos, destaca-se o gene do receptor da vitamina D (*VDR*), cuja expressão influencia a ativação de macrófagos e indução de peptídeos antimicrobianos, como a catelicidina (LL-37). Variantes no gene *VDR* têm sido associadas à modulação da resposta imunológica frente ao *M. tuberculosis* e à maior ou menor suscetibilidade à doença, dependendo do perfil genético da população analisada (Liu *et al.*, 2006; Babb *et al.*, 2007). Essas observações reforçam a importância do estudo das variantes genéticas no entendimento da imunopatogênese da TB.

2.5 Variantes genéticas

As variações de nucleotídeo único (SNVs) representam um dos principais alvos de estudo para compreender como fatores genéticos do hospedeiro influenciam a resposta imune frente ao *M. tuberculosis*. Essas variantes correspondem a alterações na sequência do DNA que ocorrem naturalmente entre os indivíduos. A variante de base única, conhecida como SNV (*single nucleotide variant*), consiste na substituição de um único nucleotídeo em uma posição específica durante a replicação do DNA. Essa substituição é considerada uma variação comum quando presente em mais de 1% da população; abaixo desse limiar, é classificada como mutação rara (Kim; Misra, 2007; Frazer *et al.*, 2009).

Os SNVs representam a forma mais frequente de variabilidade genética no genoma humano e têm sido amplamente estudados por sua relevância na diversidade fenotípica, na resposta a fármacos e na predisposição a doenças. Essas variantes podem ocorrer em regiões codificantes, promovendo alterações na estrutura e função

de proteínas, ou em regiões regulatórias, influenciando a expressão gênica (Calabrese *et al.*, 2009).

Quando localizadas em regiões codificantes, as SNVs podem ser sinônimas (sem alteração do aminoácido) ou não sinônimas, como mutações de sentido trocado (*missense*) ou sem sentido (*nonsense*), que impactam diretamente a estrutura e a função das proteínas. Já em regiões regulatórias, podem comprometer a estabilidade do RNA mensageiro, a ligação de fatores de transcrição e a eficiência da expressão gênica (Wang *et al.*, 2020).

Estima-se que cerca de 80% dos SNVs patogênicos causem doença por desestabilização da estrutura proteica, enquanto outros 10% afetam a formação de complexos ou a interação entre proteínas (Ferrer-Costa *et al.*, 2002). Diversos estudos associam SNVs a doenças complexas, como diabetes tipo 2 (Ban *et al.*, 2010), lúpus eritematoso sistêmico e outras doenças autoimunes (Sirota *et al.*, 2009). Além disso, essas variantes interferem na eficácia e toxicidade de medicamentos, tornando-se ferramentas valiosas em farmacogenômica (McKinney *et al.*, 2009).

No contexto das doenças infecciosas, os SNVs têm sido amplamente investigados por sua capacidade de influenciar a resposta imunológica inata e adaptativa, modulando desde o risco de infecção até a gravidade do quadro clínico e a eficácia terapêutica (Pontillo *et al.*, 2012). No caso da TB, SNVs em genes envolvidos na sinalização de citocinas, reconhecimento de patógenos e no metabolismo da vitamina D vêm sendo associados à suscetibilidade ou resistência ao *M. tuberculosis*.

Além disso, variantes em genes reguladores da ativação de linfócitos T podem alterar a função de moléculas coestimuladoras, impactando a magnitude da resposta inflamatória frente ao patógeno (Funke *et al.*, 2010). Mecanismos bacterianos, como componentes do sistema toxina-antitoxina (por exemplo, genes **vapB35**) também estão envolvidos na dinâmica de transmissão de *M. tuberculosis*, conforme demonstrado em associações significativas entre SNVs nesses sistemas e a disseminação global de TB multirresistente (Li *et al.*, 2024).

Evidências recentes indicam que essas variantes genéticas não influenciam apenas a imunidade, mas também a coevolução entre patógeno e hospedeiro. Por

exemplo, SNVs em genes envolvidos no reparo, replicação e recombinação do DNA foram associados ao surgimento de cepas multirresistentes (Zein-Eddine *et al.*, 2025).

A caracterização desses alelos de risco é fundamental não apenas para elucidar a diversidade genética relacionada à TB entre diferentes populações, mas também para subsidiar o desenvolvimento de estratégias terapêuticas individualizadas (Malinga *et al.*, 2025).

Nesse contexto, os SNVs configuram-se como potenciais biomarcadores imunogenéticos, com ampla aplicabilidade em estudos de associação genômica e em abordagens de medicina personalizada. Sua identificação pode auxiliar na estratificação de risco, orientar decisões clínicas e contribuir para intervenções mais eficazes no tratamento da TB (Shen *et al.*, 2015). Essa abordagem é especialmente relevante em populações expostas a alta carga bacilar, como na região amazônica.

2.6 Vitamina D

O termo "vitamina D" refere-se a um grupo de moléculas secosteroides derivadas do 7-deidrocolesterol (7-DHC), que estão interconectadas por uma série de reações fotolíticas e enzimáticas ocorridas em células de diversos tecidos (Bouillon *et al.*, 1995). Nos anos 1930, foi descoberto que a exposição da pele à luz solar e aos raios ultravioletas (UV) artificiais tem a capacidade de estimular a produção de vitamina D₃ (colecalciferol) por meio da conversão de um precursor conhecido como 7-deidrocolesterol (7-DHC ou provitamina D) (Holick, 2007).

A exposição à luz UV na faixa de comprimento de onda entre 290 e 315 nm desencadeia um processo de clivagem fotoquímica que leva à formação de pré-vitaminas D. Este processo ocorre na membrana plasmática de queratinócitos e fibroblastos, localizadas nas camadas basal e suprabasal da epiderme (Holick, 2007). Essas pré-vitaminas D sofrem isomerização térmica, sendo convertidas em vitamina D (colecalciferol) ao longo de aproximadamente 24 horas (Wacker & Holick, 2013).

Após a síntese, a vitamina D é liberada dos queratinócitos para os capilares sanguíneos presentes na derme. Como todas as vitaminas lipossolúveis, circula ligada à proteína transportadora de vitamina D (DBP), uma globulina que facilita o transporte

dessas moléculas hidrofóbicas para diversos órgãos-alvo do corpo (Jones *et al.*, 2018). A DBP também regula sua biodisponibilidade tecidual. Em estados inflamatórios, como infecção tuberculosa, seus níveis podem estar alterados, comprometendo a disponibilidade de vitamina D para conversão local em calcitriol por macrófagos. Além do transporte, a DBP exerce funções imunológicas, como a promoção da migração de neutrófilos e a facilitação da fagocitose, contribuindo para a defesa contra patógenos intracelulares (Chun *et al.*, 2012).

A vitamina D também pode ser proveniente da dieta, sendo absorvida no intestino delgado, incorporada aos quilomicrons e transportada para o fígado, onde ocorre um processo de hidroxilação, convertendo-a em 25-hidroxivitamina D (25(OH)D), forma circulante predominante, embora biologicamente inativa (Holick, 2007). Posteriormente, nas células dos túbulos contornados proximais renais, a 25(OH)D sofre uma segunda hidroxilação catalisada pela enzima 1- α -hidroxilase (CYP27B1), originando a 1,25 di-hidroxivitamina D (1,25(OH)₂D), também conhecida como calcitriol, que é a forma biologicamente ativa da vitamina D. Esta última tem alta afinidade e especificidade ao se ligar ao receptor da vitamina D (VDR) (Realegeno; Modlin, 2011).

Estudos recentes reforçam a importância da síntese e metabolismo extrarrenal da vitamina D. Além da clássica ativação renal, a expressão funcional da CYP27B1 também foi identificada em macrófagos, epitélio pulmonar, queratinócitos e tecidos linfoides (Artaza *et al.*, 2010). Essa conversão local da 25(OH)D em sua forma ativa é regulada por estímulos inflamatórios e permite ações intracrinas e autócrinas, influenciando diretamente processos como proliferação celular, imunorregulação e diferenciação (Meyer *et al.*, 2024; Adams; Hewison, 2024).

Em um estudo recente com modelo murino, Meyer *et al.* (2024) demonstraram, por meio de espectrometria de massa por imagem (MALDI-MSI), a produção extrarrenal de 1,25(OH)₂D em órgãos como baço e timo, onde foi observada alteração na expressão de citocinas como IL-4 e TNF- α . Esses achados reforçam o papel imunorregulador local da vitamina D em tecidos inflamatórios. Essa plasticidade metabólica contribui para a compreensão do envolvimento da vitamina D não apenas na homeostase mineral, mas também na resposta imune adaptativa e inata (Ghaseminejad-Raeini *et al.*, 2023).

Essa capacidade de conversão local de vitamina D em sua forma ativa, especialmente por células imunes como os macrófagos, é particularmente relevante em contextos infecciosos como a tuberculose, onde a ativação do receptor VDR influencia diretamente mecanismos antimicrobianos e inflamatórios (Liu et al., 2006).

A ativação do receptor da vitamina D (VDR) promove a transcrição de diversos genes imunorregulatórios. Estudos moleculares e análises *in silico* demonstram que mais de 900 genes podem ser regulados diretamente pela $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, incluindo genes relacionados à inflamação, diferenciação celular, autofagia e resposta antimicrobiana (Wang et al., 2005).

A via VDR/CYP27B1 regula positivamente a produção de peptídeos antimicrobianos como catelicidina (LL-37) e β -defensinas, além de genes que participam da inibição da inflamação como TNFAIP3 e do metabolismo da própria vitamina D como o gene CYP24A1 (Sassi et al., 2018).

A ligação do calcitriol ao VDR forma um complexo heterodimérico com RXR (receptor X retinoide), que se liga a elementos responsivos à vitamina D (VDREs) no DNA, ativando a transcrição de genes que modulam funções como a diferenciação de monócitos, a ativação de macrófagos e a expressão de óxido nítrico sintase (Selvaraj, 2004; Leandro et al., 2009).

Recentemente, também foi proposta a investigação de variantes em genes relacionados à via da vitamina D, como *CYP2R1*, *CYP24A1* e *GC* (gene da DBP), dado que alterações nestes pontos podem influenciar o metabolismo e a biodisponibilidade da vitamina D e, conseqüentemente, sua função imunológica (Wilkinson et al., 2000; Elsalahaty et al., 2024; Galvão et al., 2020).

2.7 Influência da Vitamina D na imunidade contra TB

A vitamina D, além de suas funções primárias, exerce efeitos imunomoduladores, sendo capaz de influenciar a função de diversas células do sistema imune inato e adaptativo. Estudos demonstram que a sua forma ativa, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, regula diretamente a atividade de linfócitos, macrófagos e células natural killer (NK), afetando a produção de citocinas tanto *in vivo* quanto *in vitro* (Jones, 2008).

A **Tabela 1** resume os principais efeitos imunológicos da vitamina D com base em evidências científicas, relacionando suas ações com a imunidade celular envolvida.

Tabela 1 – Efeitos imunológicos da vitamina D sobre diferentes células do sistema imune.

Tipo Celular / Citocina	Efeito da Vitamina D	Referências
Linfócitos T	Supressão da resposta Th1/Th17 Redução de IFN- γ e IL-17	Jeffery <i>et al.</i> , 2009 Marques <i>et al.</i> , 2010
Linfócitos B	Redução da secreção de autoanticorpos Inibição da diferenciação	Rosenkranz <i>et al.</i> , 2015 Toniato <i>et al.</i> , 2015
Células T reguladoras (Treg)	Estímulo à diferenciação e aumento de Treg	Jeffery <i>et al.</i> , 2009 Marques <i>et al.</i> , 2010
Macrófagos	Ativação fagocítica Indução de catelicidina (LL-37) e β -defensinas Promoção de autofagia e fusão fagossomo-lisossomo	Liu <i>et al.</i> , 2006 Martineau <i>et al.</i> , 2007 Fabri <i>et al.</i> , 2011
Células NK	Modulação da citotoxicidade e ativação	Leung, 1989 Ghaseminejad, 2023.
Células dendríticas	Inibição da maturação e diferenciação Indução de fenótipo tolerogênico	Barragán, 2015
Monócitos	Inibição da diferenciação em células dendríticas	Marques <i>et al.</i> , 2010
Citocinas pró-inflamatórias	Reduz expressão de TNF, IL-1, IL-2, IL-6 e IFN- γ via inibição das vias NF- κ B e MAPK	Fenercioğlu, 2024 Rosenkranz <i>et al.</i> , 2015
Citocinas anti-inflamatórias	Estímulo à produção de IL-10 e IL-4	Toniato <i>et al.</i> , 2015 Jeffery <i>et al.</i> , 2009

A deficiência de vitamina D tem sido associada à redução da atividade fagocítica, da produção de anticorpos, da resposta linfocitária e de componentes do sistema complemento, comprometendo a imunidade contra infecções intracelulares (Liu et al., 2006).

A vitamina D, principalmente isolada do óleo de fígado de peixe, tem sido usada para o tratamento da TB desde 1930. Embora o mecanismo preciso que liga a vitamina D ao tratamento da TB ainda não esteja claro, essa vitamina pode encurtar a duração do tratamento da infecção ao contribuir para o aumento das respostas imunológicas contra *M.tuberculosis* (Sabin et al., 2020).

O principal metabólito circulante da vitamina D, 1,25-hidroxivitamina D (1,25(OH) D), apoia as respostas imunes antimicrobianas inatas, sugerindo um mecanismo potencial pelo qual a vitamina D adjuvante pode aumentar a resposta à terapia anti-tuberculose (Martineau, 2012). A 1,25(OH) D está envolvida na homeostase de vários processos celulares, entre eles a modulação da autoimunidade, a síntese de antibióticos naturais pelas células de defesa dos mamíferos (Hewison, 2010) e síntese de interleucinas inflamatórias (Cantorna; Mahon, 2005). Esses efeitos integram um amplo espectro de ações transcricionais da vitamina D, com impacto em múltiplas vias imunológicas e inflamatórias.

A capacidade da 1,25(OH)₂D de ativar macrófagos humanos para eliminar *M. tuberculosis* intracelular foi identificada há mais de duas décadas, mesmo sob concentrações suprafisiológicas (Rook, 1986). A importância funcional dessa via antimicrobiana foi corroborada posteriormente pela demonstração de que tanto estímulos do sistema imune inato, como a ativação de receptores do tipo Toll (TLRs), quanto da resposta adaptativa mediada por IFN- γ , induzem a expressão das enzimas CYP27B1 e do receptor de vitamina D (VDR) em monócitos e macrófagos (Liu et al., 2006; Martineau et al., 2007; Fabri et al., 2011).

De modo geral, a vitamina D atua como um modulador imunológico duplo: promove a ativação da imunidade inata, ao mesmo tempo em que regula a resposta adaptativa de forma multifacetada, contribuindo para a manutenção do equilíbrio imune (Liu et al., 2006). Evidências experimentais e clínicas demonstram que o eixo VDR/CYP27B1 é sensível a sinais inflamatórios, como o reconhecimento de padrões

moleculares associados a patógenos (PAMPs) por receptores tipo Toll (TLRs). Esse estímulo desencadeia a conversão intracelular da 25(OH)D em sua forma ativa, mesmo em tecidos extrarrenais como os pulmões (Martineau *et al.*, 2007).

Estudos clínicos demonstram que a suplementação de vitamina D pode ter efeito auxiliar no tratamento da tuberculose. Em meta-análise conduzida por Hong *et al.* (2018), foi observada melhora na contagem de linfócitos, elevação de níveis séricos de 25(OH)D, incremento da concentração de cálcio e melhora em exames de imagem após a suplementação em pacientes com tuberculose pulmonar. De forma complementar, a revisão sistemática de Kearns *et al.* (2014) destacou que a maioria dos ensaios clínicos identificou benefícios da suplementação, incluindo melhora na conversão de culturas, redução de marcadores inflamatórios e ganho de peso em pacientes com TB.

Uma outra revisão sistemática demonstrou que 45,45% dos estudos relataram benefício da dieta rica em vitamina D no tratamento da TB; 27,27% mostraram relação entre níveis séricos de 25(OH)D e ação antimicobacteriana; e 18,18% apontaram que a expressão positiva do gene *VDR* está associada à eficácia do tratamento (Pequeno *et al.*, 2019).

A vitamina D exerce suas funções biológicas através da sua ligação a receptores nucleares, os receptores para vitamina D (VDR), que regulam a transcrição do DNA em RNA, semelhante aos receptores para esteroides, hormônios tireoidianos e retinoides. Esses receptores são expressos por vários tipos de células, incluindo epitélio do intestino delgado e tubular renal, osteoblastos, osteoclastos, células hematopoiéticas, linfócitos, células epidérmicas, células pancreáticas, miócitos e neurônios (Szodoray *et al.*, 2008).

A ligação da forma ativa da vitamina D ao seu receptor nuclear VDR forma um complexo transcricional ativo que promove a expressão de várias proteínas, como a catelicidina (LL-37), envolvidas na destruição intracelular do *M. tuberculosis*. Quando os níveis séricos de 25(OH)D são adequados, a ativação por TLRs ou a estimulação por IFN- γ induz a expressão da enzima *CYP27B1*, resultando na conversão para 1,25(OH) $_2$ D, ativando assim a transcrição de peptídeos antimicrobianos eficazes contra o bacilo. No entanto, essa via antimicrobiana é comprometida em situações de

deficiência de 25(OH)D, embora possa ser restabelecida *in vitro* com a suplementação desse metabólito (Realegeno; Modlin, 2011) (**Figura 4**).

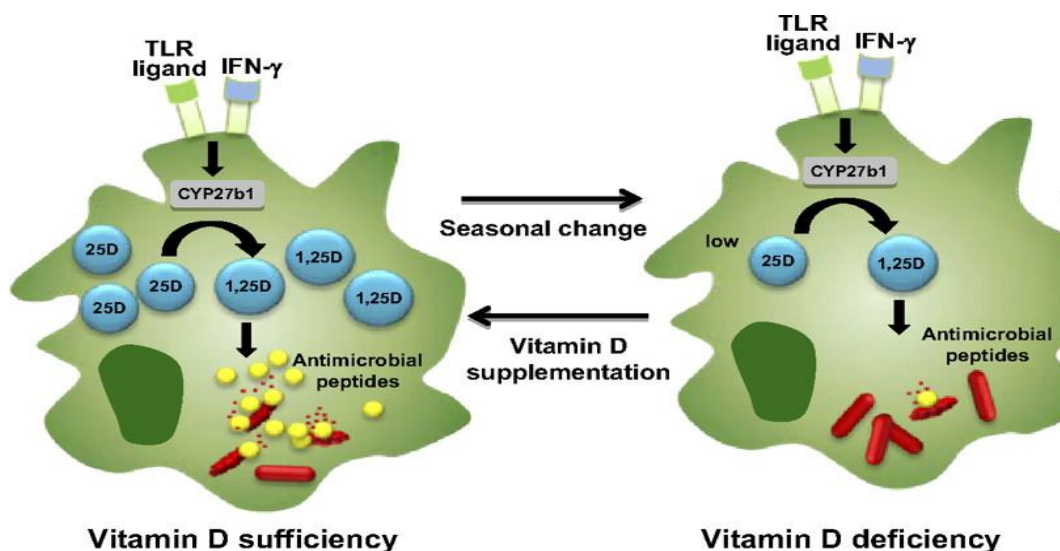


Figura 4 – Mecanismo de ação da vitamina D na resposta antimicrobiana dos macrófagos frente à infecção por *Mycobacterium tuberculosis*. Adaptado de Mailhot & White (2020).

Estudos clínicos demonstraram que a forma ativa da vitamina D, ao interagir com monócitos humanos que expressam receptores específicos (VDR), potencializa funções essenciais na defesa contra *M. tuberculosis*. Dentre essas funções, destaca-se o aumento da fixação do fagossomo ao lisossoma no interior dos macrófagos. Além disso, a ativação via vitamina D estimula a síntese de espécies reativas de nitrogênio, como o óxido nítrico (NO), que ampliam a capacidade antimicrobiana dessas células frente à replicação do patógeno (Selvaraj, 2004; Leandro *et al.*, 2009).

Estudos em genômica funcional demonstram que variantes no gene *VDR* podem influenciar não apenas seus níveis de expressão, mas também a eficiência com que o receptor forma complexos com cofatores de transcrição, modulando a expressão de genes-alvo envolvidos na resposta imune inata. De acordo com Carlberg (2022), o *VDR* interage com milhares de regiões regulatórias no genoma e depende de cofatores específicos para orquestrar a transcrição de genes relacionados a processos antimicrobianos e inflamatórios.

Esses SNVs têm mostrado resultados divergentes entre diferentes populações, indicando uma possível influência étnica na relação entre *VDR* e suscetibilidade à tuberculose. Uma meta-análise demonstrou que polimorfismos em sítios como BsmI, TaqI e ApaI podem estar associados a maior risco de TB (Razbek *et al.*, 2024). Contudo, um estudo na população da região de Xinjiang, na China, não encontrou correlação significativa entre esses polimorfismos e a infecção por *M. tuberculosis*, reforçando a necessidade de mais investigações em contextos étnicos diversos (Yu *et al.*, 2023).

2.8 Variantes no gene *VDR*

O gene *VDR*, localizado no cromossomo 12q13.11, codifica o receptor nuclear da vitamina D, desempenhando papel essencial na modulação da resposta imune (Bellamy *et al.*, 1999). A $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ atua ligando-se ao esse receptor, promovendo a ativação de monócitos, a modulação da resposta de linfócitos T, com inibição de subpopulações Th1 e Th17 e indução de células T reguladoras, e a supressão da produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-2 e IFN- γ . Além disso, o calcitriol pode reduzir indiretamente a proliferação de células B e a produção de imunoglobulinas (Hewison, 2012; Aranow, 2011; Liu *et al.*, 2006).

O gene possui aproximadamente 75 kb, distribuídos em pelo menos 11 éxons, e é expresso em células do sistema imune como macrófagos e linfócitos T (Uitterlinden *et al.*, 2004; Hewison, 2012). A ativação do VDR regula a expressão de centenas de genes envolvidos em processos como inflamação, defesa antimicrobiana e homeostase celular (Wang *et al.*, 2005; Carlberg & Campbell, 2013).

Diferentes estudos apontam que SNVs no gene *VDR* podem alterar a expressão gênica e a funcionalidade do receptor, afetando a eficiência imunorregulatória da vitamina D. Variações como rs2228570 (FokI) e rs7975232 (ApaI) são as mais investigadas, pois afetam a eficiência da transcrição do receptor e sua afinidade pelo calcitriol, influenciando diretamente a resposta imune do hospedeiro contra o *M. tuberculosis* (Gao *et al.*, 2010; Jolliffe *et al.*, 2016).

Uma meta-análise conduzida por Gao *et al.* (2010), envolvendo 23 estudos, evidenciou associação estatisticamente significativa entre determinadas variantes genéticas de *VDR* e a suscetibilidade à TB. Esses achados sugerem que a eficácia da suplementação com vitamina D durante o tratamento antituberculoso pode ser influenciada pelo perfil genético do paciente de acordo com a variante do *VDR*, uma hipótese que merece ser investigada em ensaios clínicos estratificados por genótipo.

A variante rs2228570 está localizada no éxon 2 e altera o códon de iniciação da tradução, podendo gerar duas isoformas distintas do receptor, uma mais curta e funcionalmente mais ativa, e outra mais longa com menor atividade transcricional (Gross *et al.*, 1998). Já as variantes rs1544410 e rs7975232, situados no intron 8, e o rs731236, localizado no éxon 9, encontram-se próximos à região 3' não traduzida (3'UTR), podendo afetar a estabilidade do mRNA e, consequentemente, a expressão do *VDR* (Colin *et al.*, 2000; Morrison *et al.*, 1994). Embora essas variantes sejam consideradas de impacto funcional indireto, sua presença pode modular a sensibilidade celular à vitamina D e interferir nos processos imunorregulatórios mediados por essa via.

Estudos de associação genética têm evidenciado que essas variantes estão relacionadas não apenas a distúrbios ósseos e doenças autoimunes, como lúpus e esclerose múltipla (Zhang, *et al.*, 2020), mas também a doenças infecciosas como a tuberculose (Jolliffe *et al.*, 2016). Em especial, os alelos f de rs2228570 (FokI) e t de rs731236 (TaqI) foram associados a maior suscetibilidade à tuberculose pulmonar em diferentes populações, como Índia (Selvaraj *et al.*, 2004), China (Hu *et al.*, 2016), África do Sul (Babb *et al.*, 2007) e Brasil (Rossi *et al.*, 2012), embora haja variações conforme a ancestralidade genética e fatores ambientais.

A variabilidade dos resultados entre os estudos de associação genética é frequentemente atribuída às diferenças étnicas, ambientais e metodológicas, o que reforça a relevância de se investigar essas variantes em múltiplos contextos populacionais (Kostoglou *et al.*, 2013). Dessa forma, torna-se essencial expandir os estudos imunogenéticos, explorando variantes localizadas em diferentes regiões de genes que integram a via metabólica da vitamina D.

A análise desses SNVs em populações amazônicas, como a deste estudo, pode contribuir para identificação de perfis genéticos associados à resistência ou suscetibilidade à infecção por *M. tuberculosis*. Tal abordagem pode ampliar a

compreensão dos mecanismos imunológicos envolvidos na doença e subsidiar o desenvolvimento de estratégias personalizadas de prevenção, diagnóstico e tratamento.

3. JUSTIFICATIVA

A Organização Mundial da Saúde estima que cerca de um quarto da população mundial esteja infectada por *Mycobacterium tuberculosis* em sua forma latente, destes indivíduos infectados, menos que 10% apresentarão a forma clínica da doença ao longo da vida. Segundo Behar *et al.* (2014), este é um dos fatos mais intrigantes a respeito da tuberculose (TB) e desperta crescente interesse da comunidade científica quanto aos fatores imunogenéticos que modulam a progressão da TB.

Reconhecida como uma das doenças infecciosas de maior impacto global, a TB apresenta alta morbimortalidade, com destaque para o Brasil. A situação epidemiológica da TB é particularmente preocupante no estado do Amazonas e em sua capital, Manaus, que registrou um dos maiores coeficientes de incidência da doença no país (Brasil, 2024). Diante desse cenário, é importante compreender os motivos que contribuem para tais índices elevados na região, bem como compreender os mecanismos imunológicos e genéticos subjacentes.

A resposta imune à TB é fortemente modulada pela constituição genética do hospedeiro, que regula aspectos críticos da resposta imunológica frente ao agente invasor (Orlova; Schurr, 2017). Nesse contexto, os estudos imunogenéticos oferecem uma abordagem valiosa para elucidar os mecanismos determinantes da infecção e progressão da doença (Abel *et al.*, 2017).

Entre os componentes chave dessa resposta destaca-se o receptor de vitamina D (VDR), cuja interação com seu ligante ativo modula tanto a imunidade inata quanto a adaptativa frente à *M. tuberculosis*. Diversos estudos têm apontado a associação entre variantes genéticas no gene *VDR* e a suscetibilidade à TB em diferentes populações. No entanto, ainda são escassas as investigações que explorem essas variantes, considerando as especificidades genéticas e epidemiológicas da população amazônica.

Neste contexto, as variantes genéticas em moléculas envolvidas na resposta imune à TB podem modificar a sua função fisiológica e contribuir para a suscetibilidade, gravidade e desfecho da doença (Souza de Lima *et al.*, 2016).

Assim, este estudo propõe investigar a frequência e o impacto funcional de variantes de nucleotídeo único (SNV) no gene *VDR* em pacientes com TB da região Norte do Brasil. Ao avançar no conhecimento sobre os fatores imunogenéticos associados à doença, os resultados poderão contribuir para a identificação de potenciais biomarcadores de risco, apoiar o desenvolvimento de estratégias de prevenção personalizada e ampliar a compreensão dos determinantes regionais da elevada carga de TB em Manaus.

OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar as variantes de nucleotídeo único (SNV - Single nucleotide variant) no gene do receptor da vitamina D (*VDR* - Vitamin D receptor) em pacientes com tuberculose.

4.2 Objetivos específicos

Estimar e avaliar as frequências alélicas e genotípicas das variantes de nucleotídeo único no gene *VDR* em pacientes com tuberculose pulmonar e em indivíduos controles.

Avaliar a interação das variantes genéticas do gene *VDR* com fatores epidemiológicos e comportamentais, incluindo sexo, idade, tabagismo e etilismo.

Analisar a associação entre variantes do gene *VDR* quanto ao risco ou proteção para o desenvolvimento de TB.

Avaliar combinações de haplótipos e o desequilíbrio de ligação (LD) entre as variantes do gene *VDR* e sua relação com a tuberculose.

Quantificar os níveis plasmáticos de 1,25-di-hidroxitamina D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) em indivíduos com diferentes variantes do gene *VDR*.

Determinar as concentrações de IFN- γ em subgrupos genotípicos selecionados.

MATERIAL E MÉTODOS

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo caso-controle com o objetivo de avaliar variantes de nucleotídeo único (SNV) no gene do receptor de vitamina D (*VDR*) em pacientes com tuberculose pulmonar e em indivíduos controles não acometidos pela doença.

5.2 População de estudo

A população de estudo foi constituída por indivíduos da região Norte do Brasil, predominantemente do estado do Amazonas, selecionados na Policlínica Cardoso Fontes, centro de pneumologia sanitária. Foram incluídos participantes com idade entre 18 e 65 anos, de ambos os sexos. O grupo de casos compreendeu pacientes diagnosticados com tuberculose pulmonar, enquanto o grupo controle foi formado por contatos desses pacientes que não apresentavam sinais clínicos da doença.

5.3 Local de coleta de amostra biológica

Os pacientes foram recrutados na Policlínica Cardoso Fontes, no município de Manaus, no setor de aprazamento I, onde rotineiramente são fornecidas as orientações sobre tratamento e a autorização para liberação dos medicamentos.

Os participantes foram convidados a integrar o estudo e, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e preenchimento da ficha de cadastro com dados epidemiológicos foi realizada a coleta de sangue periférico e amostras de escarro. Em virtude da pandemia de COVID-19, parte das amostras foi complementada com material previamente armazenado no biorepositório do Laboratório de Imunologia Molecular (LIM) da UFAM.

5.4 Cálculo da amostra

A seleção das variantes genéticas foi fundamentada em SNVs do gene *VDR* com frequência superior a 10% da população global, conforme dados da plataforma Ensembl (<https://www.ensembl.org/>).

A determinação do tamanho amostral necessário para este estudo foi realizada utilizando o software Gpower (versão 3.1), considerando teste de associação entre proporções (teste qui-quadrado) para estudo caso-controle. Foram adotados os parâmetros de $\alpha = 0,05$ (5%), $\beta = 0,10$ (10%) e poder da amostra de 0,95 (95%). Com base nesses parâmetros, o tamanho amostral estimado foi de aproximadamente 280 indivíduos por grupo (casos e controles) para atender aos critérios estatísticos estabelecidos e permitir uma representação adequada da população-alvo do estudo.

5.5 Aspectos éticos

Este projeto está associado ao projeto intitulado "Avaliação de polimorfismos genéticos relacionados à resposta imunológica na tuberculose" aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Amazonas, por meio da Plataforma-Brasil/CEP-UFAM, em 12 de julho de 2023. O número de registro do estudo é CAAE: 19021519.9.0000.5020, e o número do parecer correspondente é 6.178.672 (Anexo 1). Essa aprovação ética garante que todas as diretrizes e regulamentações relacionadas à pesquisa envolvendo seres humanos foram rigorosamente seguidas durante a condução do projeto.

5.6 Critérios de inclusão

O grupo de pacientes com tuberculose pulmonar foi composto por indivíduos sintomáticos que foram recém diagnosticados com a doença por meio de resultados positivos obtidos pelo Teste Rápido Molecular - TRM (GeneXpert) para *Mycobacterium tuberculosis*. Além disso, também são incluídos pacientes que tiveram baciloscopias de escarro positivas e/ou cultivo positivo do escarro com isolamento de *M. tuberculosis*, bem como aqueles que apresentam exames de imagem pulmonar compatíveis com o diagnóstico clínico.

O grupo controle incluiu indivíduos sem sinais clínicos da doença que acompanhavam os pacientes durante o diagnóstico laboratorial ou tratamento na respectiva policlínica. Esses contatos apresentaram resultados negativos para *M. tuberculosis* nos exames laboratoriais realizados.

5.7 Critério de exclusão

No estudo, foram excluídas as gestantes, os indivíduos que convivem com AIDS/HIV, os transplantados ou que estão em uso de imunossupressores, bem como indivíduos com TB que apresentaram outras comorbidades, tais como diabetes, neoplasias, hepatites virais e doenças autoimunes. Além disso, foram excluídos do estudo os pacientes que apresentaram resultados positivos na cultura para micobactérias não pertencentes ao complexo *M. tuberculosis*.

Também foram excluídos os contatos que, ao longo do projeto, manifestaram sintomas clínicos e/ou obtiveram resultados positivos na baciloscopia e/ou cultivo para *M. tuberculosis*.

5.8 Exames micobacteriológicos nas amostras de escarro

As amostras de escarro foram encaminhadas e registradas no Laboratório de Micobacteriologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Essas amostras passaram por exames de microscopia e cultivo. A técnica de baciloscopia direta (Brasil, 2008) foi utilizada, juntamente com a técnica de pós-concentração (Salem *et al.*, 1990), e a coloração da lâmina foi feita pela técnica de Kinyoun para a microscopia do escarro, visualizada em um microscópio óptico com uma objetiva de aumento de 1000x. Para o cultivo, foi empregado o método PKO (Petrof/Kudoh/Ogawa) (Salem *et al.*, 2007), e a identificação de *Mycobacterium tuberculosis* foi realizada por meio de PCR – Polymerase Chain Reaction, utilizando primers específicos para o elemento de inserção IS6110, conforme descrito por Hermans *et al.* (1990) e atualizado por Van Embden *et al.* (1993).

5.9 Processamento e extração de DNA das amostras de sangue

As amostras de sangue periférico (3 - 5 mL), coletadas em tubos contendo EDTA, foram registradas no Laboratório de Imunologia Molecular (LIM) da UFAM. Os plasmas foram separados e armazenados para análise da concentração de citocinas, enquanto o restante foi direcionado para a extração de DNA.

A extração dessas amostras foi realizada pela técnica descrita por Gustincich *et al.* (1993), com modificações, baseada na precipitação do DNA por sais de brometo de tetrametilamônio (DTAB/CTAB). Após a remoção do sobrenadante formado para a coleta da camada de leucócitos (buffy coat), o DTAB (detergente catiônico) a 12% lisa as membranas celulares e nucleares. A adição de clorofórmio promove uma desproteínização, fazendo com que o DNA fique em uma fase aquosa. A precipitação seletiva do DNA foi feita com o CTAB a 0,5%, seguida por lavagens para a purificação do DNA.

A quantificação do DNA dessas amostras foi conduzida utilizando um espectrofotômetro de luz UV. Posteriormente, elas foram diluídas e ajustadas às concentrações requeridas para cada ensaio e, em seguida, armazenadas a -20°C, até uso.

5.10 Genotipagem por PCR Quantitativa em Tempo Real (qPCR)

A genotipagem das variantes do gene do receptor de vitamina D (*VDR*) foi realizada por PCR quantitativa em tempo real (qPCR), utilizando o equipamento QuantStudio 3 Real-Time PCR System (*Applied Biosystems*). Foram empregadas sondas de hidrólise fluorescentes TaqMan SNP Genotyping (Thermo Fisher Scientific), alelo-específicas para as variantes rs2228570, rs7975232, rs731236 e rs1544410, conforme descrito no **Quadro 1**.

Para cada SNV, as reações de qPCR foram preparadas em microplacas de 96 poços, contendo os seguintes reagentes: TaqMan Genotyping Master Mix (composto por dNTPs, tampão, DNA polimerase e corante ROX), sondas TaqMan alelo-específicas para o gene *VDR*, DNA genômico e água ultrapura, totalizando um

volume final de 11 µL por poço, conforme descrito no **Quadro 2**. O corante ROX foi utilizado como referência passiva para correção de variações de fluorescência decorrentes de discrepâncias de volume ou pipetagem. Cada placa incluiu um controle negativo para garantir a qualidade e confiabilidade dos resultados. As condições de amplificação estão detalhadas no **Quadro 3**.

Quadro 1. Identificação das variantes de nucleotídeo único (SNVs) analisadas no gene *VDR* e respectivas sondas TaqMan utilizadas para genotipagem por qPCR.

SNV (VDR)	Cromossomo	Sequência da sonda 5'-[VIC/FAM]-3'	Alelos
rs2228570	12:47879112	GGAAGTGCTGGCCGCCATTGCCTCC[A/G] TCCCTGTAAGAACAGCAAGCAGGCC	A - referente G - variante
rs7975232	12:47845054	AAGGCACAGGAGCTCTCAGCTGGGC[A/C] CCTCACTGCTCAATCCCACCACCCC	C - referente A - variante
rs1544410	12:47846052	GAGCAGAGCCTGAGTATTGGGAATG[T/C] GCAGGCCTGTCTGTGGCCCCAGGAA	C - referente T - variante
rs731236	12:47844974	TGGACAGGCGGTCCTGGATGGCCTC[A/G] ATCAGCGCGGCGTCCTGCACCCCAG	A - referente G - variante

Legenda: ID SNV: Identificação da variante de nucleotídeo único; alelo REF: alelo referente; alelo VAR: alelo variante.

Quadro 2. Composição da reação de qPCR para genotipagem dos SNVs do gene *VDR*. Os volumes referem-se a cada poço em placa de 96 poços.

Reagentes	Concentração	Quantidade para 1 reação
Água ultrapura	1x	4,5 µL
TaqMen Genotyping Master Mix (2x)	1x	5,0 µL
Sonda TaqMan SNV Genotyping (20x)	0,5x	0,5 µL
DNA genômico	50 ng/µL	1,0 µL
Volume final	-	11,0 µL

Quadro 3. Condições de amplificação por qPCR em sistema QuantStudio 3 para genotipagem de SNVs do gene *VDR*.

Estágios	Condições de termociclagem
Hold stage	95°C por 10 minutos (1 ciclo)
PCR stage	95°C por 15 segundos (40 ciclos)
PCR stage	60°C por 1 minuto (40 ciclos)
Post-read stage	60°C por 30 segundos (1 ciclo)

As variantes rs2228570, rs7975232, rs1544410 e rs731236 do gene *VDR* foram analisadas por meio do software de discriminação alélica QuantStudio™ Design & Analysis Software v1.5.0. A interpretação dos resultados foi baseada nas curvas de amplificação geradas durante a reação de qPCR, associadas às intensidades de fluorescência emitidas pelos fluoróforos FAM e VIC. A partir dessa análise, os genótipos foram classificados como homozigotos para o alelo de referência, homozigotos para o alelo variante ou heterozigotos. Essa abordagem permitiu a identificação dos genótipos individuais de cada amostra, sendo fundamental para a posterior análise estatística da associação entre as variantes do gene *VDR* e a tuberculose pulmonar.

5.11 Dosagem de hidroxivitamina D e IFN- γ

Após a identificação de associação significativa entre as variantes do gene *VDR* e a tuberculose pulmonar, procedeu-se à dosagem das concentrações de 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] em amostras de plasma EDTA. Foram selecionadas 20 amostras, sendo 10 provenientes de indivíduos com tuberculose pulmonar e 10 de controles, priorizando a representatividade dos diferentes genótipos dos SNVs avaliados no gene *VDR*, garantindo diversidade alélica e integridade dos dados genotípicos.

Essa estratégia permitiu uma análise exploratória da relação entre variantes genéticas e os níveis circulantes de 25(OH)D, respeitando critérios de qualidade amostral e viabilidade técnica. A dosagem foi realizada por imunoensaio de quimioluminescência (CLIA) utilizando protocolo automatizado conforme as recomendações do fabricante em laboratório clínico terceirizado. Os valores de concentração de 25(OH)D foram expressos em ng/mL.

Adicionalmente, foram quantificadas as concentrações de Interferon-gama (IFN- γ) em amostras de plasma. Para isso, foi utilizado o kit Pro Quantum™ (Invitrogen), baseado em PCR quantitativo (qPCR) de alta sensibilidade. As amostras foram distribuídas em duas placas de 96 poços, uma contendo exclusivamente os controles e outra contendo os pacientes com TB. A metodologia seguiu as instruções conforme protocolo fornecido pelo fabricante e a quantificação foi realizada por interpolação dos valores obtidos em curva-padrão, os resultados foram expressos em pg/mL.

5.12 Limitações do estudo

Este estudo apresenta algumas limitações que devem ser consideradas na interpretação dos resultados.

Apesar do tamanho amostral adequado para as análises genéticas principais, a dosagem de 25(OH)D e IFN- γ foi realizada em um subconjunto reduzido de amostras, o que restringe o poder estatístico para análises estratificadas por genótipos ou covariáveis clínicas. Essa limitação decorre de questões logísticas e de custo, particularmente relacionadas à viabilidade de ensaios bioquímicos e imunológicos em larga escala.

Outro ponto a ser considerado é a ausência de informações completas sobre variáveis comportamentais e ambientais que podem influenciar os níveis de vitamina D, como hábitos alimentares, tempo de exposição solar, uso de suplementos, presença de coinfeções e estado nutricional. Tais fatores podem influenciar significativamente os níveis séricos de vitamina D e, por consequência, modular a resposta imune ao *M. tuberculosis*.

Por fim, a heterogeneidade populacional inerente à região amazônica, marcada por um contexto socioeconômico desigual e diversidade étnica significativa, pode introduzir vieses de estratificação populacional não completamente controlados, mesmo com o uso de ajustes multivariados.

Apesar dessas limitações, os achados contribuem para o avanço do conhecimento sobre os fatores imunogenéticos associados à tuberculose e abrem caminho para investigações futuras mais amplas, funcionais e integradas.

5.13 Plano analítico dos dados

Uma análise estatística foi conduzida com os dados obtidos dos grupos controle e de pacientes com TB pulmonar, considerando informações epidemiológicas, como sexo, idade, histórico de vacinação com BCG, tabagismo e consumo de álcool.

As variantes genéticas foram avaliadas quanto ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), utilizando o software estatístico R (versão 3.6.2) em conjunto com o pacote "SNPassoc" (versão 1.9-2) para as análises de associação genotípica.

A análise estatística comparativa das frequências alélicas e genotípicas entre os grupos de pacientes e os controles foi realizada por meio de tabelas de contingência 2x2, aplicando-se o teste qui-quadrado (χ^2).

As análises das concentrações de IFN-gama e Vitamina D em relação aos genótipos de *VDR* foram realizadas utilizando-se a Análise de Variância (ANOVA) ou Kruskal Wallis, dependendo da natureza dos dados.

O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$, com intervalo de confiança de 95%. As análises estatísticas foram conduzidas com o objetivo de identificar possíveis associações entre as variantes genéticas estudadas e a TB pulmonar, contribuindo para o entendimento da participação de fatores genéticos na doença.

Além disso, o software Haploview (Barrett *et al.*, 2005) foi empregado para análise de frequência alélica, análise de haplótipos e avaliação do desequilíbrio de ligação (LD).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Descrição da população recrutada

O presente estudo incluiu 640 participantes, sendo 321 pacientes diagnosticados com tuberculose pulmonar e 319 indivíduos do grupo controle. Foram coletadas informações epidemiológicas de todos os participantes, referentes à idade, sexo, naturalidade, tabagismo, etilismo e histórico vacinal com BCG.

As amostras de sangue foram processadas para extração de DNA genômico, permitindo a análise de variantes genéticas no gene do receptor da vitamina D (*VDR*). A genotipagem foi bem-sucedida em mais de 98% das amostras, contudo uma proporção limitada de amostras foi excluída das análises devido à presença de genótipos indeterminados.

Parte das amostras analisadas foi proveniente do biorrepositório do laboratório, devido à interrupção temporária das coletas durante a pandemia de COVID-19. Todas foram incluídas respeitando os critérios metodológicos e éticos estabelecidos para o estudo.

6.2 Características gerais da população estudada

As características gerais dos grupos estudados estão descritas na **Tabela 2**.

Tabela 2 – Características gerais dos pacientes de TB e controles.

Características	Pacientes de TB	Controles
Idade (Média e Desvio padrão)	38.3 ± 14.5	32.7 ± 12.2
Sexo:		
Masculino	59.5%	42.9%
Feminino	40.5%	57.1%
Naturalidade:		
Manaus	52,7%	64,3%
Outros municípios do Amazonas	28,8%	21,8%
Municípios de outros estados	18,5%	13,9%

Tabagismo:		
Sim	27.2%	9.1%
Não	72,8%	90,9%
Alcoolismo:		
Sim	31.7%	22.4%
Não	68,3%	77,6%
Vacinação BCG:		
Sim	88,9%	93.8%
Não	11,1%	6,2%

Foram analisados 321 pacientes com TB pulmonar e 319 indivíduos do grupo controle. A média de idade entre os pacientes foi de $38,3 \pm 14,5$ anos, enquanto os controles apresentaram média de $32,7 \pm 12,2$ anos, indicando um perfil etário mais avançado entre os pacientes, o que está de acordo com a literatura que aponta aumento da suscetibilidade à TB com o avanço da idade.

Em relação ao sexo, observou-se maior proporção de homens entre os casos (59,5%) em comparação aos controles (42,9%), ao passo que o grupo controle apresentou predomínio feminino (57,1%). Essa distribuição está em consonância com dados epidemiológicos nacionais, que apontam maior incidência de TB em adultos do sexo masculino (Brasil, 2016). Segundo o Boletim Epidemiológico de 2025, os homens representaram 68,2% de todos os casos de tuberculose notificados no Brasil em 2024. Essa predominância pode ser atribuída a diversos fatores, entre eles o maior envolvimento em comportamentos de risco que favorecem à infecção ativa, como o consumo excessivo de álcool e o tabagismo, além da exposição ocupacional mais intensa em ambientes aglomerados durante a fase de maior produtividade profissional (Marçôa *et al.*, 2018; WHO, 2023).

O tabagismo foi relatado por 27,2% dos pacientes com TB, enquanto o etilismo foi referido por 31,7%. Essas prevalências são relevantes, uma vez que o tabagismo está associado à progressão da infecção latente para a doença ativa e a desfechos clínicos desfavoráveis, incluindo pior resposta ao tratamento (Lee; Young; Smith, 2020).

O tabagismo exerce efeitos imunossupressores bem documentados, prejudicando a função de células essenciais como macrófagos, com redução da atividade fagocítica e comprometimento da sinalização por TLRs, e linfócitos T, com

diminuição na produção de citocinas efetoras como IFN- γ , TNF- α e IL-2 (Jiang *et al.*, 2020). Também está associado a um maior risco de reativação da infecção latente da TB, além disso, o tabagismo está associado a uma resposta inflamatória exacerbada nos pulmões, agravando o quadro clínico da doença. Os fumantes têm uma resposta reduzida ao tratamento padrão da TB, o que pode acarretar maior dificuldade no combate à infecção. (Hu *et al.*, 2024; Feldman *et al.*, 2024; Feng *et al.*, 2023). No Brasil, evidências apontam que fumantes têm um risco 2,5 vezes maior de recorrência da TB e apresentam pior adesão ao tratamento, aumentando as chances de recaída e desenvolvimento de formas multirresistentes da doença (Novotny *et al.*, 2017).

O alcoolismo também compromete o sistema imunológico, aumentando a vulnerabilidade dos pacientes à infecção e dificultando o controle da replicação do bacilo (Rehm, 2009). Conforme relatado por Raviglione *et al.* (2011), o consumo de álcool tem sido associado como uma das causas de deficiência de nutrientes, o que pode comprometer a imunidade do hospedeiro. Em um estudo realizado no Amazonas, foi identificada uma associação significativa entre o tabagismo ($p < 0,0001$; OR = 6,55; IC95% = 3,2-13,6) e distúrbios no consumo de álcool ($p < 0,0001$; OR = 7,14; IC95% = 3,7-13,9) com o desenvolvimento de TB pulmonar (Barletta-Naveca *et al.*, 2016).

O consumo da bebida interfere no funcionamento das células imunes, desencadeando efeitos pró-inflamatórios que prejudicam a capacidade do organismo de controlar a replicação do bacilo. Consequentemente, há uma maior carga bacteriana e disseminação acelerada da infecção, levando a uma progressão mais rápida da doença e os sintomas podem se manifestar de forma mais intensa (Morojele, 2021). Estudos demonstram que o consumo de álcool está associado a desfechos negativos no tratamento da tuberculose, incluindo o abandono terapêutico e o aumento da mortalidade. O uso de substâncias psicoativas, como o álcool, compromete a adesão ao tratamento e está relacionado a maiores taxas de insucesso terapêutico (Reis *et al.*, 2024; Pavinati *et al.*, 2024).

Quanto à vacinação, observou-se que 93,8% dos indivíduos do grupo controle relataram ter recebido a vacina BCG, enquanto entre os pacientes com TB pulmonar, essa proporção foi de 88,9%, evidenciando uma leve diferença na cobertura vacinal entre os grupos. Embora a BCG não previna a infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*, sua eficácia na proteção contra formas graves da doença, como a meningite tuberculosa e a TB miliar, é amplamente reconhecida (SBIm).

A proteção conferida pela BCG contra a tuberculose pulmonar é limitada, variando conforme fatores como idade, região geográfica e status imunológico do indivíduo (Mangtani *et al.*, 2014). Nesse contexto, reforça-se a necessidade de estratégias integradas de controle da doença, combinando vacinação, diagnóstico precoce, tratamento adequado dos casos ativos e medidas efetivas de saúde pública voltadas à interrupção da cadeia de transmissão.

6.3 Análise das variantes nos genes *VDR*

A genotipagem foi bem-sucedida em 626 a 633 das 640 amostras testadas, a depender do SNV avaliado. Para o SNV rs2228570, foram identificadas 11 amostras com genótipos indeterminados, enquanto para o rs7975232 houve 14 indeterminadas. As variantes rs731236 e rs1544410 apresentaram falhas de genotipagem em 7 amostras cada. A presença desses casos pode ser atribuída à baixa qualidade do DNA extraído, falhas na amplificação por qPCR ou reações de fluorescência ambíguas que dificultaram a correta discriminação alélica. As demais amostras com genótipos válidos foram incluídas nas análises de frequência genotípica, equilíbrio de Hardy-Weinberg e análises de associação com tuberculose pulmonar.

A interpretação dos resultados foi conduzida com base no perfil das curvas de amplificação geradas durante a reação (**figuras 5 a 8**), possibilitando a distinção entre genótipos homozigotos e heterozigotos para cada variante.

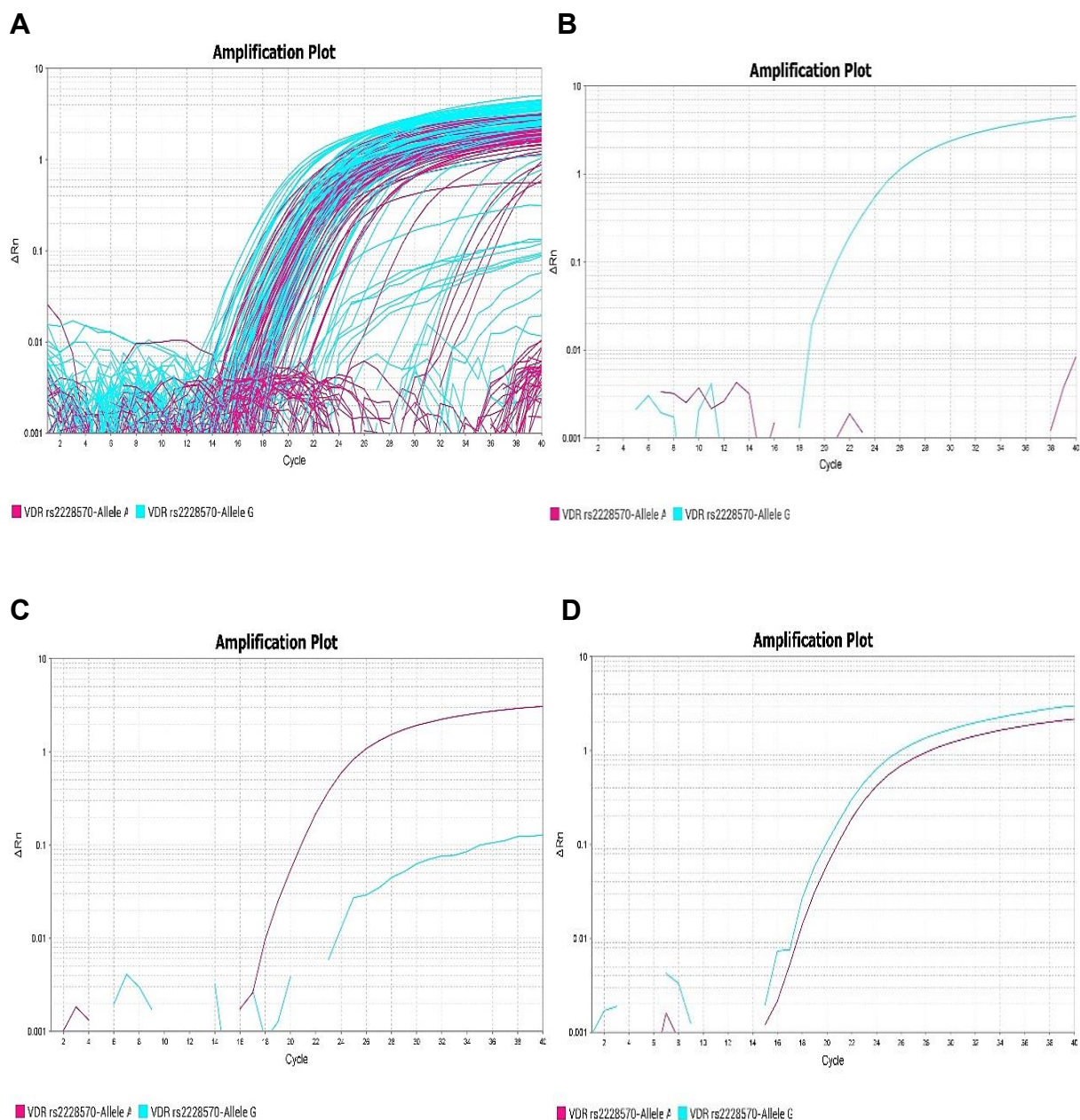


Figura 5 – Curvas de amplificação gerada para a variante rs2228570 do gene *VDR*.
 A – Curvas correspondentes às 94 amostras analisadas. B – Genótipo homozigoto para o alelo referência (G/G). C - Genótipo homozigoto para o alelo variante (A/A). D – Genótipo heterozigoto (A/G).

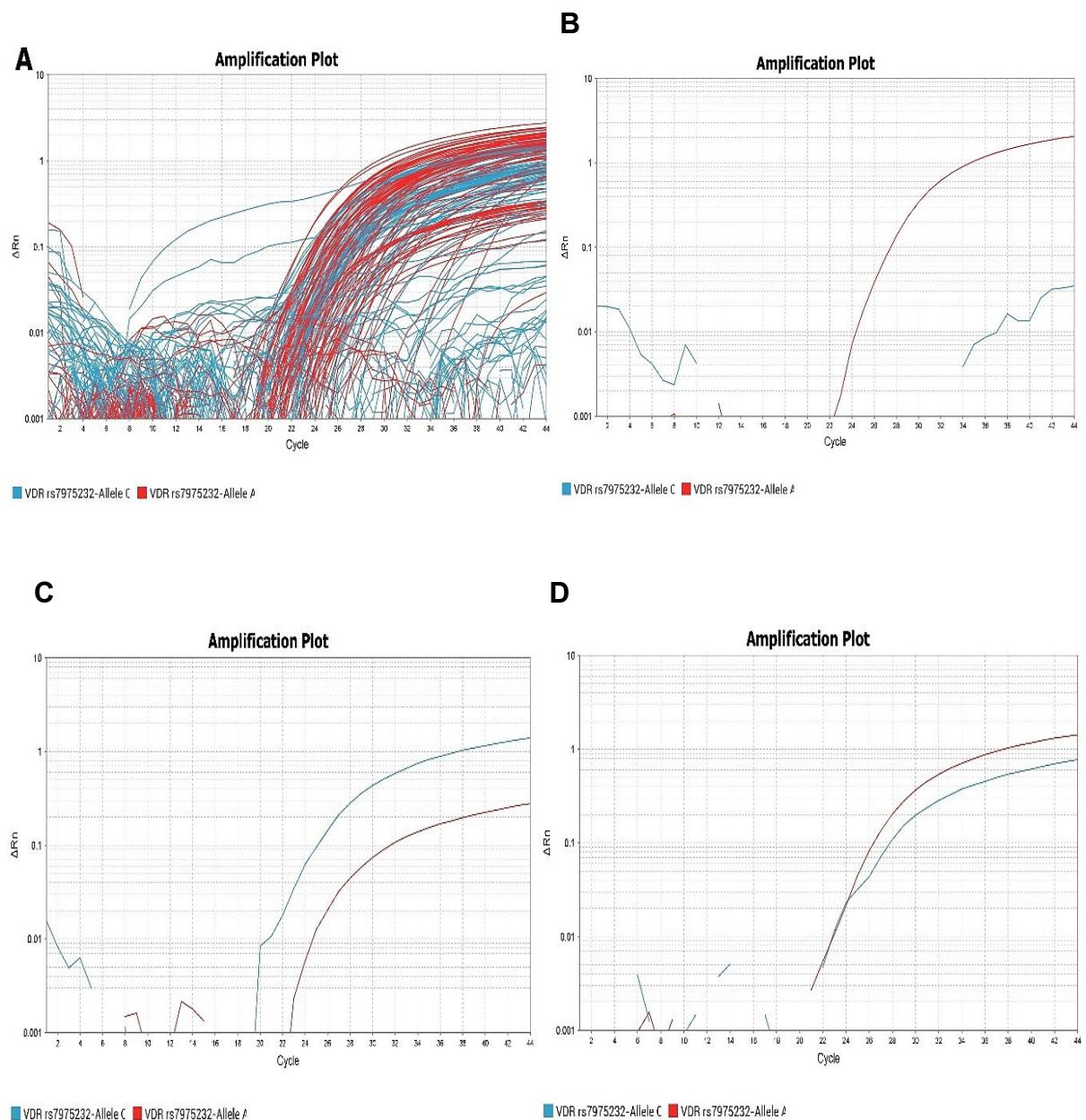


Figura 6 – Curva de amplificação obtidas para a variante rs7975232 do gene *VDR*. A – Curvas correspondentes às 94 amostras analisadas. B – Genótipo homozigoto para o alelo referência (A/A). C – Genótipo homozigoto para o alelo variante (C/C). D - Genótipo heterozigoto (A/C).

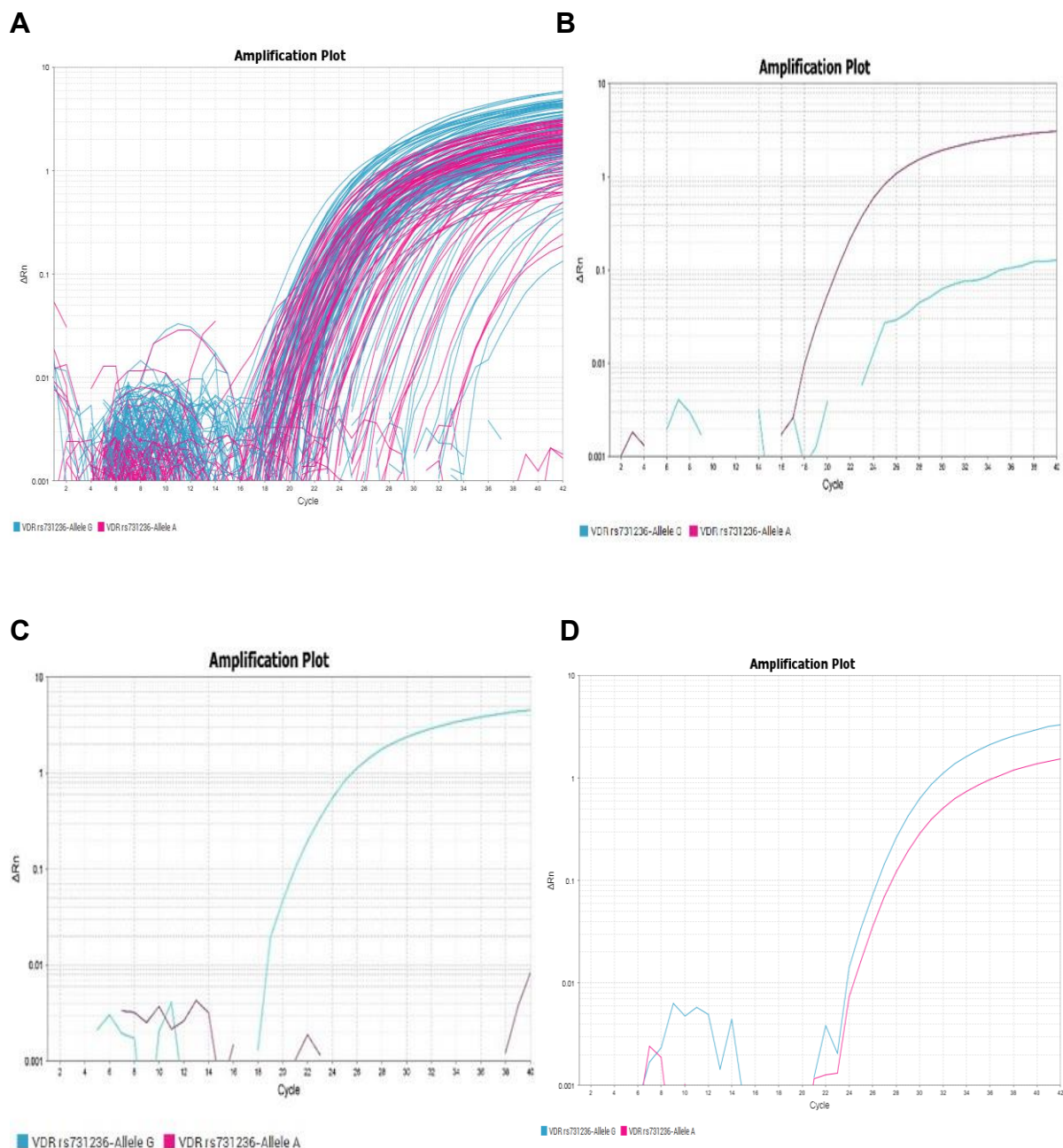


Figura 7 – Curvas de amplificação obtidas para a variante rs731236 do gene *VDR*.
A - Curvas correspondentes às 94 amostras analisadas. B – Genótipo homozigoto para o alelo de referência (A/A). C - Genótipo homozigoto para o alelo variante (G/G). D – Genótipo heterozigoto (A/G).

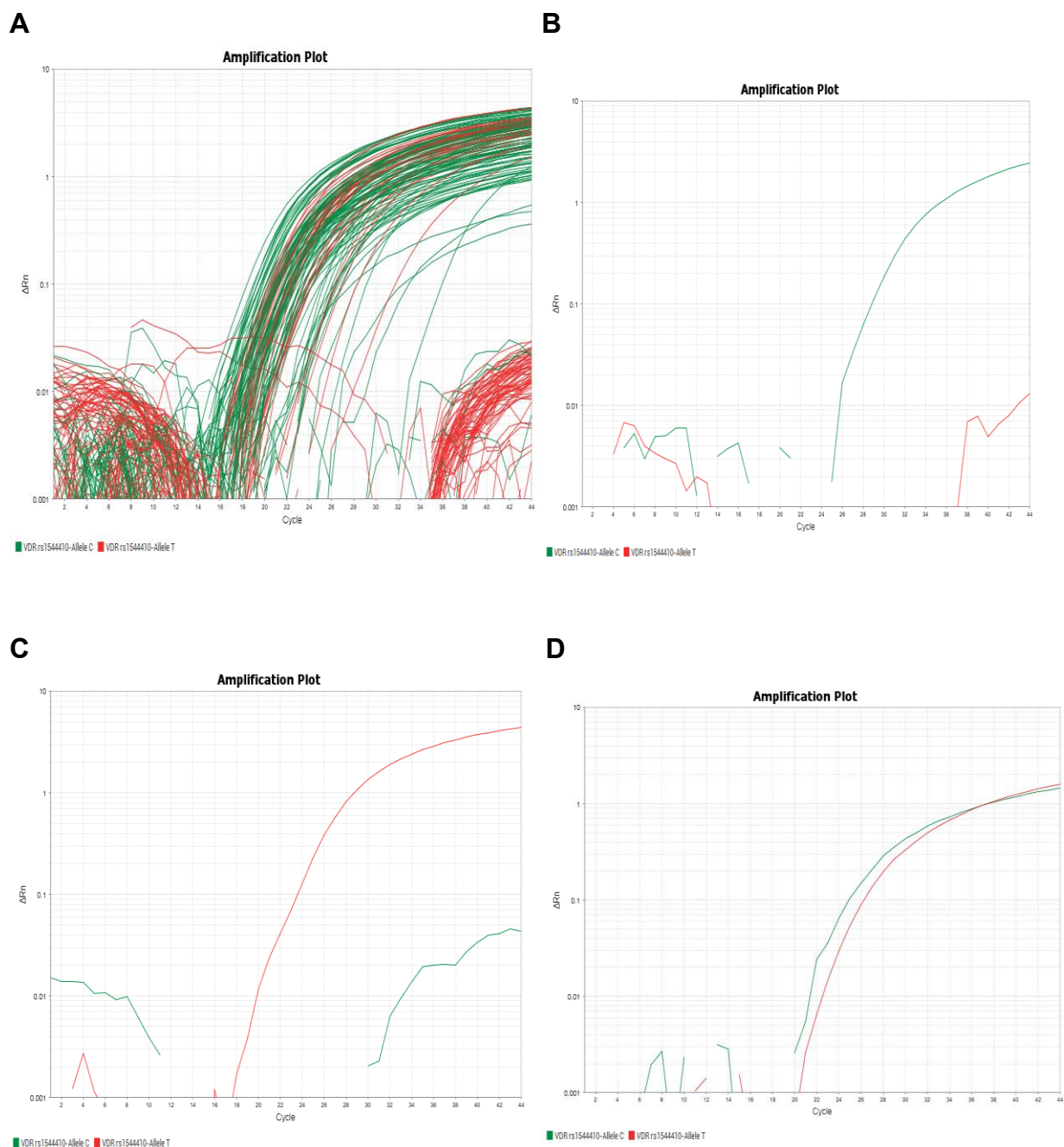


Figura 8 – Curvas de amplificação obtidas para a variante rs1544410 do gene *VDR*.
 A - Curvas correspondentes às 94 amostras analisadas. B – Genótipo homozigoto para o alelo de referência (C/C). C - Genótipo homozigoto para o alelo variante (T/T). D – Genótipo heterozigoto (T/C).

As frequências genotípicas observadas no grupo controle foram avaliadas quanto ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE). Nenhuma das variantes apresentou desvio estatisticamente significativo ($p \geq 0,05$), indicando que a distribuição dos genótipos nos controles está em conformidade com as expectativas teóricas (Quadro 4).

Quadro 4 – Teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) no grupo controle para os SNVs do gene *VDR*.

Gene	ID SNV	Controles (p -EHW)
<i>VDR</i>	rs2228570	0.503
	rs7975232	0.871
	rs731236	0.090
	rs1544410	0.065

Com base nos dados de genotipagem válidos, foram realizadas análises de associação entre as variantes do gene *VDR* e a ocorrência de tuberculose pulmonar. Foram aplicados diferentes modelos genéticos (codominante, dominante, recessivo, overdominante e log-aditivo), avaliados com e sem ajuste por variáveis epidemiológicas, incluindo sexo, tabagismo e etilismo, conforme apresentado nas próximas subseções e tabelas. Os resultados ajustados mantiveram-se consistentes com os obtidos nas análises não ajustadas. Os valores de p correspondentes aos modelos ajustados estão disponíveis no **Anexo**.

6.3.1 Associação do rs2228570 (FokI) com tuberculose pulmonar

A variante **rs2228570 (FokI)** do gene *VDR* apresentou uma associação marginal com TB pulmonar no modelo log-aditivo ($OR = 1,26$, $IC95\% = 1,00-1,57$ e $p = 0,046$). Esse resultado sugere que a presença crescente do alelo A pode estar associada a um risco discretamente aumentado para a doença. Os demais modelos (codominante, dominante, recessivo e overdominante) não demonstraram associação estatisticamente significativa como indica a **Tabela 3**.

Tabela 3 – Resultados das análises de associação da variante rs2228570 do gene *VDR*, com base nos modelos genéticos, entre pacientes com tuberculose pulmonar e indivíduos controle.

VDR Modelo genético	Controles n (%)	TB n (%)	p-valor	OR (95% CI)	AIC
<u>Codominante</u>					
A/A	44 (13.9)	56 (17.9)	0.136	1.00	873.9
A/G	142 (44.8)	149 (47.8)		1.28 (0.91-1.81)	
G/G	131 (41.3)	107 (34.3)		1.56 (0.97-2.49)	
<u>Dominante</u>					
G/G	131 (41.3)	107 (34.3)	0.069	1.00	872.6
A/G-A/A	186 (58.7)	205 (65.7)		1.35 (0.98-1.86)	
<u>Recessivo</u>					
G/G-A/G	273 (86.1)	256 (82.1)	0.163	1.00	874.0
A/A	44 (13.9)	56 (17.9)		1.36 (0.88 -2.09)	
<u>Overdominante</u>					
G/G-A/A	175 (55.2)	163 (52.2)	0.456	1.00	875.4
A/G	142 (44.8)	149 (47.8)		1.13 (0.82-1.54)	
<u>Log-Aditivo</u>					
0,1,2	317	312	0.046	1.26 (1,01-1.57)	872.0

TB: tuberculose pulmonar; CS: controles; OR: odds ratio; AIC: Akaike information criterion value.

O rs2228570 é uma variante funcional que altera o códon de iniciação da tradução, resultando em duas isoformas da proteína *VDR*, com diferentes tamanhos e atividades transcricionais. A isoforma mais curta, associada ao alelo G (ou C, conforme a fita), é mais ativa na modulação da expressão de genes imunorregulatórios, como o gene da catelicidina (CAMP) e do TNF- α (Arai *et al.*, 1997; Uitterlinden *et al.*, 2004).

Estudos anteriores também relataram associação entre rs2228570 e suscetibilidade à TB em diferentes populações, especialmente em modelos aditivos ou dominantes, o que reforça a possibilidade de que o número de alelos A influencie o risco à infecção ou progressão da doença (Bornman *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2006; Gao *et al.*, 2010). No entanto, a ausência de significância nos demais modelos sugere que o efeito da variante seja modesto e não dominante, reforçando a importância da escolha criteriosa dos modelos genéticos (Bush & Moore, 2012).

A deficiência de vitamina D é reconhecida como um importante fator de risco para a TB, pois níveis insuficientes comprometem a ativação de respostas imunes mediadas pelo *VDR*. Variantes nesse gene, como o rs2228570 (FokI), também podem contribuir para essa suscetibilidade. El Shimi et al. (2020) observaram que pacientes com TB apresentaram níveis significativamente mais baixos de vitamina D, e os genótipos Ff e ff do rs2228570 foram associados a maior risco para a doença. Assim, tanto a deficiência de vitamina D quanto variantes específicas do *VDR* podem predispor à TB, embora a interação funcional entre eles ainda exija investigação mais aprofundada.

6.3.2 Ausência de associação do rs7975232 (Apal)

Para a variante **rs7975232 (Apal)**, nenhum dos modelos genéticos avaliados demonstrou associação estatisticamente significativa com a tuberculose pulmonar. As frequências genótípicas foram semelhantes entre os grupos, como indica a **Tabela 4**.

Tabela 4 – Resultados das análises de associação da variante rs7975232 do gene *VDR*, com base nos modelos genéticos, entre pacientes com tuberculose pulmonar e indivíduos controle.

VDR Modelo genético	Controles n (%)	TB n (%)	p-valor	OR (95% CI)	AIC
<u>Codominante</u>					
A/A	101 (32.2)	96 (30.8)	0.518	1.00	872.5
A/C	157 (50.0)	149 (47.8)		1.00 (0.70-1.43)	
C/C	56 (17.8)	67 (21.5)		1.26 (0.80-1.98)	
<u>Dominante</u>					
A/A	101 (32.2)	96 (30.8)	0.707	1.00	871.7
A/C-C/C	213 (67.8)	216 (69.2)		1.07 (0.76-1.50)	
<u>Recessivo</u>					
A/A-A/C	258 (82.2)	245 (78.5)	0.252	1.00	870.5
C/C	56 (17.8)	67 (21.5)		1.26 (0.85-1.87)	
<u>Overdominante</u>					
A/A-C/C	157 (50.0)	163 (52.2)	0.575	1.00	871.5
A/C	157 (50.0)	149 (47.8)		0.91 (0.67-1.25)	
<u>Log-Aditivo</u>					
0,1,2	314	312	0.372	1.11 (0.89-1.38)	871.0

TB: tuberculose pulmonar; CS: controles; OR: odds ratio; AIC: Akaike information criterion value.

Esses achados sugerem que, na população estudada, o rs7975232 não está associado à suscetibilidade à TB pulmonar, embora já tenha sido implicado em outras doenças infecciosas e autoimunes, como hanseníase e lúpus (Kang *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2012).

Esse SNV já foi descrito como possível modulador da expressão do gene *VDR* por meio de seu efeito sobre a estabilidade do RNA mensageiro (Uitterlinden *et al.*, 2004), mas os resultados obtidos reforçam a hipótese de que sua influência sobre a TB pode variar entre diferentes populações ou contextos clínicos, como apontado por meta-análises anteriores (Gao *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2006). Resultados semelhantes foram observados em outras populações, onde a variante rs7975232 também não apresentou associação significativa com a tuberculose, tanto nas análises alélicas quanto nos diferentes modelos genéticos avaliados (Jafari *et al.*, 2016; Marashian *et al.*, 2010; Rashedi *et al.*, 2014).

6.3.3 Associação protetora do rs731236 (TaqI)

A variante **rs731236 (TaqI)** do gene *VDR* apresentou associação estatisticamente significativa com a TB pulmonar nos modelos codominante ($p = 0,041$), dominante ($p = 0,012$) e log-aditivo ($p = 0,015$). No modelo dominante, indivíduos portadores de pelo menos uma cópia do alelo G (genótipos A/G - G/G) apresentaram menor risco para TB (OR = 0,67; IC95%: 0,49–0,92), em comparação aos homozigotos A/A. Resultado semelhante foi observado no modelo log-aditivo, que indicou um efeito dose-resposta com o aumento do número de cópias do alelo G (OR = 0,74; IC95%: 0,58–0,95), sugerindo uma associação protetora com a presença crescente desse alelo. (**Tabela 5**).

No modelo codominante, o genótipo heterozigoto A/G apresentou associação estatisticamente significativa com proteção contra a TB (OR = 0,68; IC95%: 0,49–0,96), enquanto o genótipo G/G não apresentou associação significativa. Esse padrão sugere um possível efeito heterozigoto mais evidente na população estudada, indicando uma potencial vantagem heterozigótica. Esses achados reforçam a importância de considerar diferentes modelos genéticos e interpretações biológicas no estudo da relação entre variantes do gene *VDR* e a suscetibilidade à TB.

Tabela 5 – Resultados das análises de associação da variante rs731236 do gene *VDR*, com base nos modelos genéticos, entre pacientes com tuberculose pulmonar e indivíduos controle.

VDR Modelo genético	Controles n (%)	TB n (%)	p-valor	OR (95% CI)	AIC
<u>Codominante</u>					
A/A	154 (49.0)	188 (58.9)	0.041	1.00	877.1
A/G	128 (40.8)	107 (33.5)		0.68 (0.49-0.96)	
G/G	32 (10.2)	24 (7.5)		1.26 (0.80-1.98)	
<u>Dominante</u>					
A/A	154 (49.0)	188 (58.9)	0.012	1.00	875.2
A/G-G/G	160 (51.0)	131 (41.1)		0.67 (0.49-0.92)	
<u>Recessivo</u>					
A/A-A/G	282 (89.8)	295 (92.5)	0.237	1.00	880.1
G/G	32 (10.2)	24 (7.5)		0.72 (0.41-1.25)	
<u>Overdominante</u>					
A/A-G/G	186 (59.2)	212 (66.5)	0.060	1.00	877.9
A/G	128 (40.8)	107 (33.5)		0.73 (0.53-1.01)	
<u>Log-Aditivo</u>					
0,1,2	314	319	0.015	0.74 (0.58-0.95)	875.6

Localizado na região 3' não traduzida do gene *VDR*, o rs731236 pode influenciar o processamento do mRNA ou estar em desequilíbrio de ligação com variantes funcionais (Uitterlinden *et al.*, 2004). Estudos anteriores relataram associações semelhantes entre esse SNV e menor risco para TB, particularmente em populações asiáticas e africanas (Gao *et al.*, 2010; Bornman *et al.*, 2004), sugerindo um possível efeito protetor populacionalmente específico.

6.3.4 Associação significativa do rs1544410 (BsmI)

A variante **rs1544410 (BsmI)** apresentou associação estatisticamente significativa com a TB pulmonar em três modelos genéticos: codominante ($p = 0,0008$), recessivo ($p = 0,0002$) e log-aditivo ($p = 0,009$), indicando que indivíduos homozigotos para o alelo T (T/T) apresentaram um risco reduzido para TB (OR = 0,33;

IC95%: 0,18–0,61), em comparação com os portadores de pelo menos um alelo C (Tabela 6).

Tabela 6 – Resultados das análises de associação da variante rs1544410 do gene *VDR*, com base nos modelos genéticos, entre pacientes com tuberculose pulmonar e indivíduos controle.

VDR Modelo genético	Controles n (%)	TB n (%)	p-valor	OR (95% CI)	AIC
<u>Codominante</u>					
C/C	164 (52.2)	183 (57.4)	0.0008	1.00	869.3
T/C	109 (34.7)	121 (37.9)		0.99 (0.71-1.39)	
T/T	41 (13.1)	15 (4.7)		0.33 (0.17-0.61)	
<u>Dominante</u>					
C/C	164 (52.2)	183 (57.4)	0.194	1.00	879.8
T/C-T/T	150 (47.8)	136 (42.6)		0.81 (0.59-1.11)	
<u>Recessivo</u>					
C/C-T/C	273 (86.9)	304 (95.3)	0.0002	1.00	867.3
T/T	41 (13.1)	15 (4.7)		0.33 (0.18-0.61)	
<u>Overdominante</u>					
C/C-T/T	205 (65.3)	198 (62.1)	0.400	1.00	880.8
T/C	109 (34.7)	121 (37.9)		1.15 (0.83-1.59)	
<u>Log-Aditivo</u>					
0,1,2	314	319	0.009	0.73 (0.57-0.93)	874.7

O rs1544410 encontra-se no íntron 8, próximo ao sítio de poliadenilação do *VDR*, podendo afetar a estabilidade do mRNA ou refletir ligação com outras variantes funcionais próximas (Uitterlinden *et al.*, 2004). Estudos prévios também têm identificado associações entre o alelo T e maior expressão de *VDR* ou modulação mais eficiente da resposta imune inata (Babb *et al.*, 2007; Gao *et al.*, 2010), o que está em consonância com os resultados observados.

6.3.5 Comparação entre variantes e modelos

A análise conjunta das variantes do gene *VDR* revelou perfis distintos de associação com a tuberculose pulmonar. Os SNVs rs731236 (TaqI) e rs1544410 (BsmI) apresentaram associação estatisticamente significativa com a doença, sugerindo um possível efeito protetor dos alelos G (rs731236) e T (rs1544410), respectivamente.

A variante rs2228570 (FokI) apresentou associação marginal apenas no modelo log-aditivo, com tendência de aumento do risco associado à presença do alelo A. Por outro lado, o rs7975232 (ApaI) não apresentou associação significativa em nenhum dos modelos testados.

Coletivamente, os dados reforçam a relevância de estratégias analíticas específicas para cada modelo genético na investigação de variantes imunorregulatórias. Observou-se uma heterogeneidade funcional entre os SNVs do gene *VDR*, com associações estatisticamente significativas apenas para variantes localizadas na região 3' do gene, como rs731236 e rs1544410. Essas variantes demonstraram possível efeito protetor contra a tuberculose pulmonar, especialmente em populações sul-asiáticas e caucasianas, conforme evidenciado por meta-análise recente (Wang; Li, 2019). Esses achados indicam o potencial dessas variantes como biomarcadores genéticos para estratificação de risco na infecção por *Mycobacterium tuberculosis*.

Os achados do presente estudo dialogam com evidências consolidadas na literatura. Uma meta-análise conduzida por Tao *et al.* (2024) avaliou especificamente o SNV rs2228570 (FokI) do gene *VDR* e demonstrou associação significativa com a tuberculose, sobretudo em populações asiáticas, nos modelos alélico e recessivo. Além disso, a metanálise de Lee e Song (2015) analisou múltiplas variantes, incluindo rs1544410 (BsmI), rs7975232 (ApaI) e rs731236 (TaqI), e encontrou associação consistente apenas para rs2228570, também com maior magnitude em asiáticos. Já estudos complementares indicam que a variante BsmI pode conferir efeito protetor em alguns grupos (Wu *et al.*, 2013), enquanto TaqI tem sido associada à doença em populações específicas, como iraniana e indiana (Li *et al.*, 2022). Os resultados da presente pesquisa convergem parcialmente com essas análises, especialmente no que tange à relação entre rs2228570 e rs1544410 e o risco para a forma pulmonar da

tuberculose, reforçando a importância de análises genéticas estratificadas por população.

Esses achados sustentam a hipótese de que diferentes variantes do gene *VDR* exercem efeitos funcionais distintos sobre a suscetibilidade à tuberculose, conforme o contexto populacional. Reforçam, ainda, a importância da escolha criteriosa de modelos genéticos utilizados nas análises, uma vez que o tipo de herança pode influenciar a detecção de efeitos reais.

Por fim, é importante destacar que a associação entre variantes do *VDR* e a tuberculose ainda é controversa na literatura. As discrepâncias entre estudos podem refletir a heterogeneidade genética entre populações, o uso de amostras com poder estatístico limitado e a ausência de controle para fatores ambientais, como os níveis séricos de vitamina D. A identificação de tais marcadores pode ampliar a compreensão dos mecanismos imunomodulatórios mediados pela via da vitamina D e orientar o desenvolvimento de estratégias personalizadas de prevenção e tratamento da TB.

6.4 Análise de haplótipos

A análise de desequilíbrio de ligação (LD) revelou a formação de um bloco de haplótipos entre os SNVs rs731236, rs7975232 e rs1544410 (**Figura 9**). Observou-se desequilíbrio de ligação moderado a forte entre os pares rs7975232–rs1544410 ($D' = 0,81$; $LOD = 34,43$) e rs731236–rs7975232 ($D' = 0,78$; $LOD = 30,36$), indicando herança conjunta preferencial desses alelos.

Em contraste, o SNV rs2228570 apresentou valores baixos de D' em relação aos demais, com destaque para o par rs1544410–rs2228570, que apresentou $D' = 0,16$, sugerindo independência na segregação desses loci. Esse achado é coerente com a posição física mais distal do rs2228570 no gene *VDR*, localizado no éxon 2, na região 5' do gene. Por outro lado, os SNVs rs731236, rs7975232 e rs1544410 encontram-se próximos entre si, em regiões intrônicas e na 3' UTR, o que favorece maior correlação genômica e formação de bloco de desequilíbrio de ligação.

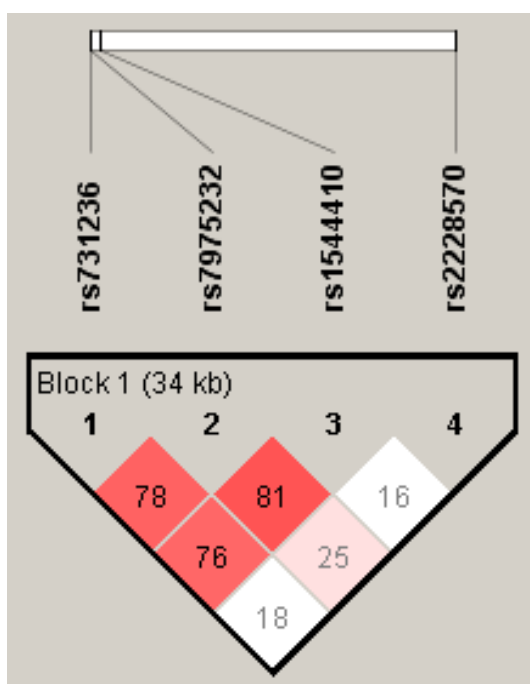


Figura 9 – Análise de desequilíbrio de ligação (LD) entre as variantes do gene *VDR*.

A análise de associação por haplótipos (**Tabela 7**) identificou dez combinações haplotípicas, das quais duas demonstraram associação estatisticamente significativa com a tuberculose pulmonar:

- Haplótipo ACCA: frequência global de 20,2%, com maior proporção entre os pacientes com TB (23,1%) do que entre os controles (17,3%), apresentando $p = 0,0099$;
- Haplótipo GATG: frequência de 14,8%, apresentou distribuição inversa, mais prevalente nos controles (17,2%) do que nos casos (12,4%), $p = 0,0151$.

Esses resultados sugerem que a combinação alélica representada pelo haplótipo ACCA pode estar associada a um aumento no risco de desenvolvimento da tuberculose pulmonar, enquanto o haplótipo GATG pode atuar como fator de proteção. A diferença de distribuição entre os grupos reforça a hipótese de que a interação entre variantes do gene *VDR* exerce um papel relevante na suscetibilidade à TB.

Cabe ressaltar que, na análise individual, os SNVs rs731236 e rs1544410 também apresentaram associação significativa com TB ($p = 0,012$ e $p = 0,0002$, respectivamente), reforçando sua contribuição para a composição dos haplótipos associados.

Tabela 7 – Resultado de combinações de haplótipos das variantes nos genes *VDR*.

	Frequência	Valor-p
ACCA	0.202	0.0099
ACCG	0.196	0.2181
AACG	0.194	0.0814
GATG	0.148	0.0151
AACA	0.088	0.7461
GATA	0.070	0.8157
GACG	0.028	0.2875
AATG	0.026	0.7242
ACTA	0.011	0.2199
GCCG	0.011	0.5123

6.5 Frequência alélica

A plataforma Ensembl.org disponibiliza dados de frequências alélicas de diversas populações ao redor do mundo, possibilitando análises comparativas com os resultados obtidos neste estudo. O **Quadro 5** apresenta a distribuição das frequências alélicas dos quatro SNVs localizados no gene *VDR*, rs2228570 (FokI), rs7975232 (ApaI), rs731236 (TaqI) e rs1544410 (BsmI), nos grupos controle da população amazônica, em comparação aos valores descritos em diferentes grupos étnicos internacionais.

A **Figura 10** complementa esses dados, apresentando graficamente a comparação entre as frequências alélicas obtidas neste estudo e aquelas descritas em populações globais, com base nas informações da plataforma Ensembl.

Quadro 5 – Frequência dos alelos dos SNVs de genes de *VDR* na população estudada e de outras populações do mundo.

		População estudada	Outras populações					
ID SNV	Alelo	Controle	Global	África	Américas	Leste asiático	Europa	Sul asiático
rs2228570	A	0.36	0.33	0.19	0.48	0.42	0.38	0.26
	G	0.64	0.67	0.81	0.52	0.58	0.62	0.74
rs7975232	C	0.42	0.48	0.36	0.56	0.71	0.45	0.41
	A	0.58	0.52	0.64	0.44	0.29	0.55	0.59
rs731236	A	0.69	0.72	0.71	0.74	0.93	0.60	0.63
	G	0.31	0.28	0.29	0.26	0.07	0.40	0.37
rs1544410	C	0.69	0.70	0.73	0.74	0.94	0.60	0.52
	T	0.31	0.30	0.27	0.26	0.06	0.40	0.48

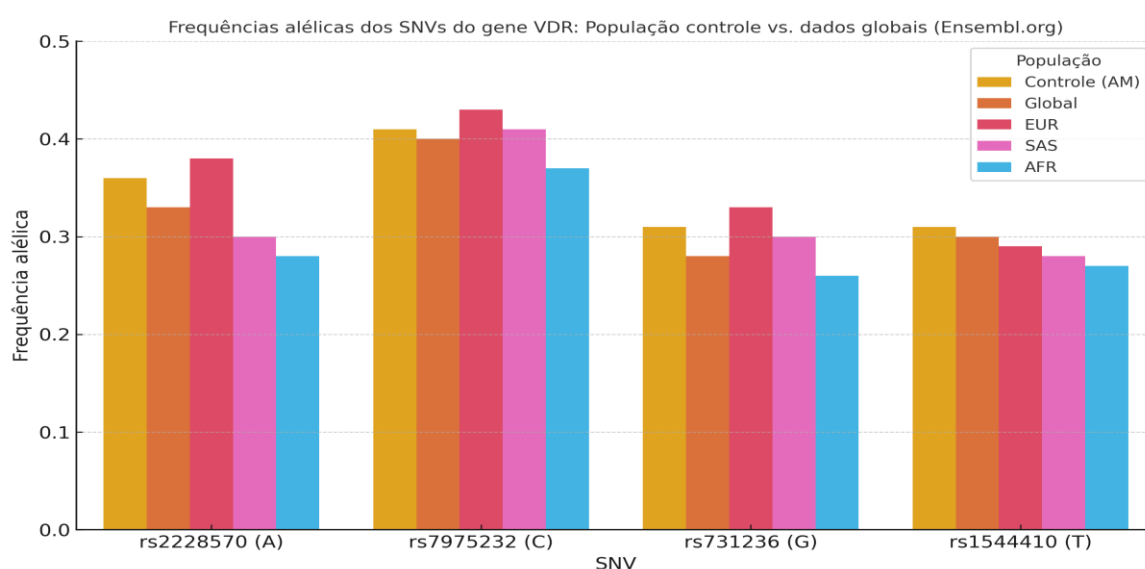


Figura 10 – Frequências alélicas dos SNVs do gene *VDR* em população controle da região amazônica em comparação a dados globais.

No que diz respeito ao **rs2228570**, observou-se que a frequência do alelo A na população controle foi de 0.36, valor ligeiramente superior à média global de 0.33 e semelhante à frequência encontrada em populações europeias (0.38).

Estudos com estratificação étnica identificaram associação significativa entre essa variante e a tuberculose em populações asiáticas orientais, especificamente no modelo recessivo ($p = 0,01$) (Wang; Li, 2019). No entanto, uma análise agrupada de quatro estudos conduzidos em diferentes contextos geográficos não evidenciou nenhuma associação significativa entre o alelo A ou qualquer modelo genético e a suscetibilidade à TB (Banoei *et al.*, 2010; Jafari, 2016; Merza *et al.*, 2009; Salimi, 2015). Ainda assim, análises por subgrupo étnico indicaram que o rs2228570 pode atuar como fator de risco em populações asiáticas (Wang; Li, 2019; Xu; Shen, 2019).

Quanto ao **rs7975232**, a frequência do alelo C no grupo controle foi de 0,42, valor semelhante ao observado em populações do Sul da Ásia (0,41) e próximo da média global estimada (0,48).

Estudos realizados em populações iranianas, assim como em populações caucasianas, africanas e sul-americanas, não identificaram associação significativa entre as variantes rs2228570 e rs7975232 do gene *VDR* e a suscetibilidade à tuberculose (Gao, 2010; Su *et al.*, 2011).

A literatura demonstra resultados contraditórios sobre o papel funcional da variante rs7975232. Enquanto uma metanálise conduzida por Mohammadi *et al.* (2020), baseada em seis estudos na população iraniana, não encontrou associação significativa entre essa variante e o risco de TB. Outra, mais abrangente, que incluiu 42 estudos de diferentes etnias, apontou associação significativa do SNV especificamente em casos de tuberculose extrapulmonar (EPTB), com $p < 0,05$ nos modelos dominante, recessivo, superdominante e alélico (Xu & Shen, 2019). A divergência nos achados pode ser explicada por diferenças étnicas, tamanho amostral e fatores ambientais moduladores, como status de vitamina D ou coinfeções.

No **rs731236**, observou-se que a frequência do alelo G na população controle foi de 0,31, valor muito próximo da média global estimada em 0,28 e semelhante ao observado em populações africanas (0,29). Na análise de associação deste estudo,

esse alelo foi inversamente relacionado à presença de tuberculose pulmonar, sugerindo um possível papel protetor dessa variante.

Embora estudos como o de Pereira *et al.* (2015) tenham descrito achados semelhantes no Nordeste brasileiro, relataram associação entre o alelo G do rs731236 e menor risco de desenvolvimento de TB, outras pesquisas realizadas em populações africanas e iranianas não identificaram essa associação (Rashedi *et al.*, 2014; Jafari *et al.*, 2016), evidenciando novamente o papel da diversidade genética.

Para o **rs1544410**, a frequência do alelo T foi de 0,31 no grupo controle, valor similar a frequência global de 0.30 e à frequência observada em subpopulações africanas (0.27), mais especificamente Barbados e Nigéria, ambas 0.31. Este SNV apresentou associação estatística com proteção à TB, especialmente no modelo recessivo ($p = 0,0002$; OR = 0,33).

A metanálise realizada por Gao *et al.* (2010) também identificou essa associação significativa entre o alelo T do rs1544410 e menor risco de tuberculose em subgrupos asiáticos, particularmente no modelo recessivo. De forma semelhante, Chen *et al.* (2013) demonstraram que a presença do alelo T pode estar correlacionada com níveis mais elevados de expressão do *VDR* e melhora na resposta imunológica mediada por macrófagos. Por estar localizado no íntron 8, próximo à região 3' UTR, pode influenciar mecanismos de regulação pós-transcricional, além de formar haplótipos funcionais com os SNVs rs731236 e rs7975232 (Mishra *et al.*, 2014).

De modo geral, os resultados divergentes observados entre os estudos refletem a complexidade da relação gene-doença, influenciada por fatores como diversidade genômica, níveis séricos de vitamina D, exposição solar e estado nutricional, bem como por características metodológicas. Tais evidências indicam que o papel das variantes do gene *VDR* é dependente do contexto populacional.

Esses achados reforçam a importância de investigações imunogenéticas regionais, especialmente em áreas de alta carga de tuberculose como a Amazônia. A heterogeneidade genética da população local, resultante de múltiplos componentes ancestrais, aliada às pressões seletivas do ambiente, torna essencial a caracterização do perfil alélico para compreender sua influência na resposta imune ao *Mycobacterium tuberculosis* e orientar políticas públicas de enfrentamento à TB adaptadas ao perfil genético da população.

6.6 Dosagem de 25-hidroxivitamina D (25(OH)D)

Foram quantificados os níveis de 25-hidroxivitamina D (25(OH)D) em amostras de plasma EDTA de 20 indivíduos, sendo 10 do grupo controle e 10 do grupo com tuberculose pulmonar. As concentrações foram analisadas de acordo com o sexo biológico e por grupo clínico e variaram amplamente entre os indivíduos avaliados, tanto no grupo controle quanto no grupo com tuberculose pulmonar.

Com base nos pontos de corte recomendados pela Endocrine Society (Holick *et al.*, 2011), a maioria dos participantes apresentou níveis inadequados de vitamina D. No grupo controle (n = 10), 30% dos indivíduos foram classificados com deficiência (<20 ng/mL), 40% com insuficiência (20–30 ng/mL) e apenas 30% com suficiência (>30 ng/mL). De forma semelhante, no grupo TB (n = 10), 40% apresentaram deficiência, 30% insuficiência e 30% suficiência.

No grupo controle, os níveis variaram de 8,0 a 37,3 ng/mL (média de $23,52 \pm 10,13$ ng/mL). No grupo TB, os valores oscilaram entre 8,0 e 41,6 ng/mL (média de $24,41 \pm 11,17$ ng/mL). A comparação entre os grupos não revelou diferença estatisticamente significativa ($p = 0,93952$), conforme ilustrado na **Figura 11**.

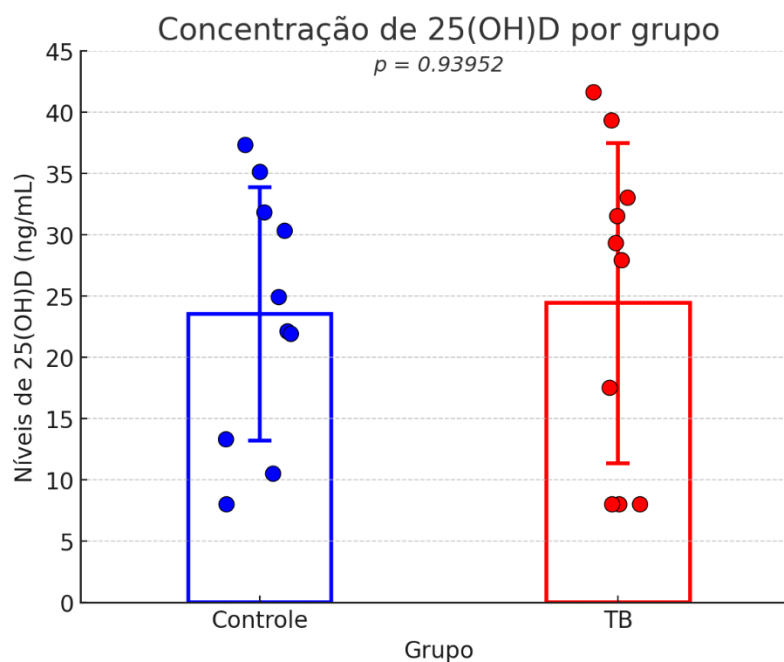


Figura 11 – Concentração de 25(OH)D (ng/mL) em grupos controle e com tuberculose pulmonar.

Também não foram observadas diferenças significativas por sexo ($p = 0,26147$) (**Figura 12**). Esse resultado está em concordância com estudos que apontam que diferenças por sexo podem ser minimizadas em populações expostas a condições ambientais semelhantes, como exposição solar e padrão dietético (Holick, 2007; Wacker & Holick, 2013). Contudo, em populações idosas ou institucionalizadas, alguns autores relataram menores níveis de 25(OH)D em mulheres, especialmente em contextos de menopausa e baixa síntese cutânea (Yetley *et al.*, 2009).

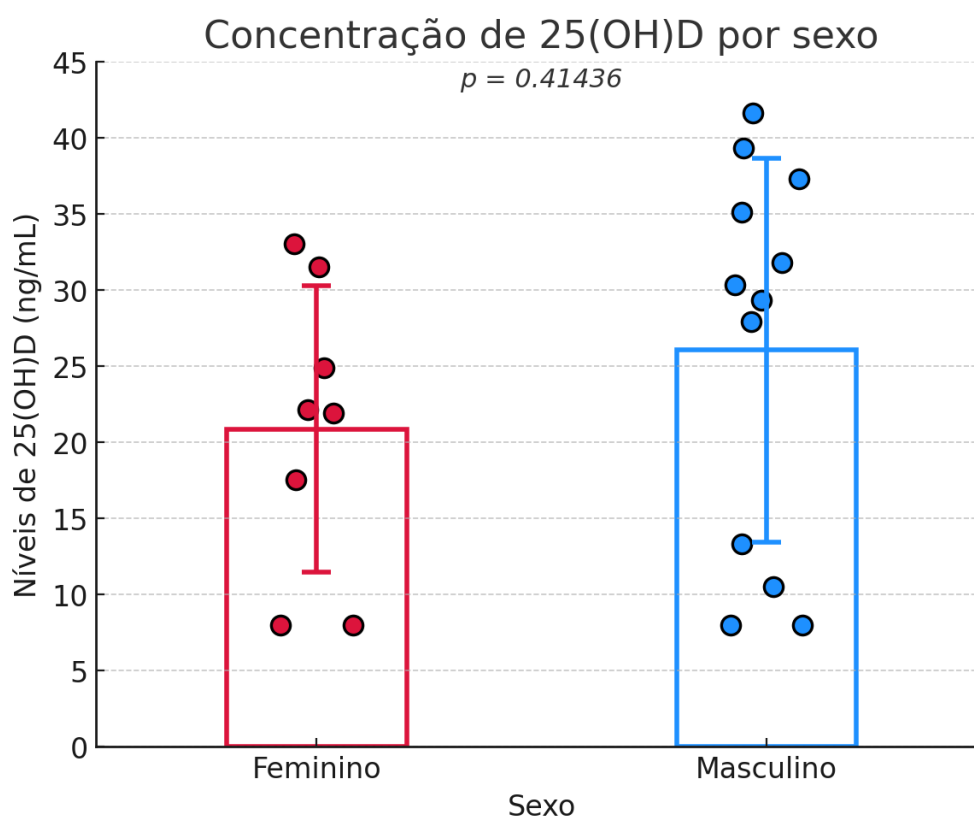


Figura 12 – Concentração de 25(OH)D (ng/mL) em indivíduos do sexo feminino e masculino.

A distribuição dos níveis de 25(OH)D por genótipo para os SNVs rs2228570, rs7975232, rs731236 e rs1544410 pode ser visualizada na **Figura 13**, que ilustra a variação intergrupos (controle e TB) para cada variante do gene *VDR*.

Os resultados demonstraram ausência de associação estatisticamente significativa entre os genótipos avaliados e os níveis de 25(OH)D: rs2228570 ($p = 0,52$), rs7975232 ($p = 0,63$), rs731236 ($p = 0,42$) e rs1544410 ($p = 0,91$). Esses

achados sugerem que, na amostra analisada, as variantes do gene *VDR* não influenciaram significativamente as concentrações circulantes de vitamina D.

Os níveis séricos de 25(OH)D podem ser modulados por diversos fatores extrínsecos, como o estado nutricional, a exposição solar, a suplementação prévia e a fase clínica da tuberculose (Martineau, 2012; Realegeno & Modlin, 2011). A ausência de diferença significativa entre os grupos neste estudo pode estar associada ao tamanho amostral reduzido e à variabilidade interindividual observada.

Diante disso, os resultados devem ser interpretados com cautela e indicam a necessidade de estudos com amostragens mais robustas, capazes de avaliar com maior poder estatístico o impacto isolado ou combinado das variantes genéticas do *VDR* sobre o metabolismo da vitamina D no contexto da infecção tuberculosa.

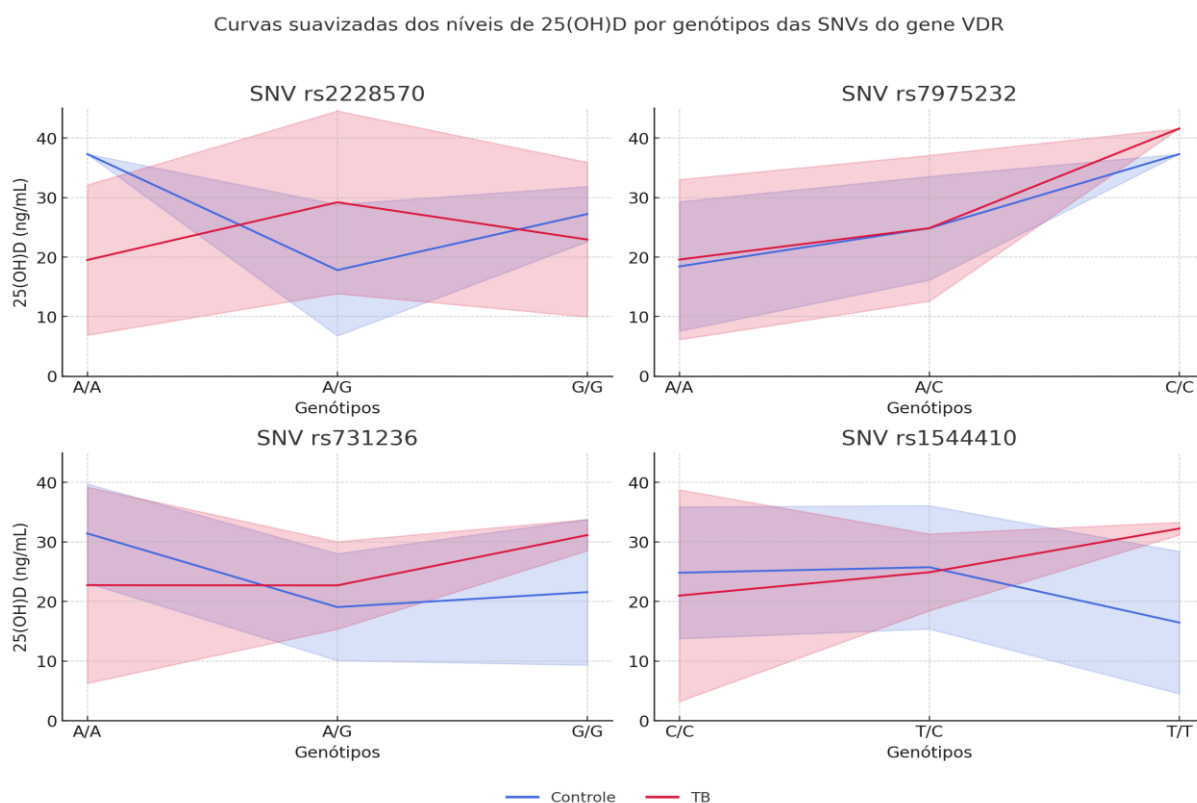


Figura 13 – Distribuição dos níveis de 25(OH)D (ng/mL) por genótipo dos SNVs do gene *VDR*, estratificados por grupo clínico.

Foi realizada também uma estratificação por sexo biológico (**Figura 14**). Embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas entre homens e mulheres de forma isolada, esses achados reforçam a importância de considerar

variáveis sexuais em análises imunogenéticas. Evidências recentes indicam que o estrogênio pode aumentar a expressão do receptor de vitamina D (*VDR*), favorecendo uma resposta imune mais eficiente em mulheres. Esse fator hormonal pode, portanto, contribuir para as diferenças sexuais na susceptibilidade a infecções e doenças autoimunes (Dupuis *et al.*, 2021).

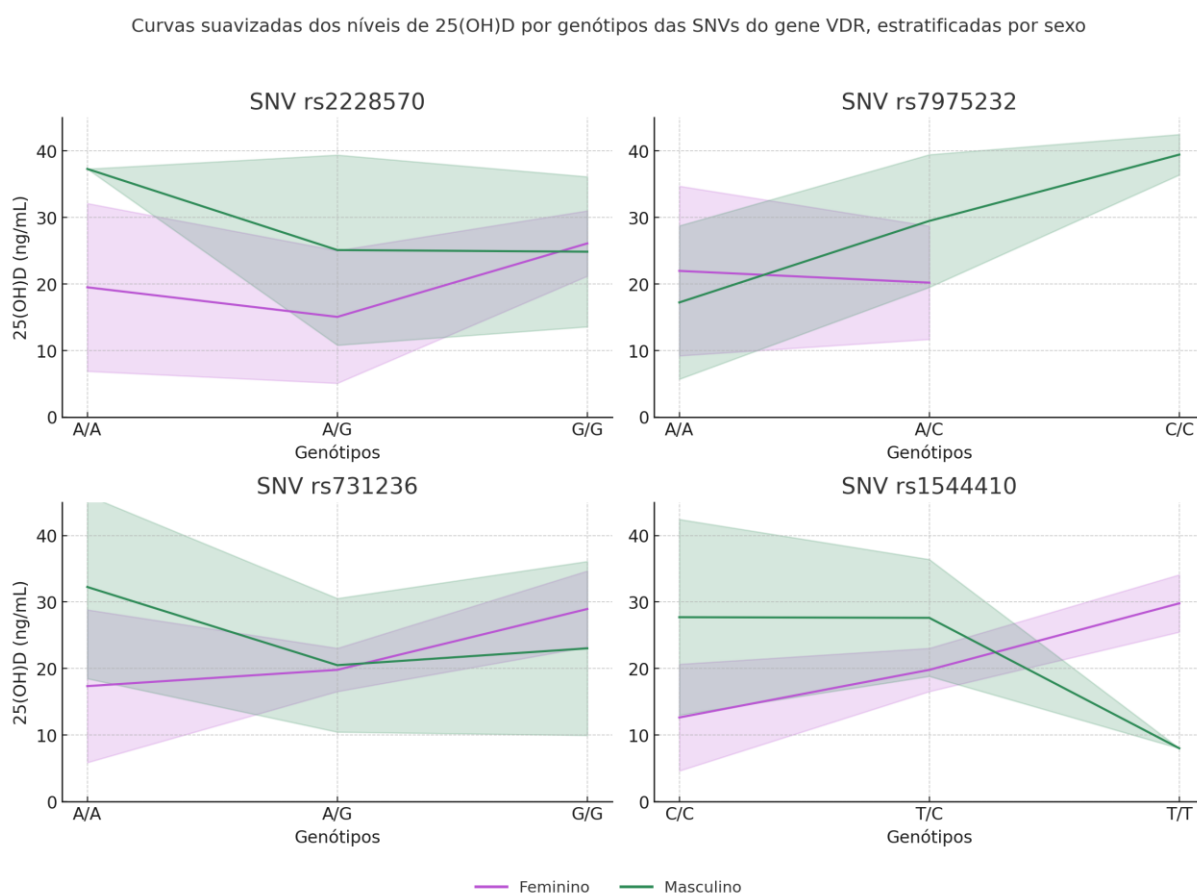


Figura 14 – Curvas suavizadas dos níveis de 25(OH)D (ng/mL) por genótipos das SNVs do gene *VDR*, estratificadas por sexo biológico.

6.7 Quantificação IFN- γ

A determinação da concentração plasmática de IFN- γ foi realizada em indivíduos com tuberculose pulmonar e em controles e apresentaram ampla variação entre os indivíduos da amostra, com valores majoritariamente abaixo de 6 pg/mL. Ao considerar os grupos, observou-se que os pacientes com TB apresentaram média de $1,24 \pm 1,08$ pg/mL, enquanto os controles apresentaram média de $0,47 \pm 0,52$ pg/mL.

A concentração de IFN- γ foi significativamente maior no grupo de pacientes em comparação ao grupo controle ($p < 0,0001$), indicando ativação imune sistêmica associada à infecção ativa por *Mycobacterium tuberculosis* (**Figura 15**). Esse padrão é compatível com o papel pró-inflamatório do IFN- γ na resposta imune Th1, fundamental para o controle da replicação intracelular do bacilo (Flynn *et al.*, 1993; Sia; Rengarajan, 2019). A dispersão observada também pode refletir a influência de fatores genéticos, ambientais e imunológicos individuais, incluindo a modulação por variantes no gene do receptor da vitamina D (*VDR*), que regulam a transcrição de citocinas como o IFN- γ (Aranow, 2011; Wang *et al.*, 2020).

Estudos prévios demonstraram que indivíduos com TB ativa tendem a apresentar níveis elevados de IFN- γ em comparação a indivíduos com TB latente ou controles saudáveis, refletindo uma tentativa do sistema imune de conter a infecção em contextos de alta carga micobacteriana (O'Garra *et al.*, 2013). A quantificação dessa citocina reforça seu potencial como biomarcador de inflamação ativa, com possíveis aplicações prognósticas e terapêuticas quando integrada a outros parâmetros clínicos e imunológicos.

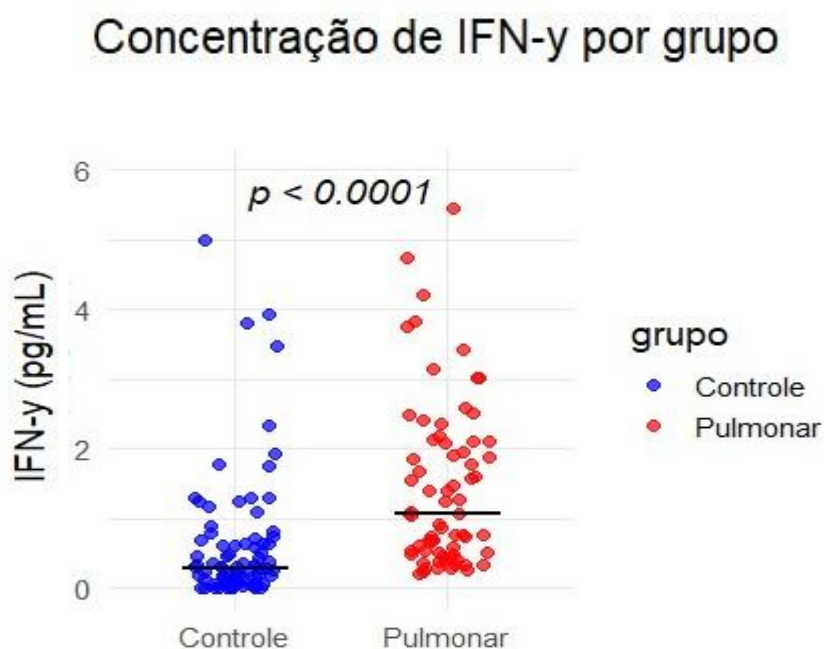


Figura 15 – Concentração plasmática de IFN- γ (pg/mL) nos grupos controle e com tuberculose pulmonar.

A análise exploratória da concentração de IFN- γ por genótipos das SNVs do gene *VDR* (**Figura 16**) revelou variações discretas nos níveis medianos da citocina entre os diferentes perfis genéticos. Apesar de algumas tendências visuais, como redução nos níveis de IFN- γ no genótipo TT de rs1544410, os testes de Kruskal-Wallis não evidenciaram associações estatisticamente significativas entre os genótipos e a produção de IFN- γ (rs1544410, $p = 0,243$; rs2228570, $p = 0,650$; rs731236, $p = 0,801$; rs7975232, $p = 0,877$).

Esses achados sugerem que, na amostra analisada, as variantes do gene *VDR* não exerceram influência direta sobre a expressão plasmática de IFN- γ . Considerando a complexidade da via da vitamina D e sua atuação em múltiplos pontos da resposta imune, é possível que a modulação do IFN- γ dependa de mecanismos indiretos, epistáticos ou contextuais, como estado infeccioso, status hormonal ou interação com outras variantes imunorregulatórios (Sester *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2009).

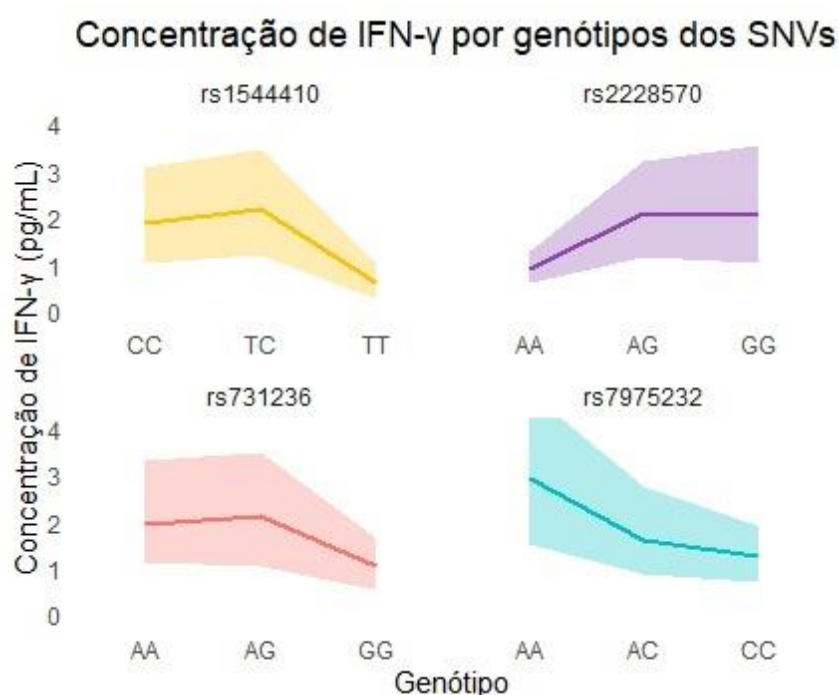


Figura 16 – Concentração plasmática de IFN- γ (pg/mL) por genótipos dos SNVs do gene *VDR*.

A distribuição das concentrações de IFN- γ por genótipos dos SNVs do gene *VDR*, com distinção entre indivíduos com tuberculose pulmonar (vermelho) e controles (azul), revela níveis mais elevados da citocina entre os pacientes com TB nos genótipos analisados, reforçando a ativação da resposta imune celular associada à infecção ativa por *M. tuberculosis*.

No entanto, não foi observada uma associação estatisticamente significativa entre os genótipos das variantes rs2228570, rs7975232, rs731236 e rs1544410 e a concentração de IFN- γ , tanto no grupo TB quanto no grupo controle.

- rs1544410: $p = 0,197$ (controle), $p = 0,656$ (TB)
- rs2228570: $p = 0,972$ (controle), $p = 0,411$ (TB)
- rs731236: $p = 0,410$ (controle), $p = 0,584$ (TB)
- rs7975232: $p = 0,288$ (controle), $p = 0,122$ (TB)

Esses achados sugerem que, embora os pacientes com TB apresentem maior expressão de IFN- γ em média, as variantes estudadas no gene *VDR* não modulam diretamente os níveis dessa citocina de forma consistente ou significativa na população analisada.

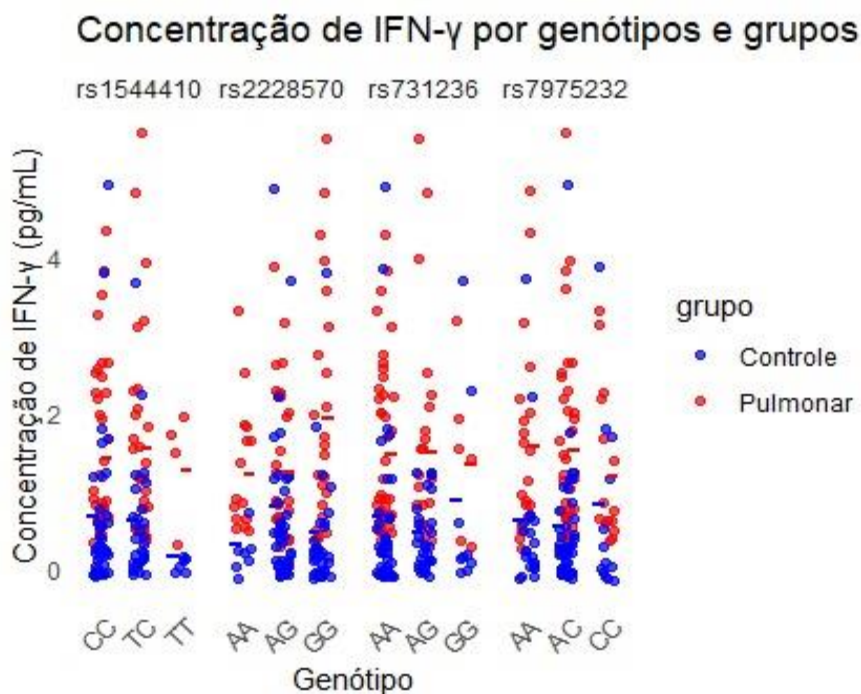


Figura 17 – Concentração de IFN- γ (pg/mL) por genótipos dos SNVs do gene *VDR*, estratificada por grupo.

7. CONCLUSÃO

1. As variantes rs731236 (TaqI) e rs1544410 (BsmI) do gene *VDR* apresentaram associação estatisticamente significativa com menor risco de tuberculose pulmonar, sugerindo possível efeito protetor dos alelos G e T, respectivamente.
2. A variante rs2228570 (FokI) demonstrou associação marginal com a doença no modelo log-aditivo, enquanto a rs7975232 (ApaI) não apresentou associação estatisticamente significativa nos modelos testados.
3. A análise de haplótipos identificou combinações alélicas com associação significativa à tuberculose pulmonar, com destaque para os haplótipos ACCA (associado ao risco) e GATG (associado à proteção).
4. A análise de desequilíbrio de ligação (LD) revelou a formação de bloco entre os SNVs rs731236, rs7975232 e rs1544410, enquanto a variante rs2228570 segregou de forma independente.
5. As frequências alélicas observadas na população controle foram comparáveis às descritas em populações europeias, sul-asiáticas e africanas, com destaque para a similaridade do perfil da população amazônica com grupos genéticos diversos, refletindo a heterogeneidade local.
6. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos níveis de 25(OH)D entre os grupos clínicos ou entre os genótipos dos SNVs avaliados.
7. A concentração de interferon-gama (IFN- γ) foi significativamente maior nos pacientes com tuberculose pulmonar, indicando ativação imune sistêmica e reforçando seu papel como biomarcador de inflamação ativa na TB.

Considerações finais

Este estudo contribui para o entendimento da influência de variantes genéticas do gene *VDR* na suscetibilidade à tuberculose pulmonar, com foco na população amazônica. Os achados reforçam a importância de investigações imunogenéticas regionais e apontam para o potencial uso de marcadores genéticos e imunológicos em estratégias personalizadas de prevenção e controle da TB no Brasil.

CRONOGRAMA

8. CRONOGRAMA

Atividades	Meses do ano de 2021					Ano de 2022						
	08	09	10	11	12	01	02	03	04	05	06	07
Revisão bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Submissão do projeto ao Comitê de ética da UFAM (CEP/UFAM)	x											
Disciplinas obrigatórias e optativas exigidas pelo programa	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Seleção de pacientes com TB e controles				x	x	x	x	x	x	x	x	x
Coleta, transporte e processamento das amostras clínicas (exames bacteriológicos e extração de DNA)				x	x	x	x	x	x	x	x	x
Testes de Genotipagem por qPCR					x	x	x	x	x	x	x	x
Elaboração da planilha e inserção dos dados epidemiológicos, clínicos e genéticos					x	x	x	x	x	x	x	x

Atividades	Meses do ano de 2022					Ano de 2023						
	08	09	10	11	12	01	02	03	04	05	06	07
Revisão bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Disciplinas obrigatórias e optativas exigidas pelo programa	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Seleção de pacientes com TB e controles	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Coleta, transporte e processamento das amostras clínicas (exames bacteriológicos e extração de DNA)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Testes de Genotipagem por qPCR	x	x	x	x	x	x	x					
Elaboração da planilha e inserção dos dados epidemiológicos, clínicos e genéticos	x	x	x	x	x	x	x					
Análise dos resultados.						x	x	x				
Elaboração do manuscrito									x	x	x	

	Meses do ano de 2023					Ano de 2024						
Atividades	08	09	10	11	12	01	02	03	04	05	06	07
Revisão bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Seleção de pacientes com TB e controles	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Coleta, transporte e processamento das amostras clínicas (exames bacteriológicos e extração de DNA)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Testes de Genotipagem por qPCR	x	x	x	x	x	x	x					
Elaboração da planilha e inserção dos dados epidemiológicos, clínicos e genéticos	x	x	x	x	x	x	x					
Análise dos resultados	x	x	x	x	x							
Elaboração da tese						x	x	x				
Exame de Qualificação										x		

	Meses do ano de 2024					Ano de 2025							
Atividades	08	09	10	11	12	01	02	03	04	05	06	07	08
Revisão bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Seleção de pacientes com TB pulmonar, extrapulmonar e controles	x	x	x	x									
Coleta, transporte e processamento das amostras clínicas (exames bacteriológicos e extração de DNA)	x	x	x	x									
Testes de Genotipagem por qPCR	x	x	x	x	x								
Elaboração da planilha e inserção dos dados epidemiológicos, clínicos e genéticos	x	x	x	x	x								
Dosagem de citocinas	x	x	x	x	x	x	x						
Análise dos resultados					x	x	x	x	x	x			
Elaboração definitiva da tese e do artigo científico									x	x	x	x	x
Exame de defesa													x

EQUIPE DO PROJETO

9. EQUIPE DO PROJETO

Ordem	Nome	Instituição	Título	Contribuição no projeto
1	Laianne Lopes Rocha	PPGIBA/UFAM	Doutoranda	Executora das atividades propostas no projeto
2	Aya Sadahiro	PPGIBA/UFAM	Doutora	Orientadora
3	Mauricio Morishi Ogusku	INPA	Doutor	Coorientador Colaboração nos exames baciloscópicos e cultivo
4	Mariana Brasil de Andrade Figueira	PPGIBA/UFAM	Doutora	Colaboração nas análises estatísticas
5	Gilberto Bazé	PPGIBA/UFAM	Mestrando	Auxílio no registro de amostras e extração de DNA
6	Marcos Henrique Gurgel	PPGIBA/UFAM	Doutorando	Auxílio no registro de amostras e extração de DNA
7	Alliny Almeida Queiroz	PPGIBA/UFAM	Mestranda	Auxílio no registro de amostras e extração de DNA
8	Joycenea da Silva Matsuda	Policlínica Cardoso Fontes/SES-AM	Mestre	Colaboração na avaliação dos dados clínicos dos pacientes com Tuberculose
9	Irineide Assumpção Antunes	Policlínica Cardoso Fontes/SES-AM	Mestre	Colaboração na avaliação dos dados clínicos dos pacientes com Tuberculose
10	Elenilda Rodrigues Ramos	Policlínica Cardoso Fontes/SES-AM	Técnica de enfermagem	Colaboração na coleta de amostras e avaliação dos dados clínicos dos pacientes com Tuberculose
11	Greicy Kelly Chem Nepomuceno	Policlínica Cardoso Fontes/SES-AM	Enfermeira	Colaboração na avaliação dos dados clínicos dos pacientes com Tuberculose
12	Nadieli Honorato Sawada	Policlínica Cardoso Fontes/SES-AM	Biomédica	Colaboração na avaliação dos dados clínicos dos pacientes com Tuberculose

REFERÊNCIAS

10. REFERÊNCIAS

ABBADI, S.; EL HADIDY, G.; GOMAA, N.; COOKSEY, R. Strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolated from sputum of pulmonary tuberculosis patients. *International Journal Infectious Diseases*, v.13, n. 2, p. 236-242. Mar, 2009.

ABDALLA, H. et al. *Mycobacterium tuberculosis* infection dendritic cells leads to partially caspase-1/11 independent IL-1 β and IL-18 secretion but not to pyroptosis. **PLoS ONE**, v. 7, n. 7, p.1-10, 2012.

ABEL, L. et al. Genetics of human susceptibility to active and latent tuberculosis: Present knowledge and future perspectives. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 3099, n. 17, p. 1–12, 2017.

ADAMS, J. S.; HEWISON, M. Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism*, v. 4, n. 2, p. 80–90, 2008.

AGLIARDI, C.; GUERRA, S.; ALBERTI, A.; ROSSI, R. VDR gene structure, polymorphisms, and function: implications for disease susceptibility. *Genes*, v. 14, n. 5, p. 985, 2023.

AGUILAR-AYALA, D. A. et al. Genetic regulation of *Mycobacterium tuberculosis* in a lipid-rich environment. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 55, p. 392-402, 2016.

AHMAD, S. Pathogenesis, Immunology, and Diagnosis of Latent *Mycobacterium tuberculosis* Infection. **Clinical and Developmental Immunology**, v. 2011, p. 1-17. Oct, 2011.

AMARAL, E. P.; LASUNSKAIA, E. B.; D'IMPÉRIO-LIMA, M. R. Innate immunity in tuberculosis: How the sensing of mycobacteria and tissue damage modulates macrophage death. **Microbes and Infection**, v. 18, n. 1, p. 11-20, 2016.

ANGELA HOUSTON, D. C. M. Extrapulmonary tuberculosis. **Medicine**, v. 42, n. 1, p. 18–22, 2014.

ARAI, H. et al. Vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 12, n. 6, p. 915–921, 1997.

ARANOW, C. Vitamin D and the immune system. *Journal of Investigative Medicine*, v. 59, n. 6, p. 881–886, 2011.

ARTAZA, F. et al. Vitamin D: modulator of the immune system. *Current Opinion in Pharmacology*, v. 10, n. 4, p. 482–496, 2010.

BABBB, C.; VAN DER MERWE, L.; BEYERS, N.; PHEIFFER, C.; WALZL, G.; DUNCAN, K. *Vitamin D receptor gene polymorphisms and sputum conversion time in pulmonary tuberculosis patients*. *Tuberculosis (Edinburgh)*, v. 87, n. 4, p. 295–302, jul. 2007

BAHK, K. et al. Pan-lineage *Mycobacterium tuberculosis* reference genome for molecular drug susceptibility testing and global lineage analysis. *DNA Research*, Oxford, v. 31, n. 4, dsae023, 2024.

BALOWS, A.; HAUSLER Jr., W. J.; HERRMANN, K. L.; ISENBERG, H. D.; SHADOMY, H. J., eds. *Manual of Clinical Microbiology*, 5^a ed., Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1991. 1384 p.

BAN, H.J.; HEO, J.Y.; OH, K.S; PARK, K.J. Identification of type-2 diabetes-associated combination of SNPs using Support Vector Machine. **BMC Genetics**, v. 11, p. 26-37, 2010.

BANOEI, M. M.; MIRSAEIDI, M. S.; HOUSHMAND, M.; TABARSI, P.; EBRAHIMI, G.; ZARGARI, L.; KASHANI, B. H.; MASJEDI, M. R.; MANSOURI, S. D.; RAMIREZ, J. Vitamin D receptor homozygote mutant TT and BB are associated with susceptibility to pulmonary tuberculosis in the Iranian population. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 14, n. 1, p. e84–e85, Jan. 2010

BARBERIS, I. et al. The history of tuberculosis: from the first historical records to the isolation of Koch's bacillus. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, v. 58, E9–E12, 2017.

BARLETTA-NAVECA, R. H.; NAVECA, F. G.; ALMEIDA, V. A.; PORTO, J. A. R.; SILVA, G. A. V.; OGUSKU, M. O. Association of toll-like receptor polymorphisms

and clinical tuberculosis in the Brazilian Amazon. *Infection, Genetics and Evolution*, [S.I.], v. 41, p. 199-206, 2016.

BARRAGÁN, M.; et al. Regulation of dendritic cell function by vitamin D. *Nutrients*, v. 7, n. 9, p. 5383–5410, 2015

BARRETT, J. C. et al. Haploview: Analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics**, v. 21, n. 2, p. 263–265, 2005.

BECHLER, REINALDO GUILHERME. Hansen versus Neisser: controvérsias científicas na ‘descoberta’ do bacilo da lepra. *História, Ciências, Saúde – Manguinhos*, Rio de Janeiro, v. 19, n. 3, p. 815-841, 2012.

BEHAR, S. M. et al. Orchestration of pulmonar t cell immunity during *Mycobacterium tuberculosis* infection: Immunity interruptus. **Seminars in Immunology**, v. 26, n. 6, p. 559-577, 2014.

BELARDINELLI, J. M. et al. The DosR regulon of *Mycobacterium avium* and adaptation to hypoxia and nitric oxide. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, published 2025.

BELLAMY, R.; RUWENDE, C.; CORRAH, T. et al. Tuberculosis and chronic hepatitis B virus infection in Africans and variation in the vitamin D receptor gene. *Journal of Infectious Diseases*, v. 179, n. 3, p. 721–724, Mar. 1999.

BORNMAN, L. et al. Vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to tuberculosis in West Africa: a case-control and family study. *Journal of Infectious Diseases*, v. 190, n. 9, p. 1631–1641, Nov. 2004. doi:10.1086/424462.

BOUILLON, R.; OKAMURA, W. H.; NORMAN, A.W. Structure-function relationships in the vitamin D endocrine system. **Endocr Rev.**, n. 16, v. 2, p. 200-57, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. *Boletim Epidemiológico*. Ano XV, nº 01, março 2002. Brasília: Ministério da Saúde, 2002. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/periodicos/bol_marco_2002.pdf.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em saúde. Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias – 2008. Disponível em http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_laboratorial_tuberculose.pdf.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Controle da Tuberculose – 2016. Disponível em <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/fevereiro/21/Apresentacao-sobre-os-principais-indicadores-da-tuberculose.pdf>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. *Boletim Epidemiológico*. Número especial, março 2023. Brasília: Ministério da Saúde, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/>.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. *Boletim Epidemiológico*. Número especial, março 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/especiais/2024>

BRASIL. Ministério da Saúde. *Boletim Epidemiológico de Tuberculose* — 2025. Brasília: Ministério da Saúde, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-brasil>. Acesso em: jul. 2025.

BUSH, W. S.; MOORE, J. H. Chapter 11: Genome-wide association studies. *PLoS Computational Biology*, v. 8, n. 12, e1002822, 2012. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1002822

CALABRESE R, CAPRIOTTI E, FARISELLI P, MARTELLI PL, CASADIO R. Functional annotations improve the predictive score of human disease-related mutations in proteins. **Human Mutation**, v. 30, n. 8, p. 1237-44, 2009.

CAMBIER, C. J.; TAKAKI, K. K.; WASNIK, V.; BONKOWSKI, E. *Mycobacteria manipulate macrophage recruitment through coordinated use of membrane lipids*. Nature, v. 505, p. 218–222, 2014. doi:10.1038/nature12799.

CANTORNA, M. T.; MAHON, B. D. D-hormone and the immune system. **J Rheumatol Suppl.**, v. 76, p. 11-20, 2005.

CARLBERG, CARSTEN. *Molecular Endocrinology: Vitamin D*. 2. ed. Londres: Academic Press, 2022. 412 p. ISBN 9780323910872.

CARLBERG, C.; CAMPBELL, M. J. The vitamin D receptor and T cell function. *Frontiers in Immunology*, v. 4, art. 148, 2013. doi:10.3389/fimmu.2013.00148

CASANOVA, J.-L.; ABEL, L.; QUINTANA-MURCI, L. Human TLRs and IL-1Rs in host defense: natural insights from evolutionary, epidemiological, and clinical genetics. **Annual review of immunology**, v. 29, n. 1, p. 447-91. Jan, 2011.

CAWS, M. *et al.* The influence of host and bacterial genotype on the development of disseminated disease with *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS pathogens*, v. 4, n. 3, p. 1-9. Mar, 2008.

CHANG, E.; CAVALLO, K.; BEHAR, S. M. CD4 T cell dysfunction is associated with bacterial recrudescence during chronic tuberculosis. *Nature Communications*, v. 16, art. 2636, 17 Mar. 2025.

CHEEVER, H. Kerry; HINKLE, Janice L. Brunner. Tratado de enfermagem médico-cirúrgica. 13. ed., v. 1, p. 587-593. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

CHEN, C.; LIU, Q.; ZHU, L.; YANG, H.; LU, W.; LIU, S.; CHEN, Z. Vitamin D receptor gene polymorphisms and expression levels in patients with tuberculosis. *Molecular Medicine Reports*, v. 8, n. 4, p. 1184-1190, 2013. DOI: 10.3892/mmr.2013.1611.

CHIAVEGATTO FILHO, A. D. P.; LAURENTI, R. Diferenças regionais na mortalidade infantil no Brasil: análise dos determinantes sociais. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 517-526, 2013.

CHUN, R. F. *et al.* New perspectives on the vitamin D binding protein. *Clinical Biochemistry and Function*, v. 31, n. 6, p. 514–524, 2012.

COHEN, T. *et al.* Mixed-strain *Mycobacterium tuberculosis* infections and the implications for tuberculosis treatment and control. **Clinical Microbiology Review**, v. 25, n. 4, p. 708-19. Oct, 2012.

COLIN, A.; et al. *The multifunctional properties and characteristics of vitamin D binding protein. Trends in Endocrinology & Metabolism*, v. 11, n. 8, p. 306–311, 2000.

COMAS, I.; COSCOLLA, M.; LUO, T.; BORRELL, S.; HOLT, K. E.; KATO-MAEDA, M.; et al. Out-of-Africa migration and Neolithic co-expansion of *Mycobacterium tuberculosis* with modern humans. *Nature Genetics*, v. **45**, n. 10, p. 1176–1182, out. 2013

COOKE, G. S.; HILL, A. V. S. Genetics of susceptibility to human infectious disease. *Nature Reviews Genetics*, v. 2, n. 12, p. 967–977, 2001.

COOPER, A. M. et al. Disseminated tuberculosis in interferon γ gene-disrupted mice. *The Journal of Experimental Medicine*, v. 178, n. 6, p. 2243–2247, 1993.

COSCOLLA, M.; GAGNEUX, S. Consequences of genomic diversity in mycobacterium tuberculosis. *Seminars in Immunology*, v. 26, n. 6, p. 431–444, 2014.

DEY, B.; BISHAI, W. R. Crosstalk between *Mycobacterium tuberculosis* and the host cell. **Seminars in Immunology**, v. 26, n. 6, p. 486-496, 2014.

DOETSCH, R. N. Benjamin Marten and his “New Theory of Consumptions”. *Microbiological Reviews*, v. 42, n. 3, p. 521–528, set. 1978. doi:10.1128/MR.42.3.521-528

DRUSZCZYŃSKA, M.; SEWERYN, M.; WAWROCKI, S.; PANKOWSKA, A.; KULBACHKO, A.; JURCZAK, M.; et al. Interferon (IFN)-gamma (γ) inducible protein 10 (IP-10) in the diagnosis of latent and active tuberculosis in Bacille Calmette-Guérin (BCG)-vaccinated pediatric population. *PLoS ONE*, v. 20, n. 1, e0314400, 21 jan. 2025. DOI: 10.1371/journal.pone.0314400

DULBERGER, C. L.; RUBIN, E. J.; BOUTTE, C. C. The mycobacterial cell envelope – a moving target. *Nature Reviews Microbiology*, v. 18, n. 1, p. 47–59, Jan. 2020. doi:10.1038/s41579-019-0273-7

DUPUIS, Maria Luisa et al. The role of vitamin D in autoimmune diseases: could sex make the difference? *Biology of Sex Differences*, v. 12, p. 17, 2021.

DUTTA, N. K. et al. Inhibiting the stringent response blocks *Mycobacterium tuberculosis* survival under stress. *Science Advances*, 2019.

ELSALAHATY, M. I. et al. Polymorphisms in genes of the vitamin D metabolic pathway: systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Genetics*, 2024.

EL-SHIMI, O. S.; ABD-EL HAMEED, A. A.; KHALED, H. M.; MOHAMED, M. A. Association of vitamin D receptor gene (FokI) (rs2228570) polymorphism with susceptibility to tuberculosis. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, v. 29, n. 3, p. 289–295, 2020.

FABRI, M. et al. Vitamin D is required for IFN- γ -mediated antimicrobial activity of human macrophages. **Sci Transl Med**, v. 3, 2011.

FELDMAN, C.; et al. Cigarette smoking as a risk factor for tuberculosis in adults: mechanisms and clinical outcomes. *Tobacco Induced Diseases*, 2024.

FENERCIOĞLU, A. K. The anti-inflammatory roles of vitamin D for improving human health. *Current Issues in Molecular Biology*, v. 46, n. 12, p. 13514–13525, 2024. DOI: 10.3390/cimb46120807. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cimb46120807>.

FENG, Y.; et al. Effects of smoking on the severity and transmission of pulmonary tuberculosis: evidence from a case-control study. *Frontiers in Public Health*, 2023.

FERRER-COSTA, C. et al. Characterization of disease-associated single amino acid polymorphisms in terms of sequence and structure properties. **Journal of Molecular Biology**, v. 315, n. 4, p. 771-786, 2002.

FLYNN, J. L.; CHAN, J.; TRIEBOLD, K. J.; DALTON, D. K.; STEWART, T. A.; BLOOM, B. R. An essential role for interferon gamma in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *The Journal of Experimental Medicine*, v. 178, n. 6, p. 2249-2254, 1993. DOI: 10.1084/jem.178.6.2249.

FLYNN, J. L.; CHAN, J. The immunological aspects of latency in tuberculosis. *Clinical Immunology*, v. 110, n. 1, p. 2–12, Jan. 2004.

FORD, C. B. et al. Mycobacterium tuberculosis mutation rate estimates from different lineages predict substantial differences in the emergence of drug-resistant tuberculosis. *Nature Genetics*. v. 45, n. 7, p. 784-90. Jul, 2013.

FRAZER, K. A; MURRAY, S. S.; SCHORK, N. J.; TOPOL, E. J. Human genetic variation and its contribution to complex traits. **Nature Review Genetics**, v. 10, n. 4, p. 241-51. Apr, 2009.

FUNDAÇÃO DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE DO AMAZONAS – DRA. ROSEMARY COSTA PINTO. Vigilância em Pauta, 7. ed., Manaus, 2025. Disponível em: site oficial da FVS-RCP. Acesso em: 14 ago. 2025.

FUNKE, LYDIA M. et al. "Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B". Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, 2010.

GAGNEUX, S; DERIEMER, K; VAN, T; KATO-MAEDA, M; DE JONG, B. C et al. Variable host-pathogen compatibility in *Mycobacterium tuberculosis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)**, v. 103, p.2869–2873, 2006.

GALAGAN, J. E. Genomic insights into tuberculosis. **Nature Reviews Genetics**, v. 15, n. 5, p. 307-320, 2014.

GALVÃO, A. A. et al. Genetic variants in the vitamin D pathway affect serum 25-hydroxyvitamin D and asthma in Brazilian adolescents. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 2020.

GAO, L.; TAO, Y.; ZHANG, L.; JIN, Q. *Vitamin D receptor genetic polymorphisms and tuberculosis: updated systematic review and meta-analysis*. International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, v. 14, n. 1, p. 15–23, jan. 2010

GHASEMINEJAD-RAEINI, A. et al. Immunomodulatory actions of vitamin D in various immune-related disorders: a comprehensive review. *Frontiers in Immunology*, v. 14, p. 1146237, 2023.

GROSS, C.; KRISHNAN, A. V.; MALLOY, P. J.; ECCLESHALL, T. R.; ZHAO, X. Y.; FELDMAN, D. The vitamin D receptor gene start codon polymorphism: a functional analysis of FokI variants. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 13, n. 11, p. 1691–1699, nov. 1998. DOI: 10.1359/jbmr.1998.13.11.1691.

GUSTINCICH, S. et al. Fast method for high quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Biotechniques*, v. 11, n. 3, p. 298-300, 1993.

HERMANS, P. W. et al. Insertion element IS986 from *Mycobacterium tuberculosis*: a useful tool for diagnosis and epidemiology of tuberculosis. *J Clin Microbiol*, v. 28, n. 9, p. 2051-8, 1990.

HEWISON, M. Vitamin D and the intracrinology of innate immunity. *Mol Cell Endocrinol.*, v. 321, n. 2, p. 103-11, 2010.

HEWISON, M. Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, v. 38, n. 1, p. 125–139, fev. 2012.

HOLICK, M. F. Vitamin D deficiency. *The New England Journal of Medicine*, v. 357, n. 3, p. 266–281, 19 jul. 2007.

HONG-XIA, W. U. et al. Effects of vitamin D supplementation on the outcomes of patients with pulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis, *BMC Pulm Med.*, v. 18, p. 108, 2018.

HU, QUNYING; CHEN, ZHENGSHUAI; LIANG, GUINIAN; MO, FANGPING; ZHANG, HENGXUN; XU, SHILIN; WANG, YUHE; KANG, LONGLI; JIN, TIANBO. Vitamin D receptor gene associations with pulmonary tuberculosis in a Tibetan Chinese population. *BMC Infectious Diseases*, v. 16, art. 469, 2016

HU, X.; et al. Smoking exposure and the risk of latent tuberculosis infection among adults in the United States. *BMC Pulmonary Medicine*, 2024.

JAFARI, M.; NASIRI, M. R.; SANAEI, R.; et al. The NRAMP1, VDR, TNF-alpha, ICAM1, TLR2 and TLR4 gene polymorphisms in Iranian patients with pulmonary tuberculosis: a case-control study. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 39, p. 92–98, 2016.

JEFFERY, L. E.; YAZDI, A. S.; HEATH, V. L.; ROLFE, S.; BOMBARDIERI, M.; CONNELL, C. M.; et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells. *The Journal of Immunology*, v. 183, n. 9, p. 5458–5467, nov. 2009.

JIANG, C., CHEN, Q., AND XIE, M. Smoking increases the risk of infectious diseases: A narrative review. *Tobacco Induced Diseases*, 18(July), 60, 2020.

JOLLIFFE, D. A.; WALTON, R. T.; GRIFFITHS, C. J.; MARTINEAU, A. R. Single nucleotide polymorphisms in the vitamin D pathway associating with circulating concentrations of vitamin D metabolites and non-skeletal health outcomes: review of genetic association studies. *J Steroid Biochem Mol Biol.*, v. 164, p. 18–29, 2016.

JONES, P.; LUCOCK, M.; VEYSEY, M.; BECKETT, E. The Vitamin D–Folate Hypothesis as an Evolutionary Model for Skin Pigmentation: An Update and Integration of Current Ideas. *Nutrients*, v. 10, n. 5, art. 554, 2018.

JONES, K. E.; PATEL, N. G.; LEVY, M. A.; STOREYGARD, A.; BALK, D.; GITTLEMAN, J. L.; DASZAK, P. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, v. 451, n. 7181, p. 990-993, 21 fev. 2008.

KAMPF, G.; TODT, D.; PFAENDER, S.; STEINMANN, E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *Journal of Hospital Infection*, v. 104, n. 3, p. 246-251, mar. 2020.

KANG, T. J.; LEE, J. S.; HWANG, H. J. Vitamin D receptor gene Taql, Bsml and FokI polymorphisms in Korean patients with tuberculosis. *Immune Network*, v. 11, n. 5, p. 253–257, out. 2011.

KEARNS, M. D.; AL-AWAR, A.; STEHLING, L. C.; HOLICK, M. F. Vitamin D supplementation during the treatment of active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 100, n. 6, p. 1683-1690, 2014.

KIM, S.; MISRA, A. SNP Genotyping: Technologies and Biomedical Applications. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v. 9, n. 1, p. 289-320, 2007.

KOSTOGLOU, N. O. S. C. Estudo das vias de co-estimulação envolvidas na proliferação linfocitária por células endoteliais humanas, na presença de fitohemaglutinina. 2013. Tese de Doutorado. Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 2013

KRITSKI, AL; VILLA, TS; TRAJMAN, A; SILVA, JRL; MEDRONHO, RA; RUFFINO-NETTO, A. Duas décadas de pesquisa em tuberculose no Brasil: estado da arte das publicações científicas. **Revista de Saúde Pública**. vol. 41. São Paulo, 2007.

LEANDRO, A. C.; ROCHA, M. A.; CARDOSO, C. S.; BONECINI-ALMEIDA, M. G. Genetic polymorphisms in vitamin D receptor, vitamin D-binding protein, Toll-like receptor 2, nitric oxide synthase 2, and interferon-gamma genes and its association with susceptibility to tuberculosis. **Braz J Med Biol Res.**, v. 42, n. 4, p. 312–22, 2009.

LEE, P.; YOUNG, J.; SMITH, K. R. The impact of cigarette smoking on treatment outcomes in tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, v. 24, n. 5, p. 123–134, 2020.

LEE, Y. H.; SONG, G. G. Associations between vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to pulmonary tuberculosis: a meta-analysis. *Genetics and Molecular Research*, v. 14, n. 2, p. 9112–9121, 2015.

LEUNG, K. H. The effect of vitamin D₃ and 1,25(OH)₂D₃ on human natural killer (NK) cells and their activation by interferon and interleukin-2. *Journal of Clinical Immunology*, v. 9, n. 1, p. 31–39, 1989.

LI, Y.; SHAO, Y.; LI, Y.; KONG, X.; TAO, N.; HOU, Y.; WANG, T.; LI, Y.; LIU, Y.; LI, H. Association between toxin-antitoxin system mutations and global transmission of MDR-TB. *BMC Infectious Diseases*, v. 24, n. 1, p. 1250, 2024.

LIU, P. T. et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. **Science**, n. 311, p. 1770–1773, 2006.

MALINGA, T. V. B. et al. Characterization of NAT, GST and CYP2E1 genetic variation relevant to tuberculosis drug metabolism in African populations. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2025

MANGTANI, P. et al. Protection by BCG vaccine against tuberculosis: a systematic review of randomized controlled trials. *Clinical Infectious Diseases*, v. 58, n. 4, p. 470–480, fev. 2014.

MARASHIAN, S. M.; FARNIA, P.; SEYF, S.; ANOOSHEH, S.; VELAYATI, A. A. Evaluating the role of vitamin D receptor polymorphisms on susceptibility to

tuberculosis among Iranian patients: a case-control study. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*, v. 58, n. 2, p. 147–153, 2010.

MARÇÔA, R.; RIBEIRO, A. I.; ZÃO, I.; DUARTE, R. Tuberculosis and gender – factors influencing the risk of tuberculosis among men and women by age group. *Pulmonology*, v. 24, n. 3, p. 199–202, maio–jun. 2018.

MARQUES, C. D. L. et al. A importância dos níveis de vitamina D nas doenças autoimunes. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 2010.

MARTINEAU, A. R. *et al.* (2007) IFN-gamma- and TNF-independent vitamin D-inducible human suppression of mycobacteria: The role of cathelicidin LL-37. *J Immunol*, v. 178, p. 7190–7198, 2007.

MARTINEAU, A. R. Old wine in new bottles: vitamin D in the treatment and prevention of tuberculosis. *Proc Nutr Soc.*, v. 71, p. 84–89, 2012.

MARTINEAU, A. R.; WILKINSON, R. J.; GRIFFITHS, C. J.; et al. Vitamin D in the treatment of pulmonary tuberculosis. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, v. 103, n. 3–5, p. 793–798, jun. 2012. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2006.12.052

MCKINNEY, B.A., CROWE, J.E., GUO, J.; TIAN, D. Capturing the spectrum of interaction effects in genetic association studies by simulated evaporative cooling network analysis. **PLoS Genetics**, v. 5, n. 3, 2009.

MENG-SHIUAN, H. et al. Revisiting the association between vitamin D deficiency and active tuberculosis: A prospective case-control study in Taiwan, *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, Volume 57, Issue 3, 2024.

MERZA, M., FARNIA, P., ANOOSHEH, S., VARAHRAM, M., et al. Association of NRAMP1, VDR and TNF- α gene polymorphisms with susceptibility to pulmonary tuberculosis in Iranian patients. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 13(6), 465-472, 2009.

MEYER, C. G.; THYE, T. Host genetic studies in adult pulmonar tuberculosis. *Seminars in Immunology*, v. 26, n. 6, p. 445-453, 2014.

MEYER, M. B.; et al. Spatial detection and consequences of nonrenal calcitriol production as assessed by targeted mass spectrometry imaging. *Journal of Clinical Investigation*, 2024.

MIRANDA-HERNANDEZ, S. et al. CD8⁺ T cells mediate vaccination-induced lymphatic containment of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection following immunosuppression, while B cells are dispensable. *bioRxiv* [Preprint], 24 jan. 2025.

MISHRA, D. K.; SINGH, A.; MISRA, R.; AGARWAL, S. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus in an Indian population. *Journal of Clinical Immunology*, v. 34, p. 633-640, 2014. DOI: 10.1007/s10875-014-0055-6.

MOHAMMADI, A. et al. Vitamin D receptor Apal (rs7975232), Bsml (rs1544410), FokI (rs2228570), and TaqI (rs731236) gene polymorphisms and susceptibility to pulmonary tuberculosis in an Iranian population: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, v. 53, p. 827–835, 2020.

MÖLLER, M.; et al. Genetic resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease. *Frontiers in Immunology*, v. 9, art. 2219, 2018.

MOROJELE, N. K. Alcohol use and tuberculosis: a review of the literature. *Nutrients*, Basel, v. 13, n. 10, p. 3317, 2021. DOI: 10.3390/nu13103317.

MORRISON, N. A. et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*, v. 367, p. 284–287, 1994.

~~NORMAN, A. W. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *J Clin Nutr.*, v. 88, p. 491S–9S, 2008.~~

NOVOTNY, Thomas et al. HIV/AIDS, tuberculosis, and tobacco in Brazil: a syndemic that calls for integrated interventions. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 33, p. e00124215, 2017.

O'GARRA, A. et al. The Immune Response in Tuberculosis. **Annual Review of Immunology**, London, UK, v. 31, p. 475-527, 2013.

ORLOVA, M.; SCHURR, E. Human genomics of Mycobacterium tuberculosis infection and disease. **Current Genetic Medicine Reports**, v. 5, n.3, p. 125-131, 2017.

PARAMEL, G. V.; SIRSJÖ, A.; FRANSÉN, K. Role of genetic alterations in the NLRP3 and CARD8 genes in health and disease. *Mediators of Inflammation*, v. 2015, 2015.

PAVINATI, M. A. et al. Mortes por tuberculose em população em situação de rua no Brasil: análise de fatores associados. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 29, n. 7, p. e02742024, 2024.

PEQUENO, S. F. et al. Vitamina D como agente coadjuvante no tratamento da tuberculose pulmonar. *Revista Brasileira de Educação e Saúde*, v. 9, n. 3, p. 120-126, jul./set. 2019.

PONTILLO, A. et al. Polymorphisms in inflammasome genes and susceptibility to HIV-1 infection. **Journal of acquired immune deficiency syndromes**, v. 59, n. 2, p. 121-125, 2012.

QUEVAL, C. J.; BROSCHE, R.; SIMEONE, R. *The macrophage: a disputed fortress in the battle against Mycobacterium tuberculosis*. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, art. 2284, Nov. 2017.

RASHEDI, J.; ASGHARZADEH, M.; MOADDAB, S. R.; SAHEBI, L.; KHALILI, M.; MAZANI, M.; ABDOLALIZADEH, J. Vitamin D receptor gene polymorphism and vitamin D plasma concentration: correlation with susceptibility to tuberculosis. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, v. 4, Supl. 2, p. 607–611, dez. 2014.

RAVIGLIONE, M. C.; KRECH, R. Tuberculosis: still a social disease. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, v. 15, supl. 2, p. S6–S8, 2011

RAZBEK, J.; CHEN, Y.; YANG, J.; ZHANG, Y.; WEN, B.; WANG, J.; WANG, X.; KUERBANJIANG, G.; AILI, A.; CAO, M. Vitamin D receptor gene polymorphisms differentiated between tuberculosis disease and infection: causal association study. *Infection and Drug Resistance*, v. 17, p. 4763–4772, out. 2024

REALEGENO, S.; MODLIN, R. L. Shedding light on the vitamin D–tuberculosis–HIV connection. **PNAS**, v. 108, n. 47, 2011.

REHM, J.; SAMOKHVALOV, A. V.; NEUMAN, M. G.; ROOM, R.; PARRY, C.; LÖNNROTH, K.; et al. The association between alcohol use, alcohol use disorders and tuberculosis (TB): a systematic review. *BMC Public Health*, v. 9, art. 450, dez. 2009

REIS, A. O. et al. Association between vitamin D deficiency and tuberculosis among HIV-negative individuals: a systematic review and meta-analysis. *The Open Public Health Journal*, v. 18, p. e18749445386757, 2024.

ROOK, G. A. W. et al. Vitamin D3, gamma interferon, and control of proliferation of *Mycobacterium tuberculosis* by human monocytes. **Immunology**, v. 57, p. 159–163, 1986.

ROSENKRANZ, S. J. et al. High-dose vitamin D3 in adults with pulmonary tuberculosis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 102, n. 5, p. 1059-1066, 2015

ROSSI, R. et al. Vitamin D as supplementary treatment for tuberculosis: a randomized placebo-controlled trial. *Proceedings of the Nutrition Society*, v. 71, n. 1, p. 84-89, 2012.

RUAN, S. Y. et al. Revisiting tuberculous pleurisy: pleural fluid characteristics and diagnostic yield of mycobacterial culture in an endemic area. **Thorax**, v. 67, n. 9, p. 822–827, 2012.

SABIN, C. A. et al. Vitamin D supplementation for prevention and treatment of tuberculosis: a systematic review. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 20, n. 7, p. 789-800, 2020

SALEM, J. I.; MAROJA, M. F.; CARVALHO, F. F.; LIMA, M. O.; LITAIF, L. R. L. L.; CARDOSO, M. S. L.; BRIGLIA, M. F. S.; DAVID, H. L. Valor relativo do exame direto, após concentração e por cultivo de escarro no diagnóstico bacteriológico da tuberculose pulmonar no Amazonas. **Jornal de Pneumologia**, v. 16, n. 3, p. 133-136, 1990.

SALEM, JULIA IGNEZ et al. PKO: alternative method for isolating mycobacteria from sputum. **Acta Amaz.** Manaus, v. 37, n. 3, p. 419-424, 2007.

SALIMI, S.; FARAJIAN-MASHHADI, M.; ALAVI-NAINI, R. et al. Association between vitamin D receptor polymorphisms and haplotypes with pulmonary tuberculosis. *Biomedical Reports*, v. 3, n. 2, p. 189–194, 2015.

SANTOS, J. B. et al. Cutaneous tuberculosis: epidemiologic, etiopathogenic and clinical aspects-part I. *Anais brasileiros de dermatologia*, v. 89, n. 2, p. 219-228, 2014.

SARTI, E.; ZHENG, X.; PALMER, C. D.; MCGUIRE, H. M.; ERNST, J. D. The timing of IFN- γ exposure determines macrophage antibacterial function against *Mycobacterium tuberculosis*: a role for c-Myc signaling. *bioRxiv* [Preprint], 2025. Segretier *et al.* (2024)

SASSI, F. Vitamin D: Nutrient, hormone, and immunomodulator. *Nutrients*, Basel, v. 10, n. 11, art. 1656, 2018.

SBIm – Sociedade Brasileira de Imunizações. Vacina BCG. Rio de Janeiro. Disponível em: <https://familia.sbim.org.br/vacinas/vacinas-disponiveis/vacina-bcg>. Acesso em: 15 ago. 2025.

SELVARAJ, P. Host genetics and tuberculosis susceptibility. **Curr Sci.**; v. 86, n. 1, p. 115–21, 2004.

SESTER, M.; SOTGIU, G.; LANGE, C.; GIEHL, C.; GIRARDI, E.; MIGLIORI, G. B.; et al. Interferon- γ release assays for the diagnosis of active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *European Respiratory Journal*, v. 37, n. 1, p. 100–111, jan. 2011.

SHALER, CR; HORVATH, C; LAI, R; XING, Z. Understanding delayed T-cell priming, lung recruitment, and airway luminal T-cell responses in host defense against pulmonary tuberculosis. *Clinical & developmental immunology*, v. 2012, p. 628293. Jan, 2012.

SHEN, W. et al. Genotyping and quantification techniques for single-nucleotide polymorphisms. **TrAC – Trends in Analytical Chemistry**, v. 69, p. 1-13, 2015.

SMITH, I. *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis and molecular determinants of virulence. **Clinical Microbiology**, v. 16, p. 463-496, 2003.

SIA, J. K.; RENGARAJAN, J. Immunology of *Mycobacterium tuberculosis* infections. *Microbiology Spectrum*, v. 7, n. 4, 2019. DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0022-2018.

SIROTA, M. et al. Autoimmune disease classification by inverse association with SNP alleles. **PLoS Genetics**, v. 5, n. 12, 2009.

SOUZA DE LIMA, D.; OGUSKU, M. M.; SADAHIRO, A.; PONTILLO, A. Inflammasome genetics contributes to the development and control of active pulmonary tuberculosis. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 41, p. 240-244, 2016.

STEWART, G. R.; WAGNER, M.; COX, J. S. Infect and inject: how *Mycobacterium tuberculosis* exploits its major virulence-associated type VII secretion system, ESX-1. *Microbiology Spectrum*, v. 7, n. 4, 2019

STUCKI, D.; GAGNEUX, S. Single nucleotide polymorphisms in *Mycobacterium tuberculosis* and the need for a curated database. **Tuberculosis**, v. 93, n. 1, p. 30-39, 2013.

SU Q, MA X, LIN H, LI Y, HU D, XIONG H. et al. Association between gene polymorphisms of vitamin D receptor and pulmonary tuberculosis susceptibility: a meta-analysis. *Journal of Medical Colleges of PLA*. 2011;

SZODORAY, P. et al. The complex role of vitamin D in autoimmune diseases. **Scand J Immunol**. v. 68, n. 3, p. 261-9, Sep, 2008.

TAO, Y. et al. Association between vitamin D receptor gene FokI polymorphism and tuberculosis susceptibility: a meta-analysis. *Frontiers in Genetics*, v. 15, art. 1382957, 2024.

TIENTCHEU, L. D.; KOCH, A.; NDENGANE, M. Immunological consequences of strain variation within the *Mycobacterium tuberculosis* complex. **European Journal of immunology**, v. 3, n. 47, p. 432–445, 2017.

TONIATO, E.; SPINAS, E.; SAGGINI, A.; KRITAS, S. K.; CARAFFA, A.; ANTINOLFI, P.; et al. Immunomodulatory effects of vitamin D on skin inflammation. *Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents*, v. 29, n. 3, p. 563–567, 2015.

UITTERLINDEN, A. G.; FANG, Y.; VAN MEURS, J. B. J.; VAN LEEUWEN, H.; POLS, H. A. P. *Vitamin D receptor gene polymorphisms in relation to Vitamin D related disease states*. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, v. 89-90, n. 1, p. 187-193, maio 2004

VAN EMBDEN, J. D.; CAVE, M. D.; CRAWFORD, J. T.; DALE, J. W.; EISENACH, K. D.; GICQUEL, B.; HERMANS, P.; MARTIN, C.; MCADAM, R.; SHINNICK, T. M. et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, p. 406-409, 1993.

VANNBERG, F. O.; CHAPMAN, S. J.; HILL, A. V. Human genetic susceptibility to intracellular pathogens. *Immunological reviews*, v. 240, n. 1, p. 105–16. Mar, 2011.

WACKER, M.; HOLICK, M. F. *Vitamin D — Effects on Skeletal and Extraskkeletal Health and the Need for Supplementation*. *Nutrients*, v. 5, n. 1, p. 111–148, 2013.

WANG, T. T.; TAVERA-MENDOZA, L. E.; LAPERRIERE, D.; LIBBY, E.; MACLEOD, N. B.; NAGAI, Y. et al. Large-scale in silico and microarray-based identification of direct 1,25-dihydroxyvitamin D3 target genes. **Mol Endocrinol.**, v. 19, p. 2685-95, 2005.

WANG, Yan; LI, Hong-jie. A meta-analysis on associations between vitamin D receptor genetic variants and tuberculosis. *Microbial Pathogenesis*, v. 130, p. 259–271, 2019.

WANG, E.Y. et al. The impact of smoking on tuberculosis treatment outcomes: a meta-analysis. *Int J Tubercul Lung Dis*, 24 (2), Feb 1, pp. 170-175, 2020.

WARNER, D. F. et al. Diversity and disease pathogenesis in *Mycobacterium tuberculosis*. **Trends in Microbiology**, South Africa, v. 23, n.1, p. 14-21, 2015.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Global tuberculosis report 2024*. Geneva: WHO, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/teams/global-programme-on-tuberculosis-and-lung-health/tb-reports/global-tuberculosis-report-2024>. Acesso em: jul. 2025.

WHO, Organização Mundial de Saúde. GLOBAL TUBERCULOSIS REPORT, 2023. Disponível em: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2023>

WILKINSON, R. J.; LLEWELYN, M.; TOOSSI, Z.; PATEL, P.; PASVOL, G.; LALVANI, A.; WRIGHT, D.; LATIF, M.; DAVIDSON, R. N. Influence of vitamin D deficiency and vitamin D receptor polymorphisms on tuberculosis among Gujarati Asians in west London: a case-control study. *Lancet*, v. 355, n. 9204, p. 618–621, 19 fev. 2000.

WIRTH, T. et al. Origin, spread and demography of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. **PLoS pathogens**, v. 4, n. 9. Jan, 2008.

WU, F. et al. Vitamin D receptor Bsm1 polymorphism and tuberculosis risk: a meta-analysis. *PLoS ONE*, v. 8, n. 6, e66944, 2013.

XU, X.; SHEN, M. *Associations between vitamin D receptor genetic variants and tuberculosis: a meta-analysis*. *Innate Immunity*, v. 25, 2019.

YETLEY, E. A. Assessing the vitamin D status of the US population. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 88, suplementar, p. 558S–564S, ago. 2008

YU, J.; LIU, M.; MIJITI, X.; LIU, H.; WANG, Q.; YIN, C.; et al. Association of single-nucleotide polymorphisms in the vitamin D receptor gene with tuberculosis susceptibility and *M. tuberculosis* lineage in the population from Xinjiang, China. *Infection and Drug Resistance*, v. 16, p. 3157–3169, 2023

ZEIN-EDDINE, R.; LE MEUR, A.; SKOULOUBRIS, S.; JELSBÄK, L.; REFRÉGIER, G.; MYLLYKALLIO, H. Genome wide analyses reveal the role of mutator phenotypes in *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance emergence. *npj Antimicrobials and Resistance*, v. 3, art. 35, 2025.

ZHANG, W. T. et al. Associations of four common VDR polymorphisms with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Molecular Biology Reports*, 2020.

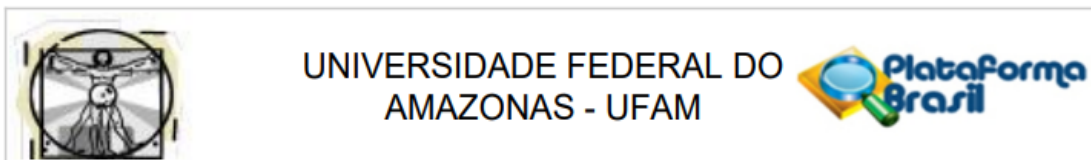
ZHANG, Y.; WANG, X.; LIU, Y.; QU, H.; QU, S.; WANG, W.; REN, L. The GC, CYP2R1 and DHCR7 genes are associated with 25-hydroxyvitamin D concentrations in northeastern Han Chinese children. *Swiss Medical Weekly*, 2012.

ZHAO ZZ; ZHANG TZ; GAO YM; FENG FM. Meta-analysis of relationship of vitamin D receptor gene polymorphism and tuberculosis susceptibility. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*, v. 32, p. 748–751, 2009.

ZYUBIN, A.; LAVROVA, A.; DOGONADZE, M.; BORISOV, E.; POSTNIKOV, E. B. Single-cell analysis of *Mycobacterium tuberculosis* with diverse drug resistance using surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS). *PeerJ*, v. 13, e18830, 2025.

ANEXOS

11. ANEXOS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS RELACIONADOS À RESPOSTA IMUNOLÓGICA NA TUBERCULOSE

Pesquisador: Aya Sadahiro

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 2

CAAE: 19021519.9.0000.5020

Instituição Proponente: Universidade Federal do Amazonas - UFAM

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.178.672

Tabela A1 - Resultados das análises de associação do SNV de *VDR* em pacientes com tuberculose pulmonar considerando a variável de ajuste '**sexo**' e baseados em modelos genéticos.

	Codominante	Dominante	Recessivo	Overdominante	Log-aditivo
rs2228570	0.11074	0.07285	0.10250	0.58111	0.03601
rs7975232	0.45973	0.61119	0.21395	0.60660	0.30058
rs731236	0.02315	0.00699	0.16649	0.04923	0.00761
rs1544410	0.00052	0.12063	0.00010	0.51395	0.00436

Tabela A2 - Resultados das análises de associação do SNV de *VDR* em pacientes com tuberculose pulmonar considerando a variável de ajuste '**tabagismo**' e baseados em modelos genéticos.

	Codominante	Dominante	Recessivo	Overdominante	Log-aditivo
rs2228570	0.15159	0.11500	0.10757	0.72450	0.05356
rs7975232	0.35714	0.71331	0.15271	0.42514	0.29433
rs731236	0.04141	0.01318	0.20038	0.07090	0.01402
rs1544410	0.00217	0.16166	0.00047	0.55451	0.01030

Tabela A3 - Resultados das análises de associação do SNV de *VDR* em pacientes com tuberculose pulmonar considerando a variável de ajuste '**alcoolismo**' e baseados em modelos genéticos.

	Codominante	Dominante	Recessivo	Overdominante	Log-aditivo
rs2228570	0.09920	0.05321	0.12372	0.45514	0.03191
rs7975232	0.38009	0.56341	0.16605	0.57269	0.24442
rs731236	0.01952	0.00549	0.18547	0.03683	0.00692
rs1544410	0.00112	0.16159	0.00023	0.48235	0.00802