

**Polimorfismos de nucleotídeo simples no gene NRAMP1 / SLC11A1 ao risco de
suscetibilidade para a tuberculose**

**Simple nucleotide polymorphisms in the NRAMP1 / SLC11A1 gene to the risk of
susceptibility to tuberculosis**

**Polimorfismos de nucleótidos simples en el gen NRAMP1 / SLC11A1 para el riesgo de
susceptibilidad a la tuberculosis**

Recebido: 28/10/2020 | Revisado: 02/11/2020 | Aceito: 09/11/2020 | Publicado: 12/11/2020

Karolayne Silva Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2627-7385>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: karolayne.silvasouza@ufpe.br

Kátia Cilene da Silva Félix

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4791-7177>

Centro Universitário do Rio São Francisco, Brasil

E-mail: katia.felix@fasete.edu.br

Nelson Carvas Junior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2168-8927>

Universidade Ibirapuera, Brasil

E-mail: nelson.carvas96@gmail.com

Rafaell Batista Pereira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4358-4029>

Centro Universitário do Rio São Francisco, Brasil

E-mail: rafaell_85@hotmail.com

Milena Roberta Freire da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0203-4506>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: milena.freire@ufpe.br

Flávia Steffany Leite Miranda

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6402-531X>

Centro Universitário do Rio São Francisco, Brasil

E-mail: flaviasteffany@hotmail.com

Maria Betânia Melo de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5188-3243>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: mbetanium2008@gmail.com

Graziele dos santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5662-6668>

Unidade de Ensino Superior de Feira de Santana, Brasil

E-mail: grasantosbio@gmail.com

Felicson Leonardo Oliveira Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5256-6768>

Colégio Nobre de Feira de Santana, Brasil

E-mail: felicsonleonardo@hotmail.com

Rodrigo Reges dos Santos Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0141-5649>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: rodrigoregesufpe@gmail.com

Leandro Paes de Brito

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3440-6431>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: leandropaes02ufpe@gmail.com

Resumo

Introdução: A tuberculose é uma doença infectocontagiosa que possui como principal agente etiológico o *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*), que se configura como um problema de saúde pública mundial. Erros na resposta imunológica do indivíduo ao patógeno pode desencadear a suscetibilidade ao agente infeccioso, assim, estudos com SNPs no gene NRAMP1/SLC11A1, tem sido realizado amplamente em investigações de suscetibilidade às doenças infecciosas, principalmente a tuberculose. Objetivo: O objetivo foi relacionar os polimorfismos de nucleotídeo simples nas variantes 5'Promotor, D543N, INT4 e 3'UTR do gene NRAMP1/SLC11A1 na suscetibilidade do indivíduo ao *M. tuberculosis* por meio de uma meta-análise. Metodologia: Este trabalho foi conduzido seguindo as diretrizes metodológicas de uma Revisão Sistemática de acordo com o protocolo PRISMA, dos quais, realizou-se buscas nas principais bases eletrônicas Medline via Pubmed, Science Direct e

Lilacs. Os estudos foram selecionados seguindo os critérios de elegibilidade, sendo escolhidos uma totalidade de 39 artigos científicos para a coleta de dados, sem restrição de idioma ou ano. Resultados e Discussão: Os resultados desse trabalho evidenciaram uma possível associação entre os SNPs do gene NRAMP1/SLC11A1 ao risco de suscetibilidade à tuberculose. A análise de subgrupo sugeriu que das 5 etnias e/ou continentes analisados (África, América do Sul, América do Norte, Caucasiano e Asiáticos), apenas os caucasianos não obtiveram resultados estatisticamente significativos de nenhuma variante a um maior risco de suscetibilidade à tuberculose. Conclusão: O presente estudo, evidenciou uma possível associação entre os polimorfismos nos SNPs variantes 5´Promotor, INT4, D543N e 3´UTR do gene NRAMP1/SLC11A1 ao risco de suscetibilidade a tuberculose.

Palavras-chave: SNP; Gene; *Mycobacterium tuberculosis*.

Abstract

Introduction: Tuberculosis is an infectious disease that has *Mycobacterium tuberculosis* (M. tuberculosis) as its main etiological agent, which is configured as a worldwide public health problem. Errors in the individual's immune response to the pathogen can trigger susceptibility to the infectious agent, thus, studies with SNPs in the NRAMP1 / SLC11A1 gene, have been widely carried out in investigations of susceptibility to infectious diseases, especially tuberculosis. **Objective:** The objective was to relate the simple nucleotide polymorphisms in the 5´Promotor, D543N, INT4 and 3´UTR variants of the NRAMP1 / SLC11A1 gene in the individual's susceptibility to M. tuberculosis through a meta-analysis. **Methodology:** This work was carried out following the methodological guidelines of a Systematic Review according to the PRISMA protocol, from which searches were carried out on the main Medline electronic databases via Pubmed, Science Direct and Lilacs. The studies were selected according to the eligibility criteria, with a total of 39 scientific articles chosen for data collection, without language or year restriction. **Results and Discussion:** The results of this study showed a possible association between the SNPs of the NRAMP1 / SLC11A1 gene with the risk of susceptibility to tuberculosis. The subgroup analysis suggested that of the 5 ethnicities and / or continents analyzed (Africa, South America, North America, Caucasian and Asians), only Caucasians did not obtain statistically significant results of any variant at a higher risk of susceptibility to tuberculosis. **Conclusion:** The present study showed a possible association between polymorphisms in the SNPs variant 5´Promotor, INT4, D543N and 3´UTR of the NRAMP1 / SLC11A1 gene with the risk of susceptibility to tuberculosis.

Keywords: SNP; Gene; *Mycobacterium tuberculosis*.

Resumen

Introducción: La tuberculosis es una enfermedad infecciosa que tiene como principal agente etiológico a *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*), lo que se configura como un problema de salud pública mundial. Los errores en la respuesta inmune del individuo al patógeno pueden desencadenar la susceptibilidad al agente infeccioso, por lo que los estudios con SNP en el gen NRAMP1 / SLC11A1 se han llevado a cabo ampliamente en investigaciones de susceptibilidad a enfermedades infecciosas, especialmente tuberculosis. **Objetivo:** El objetivo fue relacionar los polimorfismos de nucleótidos simples en las variantes 5'Promotor, D543N, INT4 y 3'UTR del gen NRAMP1 / SLC11A1 en la susceptibilidad del individuo a *M. tuberculosis* mediante un metaanálisis. **Metodología:** Este trabajo se realizó siguiendo las pautas metodológicas de una Revisión Sistemática según el protocolo PRISMA, a partir de la cual se realizaron búsquedas en las principales bases de datos electrónicas de Medline a través de Pubmed, Science Direct y Lilacs. Los estudios fueron seleccionados según los criterios de elegibilidad, con un total de 39 artículos científicos elegidos para la recolección de datos, sin restricción de idioma o año. **Resultados y discusión:** Los resultados de este estudio mostraron una posible asociación entre los SNP del gen NRAMP1 / SLC11A1 con el riesgo de susceptibilidad a la tuberculosis. El análisis de subgrupos sugirió que de las 5 etnias y / o continentes analizados (África, Sudamérica, Norteamérica, caucásicos y asiáticos), solo los caucásicos no obtuvieron resultados estadísticamente significativos de ninguna variante con mayor riesgo de susceptibilidad a la tuberculosis. **Conclusión:** El presente estudio mostró una posible asociación entre polimorfismos en la variante 5'Promotor, INT4, D543N y 3'UTR de SNP del gen NRAMP1 / SLC11A1 con el riesgo de susceptibilidad a la tuberculosis.

Palabras clave: SNP; Gene; *Tuberculosis micobacteriana*.

1. Introdução

As doenças infecciosas são uma das principais causas de óbitos no mundo, sendo que nos últimos anos os avanços da genética e da biologia molecular tem permitido uma maior compreensão acerca dessas doenças, contribuindo assim para o benefício da saúde humana (Ferris; Hood, 2018).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) a tuberculose está entre as dez principais doenças que mais causam óbitos globalmente, estima-se que em 2017 obteve-se 1,3 milhões de óbitos no mundo e aproximadamente 10 milhões de pessoas tenham desenvolvido

a doença. Neste mesmo ano, estimou-se 5,1 mil óbitos e cerca de 86.858 casos notificados por tuberculose no Brasil, inserindo assim o país entre os 20 países com maiores números de casos absolutos incidentes por tuberculose (WHO, 2018).

Uma das principais características da tuberculose é que apenas o contato com seu principal agente etiológico, a *M. tuberculosis*, não é suficiente para o desenvolvimento da tuberculose, visto que, o perfil genético do indivíduo é um relevante determinante para a suscetibilidade a esta doença (Chapman; Hill, 2012). A compreensão da genética do hospedeiro é uma perspectiva de ferramenta na medicina clínica, principalmente para a elucidação da expressão genética do hospedeiro. Os erros na resposta imune reduzem o combate ao patógeno, e com isso podem desencadear a suscetibilidade ao agente infeccioso (Pacheco; Moraes, 2009).

A suscetibilidade e/ou resistência do hospedeiro as doenças podem estar associadas principalmente aos polimorfismos de nucleotídeos simples (SNPs). Estudos de polimorfismos no gene *NRAMP1/SLC11A1* têm sido associados a suscetibilidade à tuberculose, os quais buscam a elucidação de sítios polimórficos no DNA que propiciem a redução da resposta imune do indivíduo, e com isto predisõem o hospedeiro a infecção pela *M. tuberculosis* (Bethunaickan; Harishankar; Selvaraj, 2018).

Considerando a extensão e o potencial do impacto na saúde causado por esta doença, os objetivos dessa pesquisa foram relacionar os polimorfismos de nucleotídeo simples nas variantes 5'Promotor, D543N, INT4 e 3'UTR do gene *NRAMP1/SLC11A1* na suscetibilidade do indivíduo ser acometido pela tuberculose, testando a seguinte hipótese por meio de revisão sistemática com metanálise.

2. Metodologia

A presente pesquisa seguiu as recomendações de uma revisão sistemática com meta-análise, com diretrizes metodológicas do protocolo PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses). Considerou-se incluídos estudos observacionais de caso controle ou coorte, na qual, relacionou polimorfismos no gene *NRAMP1/SLC11A1* para a suscetibilidade a tuberculose. Além de serem selecionados estudos com pacientes que atendam aos critérios de confirmação diagnóstica mundial por tuberculose (bacteriológico, cultura, histológico, molecular, exames de imagem), que apresentasse a forma de tuberculose pulmonar e/ou extrapulmonar, e estudos que abordassem a frequência genotípica, sem restrições de ano, idioma ou status de publicação. A exclusão se deu para estudos *in vitro* ou

com animais, estudos de pacientes com HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana), estudos de revisões bibliográficas, artigos duplicados, artigos de opinião, artigos com dados incompletos ou insuficientes, artigos indisponíveis na íntegra.

Realizou-se a busca por estudos nas bases eletrônicas PUBMED via MEDLINE, LILACS, e SCIENCE DIRECT, com os principais descritores: "Tuberculoses" OR "Mycobacterium tuberculosis" AND "Genetic Susceptibility" OR "Genetic Predisposition" OR "Nucleotide Polymorphism, Single" AND "Nrampl protein" OR "SLC11A1 protein". A seleção de estudos consistiu-se em duas etapas: A 1ª etapa foi composta pela análise em todos os títulos dos estudos de forma individual, assim, nessa fase, estudos havendo duplicação foram eliminados. A 2ª etapa consistiu na discussão dos critérios de elegibilidade, sendo estes aplicados por um revisor, resumindo-se na eliminação de estudos pelo título, não estando relacionados a proposta do presente trabalho. Por último, foram eliminados estudos após leitura completa dos mesmos, na qual, não continham informações sobre dados de frequência genotípica para a realização da meta-análise, e assim considerados elegíveis os estudos que passaram pelos critérios acima.

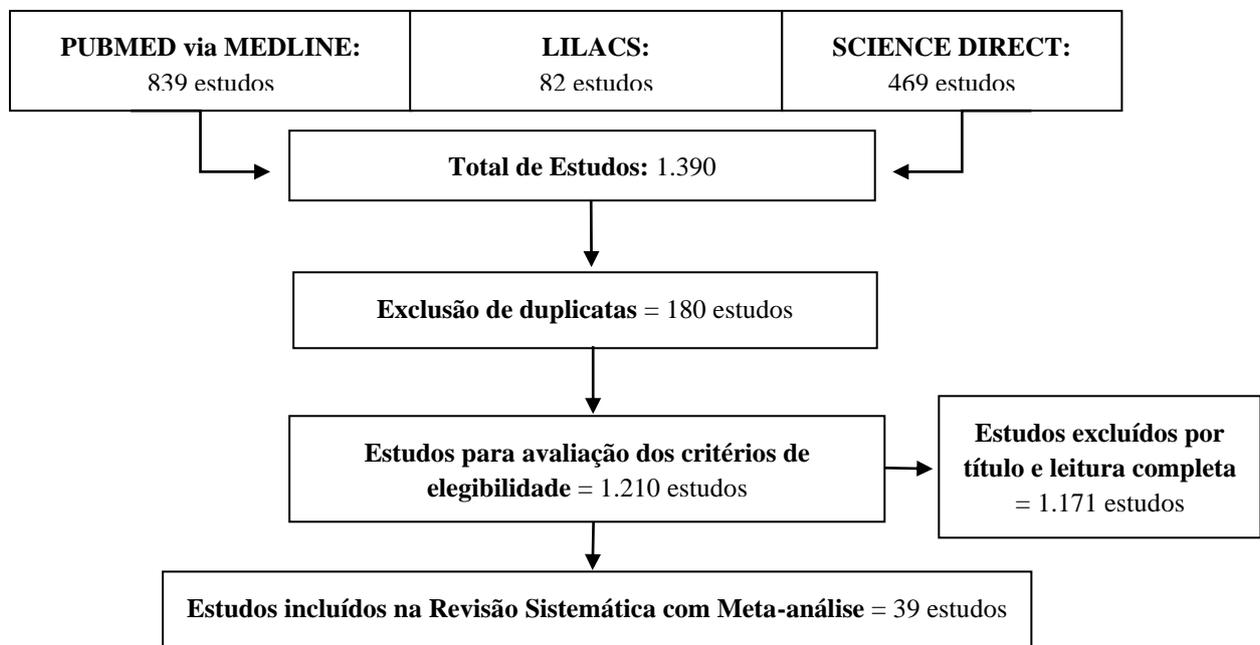
Após a seleção dos estudos extraiu-se informações dos mesmos, utilizando um protocolo definido com: Identificação do estudo (autor, ano, localidade de continente e/ou etnia dos pacientes), características da amostra (número de pacientes em cada estudo), características da coleta de dados (confirmação diagnóstica por tuberculose e frequência genotípica). Realizou-se a análise de subgrupos para as variantes 5'Promotor, INT4, D543N e 3'UTR do gene por etnia e/ou continente, assim como a análise de modelos de genótipos mutantes heterozigóticos e homozigóticos.

Os resultados foram relatados em OR (Odds ratio) e Intervalos de Confiança (IC) de 95% para cada região do gene NRAMP1/SLC11A1. Analisou-se a existência de heterogeneidade entre os estudos científicos pela estatística I^2 de Higgins e Thompson (sugerem uma escala em que próximo a 0% indica não heterogeneidade, próximo a 25% indica baixa heterogeneidade, próximo a 50% indica heterogeneidade moderada e próximo a 75% indica alta heterogeneidade), e para sumarizar as informações dos resultados dos estudos incluídos, apresentou-se os dados em gráficos Forest plot, em modelo de Mantel-Haenszel e DerSimonian e Laird. As análises foram realizadas no programa R (Versão 1.1.463). Os riscos de viés de forma individual dos estudos selecionados foram analisados utilizando a lista de verificação de avaliação crítica do JBI (Instituto Joanna Briggs), já o risco de viés entre os estudos fora avaliado pelo teste de Egger (recomendadas em Meta-análises que apresentam >10 estudos).

3. Resultados e Discussão

A busca inicial identificou uma totalidade de 1.390 estudos, sendo eliminados 180 duplicatas, levando a 1.210 estudos a serem analisados pelo título e leitura completa das mesmas, na qual, 1.171 estudos foram excluídos. Assim, 39 estudos preencheram os critérios de elegibilidade e foram incluídos nessa revisão sistemática com meta-análise. A Figura 1 demonstra o fluxograma segundo a recomendação PRISMA, abordando a totalidade de inclusão e exclusão de estudos buscados.

Figura 1. Diagrama de fluxo descrevendo o processo de inclusão dos estudos pesquisados de acordo com o protocolo PRISMA.



Fonte: Autores.

De acordo com as bases eletrônicas consultadas, uma totalidade de 39 estudos foram elegíveis para a elaboração deste trabalho. Com isso, verificou-se um total de 27.839 indivíduos participantes nos estudos, dos quais, 12.400 correspondiam a pacientes com tuberculose e 15.439 participantes controles sem a doença. Os estudos incluídos, tiveram participantes de diferentes localidades e etnias, como norte-americanos, sul-americanos, caucasianos e africanos. A Tabela 1 reporta as principais características dos estudos elegíveis para esta metanálise.

Tabela 1. Principais características dos estudos incluídos nessa Meta-análise.

| Estudos | Tipo de TB | Diagnóstico da Tuberculose | Etnia e/ou Continente |
|-------------------------------|-------------------|--|------------------------------|
| Ryu et al., 2000 | N | Radio., Bacil. de escarro, Cult. | Ásia |
| Gao et al., 2001 | N | Bacil. de escarro | Ásia |
| Awomoyi et al., 2002 | N | Radio., Bacil. de escarro | África |
| Ma et al., 2002 | Pul./Extr. | Bacil. de escarro, Histo. | A. Norte |
| Delgado et al., 2002 | Pulmonar | Cult. | Ásia |
| Liaw et al., 2002 | Pulmonar | Bacil. de escarro, Cult. | Ásia |
| Selvaraj et al., 2002 | Pul./Extr. | Radio., Bacil. de escarro | Ásia |
| Søborg et al., 2002 | Pul./Extr. | Radio., Bacil. de escarro, Cult. | Etnias Dist. |
| Solgun et al., 2002 | N | Prontuários médicos | Caucasiano |
| Abe et al., 2003 | N | Histo., Cult., PCR | Ásia |
| Kim et al., 2003 | Pulmonar | Radio., Histo. | Ásia |
| Fitness et al., 2004 | N | Bacil. de escarro, Cult., Histo. | Ásia |
| Liu et al., 2004 | Pulmonar | Radio., Bacil. de escarro, Cult. | Ásia |
| Zhang et al., 2005 | Pulmonar | Bacil. de escarro, Cult. | Ásia |
| Druszczynska et al., 2006 | Pulmonar | Bacil. de escarro, Cult. | Caucasiano |
| Hsu et al., 2006 | N | Bacil. de escarro e Histo. | Ásia |
| Taype et al., 2006 | Pul./Extr. | Bacil. de escarro, Cult., Histo. | A. Sul |
| Leung et al., 2007 | Pulmonar | Bacil. de escarro, Cult., Histo., PCR | Ásia |
| Niño-Moreno et al., 2007 | Pulmonar | Radio., Cult. | A. Sul |
| Qu et al., 2007 | Pulmonar | Radio., Cult. | Ásia |
| Sahiratmadja et al., 2007 | Pulmonar | Radio., Bacil. de escarro. | Ásia |
| Vejbaesya et al., 2007 | Pulmonar | Radio., Bacil. de escarro, Cult. | Ásia |
| Asai et al., 2008 | Pulmonar | Radio., Bacil. de escarro, Cult. | Ásia |
| Farnia et al., 2008 | N | Prontuários médicos | Ásia |
| Ates et al., 2009 | Pul./Extr. | Bacil. de escarro, Cult., Histo., Radio. | Caucasiano |
| Jin et al., 2009 | N | Radio., Bacil. de escarro. | Ásia |
| Merza et al., 2009 | N | Radio., Bacil. de escarro. | Ásia |
| Hatta et al., 2010 | N | Bacil. de escarro, Cult. | Ásia |
| De Wit et al., 2010 | N | Cult. | África |
| Singh et al., 2011 | Pulmonar | Radio., Bacil. de escarro, Cult. | Ásia |
| Stagas et al., 2011 | Pulmonar | Radio., Bacil. de escarro, Cult. | Caucasiano |
| Ben-Selma et al., 2012 | Pul./Extr. | Bacil. de escarro, Cult., Histo. | África |
| Tiksnadi et al., 2013 | Pul./Extr. | Prontuários médicos | Ásia |
| Wu F et al., 2013 | Pulmonar | Radio., Bacil. de escarro, Cult. | Ásia |
| Fernández-Mestre et al., 2015 | Pulmonar | Radio., Bacil. de escarro | A. Sul |
| Salinas-Delgado et al., 2015 | Pulmonar | Bacil. de escarro, Cult., Histo. | A. Norte |

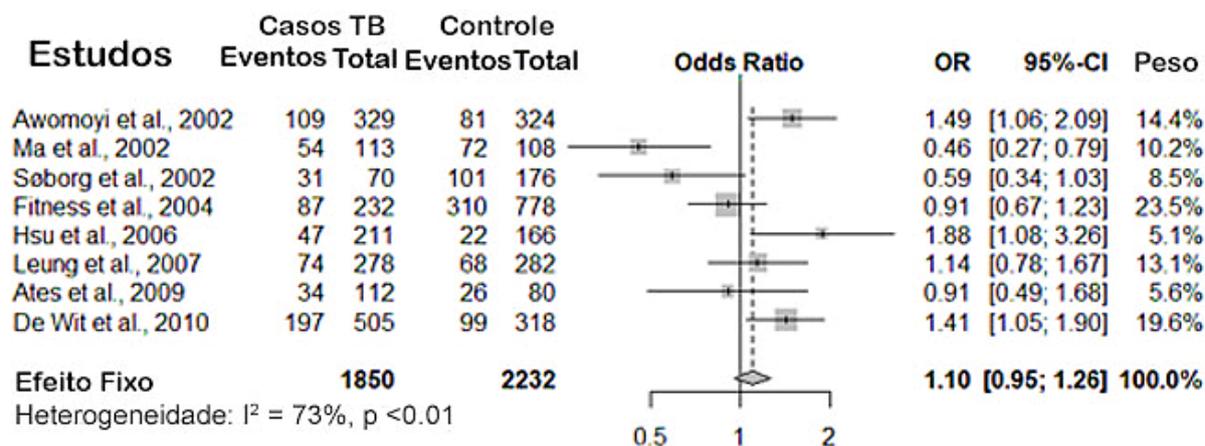
| | | | |
|------------------------------|----------|----------------------------------|------|
| Wu L et al., 2015 | Pulmonar | Radio., Bacil. de escarro, Cult. | Ásia |
| Jafari et al., 2016 | Pulmonar | Radio., Bacil. de escarro, Cult. | Ásia |
| Medapati et al., 2017 | Pulmonar | Radio., Bacil. de escarro | Ásia |

Legendas: TB = Tuberculose, N = Tipo de tuberculose não especificado, América N. = América do Norte, América S. = América do Sul, Etnias Dist. = Etnias Distintas (branco, africano, asiático e povo inuit), Pul./Extr. = Pulmonar e Extrapulmonar, Radio. = Radiografia, Bacil. de escarro = Baciloscopia de escarro, Cult. = Cultura, Histo. = Histopatologia, PCR = Reação de Cadeia Polimerase.

Fonte: Autores.

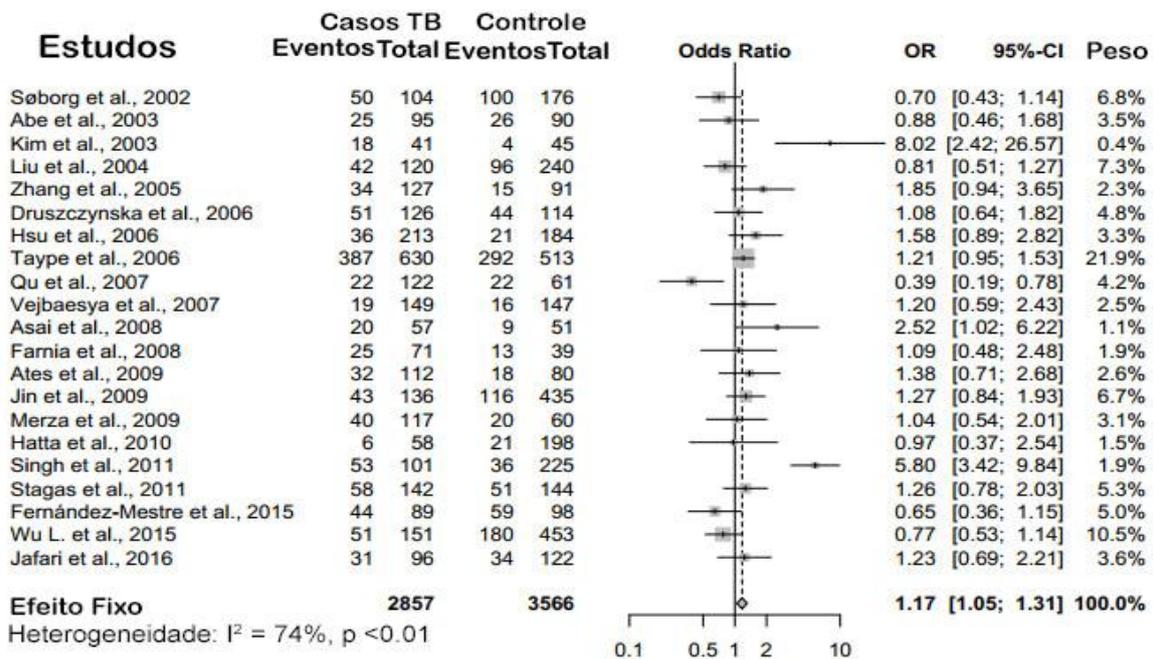
Realizou-se a análise dos resultados do presente trabalho por dois modelos: Modelo SNP de genótipo heterozigoto e homozigoto em conjunto e Modelo SNP de genótipo heterozigoto e homozigoto individuais. Os resultados abordaram que o modelo SNP de genótipo heterozigoto e homozigoto em conjunto na região 5´Promotor (GT)_n tiveram resultados com OR de 1.09 (IC 95%, 0.95 - 1.26), o SNP na região INT4 (G/C) obteve-se resultado com OR de 1.17 (IC 95%, 1.04 - 1.30), o SNP na região D543N (G/A) tiveram resultados com OR de 1.22 (IC 95%, 1.10 - 1.37), e por último o SNP 3´UTR (+/del) obteve um resultado de OR de 1.32 (IC 95%, 1.21 - 1.45), Q= p>0.01. A heterogeneidade entre os estudos variou de moderada a alta heterogeneidade (I² de 53% a 74%). Estes resultados podem ser observados nas Figuras 2, 3, e 4 e 5.

Figura 2. Modelo de SNP (GT_n) da região 5´Promotor.



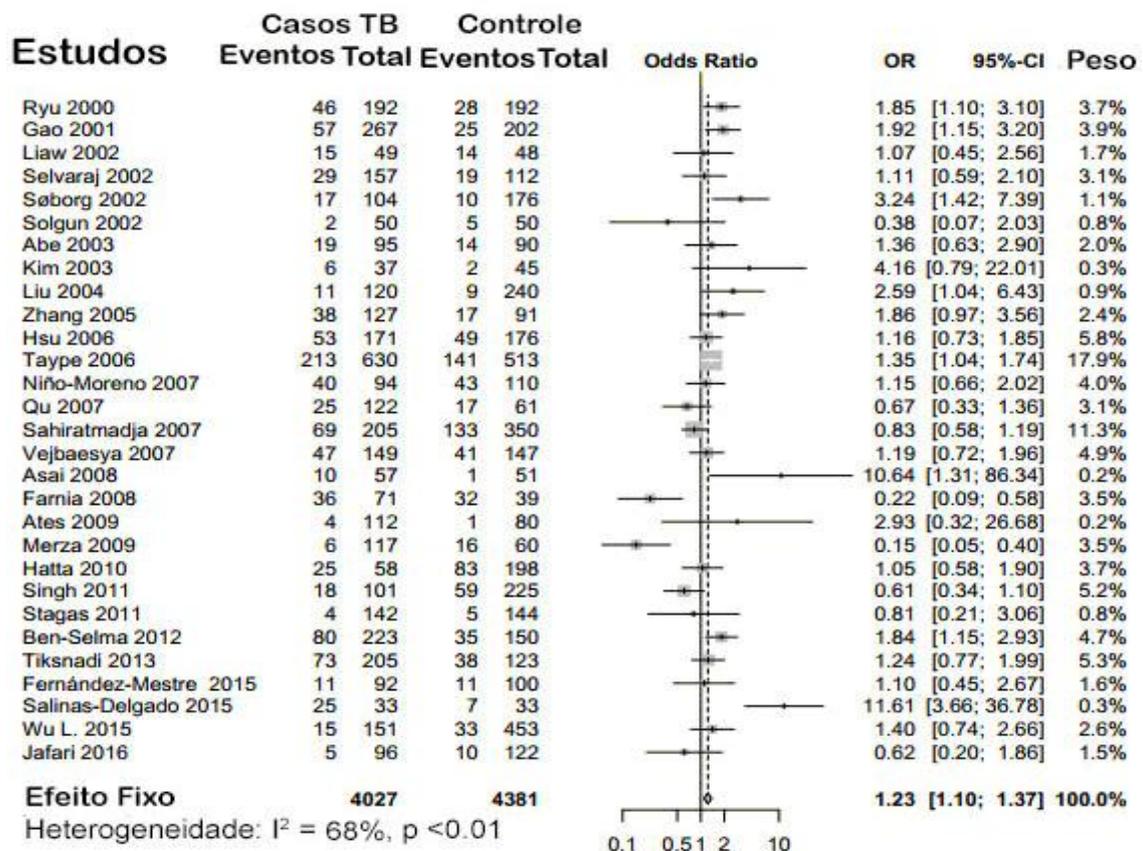
Fonte: Autores.

Figura 3. Modelo de SNP (G/C) da região INT4.



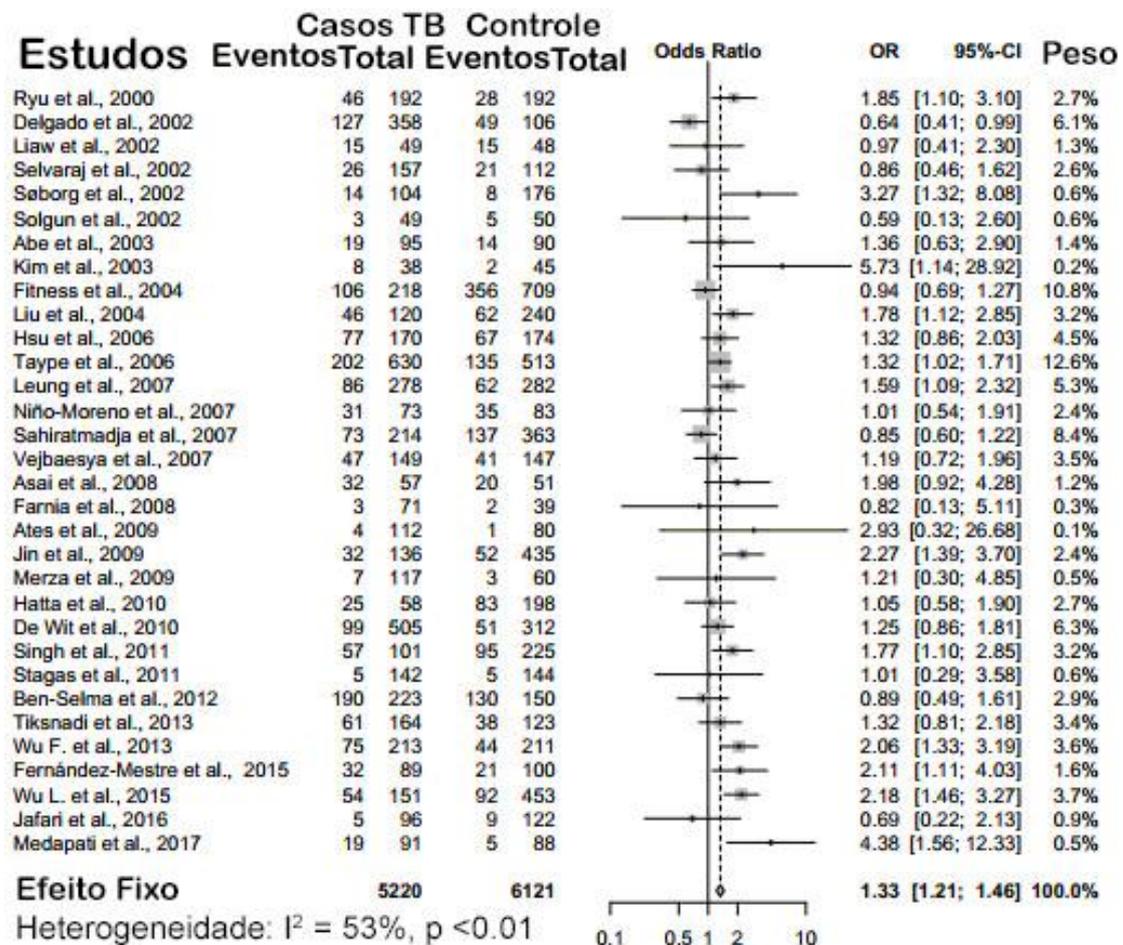
Fonte: Autores.

Figura 4. Modelo de SNP (G/A) da região D543N.



Fonte: Autores.

Figura 5. Modelo de SNP (+/del) da região 3'UTR.



Fonte: Autores.

O segundo modelo analisado consistiu no genótipo heterozigoto individual e homozigoto individual, onde observou-se que o SNP heterozigoto (GTHt) com OR de 1.15 (IC 95%, 0,99 - 1.35) e SNP homozigoto (GTHg) com OR de 1.74 (IC 95%, 1.27 - 2.38) da variante 5'promotor obteve resultado estatisticamente significativo. O SNP da variante INT4 do modelo SNP de genótipo heterozigoto individual e homozigoto individual não se obteve resultado estatisticamente significativo para o risco de tuberculose para o SNP G/C (Heterozigoto), já o modelo de SNP C/C (Homozigoto) observou-se resultados estatisticamente significativo (OR= 1.76 e IC 95%= 1.37 - 2.24), demonstrando uma possível associação de risco a suscetibilidade para a tuberculose.

O modelo de genótipo heterozigoto e homozigoto individual para a variante D543N não apresentou resultados estatisticamente significativo para a suscetibilidade a tuberculose para o SNP heterozigoto (G/A) e o SNP homozigoto (A/A). Já a variante 3'UTR apresentou

resultado estatisticamente significativo (OR=1.29 e IC 95%= 1.18 – 1.42), para o modelo de genótipo heterozigoto (+/del) para uma possível associação ao risco de tuberculose, sendo que, o modelo homozigoto (del/del) obteve resultados não significativo ao risco de tuberculose. A heterogeneidade I² entre os estudos variou de baixa a moderada heterogeneidade (de 21% a 64%).

Para as análises adicionais de etnias e/ou continente, os resultados mostraram que para o SNP na variante 5´Promotor, os africanos tiveram significância estatística de risco para a tuberculose com OR= 1.45 e IC 95%= 1.16 – 1.80, quando comparados aos norte-americanos, sul-americanos, caucasianos e asiáticos. Para o SNP INT4 somente os asiáticos tiveram uma associação significativa para a suscetibilidade a tuberculose com (OR = 1.24 e IC 95% =1.06 – 1.45). O SNP D543N teve associação estaticamente significativa para os norte-americanos (OR = 1.79 e IC 95%= 1.08 – 2.97), sul-americanos (OR = 1.33 e IC 95%= 1.04 – 1.69) e africanos (OR = 1.84 e IC 95%= 1.15 – 2.93). Por fim, o SNP 3´UTR obteve resultados significativos para as etnias sul-americanas (OR = 1.35 e IC 95%= 1.08 – 1.69) e asiáticas (OR = 1.34 e IC 95%= 1.20 – 1.49).

A avaliação de risco de viés entre os estudos pelo teste de Egger apresentou risco baixo de viés de publicação para o modelo SNP de genótipo heterozigoto e homozigoto em conjunto. O teste estatístico de Egger para esse modelo foi: INT4 = 0.48, D543N = 0.90 e 3´UTR = 0.38. O modelo SNP de genótipo heterozigoto obteve pelo teste de Egger: INT4 = 0.22, D543N = 0.72 e 3´UTR = 0.42, caracterizando um risco de viés baixo entre os estudos desse modelo. Já para o modelo homozigótico obteve-se um resultado com teste de Egger: INT4: 0.23, D543N = 0.00, e 3´UTR = 0.05, havendo assim, apenas a variante da região INT4 apresentando risco de viés baixo para esse modelo. Com isso, apenas para a variante 5´Promotor não foi realizado a avaliação estatística em nenhum dos modelos acima, por conter um número de estudos abaixo do ideal para a realização do teste (<10).

Diante dos 39 estudos analisados por meta-análise nos SNPs variantes 5´Promotor, INT4, D543N e 3´UTR do gene NRAMP1/SLC11A1, foi observado associações significativas de suscetibilidade a tuberculose em diferentes regiões e etnias e/ou continentes (África, América do Norte, América do Sul, Ásia e Caucasiano) distintas. O estudo de Bellamy et al. (1998) analisou pela primeira vez SNPs no gene NRAMP1/SLC11A1 com associação ao risco de um indivíduo ser acometido por tuberculose, posteriormente, pesquisadores exploraram polimorfismos nas variantes desse gene (Li H et al., 2006).

O estudo de Li X et al (2011) sugeriu uma observação quanto a suscetibilidade a tuberculose em etnias, na qual observou-se que as populações europeias não estavam

associadas estatisticamente a tuberculose, pela qual, nesse trabalho baseado nos 39 estudos elegíveis corroboraram com este feito, em que, somente a etnia caucasiana não obteve resultados associando significativamente os SNPs no gene NRAMP1/SLC11A1 ao risco de tuberculose. Este estudo também aborda que pode haver inconsistências de resultados relacionados a outros trabalhos, podendo ser explicado pelo número baixo de estudos e a análise da heterogeneidade entre os estudos.

Nessa revisão sistemática com meta-análise a heterogeneidade variou de moderada para alta, visto que, segundo os autores Dos Santos e Cunha (2013), quando há a identificação de alta heterogeneidade entre os estudos pode-se realizar várias abordagens, como: ignorar a heterogeneidade, considerar a heterogeneidade ou explorar a heterogeneidade. Diante disso, na presente meta-análise realizou-se a exploração da heterogeneidade, optando-se pela análise de subgrupos de participantes por etnia.

Pode ser observado que a frequência genotípica de indivíduos no modelo homocigoto individual é menor que o heterocigoto individual. Segundo Strachan e Read (2010) é mais comum que se tenha um maior número de indivíduos apresentando SNPs com alelos heterocigotos comparado aos homocigotos, visto que, é mais benéfico um indivíduo com SNP heterocigoto (mutação incompleta) em comparação a um SNP homocigoto, já que o heterocigoto tem maior estabilidade por possuir apenas um dos alelos danoso. Ainda segundo o autor supracitado, esses alelos podem transmitir um grande efeito no fenótipo do indivíduo. Os vieses apresentados nas variantes 3'UTR e D543N no modelo de análise de genótipo homocigoto individual podem ser explicados pela quantidade pequena de amostras nos estudos, visto que, segundo Pereira e Galvão (2014) um número baixo de participantes em estudos pode apresentar resultados com vieses por mera influência do acaso.

Limitações também devem ser reconhecidas, visto que, informações de idade e sexo dos participantes não foi controlado em mais da metade dos estudos incluídos, assim como a divisão grosseira de etnias e/ou continentes em: África, América do Sul, América do Norte, Caucasiano e Asiáticos, ocasiona em uma análise propensa a prejulgamentos, com isso, estudos adicionais de diferentes populações são necessários para comparar os achados atuais.

4. Considerações Finais

Os estudos de revisão sistemática com Meta-análise são relevantes na comunidade científica, visto que, fornecem melhores evidências disponíveis para a prática clínica, sendo o ponto alto da prática baseada em evidências. O estudo de associação de suscetibilidade à

tuberculose vem sendo amplamente estudada, inclusive na prática baseada em evidências, já que a tuberculose é uma doença de agravo de saúde pública mundial, e estudos como esse, auxiliam em uma melhor compreensão sobre a doença, assim como na prevenção e diagnóstico precoce da mesma, podendo influenciar também no controle da tuberculose.

Este trabalho evidenciou uma possível associação entre os polimorfismos nos SNPs variantes 5'Promotor, INT4, D543N e 3'UTR do gene NRAMP1/SLC11A1 ao risco de suscetibilidade a tuberculose de acordo com os resultados apresentados. A análise de subgrupo sugeriu que das 5 etnias e/ou continentes analisados (África, América do Sul, América do Norte, Caucásico e Asiáticos), apenas os caucasianos não obtiveram resultados estatisticamente significativos de nenhuma variante a um maior risco de suscetibilidade a tuberculose. Contudo, sugere-se que mais estudos epidemiológicos com dados de amostragem maiores sejam realizados, para a atualização e verificação das hipóteses do presente estudo.

Referências

Abe, T., Inuma, Y., Ando, M., Yokoyama, T., Yamamoto, T., Nakashima, K., & Shimokata, K. (2003). NRAMP1 polymorphisms, susceptibility and clinical features of tuberculosis. *Journal of Infection*, 46(4), 215-220.

Asai, S., Abe, Y., Fujino, T., Masukawa, A., Arami, S., Furuya, H., & Miyachi, H. (2008). Association of the SLC11A1 gene polymorphisms with susceptibility to mycobacterium infections in a Japanese population. *Infectious Diseases in Clinical Practice*, 16(4), 230-234.

Ates, Ö., Dalyan, L., Müsellim, B., Hatemi, G., Türker, H., Öngen, G., & Topal-Sarıkaya, A. (2009). NRAMP1 (SLC11A1) gene polymorphisms that correlate with autoimmune versus infectious disease susceptibility in tuberculosis and rheumatoid arthritis. *International journal of immunogenetics*, 36(1), 15-19.

Awomoyi, A. A., Marchant, A., Howson, J. M., McAdam, K. P., Blackwell, J. M., & Newport, M. J. (2002). Interleukin-10, polymorphism in SLC11A1 (formerly NRAMP1), and susceptibility to tuberculosis. *The Journal of infectious diseases*, 186(12), 1808-1814.

Bellamy, R., Ruwende, C., Corrah, T., McAdam, K. P., Whittle, H. C., & Hill, A. V. (1998). Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. *New England Journal of Medicine*, 338(10), 640-644.

Ben-Selma, W., Harizi, H., Letaief, M., & Boukadida, J. (2012). Age-and gender-specific effects on NRAMP1 gene polymorphisms and risk of the development of active tuberculosis in Tunisian populations. *International Journal of Infectious Diseases*, 16(7), e543-e550.

Campos, H. S. (2006). *Diagnóstico da tuberculose*. Pulmão RJ, 15(2), 92-99.

Cellier, M. F. (2017). Developmental control of NRAMP1 (SLC11A1) expression in professional phagocytes. *Biology*, 6(2), 28.

Chapman, S. J., & Hill, A. V. (2012). Human genetic susceptibility to infectious disease. *Nature Reviews Genetics*, 13(3), 175-188.

Dallmann-Sauer, M., Correa-Macedo, W., & Schurr, E. (2018). Human genetics of mycobacterial disease. *Mammalian Genome*, 29(7-8), 523-538.

Delgado, J. C., Baena, A., Thim, S., & Goldfeld, A. E. (2002). Ethnic-specific genetic associations with pulmonary tuberculosis. *The Journal of infectious diseases*, 186(10), 1463-1468.

De Wit, E., van der Merwe, L., van Helden, P. D., & Hoal, E. G. (2011). Gene-gene interaction between tuberculosis candidate genes in a South African population. *Mammalian Genome*, 22(1-2), 100-110.

Dos Santos, E. J. F., & Cunha, M. (2013). Interpretação crítica dos resultados estatísticos de uma meta-análise: estratégias metodológicas. *Millenium*, (44), 85-89.

Druszczynska, M., Strapagiel, D, Kwiatkowska, S, Kowalewicz-Kulbat, M, Rozalska, B., Chmiela, M, & Rudnicka, W. (2006). Tuberculosis bacilli still posing a threat. Polymorphism of genes regulating anti-mycobacterial properties of macrophages. *Polish journal of microbiology*, 55(1), 7.

Farnia, P., Pazhand, O., Tabarsi, P., Kazempour, D. M., Mohammadi, F., Varahram, M., & Velayati, A. (2008). Comparison of Nramp1 gene polymorphism among TB health care workers and recently infected cases; assessment of host susceptibility.

Fernández-Mestre, M., Villasmil, Á., Takiff, H., & Fuentes Alcalá, Z. (2015). NRAMP1 and VDR gene polymorphisms in susceptibility to tuberculosis in Venezuelan population. *Disease markers*.

Ferris, M. T., & Hood, D. W. (2018). Host genetic regulation of immune-based and infectious diseases. *Mammalian Genome*, 29(7-8), 365-366.

Fitness, J., Floyd, S., Warndorff, D. K., Sichali, L., Malema, S., Crampin, A. C., & Hill, A. V. (2004). Large-scale candidate gene study of tuberculosis susceptibility in the Karonga district of northern Malawi. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 71(3), 341-349.

Fol, M., Druszczynska, M., Wlodarczyk, M., Ograczyk, E., & Rudnicka, W. (2015). Immune response gene polymorphisms in tuberculosis. *Acta Biochimica Polonica*, 62(4).

Forrellad, M. A., Klepp, L. I., Gioffré, A., Sabio y Garcia, J., Morbidoni, H. R., Santangelo, M. D. L. P., & Bigi, F. (2013). Virulence factors of the Mycobacterium tuberculosis complex. *Virulence*, 4(1), 3-66.

Gao, P. S., Fujishima, S., Mao, X. Q., Remus, N., Kanda, M., Enomoto, T., & Yamaguchi, K. (2000). Genetic variants of NRAMP1 and active tuberculosis in Japanese populations. *International Tuberculosis Genetics Team*. *Clinical genetics*, 58(1), 74.

Griffiths, Anthony et al. (2016). Genética de Populações. In: Idilia Vanzellotti (Org.). *Introdução à genética*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.

Harishankar, M., Selvaraj, P., & Bethunaickan, R. (2018). Influence of genetic polymorphism towards pulmonary tuberculosis susceptibility. *Frontiers in medicine*, 5, 213.

Hatta, M., Ratnawati, T. M., Ito, J., Shirakawa, T., & Kawabata, M. (2010). NRAMP1/SLC11A1 gene polymorphisms and host susceptibility to Mycobacterium tuberculosis and M. leprae in South Sulawesi, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 41(2), 386-94.

Hawkins, S. F., & Guest, P. C. (2017). Multiplex Single Nucleotide Polymorphism Analyses. In *Multiplex Biomarker Techniques* (pp. 143-148). *Humana Press*, New York, NY.

Hsu, Y. H., Chen, C. W., Sun, H. S., Jou, R., Lee, J. J., & Su, I. J. (2006). Association of NRAMP 1 gene polymorphism with susceptibility to tuberculosis in Taiwanese aboriginals. *Journal of the Formosan Medical Association*, 105(5), 363-369.

Hershkovitz, I., Donoghue, H. D., Minnikin, D. E., May, H., Lee, O. Y. C., Feldman, M., & Bar-Gal, G. K. (2015). Tuberculosis origin: the Neolithic scenario. *Tuberculosis*, 95, S122-S126.

Jafari, M., Nasiri, M. R., Sanaei, R., Anoosheh, S., Farnia, P., Sepanjnia, A., & Tajik, N. (2016). The NRAMP1, VDR, TNF- α , ICAM1, TLR2 and TLR4 gene polymorphisms in Iranian patients with pulmonary tuberculosis: A case-control study. *Infection, Genetics and Evolution*, 39, 92-98.

Jin, J., Sun, L., Jiao, W., Zhao, S., Li, H., Guan, X., & Shen, A. (2009). SLC11A1 (Formerly NRAMP1) gene polymorphisms associated with pediatric tuberculosis in China. *Clinical infectious diseases*, 48(6), 733-738.

Kim, J. H., Lee, S. Y., Lee, S. H., Sin, C., Shim, J. J., In, K. H., & Kang, K. H. (2003). NRAMP1 genetic polymorphisms as a risk factor of tuberculous pleurisy. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 7(4), 370-375.

Leung, K. H., Yip, S. P., Wong, W. S., San Yiu, L., Chan, K. K., Lai, W. M., & Chan, K. S. (2007). Sex-and age-dependent association of SLC11A1 polymorphisms with tuberculosis in Chinese: a case control study. *BMC infectious diseases*, 7(1), 19.

Liaw, Y. S., Tsai-Wu, J. J., Wu, C. H., Hung, C. C., Lee, C. N., Yang, P. C., & Kuo, S. H. (2002). Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility of tuberculosis in Taiwanese. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 6(5), 454-460.

Liu, W., Cao, W. C., Zhang, C. Y., Tian, L., Wu, X. M., Habbema, J. D. F., & Yang, H. (2004). VDR and NRAMP1 gene polymorphisms in susceptibility to pulmonary tuberculosis among the Chinese Han population: a case-control study. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 8(4), 428-434.

Li, H. T., Zhang, T. T., Huang, Q. H., Lv, B., & Huang, J. (2006). Meta-analysis on NRAMP1 gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility in East-Asia population. *Zhonghua liu xing bing xue za zhi= Zhonghua liuxingbingxue zazhi*, 27(5), 428-432.

Li, X., Yang, Y., Zhou, F., Zhang, Y., Lu, H., Jin, Q., & Gao, L. (2011). SLC11A1 (NRAMP1) polymorphisms and tuberculosis susceptibility: updated systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 6(1), e15831.

Ma, X., Dou, S., Wright J, A., Reich R, A., Teeter L, D., El Sahly H, M., & Graviss E, A. (2002). 5' dinucleotide repeat polymorphism of NRAMP1 and susceptibility to tuberculosis among Caucasian patients in Houston, Texas. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 6(9), 818-823.

Medapati, R. V., Suvvari, S., Godi, S., & Gangiseti, P. (2017). NRAMP1 and VDR gene polymorphisms in susceptibility to pulmonary tuberculosis among Andhra Pradesh population in India: a case-control study. *BMC Pulmonary Medicine*, 17(1), 89.

Merza, M., Farnia, P., Anoosheh, S., Varahram, M., Kazampour, M., Pajand, O., & Hoffner, S. (2009). The NRAMP1, VDR and TNF- α gene polymorphisms in Iranian tuberculosis patients: the study on host susceptibility. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 13(4), 252-256.

Niño-Moreno, P., Portales-Pérez, D., Hernández-Castro, B., Portales-Cervantes, L., Flores-Meraz, V., Baranda, L., & González-Amaro, R. (2007). P2X7 and NRAMP1/SLC11

A1 gene polymorphisms in Mexican mestizo patients with pulmonary tuberculosis. *Clinical & Experimental Immunology*, 148(3), 469-477.

Nogueira, A. F., Facchinetti, V., Souza, M. V. N. D., & Vasconcelos, T. R. A. (2012). Tuberculose: uma abordagem geral dos principais aspectos. *Rev. Bras. Farm*, 93(1), 3-9.

O'Garra, A., Redford, P. S., McNab, F. W., Bloom, C. I., Wilkinson, R. J., & Berry, M. P. (2013). The immune response in tuberculosis. *Annual review of immunology*, 31, 475-527.

Pacheco, A. G., & Moraes, M. O. (2009). Genetic polymorphisms of infectious diseases in case-control studies. *Disease markers*, 27(3, 4), 173-186.

Pai, M., Behr, M. A., Dowdy, D., Dheda, K., Divangahi, M., Boehme, C. C., & Menzies, D. (2016). Tuberculosis. *Nature reviews. Disease primers*, 2, 16076.

Pereira, M. G., & Galvão, T. F. (2014). Heterogeneidade e viés de publicação em revisões sistemáticas. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 23, 775-778.

Poon, A. H., Laprise, C., Lemire, M., Hudson, T. J., & Schurr, E. (2005). NRAMP1 is not associated with asthma, atopy, and serum immunoglobulin E levels in the French Canadian population. *Genes & Immunity*, 6(6), 519-527.

Ryu, S., Park, Y. K., Bai, G. H., Kim, S. J., Park, S. N., & Kang, S. (2000). 3' UTR polymorphisms in the NRAMP1 gene are associated with susceptibility to tuberculosis in Koreans. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 4(6), 577-580.

Sahiratmadja, E., Wieringa, F. T, van Crevel, R., de Visser, A. W, Adnan, I., Alisjahbana, B., & Marx, J. J. (2007). A deficiência de ferro e os polimorfismos NRAMP1 (INT4, D543N e 3' UTR) não contribuem para a gravidade da anemia na tuberculose na população indonésia. *British Journal of Nutrition*, 98 (4), 684-690.

Salinas-Delgado, Y., Galaviz-Hernández, C., Toral, R. G., Rejón, C. A. Á., Reyes-Lopez, M. A., Martínez, A. R., & Sosa-Macías, M. (2015). The D543N polymorphism of the

SLC11A1/NRAMP1 gene is associated with treatment failure in male patients with pulmonary tuberculosis. *Drug Metabolism and Personalized Therapy*, 30(3), 211-214.

Selvaraj, P., Chandra, G., Kurian, S. M., Reetha, A. M., Charles, N., & Narayanan, P. R. (2002). NRAMP1 gene polymorphism in pulmonary and spinal tuberculosis. *Current Science*, 451-454.

Singh, A., Gaughan, J. P., & Kashyap, V. K. (2011). SLC11A1 and VDR gene variants and susceptibility to tuberculosis and disease progression in East India. *The International journal of tuberculosis and lung disease*, 15(11), 1468-1475.

Søborg, C., Andersen, A. B, Madsen, H. O, Kok-Jensen, A., Skinhøj, P., & Garred, P. (2002). Polimorfismos da proteína 1 de macrófagos associados à resistência natural estão associados à tuberculose microscopia positiva. *The Journal of infectious disease* , 186 (4), 517-521.

Solğun, H. A., Taştemir, D., Aksaray, N., Inan, I., & Demirhan, O. (2011). Polymorphisms in NRAMP1 and MBL2 genes and their relations with tuberculosis in Turkish children. *Tuberkuloz ve toraks*, 59(1), 48-53.

Stagas, M. K., Papaetis, G. S., Orphanidou, D., Kostopoulos, C., Syriou, S., Reczko, M., & Drakoulis, N. (2011). Polymorphisms of the NRAMP1 gene: distribution and susceptibility to the development of pulmonary tuberculosis in the Greek population. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 17(1), PH1.

Strachan, T., & Read, A. (2016). *Genética molecular humana*. Artmed Editora.

Taype, C. A., Castro, J. C., Accinelli, R. A., Herrera-Velit, P., Shaw, M. A., & Espinoza, J. R. (2006). Association between SLC11A1 polymorphisms and susceptibility to different clinical forms of tuberculosis in the Peruvian population. *Infection, Genetics and Evolution*, 6(5), 361-367.

Tiksnadi, B., & Herman, H. (2013). The NRAMP1 polymorphism as a risk factor for tuberculous spondylitis. *Malaysian orthopaedic journal*, 7(1), 25.

Vejbaesya, S., Chierakul, N., Luangtrakool, P., & Sermduangprateep, C. (2007). NRAMP1 and TNF- α polymorphisms and susceptibility to tuberculosis in Thais. *Respirology*, 12(2), 202-206.

Qu, Y., Tang, Y., Cao, D., Wu, F., Liu, J., Lu, G., & Xia, Z. (2007). Genetic polymorphisms in alveolar macrophage response-related genes, and risk of silicosis and pulmonary tuberculosis in Chinese iron miners. *International journal of hygiene and environmental health*, 210(6), 679-689.

WHO. World Health Organization. (2018). Global tuberculosis report 2018. *World Health Organization*.

Wu, F., Zhang, W., Zhang, L., Wu, J., Li, C., Meng, X., & Zhang, J. (2013). NRAMP1, VDR, HLA-DRB1, and HLA-DQB1 gene polymorphisms in susceptibility to tuberculosis among the Chinese Kazakh population: a case-control study. *BioMed research international*.

Wu, L., Deng, H., Zheng, Y., Mansjö, M., Zheng, X., Hu, Y., & Xu, B. (2015). An association study of NRAMP1, VDR, MBL and their interaction with the susceptibility to tuberculosis in a Chinese population. *International Journal of Infectious Diseases*, 38, 129-135.

Xu, Y. Z., Thuraisingam, T., Kanagaratham, C., Tao, S., & Radzioch, D. (2018). c-Src kinase is involved in the tyrosine phosphorylation and activity of SLC11A1 in differentiating macrophages. *PloS one*, 13(5), e0196230.

Zhang, W., Shao, L., Weng, X., Hu, Z., Jin, A., Chen, S., & Chen, Z. W. (2005). Variants of the natural resistance-associated macrophage protein 1 gene (NRAMP1) are associated with severe forms of pulmonary tuberculosis. *Clinical infectious diseases*, 40(9), 1232-1236.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Karolayne Silva Souza – 30%

Kátia Cilene da Silva Félix – 11%

Nelson Carvas Junior – 25%

Rafaell Batista Pereira – 8%

Milena Roberta Freire da Silva – 5%

Flávia Steffany Leite Miranda – 5%

Maria Betânia Melo de Oliveira – 8%

Graziele dos santos – 2%

Felicson Leonardo Oliveira Lima – 2%

Rodrigo Reges dos Santos Silva – 2%

Leandro Paes de Brito – 2%