

Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós Graduação em Ciências Pneumológicas

**TESE**

**Fator de inibição da migração de macrófagos MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> e suscetibilidade à tuberculose.**

Felipe Dominguez Machado

Porto Alegre, 2021

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós Graduação em Ciências Pneumológicas

**Fator de inibição da migração de macrófagos MIF -794 CATT<sub>5.8</sub> e suscetibilidade à tuberculose.**

Felipe Dominguez Machado

Tese apresentada como requisito parcial  
para obtenção do título de Doutor em  
Ciências Pneumológicas, à Universidade  
Federal do Rio Grande do Sul, Programa  
de Pós-graduação em Ciências  
Pneumológicas

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Denise Rossato Silva

Porto Alegre, 2021

## Catalogação Biblioteca FAMED/HCPA

## CIP - Catalogação na Publicação

Machado, Felipe Dominguez  
Fator de inibição da migração de macrófagos MIF  
-794 CAT5-8 e suscetibilidade à tuberculose. /  
Felipe Dominguez Machado. -- 2021.  
58 f.  
Orientadora: Denise Rossato Silva.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de  
Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Porto Alegre,  
BR-RS, 2021.

1. Tuberculose. 2. MIF. 3. Fator de inibição da  
migração de macrófagos. 4. Genética. I. Silva, Denise  
Rossato, orient. II. Título.

**DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho aos meus pais e minha esposa Bárbara, que foram meus grandes incentivadores e apoiadores a terminar este projeto, mesmo em meio aos grandes esforços e tempo dispendido no serviço à pandemia de COVID-19.

**AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora Denise Rossato Silva por ter me guiado por todo caminho até a finalização deste trabalho, por todos ensinamentos transmitidos e por toda dedicação aos seus alunos.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	7
RESUMO .....	9
ABSTRACT .....	10
INTRODUÇÃO .....	11
REVISÃO DA LITERATURA.....	12
Definição .....	12
Epidemiologia.....	13
Patogênese.....	14
Manifestações clínicas .....	16
Diagnóstico.....	17
Fatores genéticos e suscetibilidade a TB .....	19
JUSTIFICATIVA .....	23
OBJETIVOS.....	24
Objetivo geral.....	24
Objetivos específicos.....	24
REFERÊNCIAS.....	25

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

BAAR: Bacilo álcool ácido resistente

E: Etambutol

GWAS: estudo de associação do genoma completo (Genome-wide association study)

H: Isoniazida

HIV: Human immunodeficiency vírus (vírus da imunodeficiência humana)

HLA: Antígeno leucocitário humano (Human leukocyte antigen)

IFN $\gamma$ : Interferon gamma

IGRAs: Ensaios de liberação de interferon gama

IL2: Interleucina 2

IL6: Interleucina 6

IL8: Interleucina 8

ILTb: Infecção latente da tuberculose

OMS: Organização Mundial da Saúde

PCR: Reação em cadeia mediada pela polimerase

R: Rifampicina

Tb: Tuberculose

Tc: Tomografia computadorizada

TLR: Receptores do tipo Toll (Toll-like receptors)

TNF- $\alpha$ : Fator de Necrose Tumoral Alfa

TRM-Tb: Teste rápido molecular para tuberculose

Z: Pirazinamida



## RESUMO

**Introdução:** O estabelecimento de determinantes genéticos associados ao desenvolvimento da TB é um desafio, considerando as frequências divergentes entre as diferentes populações. O objetivo deste estudo foi avaliar, em um estudo caso-controle, a associação entre o polimorfismo MIF -794 CATT5-8 e a susceptibilidade à TB pulmonar em uma população do sul do Brasil.

**Métodos:** Estudo caso-controle. Foram incluídos pacientes com idade > 18 anos com diagnóstico de TB pulmonar. O grupo controle foi composto por doadores de sangue, contactantes domiciliares, não aparentados, saudáveis e com idade > 18 anos. Foram genotipadas as variações do MIF -794 CATT5-8 usando sequenciamento de PCR e eletroforese capilar.

**Resultados:** 126 pacientes e 119 controles foram incluídos. O genótipo 5/5 foi mais frequente entre os casos (15,1%) do que nos controles (5,9%) ( $p = 0,019$ ). Os casos apresentaram maior frequência do alelo 5 (29,4%) em relação aos controles (19,3%) ( $p = 0,010$ ). Comparando os pacientes com genótipos 7 / X + 8 / X com aqueles com outros genótipos, não houve diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,821$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa comparando os pacientes com alelos 7 e 8 com aqueles com alelos 5 e 6 ( $p = 0,608$ ).

**Conclusões:** No presente estudo, encontramos que o genótipo 5/5 e o alelo 5 de MIF -794 CATT5-8 foram mais frequentes em pacientes com TB do que em controles. Mais estudos, incluindo a quantificação dos níveis de MIF, são necessários para melhor avaliar a associação entre o polimorfismo MIF -794 CATT5-8 e a susceptibilidade à TB pulmonar.

Palavras-chave: tuberculose; fator inibidor da migração de macrófagos; polimorfismo; Polimorfismo de nucleotídeo único; suscetibilidade.

## ABSTRACT

**Introduction:** The establishment of candidate genetic determinants associated with TB development is a challenge, considering the divergent frequencies among different populations. The objective of this study was to evaluate, in a case-control study, the association between MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> polymorphism and susceptibility to pulmonary TB in a population of southern Brazil.

**Methods:** Case-control study. Patients > 18 years old, diagnosed with pulmonary TB were included. The control group consisted of blood donors and household contacts, not relatives, healthy and > 18 years old. MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> were genotyped using *sequencing of PCR* and capillary electrophoresis.

**Results:** 126 patients and 119 controls were included. The genotype 5/5 was more frequent among cases (15.1%) than in controls (5.9%) (p=0.019). Cases had more frequently the allele 5 (29.4%) as compared with controls (19.3%) (p=0.010). Comparing patients with 7/X + 8/X genotypes with those with other genotypes, there was no statistically significant difference (p = 0.821). There was no statistically significant difference comparing the patients with alleles 7 and 8 with those with alleles 5 and 6 (p = 0.608).

**Conclusions:** In the present study, we found that the genotype 5/5 and the allele 5 of MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> were more frequent among TB patients than in controls. Further studies, including MIF levels quantification are necessary to better evaluate the association between MIF -794 CATT<sub>5-8</sub> polymorphism and susceptibility to pulmonary TB.

**Keywords:** tuberculosis; macrophage migration inhibitory factor; polymorphism; single nucleotide polymorphism; susceptibility.

## INTRODUÇÃO

Estudos em relação a história natural da tuberculose (TB) revelaram que apenas cerca de 10% dos indivíduos infectados desenvolvem a doença clínica. A susceptibilidade genética, juntamente com fatores de virulência bacteriana e fatores ambientais desempenham um papel importante na determinação da apresentação clínica da TB (1). Muitos estudos indicam que os fatores genéticos têm grande influência na suscetibilidade e resistência à TB (2–5).

Nos últimos anos, muitos genes de susceptibilidade à TB foram detectados (6–13). O fator inibidor da migração de macrófagos (MIF) é uma citocina pró-inflamatória que foi reconhecida por estar associada à patogênese de doenças infecciosas. Dados recentes indicam que polimorfismos funcionais no gene MIF podem influenciar o início e / ou progressão da TB. Um desses polimorfismos é uma sequência de repetição de microssatélites funcional -794 CATT5–8 (rs5844572), onde expressões de MIF maiores ocorrem conforme número de repetições (14). Alguns estudos avaliaram esse polimorfismo, com resultados controversos até o momento (15–20).

O estabelecimento de determinantes genéticos associados ao desenvolvimento da TB é um desafio, considerando as frequências divergentes com as quais alguns polimorfismos ocorrem entre as diferentes populações (21). Com base nesse conhecimento, estudos sobre a relação entre os polimorfismos genéticos no locus MIF e a susceptibilidade à TB em várias populações e grupos étnicos são relevantes. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar, em um estudo caso-controle, a associação entre o polimorfismo MIF -794 CATT5-8 e a susceptibilidade à TB pulmonar em uma população do sul do Brasil.

## REVISÃO DA LITERATURA

### Tuberculose

#### Definição

A TB é a doença causada pelos membros do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, incluindo *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. pinnipedii* e *M. canettii*. A transmissão ocorre através de núcleos de gotículas geradas pela tosse de pacientes que apresentam a forma ativa da doença (22).

A doença acomete predominantemente o pulmão, podendo se apresentar também nas formas extra pulmonar, mais comumente em linfonodos, pleura, ossos, articulações e sistema nervoso central (23).

O curso natural da TB apresenta progressões distintas conforme o hospedeiro, sendo a forma ativa da doença presente em apenas 5 a 10% dos infectados. Após exposição inicial o *M. tuberculosis* pode ser eliminado pela resposta imune, persistir como infecção latente ou mesmo progredir para forma primária da doença. Após estabelecida a infecção latente da TB, a doença pode persistir nesta forma em uma parcela de infectados e evoluir lentamente para formas subclínicas ou mesmo sintomática, denominada forma secundária da doença (24).

A forma primária da doença acomete principalmente crianças e imunocomprometidos, ocorrendo em um período de tempo curto após infecção. A maior parte dos pacientes após infecção inicial desenvolve a forma latente, podendo evoluir para TB secundária em aproximadamente 5% dos infectados (25).

## Epidemiologia

A TB está entre as dez principais causas de óbito ao redor do mundo e em segundo lugar entre as causas de óbito por doença infecciosa, estando atrás apenas da infecção pelo HIV (26)

A organização mundial de saúde (OMS) estima que 1,8 bilhões de pessoas estão infectadas com TB, aproximadamente 25% da população mundial. Apesar da redução da incidência ao redor do mundo nas últimas décadas, a TB permanece como uma doença de interesse da OMS para o controle da sua disseminação (27).

A doença predomina em países emergentes, com oito países representando dois terços do número de casos de TB: Índia (26%), Indonésia (8.5%), China (8.4%), as Filipinas (6.0%), Paquistão (5.7%), Nigéria (4.4%), Bangladesh (3.6%) e África do sul (3.6%). O Brasil se encontra na lista dos 30 países de importância da OMS para controle da TB, juntos correspondem a 85-89% dos casos de TB. Apenas 1% dos casos ocorre em países desenvolvidos da América do Norte e Europa (26).

No ano de 2019 foi estimado um valor de 10 milhões de casos novos de TB ao redor do globo, com aproximadamente 1,2 milhões de óbitos em pacientes sem HIV e 208 mil mortes em pacientes HIV positivo (26).

A doença acomete mais homens acima dos 15 anos de idade, representando 56% dos infectados, seguidos de mulheres (32%) e crianças < 15 anos (12%). Aproximadamente 8,2% dos infectados são pessoas convivendo com HIV (26).

O Brasil registrou 66819 de casos novos de TB em 2020, com um coeficiente de incidência de 31,6 casos/ 100mil habitantes. No ano de 2019 houveram 4,5mil óbitos pela doença, com coeficiente de mortalidade de 2,2 óbitos / 100mil habitantes (28).

A taxa de sucesso de cura com tratamento é de 83% ao redor do mundo, com redução gradual da taxa de mortalidade desde 1990 (29). No ano de 2019 a taxa de cura no Brasil foi de 70,1% conforme boletim epidemiológico do Ministério da Saúde (28).

### Patogênese

O risco de infecção e evolução da doença depende da interação de fatores intrínsecos do hospedeiro, como genética, condições de saúde, estado nutricional, fatores ambientais e fatores genéticos da micobactéria (diferença de virulência entre cepas) (30).

Evidências crescentes apontam que variações genéticas e fenotípicas da bactéria pode influenciar a progressão da TB. Tais variações influenciam na interação com a resposta imune do hospedeiro e consequentemente a patogênese da infecção (24).

Oito espécies de micobacterias compõe o chamado complexo *Mycobacterim tuberculosis*, que são capazes de causar infecção em humanos, são elas *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. pinnipedii* e *M. canettii* (22).

Uma característica das *M. tuberculosis* é a presença de uma parede celular contendo ácidos micólicos, sendo este um importante fator de virulência, auxiliando a micobactéria a evadir da resposta imune inata do hospedeiro (31).

Fatores genéticos do hospedeiro, condição nutricional e estado imunológico influenciam diretamente na apresentação clínica e evolução da doença. Como exemplo de fatores de risco para progressão para TB ativa podemos citar infecção por HIV, terapias imunossupressoras, transplantes, silicose e uso crônico de corticoide (32). Determinantes genéticos são pobremente entendidos e seguem como área de interesse para novas pesquisas (33). Alguns estudos, especialmente aqueles em gêmeos monozigóticos e dizigóticos, indicam que fatores genéticos desempenham um papel fundamental na determinação da suscetibilidade e resistência à manifestação de TB após

a infecção inicial (34- 37). As interações imunes entre o hospedeiro e a estrutura molecular do *M. tuberculosis* são multifatoriais. Vários dos genes envolvidos nestes processos têm sido identificados, nomeadamente o HLA-DR e HLA-DQB1, que determinam quais antígenos micobacterianos são apresentados a células T auxiliares (38-39).

A transmissão se dá predominantemente por gotículas geradas pela tosse de pacientes infectados. A presença de cavitações pulmonares e achado de BAAR no escarro são fatores de risco para o aumento transmissibilidade. As gotículas ao evaporar reduzem de tamanho gerando núcleos de gotículas de aproximadamente 5 $\mu$ , tornando estas partículas passíveis de permanecer dispersas no ar e permitindo o deslocamento por distâncias significativas (40). Os bacilos dispersos são extremamente sensíveis a luz ultravioleta (41). Tais fatos justificam o importante fator de propagação da TB em ambientes confinados e com baixa luminosidade.

A partir da exposição os bacilos atingem as vias aéreas distais e invadem macrófagos alveolares, evadindo os mecanismos do sistema imune e replicando sem limitações, espalhando para linfonodos regionais. Como resposta inicial células dendríticas são ativadas produzindo citocinas, para recrutamento de células T, com estímulo à produção de como TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , iniciando assim a cascata de resposta imune adaptativa (30).

A forma primária da doença pode ocorrer em até 5% dos indivíduos imunocompetentes, decorrente da inabilidade do sistema imune em conter a infecção, usualmente dentro de 18 meses da exposição. A doença primária pode ocorrer no local de entrada no pulmão, linfonodos regionais e mais raramente com acometimento extrapulmonar secundário a disseminação hematogênica oculta (42).

Em pacientes que conseguem conter a infecção inicial, a TB permanece no organismo de forma latente, podendo em 5 a 10% dos casos evoluir para infecção secundária. A apresentação da forma secundária é variável, a depender da resposta imune do hospedeiro. O acometimento das regiões apicais e posteriores dos pulmões, com formação de granulomas e eventual escavação, é a apresentação mais comumente vista nesta forma (43).

### Manifestações clínicas

A expressão clínica mais frequente da TB está relacionada a doença pulmonar, presente em 80% dos casos. Em aproximadamente 30% dos casos a TB envolve sítios extra pulmonares, podendo ocorrer de forma concomitante com a forma pulmonar. Virtualmente todos os órgãos podem ser afetados, sendo mais frequente o acometimento linfonodal e espaço pleural (40).

Classicamente a TB se apresenta com sintomas insidiosos presentes por semanas, com tosse seca ou produtiva, sudorese noturna e febre vespertina. Com a progressão da doença podem ocorrer emagrecimento, dispneia e hemoptise. Alguns pacientes podem permanecer assintomáticos mesmo com a demonstração de doença ativa através de achados imagéticos e cultura para micobactéria positiva (43).

Alguns achados radiológicos estão associados a atividade da doença, como opacidades nodulares localizadas nas regiões apico-posteriores dos lobos superiores ou segmento superior dos lobos inferiores, cavitações pulmonares e disseminação endobrônquica – ou achado em árvore em brotamento. A radiografia de tórax apresenta limitação por apresentar sensibilidade inferior a tomografia computadorizada (TC) de tórax, sendo assim no caso de exame normal e suspeita clínica forte, é imperativo a realização de TC de tórax. Achados atípicos podem estar presentes nos exames de



imagem em populações especiais, como crianças, idosos e imunocomprometidos. A presença de zonas de infiltrados sem cavitações, derrame pleural unilateral e adenopatia mediastinal ou hilar são alguns achados atípicos mais frequentes (42).

A TB miliar é uma forma rara e grave de TB, apresenta-se na radiografia de tórax como inumeráveis nódulos de distribuição randômica, espalhadas pelos campos pulmonares, decorrentes da disseminação hematogênica da micobactéria (42).

### Diagnóstico

O diagnóstico da TB é firmado através da associação de história clínica, fatores de risco conhecidos do paciente (ex. diagnóstico prévio de HIV), fatores ambientais (ex. paciente reclusos), achados dos exames de imagem e exames laboratoriais (exame de escarro para pesquisa de BAAR, detecção com TRM-TB e cultural para micobactéria) (45).

Em paciente com clínica sugestiva de TB e achado positivo em TRM-TB ou BAAR em exame de escarro permite fechar o diagnóstico e autorizam o início do tratamento. O diagnóstico definitivo é obtido através da cultura de micobactéria (42).

A coleta do escarro deve ser realizada preferencialmente no primeiro período da manhã, logo ao acordar, antes da escovação dos dentes. O número mínimo de amostras a serem examinadas é de três amostras satisfatórias, contendo 5 a 10 ml. Uma amostra satisfatória permite detecção do bacilo em aproximadamente 60 a 80% dos casos de TB pulmonar em adultos. Caso o paciente não consiga expectorar espontaneamente, deve-se realizar coleta de escarro induzido (coletado após nebulização com salina hipertônica) ou lavado broncoalveolar (LBA). O escarro induzido apresenta sensibilidade maior quando comparado ao LBA (87% Vs 73%), sendo um exame não invasivo, bem tolerado pelos pacientes e de menor custo (46- 48).

O método mais utilizado nos laboratórios brasileiros para identificação de BAAR é a técnica de coloração por Ziehl-Neelsen, com utilização de microscopia de luz. Outra possibilidade é a utilização de coloração com fluorocromo, utilizando-se microscopia fluorescente, com aumento da sensibilidade do exame em 10%. A baciloscopia permite quantificação da carga bacteriana, com utilidade também no acompanhamento do tratamento do paciente (49 – 50).

O TRM-TB (GeneXpert) é um teste de reação em cadeia da polimerase em tempo real para detecção de DNA dos bacilos do complexo *M. tuberculosis* e triagem de cepas resistentes à rifampicina, com sensibilidade de 90% em amostra de escarros de adultos, sendo superior a baciloscopia. O método deve ser realizado sempre que disponível. Pode ser utilizado para o diagnóstico em sítios extrapulmonares em amostras de líquido pleural, líquido pleural, gânglios linfáticos e outros tecidos (42).

A cultura de micobactéria pode ser realizada pela semeadura da amostra em meios de cultura sólidos e líquidos. Os meios sólidos apresentam a vantagem de terem custo menor para realização, porém com a desvantagem de apresentar tempo maior para detecção do crescimento bacteriano, podendo variar de duas a oito semanas. Os meios líquidos dependem de meios automatizados, apresentando positividade entre 5 a 12 dias. A cultura para micobactéria é um método com elevada sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de TB, aumentando em até 30% o diagnóstico de TB nos casos de baciloscopia negativa. É recomendado que a cultura para micobactéria seja realizada em todos os casos suspeitos de TB independente do resultado da baciloscopia e TRM-TB (42).

A prova tuberculínica é utilizada em populações especiais (ex. paciente oncológicos, pré-transplantados, portadores de HIV, profissionais da saúde e pessoas vivendo em instituições de longa permanência) para o diagnóstico de TB latente, é realizada através da inoculação intradérmica de um derivado protéico purificado do *M.*

*tuberculosis* para medir a resposta imune celular a esses antígenos. A leitura é feita 48 a 72 horas após a aplicação, sendo considerado o diâmetro da área endurecida formada pela reação no local da injeção. Outra possibilidade para o diagnóstico de ILTB é a utilização do IGRA (interferon-Gamma Release assays), este método utiliza os níveis de interferon-gama para identificar pacientes previamente expostos a TB, baseado na premissa de que células anteriormente sensibilizadas produzem níveis elevados de interferon-gama. Os testes disponíveis são o QuantiFERON®-TB Gold e T-SPOT® TB, com a vantagem em relação ao teste tuberculínico de não sofrerem influência da vacinação prévia e infecções prévias por micobactérias não TB, tornando o exame mais específico para o diagnóstico de TB (42).

## Tratamento

A TB é uma doença com índices de cura elevados desde que respeitados os protocolos de tratamento, sendo um dos grandes determinantes do sucesso terapêutico a adesão ao tratamento. Os fármacos de escolha para o tratamento da TB são isoniazida (H) e rifampicina (R) por 6 meses, em associação com pirazinamida (Z) e etambutol (E) nos primeiros dois meses de tratamento. Uma exceção em relação ao tempo do tratamento é o manejo de TB meningoencefálica e osteomuscular, em que RHZE deve ser usado por 2 meses na fase intensiva, com continuidade do tratamento com RH por mais 10 meses na fase de manutenção (42).

Atualmente no Brasil todo tratamento é fornecido pelo Sistema Único de Saúde (SUS), de forma gratuita e amplamente disponível pelo Programa Nacional Contra a TB.

## Fatores genéticos e suscetibilidade a TB

A importância dos fatores genéticos do hospedeiro envolvidos na resistência a infecção e suscetibilidade a evolução para doença ativa é conhecida. Estudos primários mostraram maior associação de TB em gêmeos monozigóticos em relação a gêmeos dizigóticos, com as mesmas circunstâncias ambientais e sociais (51 – 52). Um estudo realizado nos Estados Unidos mostrou maior suscetibilidade para infecção por TB em afro-americanos em relação a descendentes europeus (53). Estes estudos reforçam a associação entre fatores genéticos e TB.

O desafio atual encontra-se na identificação das variantes genética associadas ao desenvolvimento de TB. Poucos estudos focaram na identificação de genes candidatos associados ao controle da TB após a infecção, os principais estudos focaram em genes relacionados a resposta imune, como exemplo os genes codificadores DC-SIGN, TLR1, TLR2, receptor de vitamina D, TNF, Interleucina 1 $\beta$ , interferon  $\gamma$  e algumas variantes da HLA de classe II, porém com baixa concordância entre os estudos. Alguns estudos de associação do genoma completo (GWAS) foram realizados em diferentes continentes, com destaque a identificação variantes no locus 11p13, identificado na África do Sul, Rússia e Indonésia, variantes do HLA de classe II identificada em estudos da Islândia, Rússia e Croácia, e variante no locus 5q33 em estudos realizados na Uganda e Tanzânia (54 – 55).

#### Fator inibidor da migração de macrófagos (MIF) e associação com Tuberculose

O fator inibidor da migração de macrófagos (MIF) foi descrito pela primeira vez como um fator solúvel que é liberado por linfócitos T ativados em 1966. O MIF é uma citocina pró-inflamatória que desempenha um papel central em diversas respostas inflamatórias agudas e crônicas através do recrutamento de leucócitos, promoção da

expressão de metaloproteinases e liberação de óxido nítrico, prostaglandina E2 e citocinas como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, and IFN- $\gamma$ . (56-60).

Evidências experimentais têm demonstrado que o MIF desempenha um papel fundamental em doenças autoimunes e infecciosas incluindo choque séptico, diabetes, colite, artrite reumatoide e glomerulonefrite (61-64).

O MIF é codificado por um gene localizado no cromossomo 22q11.2, é composto por três *exons* curtos de 107, 172 e 66 pares de bases e dois *introns* de 188 e 94 pares de bases. Até o presente momento existem 5 polimorfismos no gene MIF identificados: -173G/C (rs755622), +254 (rs2096525), +656 (rs2070766), 3.8 kb 3' do códon de terminação da tradução e repetição de microsatélite -794 CATT5-8. Destes apenas dois são polimorfismos funcionais o polimorfismo de nucleotídeo único -173G/C e a repetição de de tetranucleotídeo -794 CATT5-8 (em que a expressão de MIF aumenta conforme o números de repetições) (65-68).

O MIF tem influência importante na defesa contra a TB, sendo expressa por células epiteliais dos brônquios e macrófagos alveolares. Parece mediar a balança entre resposta Th1 e Th2. Altos níveis de MIF foram detectados no soro de pacientes com TB, e foi proposto que os polimorfismos do gene MIF podem influenciar o risco de desenvolver TB (69).

O estudo de Li Y et al investigou a associação entre os polimorfismos do MIF e a ocorrência de TB na população chinesa. Os resultados indicaram que o SNP MIF-173 (CC GC +) e o microsatélite -794CATT (7/X + 8/X) estão associados com um aumento do risco de tuberculose (70). Outro estudo realizado numa população colombiana, mostrou que o alelo MIF-173C foi associado com TB, mas nenhum alelo no microsatélite MIF-794CATT foi associado com risco de TB (71). Khalid Sadki et al encontraram um aumento estatisticamente significativo da frequência do genótipo

homozigoto MIF-173CC e do alelo MIF-173\*C em pacientes com TB em comparação com controles saudáveis na população marroquina (72). Das et al mostraram que alelos de MIF de baixa expressão (CATT5) conferem um risco aumentado de TB (73). Em uma coorte de Uganda, os baixos expressores genéticos de MIF (CATT5) foram 2,4 vezes mais frequentemente identificados entre os pacientes com bacteremia por *Mycobacterium tuberculosis* do que aqueles sem (73).

## **JUSTIFICATIVA**

Os polimorfismos de genes exercem papel importante na infecção por tuberculose, sendo as diferentes frequências com as quais alguns polimorfismos ocorrem em populações de diferentes etnias, bem como a heterogeneidade de fenotipagem clínica em coortes um desafio em encontrar genes candidados para susceptibilidade a TB. Uma vez que o MIF parece desempenhar um papel central na mediação de uma grande variedade de respostas imunes contra patógenos invasores, polimorfismos no gene MIF podem estar associados com o aparecimento e/ou a progressão da TB. Portanto, os estudos sobre a relação entre a susceptibilidade à TB e polimorfismos do MIF são de grande valia

## **OBJETIVOS**

### Objetivo geral

Avaliar num estudo de caso-controle a associação entre polimorfismos MIF e a suscetibilidade à TB pulmonar numa população da região Sul do Brasil.

### Objetivos específicos

Padronização e execução do PCR em tempo real para quantificar a expressão do mRNA do polimorfismo genético de interesse do projeto.

Avaliar a frequência do polimorfismo MIF -794 (CATT<sub>5-8</sub>) em uma amostra de pacientes com TB pulmonar e uma amostra de controles saudáveis.



**REFERÊNCIAS**

1. Raviglione MC, Kochi A, Snider DE. Global Epidemiology of Tuberculosis: Morbidity and Mortality of a Worldwide Epidemic. *JAMA J Am Med Assoc*. 1995 Jan 18;273(3):220–6.
2. van de Vosse E, Hoeve MA, Ottenhoff THM. Human genetics of intracellular infectious diseases: molecular and cellular immunity against mycobacteria and salmonellae. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2004 Dec [cited 2019 Oct 21];4(12):739–49. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15567123>
3. Hill A. The genomics and genetics of human infectious disease susceptibility. - PubMed - NCBI [Internet]. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2001 [cited 2019 Oct 21]. p. 373–400. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11701655>
4. Bellamy R. Genetic susceptibility to tuberculosis. *Clin Chest Med* [Internet]. 2005 Jun [cited 2019 Oct 21];26(2):233–46, vi. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15837108>
5. Comstock GW. Tuberculosis in twins: a re-analysis of the Proffit survey. *Am Rev Respir Dis* [Internet]. 1978 Apr [cited 2019 Oct 21];117(4):621–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/565607>
6. Vasilca V, Oana R, Munteanu D, Zugun F, Constantinescu D, Carasevici E. HLA-A and -B phenotypes associated with tuberculosis in population from north-eastern Romania. *Roum Arch Microbiol Immunol* [Internet]. [cited 2019 Oct 21];63(3–4):209–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17240790>
7. Yim J-J, Selvaraj P. Genetic susceptibility in tuberculosis. *Respirology* [Internet]. 2010 Feb [cited 2019 Oct 21];15(2):241–56. Available from:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20199642>
8. Malik S, Abel L, Tooker H, Poon A, Simkin L, Girard M, et al. Alleles of the NRAMP1 gene are risk factors for pediatric tuberculosis disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2005 Aug 23 [cited 2019 Oct 21];102(34):12183–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16103355>
  9. Dissanayake SR, Levin S, Pienaar S, Wood K, Eley B, Beatty D, et al. Polymorphic variation in TIRAP is not associated with susceptibility to childhood TB but may determine susceptibility to TBM in some ethnic groups. *PLoS One* [Internet]. 2009 Aug 20 [cited 2019 Oct 21];4(8):e6698. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19693265>
  10. Liu W, Cao WC, Zhang CY, Tian L, Wu XM, Habbema JDF, et al. VDR and NRAMP1 gene polymorphisms in susceptibility to pulmonary tuberculosis among the Chinese Han population: a case-control study. *Int J Tuberc Lung Dis* [Internet]. 2004 Apr [cited 2019 Oct 21];8(4):428–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15141734>
  11. El Sahly HM, Reich RA, Dou SJ, Musser JM, Graviss EA. The effect of mannose binding lectin gene polymorphisms on susceptibility to tuberculosis in different ethnic groups. *Scand J Infect Dis* [Internet]. 2004 [cited 2019 Oct 21];36(2):106–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15061663>
  12. Tosh K, Campbell SJ, Fielding K, Sillah J, Bah B, Gustafson P, et al. Variants in the SP110 gene are associated with genetic susceptibility to tuberculosis in West Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2006 Jul 5 [cited 2019 Oct 21];103(27):10364–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16803959>
  13. Velez DR, Hulme WF, Myers JL, Weinberg JB, Levesque MC, Stryjewski ME, et

- al. NOS2A, TLR4, and IFNGR1 interactions influence pulmonary tuberculosis susceptibility in African-Americans. *Hum Genet* [Internet]. 2009 Nov [cited 2019 Oct 21];126(5):643–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19575238>
14. Donn R, Alourfi Z, De Benedetti F, Meazza C, Zeggini E, Lunt M, et al. Mutation screening of the macrophage migration inhibitory factor gene: positive association of a functional polymorphism of macrophage migration inhibitory factor with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2002 Sep [cited 2019 Oct 21];46(9):2402–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12355488>
15. Gómez LM, Sánchez E, Ruiz-Narvaez EA, López-Nevot MA, Anaya JM, Martín J. Macrophage migration inhibitory factor gene influences the risk of developing tuberculosis in northwestern Colombian population. *Tissue Antigens*. 2007;70(1):28–33.
16. Li Y, Yuan T, Lu W, Chen M, Cheng X, Deng S. Association of tuberculosis and polymorphisms in the promoter region of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in a Southwestern China Han population. *Cytokine* [Internet]. 2012;60(1):64–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2012.06.010>
17. Li Y, Zeng Z, Deng S. Study of the relationship between human MIF level, MIF-794CATT5-8 microsatellite polymorphism, and susceptibility of tuberculosis in Southwest China. *Braz J Infect Dis*. 2012;16(4):383–6.
18. Liu A, Bao F, Voravuthikunchai SP. CATT polymorphism in MIF gene promoter is closely related to human pulmonary tuberculosis in a southwestern China population. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2018;32.
19. Ma M, Tao L, Liu A, Liang Z, Yang J, Peng Y, et al. Macrophage migration

- inhibitory factor-794 catt microsatellite polymorphism and risk of tuberculosis: A meta-analysis. *Biosci Rep.* 2018;38(4):1–10.
20. Kuai SG, Ou QF, You DH, Shang ZB, Wang J, Liu J, et al. Functional polymorphisms in the gene encoding macrophage migration inhibitory factor (MIF) are associated with active pulmonary tuberculosis. *Infect Dis (Auckl)*. 2016;48(3):222–8.
  21. Vannberg FO, Chapman SJ, Hill AVS. Human genetic susceptibility to intracellular pathogens. *Immunol Rev [Internet]*. 2011 Mar [cited 2019 Oct 21];240(1):105–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21349089>
  22. GAGNEUX, Sebastien. Host–pathogen coevolution in human tuberculosis. *Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences*, [S.L.], v. 367, n. 1590, p. 850-859, 19 mar. 2012. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2011.0316>.
  23. DHEDA, Keertan; BARRY, Clifton e; MAARTENS, Gary. Tuberculosis. *The Lancet*, [S.L.], v. 387, n. 10024, p. 1211-1226, mar. 2016. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(15\)00151-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(15)00151-8)
  24. DRAIN, Paul K.; BAJEMA, Kristina L.; DOWDY, David; DHEDA, Keertan; NAIDOO, Kogieleum; SCHUMACHER, Samuel G.; MA, Shuyi; MEERMEIER, Erin; LEWINSOHN, David M.; SHERMAN, David R.. Incipient and Subclinical Tuberculosis: a clinical review of early stages and progression of infection. *Clinical Microbiology Reviews*, [S.L.], v. 31, n. 4, p. 00021-18, 18 jul. 2018. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00021-18>.
  25. SUÁREZ, Isabelle; FÜNGER, Sarah Maria; KRÖGER, Stefan; RADEMACHER,

- Jessica; FÄTKENHEUER, Gerd; RYBNIKER, Jan. The Diagnosis and Treatment of Tuberculosis. *Deutsches Aerzteblatt Online*, [S.L.], v. 43, n. 116, p. 729-735, 25 out. 2019. Deutscher Arzte-Verlag GmbH. <http://dx.doi.org/10.3238/arztebl.2019.0729>.
26. Global tuberculosis report 2020. Geneva: World Health Organization; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>
27. HOUBEN, Rein M. G. J.; DODD, Peter J.. The Global Burden of Latent Tuberculosis Infection: a re-estimation using mathematical modelling. *Plos Medicine*, [S.L.], v. 13, n. 10, p. 1002152, 25 out. 2016. Public Library of Science (PLOS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1002152>.
28. Secretaria de Vigilância em Saúde - Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico. 2021. Disponível em: [www.saude.gov.br](http://www.saude.gov.br).
29. World Health Organization. The end TB strategy. 2015. Disponível em: <https://www.who.int/tb/strategy/en/>
30. LERNER, Thomas R.; BOREL, Sophie; GUTIERREZ, Maximiliano G.. The innate immune response in human tuberculosis. *Cellular Microbiology*, [S.L.], v. 17, n. 9, p. 1277-1285, 28 jul. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/cmi.12480>.
31. LERNER, Thomas R.; BOREL, Sophie; GUTIERREZ, Maximiliano G. The innate immune response in human tuberculosis. *Cell Microbiol*, v. 17, n. 9, p. 1277-1285, 02 jul. 2015. <https://doi.org/10.1111/cmi.12480>
32. COOK, Victoria; ENARSON, Donald; BUCCHOLZ, Shawna. Understanding Disparity on the Canadian Prairies: a step toward improving tuberculosis outcomes. *Canadian Respiratory Journal*, [S.L.], v. 20, n. 4, p. 221-221, 2013. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/747469>.

33. PAI, Madhukar; BEHR, Marcel A.; DOWDY, David; DHEDA, Keertan; DIVANGAHI, Maziar; BOEHME, Catharina C.; GINSBERG, Ann; SWAMINATHAN, Soumya; SPIGELMAN, Melvin; GETAHUN, Haileyesus. Tuberculosis. *Nature Reviews Disease Primers*, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 16076, 27 out. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2016.76>.
34. Brodie D, Schluger NW. The diagnosis of tuberculosis. *Clin Chest Med*. 2005;26(2):247-71, vi. PMID:15837109. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccm.2005.02.012>
35. COMSTOCK GW. Tuberculosis in twins: a re-analysis of the Proffit survey. *Am Rev Respir Dis*. 1978 Apr;117(4):621-4. doi: 10.1164/arrd.1978.117.4.621. PMID: 565607.
36. HILL, Adrian V.s.. THE GENOMICS AND GENETICS OF HUMAN INFECTIOUS DISEASE SUSCEPTIBILITY. *Annual Review Of Genomics And Human Genetics*, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 373-400, set. 2001. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.genom.2.1.373>.
37. VAN DE VOSSE E, HOEVE MA, OTTENHOFF TH. Human genetics of intracellular infectious diseases: molecular and cellular immunity against mycobacteria and salmonellae. *Lancet Infect Dis*. 2004 Dec; 4(12):739-49. doi: 10.1016/S1473-3099(04)01203-4. PMID: 15567123.
38. BOTHAMLEY, Graham H.; BECK, John Swanson; SCHREUDER, Geziena M. Th.; D'AMARO, Jo; VRIES, Rene R. P. de; KARDJITO, Thomas; IVANYI, Juraj. Association of Tuberculosis and M. tuberculosis-Specific Antibody Levels with HLA. *The Journal Of Infectious Diseases*, [S.L.], v. 159, n. 3, p. 549-555, mar. 1989. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/159.3.549>.

39. GOLDFELD, Anne E.. Association of an HLA-DQ Allele With Clinical Tuberculosis. *Jama*, [S.L.], v. 279, n. 3, p. 226, 21 jan. 1998. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jama.279.3.226>.
40. WELLS, William Firth. AIR-BORNE INFECTION. *Journal Of The American Medical Association*, [S.L.], v. 107, n. 22, p. 1805, 28 nov. 1936. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jama.1936.02770480037010>.
41. SULTAN L, NYKA W, MILLS C, O'GRADY F, WELLS W, RILEY RL. Tuberculosis disseminators. A study of the variability of aerial infectivity of tuberculous patients. *Am Rev Respir Dis*. 1960 Sep;82:358-69. doi: 10.1164/arrd.1960.82.3.358. PMID: 13835667.
42. BRASIL. Ministério da Saúde (org.). Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil. 2. ed. Brasília: MS, 2019. Disponível em: [www.saude.gov.br/bvs](http://www.saude.gov.br/bvs). Acesso em: 20 jan. 2021.
43. LAWN, Stephen D; ZUMLA, Alimuddin I. Tuberculosis. *The Lancet*, [S.L.], v. 378, n. 9785, p. 57-72, jul. 2011. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(10\)62173-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(10)62173-3).
44. PETO, Heather M.; PRATT, Robert H.; HARRINGTON, Theresa A.; LOBUE, Philip A.; ARMSTRONG, Lori R.. Epidemiology of Extrapulmonary Tuberculosis in the United States, 1993–2006. *Clinical Infectious Diseases*, [S.L.], v. 49, n. 9, p. 1350-1357, nov. 2009. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/605559>.
45. KELLY, Ana M.. Tuberculosis. *Nursing Clinics Of North America*, [S.L.], v. 54, n. 2, p. 193-205, jun. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cnur.2019.02.008>.

46. OLSEN, S-R; LONG, R; TYRRELL, GJ; KUNIMOTO, D. Induced Sputum for the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis: is it useful in clinical practice?. *Canadian Respiratory Journal*, [S.L.], v. 17, n. 4, p. 81-84, 2010. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2010/426185>.
47. ANDERSON, C; INHABER, N; MENZIES, D. Comparison of sputum induction with fiber-optic bronchoscopy in the diagnosis of tuberculosis. *American Journal Of Respiratory And Critical Care Medicine*, [S.L.], v. 152, n. 5, p. 1570-1574, nov. 1995. American Thoracic Society. <http://dx.doi.org/10.1164/ajrccm.152.5.7582296>.
48. BROWN, M.; VARIA, H.; BASSETT, P.; DAVIDSON, R. N.; WALL, R.; PASVOL, G.. Prospective Study of Sputum Induction, Gastric Washing, and Bronchoalveolar Lavage for the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis in Patients Who Are Unable to Expectorate. *Clinical Infectious Diseases*, [S.L.], v. 44, n. 11, p. 1415-1420, 1 jun. 2007. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/516782>.
49. LEWINSOHN DM, LEONARD MK, LOBUE PA, COHN DL, Daley CL, DESMOND E. Official American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America/Centers for Disease Control and Prevention Clinical Practice Guidelines: Diagnosis of Tuberculosis in Adults and Children. *Clin Infect Dis*. 2017 Jan 15;64(2):e1-e33. doi: 10.1093/cid/ciw694. Epub 2016 Dec 8. PMID: 27932390.
50. COLEBUNDERS, Robert L.. *Control of Communicable Diseases Manual*, 19th Edition Control of Communicable Diseases Manual, 19th Edition Edited by David L. Heymann Washington, DC: american public health association, 2008. 746 pp. *Clinical Infectious Diseases*, [S.L.], v. 49, n. 8, p. 1292-1293, 15 out. 2009. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/605668>.



51. KALLMAN FJ, REISNER D. Twin studies on the significance of genetic factors in tuberculosis. *Am Rev Tuberc* 1942; 47: 549–74
52. COMSTOCK GW. Tuberculosis in twins: a re-analysis of the Proffit survey. *Am Rev Respir Dis*. 1978 Apr;117(4):621-4. doi: 10.1164/arrd.1978.117.4.621. PMID: 565607.
53. STEAD, William W.; SENNER, John W.; REDDICK, William T.; LOFGREN, John P.. Racial Differences in Susceptibility to Infection by *Mycobacterium tuberculosis*. *New England Journal Of Medicine*, [S.L.], v. 322, n. 7, p. 422-427, 15 fev. 1990. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejm199002153220702>.
54. MÖLLER, Marlo; KINNEAR, Craig J.; ORLOVA, Marianna; KROON, Elouise E.; VAN HELDEN, Paul D.; SCHURR, Erwin; HOAL, Eileen G.. Genetic Resistance to *Mycobacterium tuberculosis* Infection and Disease. *Frontiers In Immunology*, [S.L.], v. 9, p. 02219, 27 set. 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2018.02219>.
55. ABEL, Laurent; FELLAY, Jacques; HAAS, David W; SCHURR, Erwin; SRIKRISHNA, Geetha; URBANOWSKI, Michael; CHATURVEDI, Nimisha; SRINIVASAN, Sudha; JOHNSON, Daniel H; BISHAI, William R. Genetics of human susceptibility to active and latent tuberculosis: present knowledge and future perspectives. *The Lancet Infectious Diseases*, [S.L.], v. 18, n. 3, p. 64-75, mar. 2018. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(17\)30623-0](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(17)30623-0).
56. CALANDRA T, ROGER T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2003;3(10):791-800.
57. GREGORY JL, MORAND EF, MCKEOWN SJ, RALPH JA, HALL P, YANG YH, ET AL. Macrophage migration inhibitory factor induces macrophage

- recruitment via CC chemokine ligand 2. *J Immunol* 2006;177(11):8072-9.
58. MORAND EF, LEECH M, BERNHAGEN J. MIF: a new cytokine link between rheumatoid arthritis and atherosclerosis. *Nat Rev Drug Discov* 2006;5(5):399-410.
  59. SANTOS LL, MORAND EF. Macrophage migration inhibitory factor: a key cytokine in RA, SLE and atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 2009;399(1-2):1-7.
  60. TILLMANN S, BERNHAGEN J, NOELS H. Arrest Functions of the MIF Ligand/Receptor Axes in Atherogenesis. *Front Immunol* 2013;4:115.
  61. HOI AY, ISKANDER MN, MORAND EF. Macrophage migration inhibitory factor: a therapeutic target across inflammatory diseases. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2007;6(3):183-90.
  62. MA L, XUE HB, GUAN XH, SHU CM, ZHANG YJ, ZHANG JH, et al. Relationship of macrophage migration inhibitory factor levels in PBMCs, lesional skin and serum with disease severity and activity in vitiligo vulgaris. *Braz J Med Biol Res* 2013;46(5):460-4.
  63. MAKINO A, NAKAMURA T, HIRANO M, KITTA Y, SANO K, KOBAYASHI T, et al. High plasma levels of macrophage migration inhibitory factor are associated with adverse long-term outcome in patients with stable coronary artery disease and impaired glucose tolerance or type 2 diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 2010;213(2):573-8.
  64. BAUGH JA, CHITNIS S, DONNELLY SC, MONTEIRO J, LIN X, PLANT BJ, et al. A functional promoter polymorphism in the macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene associated with disease severity in rheumatoid arthritis. *Genes Immun* 2002;3(3):170-6.
  65. CALANDRA, T., ROGER, T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 3, 791–800 (2003).

- <https://doi.org/10.1038/nri1200>
66. LI, YANLIN; YUAN, TAO; LU, WEIPING; CHEN, MING; CHENG, XIAOXING; DENG, SHAOLI. Association of tuberculosis and polymorphisms in the promoter region of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in a Southwestern China Han population. *Cytokine*, [S.L.], v. 60, n. 1, p. 64-67, out. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2012.06.010>.
  67. KUAI, Shou-Gang; OU, Qin-Fang; YOU, De-Hong; SHANG, Zhong-Bo; WANG, Jun; LIU, Jun; ZHOU, XI-Ke; PEI, Hao; HUANG, Li-Hua. Functional polymorphisms in the gene encoding macrophage migration inhibitory factor (MIF) are associated with active pulmonary tuberculosis. *Infectious Diseases*, [S.L.], v. 48, n. 3, p. 222-228, 6 nov. 2015. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/23744235.2015.1107188>.
  68. DONN R, ALOURFI Z, De BF, MEAZZA C, ZEGGINI E, LUNT M, et al. Mutation screening of the macrophage migration inhibitory factor gene: positive association of a functional polymorphism of macrophage migration inhibitory factor with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2002;46(9):2402-9.
  69. YAMADA G, SHIJUBO N, TAKAGI-Takahashi Y, NISHIHIRA J, MIZUE Y, KIKUCHI K, et al. Elevated levels of serum macrophage migration inhibitory factor in patients with pulmonary tuberculosis. *Clin Immunol* 2002;104(2):123-7.
  70. LI Y, YUAN T, LU W, CHEN M, CHENG X, DENG S. Association of tuberculosis and polymorphisms in the promoter region of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in a Southwestern China Han population. *Cytokine* 2012;60(1):64-7.
  71. GOMEZ LM, SANCHEZ E, RUIZ-NARVAEZ EA, LOPEZ-NEVOT MA, ANAYA JM, MARTIN J. Macrophage migration inhibitory factor gene influences

- the risk of developing tuberculosis in northwestern Colombian population. *Tissue Antigens* 2007;70(1):28-33.
72. SADKI K, LAMSYAH H, RUEDA B, AKIL E, SADAK A, MARTIN J, et al. Analysis of MIF, FCGR2A and FCGR3A gene polymorphisms with susceptibility to pulmonary tuberculosis in Moroccan population. *J Genet Genomics* 2010;37(4):257-64.
73. DAS R, KOO MS, KIM BH, JACOB ST, SUBBIAN S, YAO J, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) is a critical mediator of the innate immune response to *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(32).

