



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ABRAÃO DE FONTES SOUSA

**IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES ALTERNATIVOS DE
INFECÇÃO PELO *Mycobacterium tuberculosis***

Recife
2024

ABRAÃO DE FONTES SOUSA

**IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES ALTERNATIVOS DE
INFECÇÃO PELO *Mycobacterium tuberculosis***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Bacharelado em
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Pernambuco, como requisito
parcial para obtenção do título de
Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Jaqueline de Azevedo Silva

Coorientadora: Dra. Débora Elienai de Oliveira Miranda

Recife

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Sousa, Abraão de Fontes.

Identificação de potenciais biomarcadores alternativos de infecção pelo
Mycobacterium tuberculosis / Abraão de Fontes Sousa. - Recife, 2024.

44 p. : il., tab.

Orientador(a): Jaqueline de Azevedo Silva

Coorientador(a): Débora Elienai de Oliveira Miranda

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Licenciatura, 2024.

1. Doença respiratória. 2. Tuberculose. 3. Proteínas. 4. Marcadores. 5.
Pneumopatia. I. Silva, Jaqueline de Azevedo. (Orientação). II. Miranda, Débora
Elienai de Oliveira. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

ABRAÃO DE FONTES SOUSA

**IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES ALTERNATIVOS DE
INFECÇÃO PELO *Mycobacterium tuberculosis***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Bacharelado em
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Pernambuco, como requisito
parcial para obtenção do título de
Licenciado em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 04/03/2024

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Jaqueline de Azevedo Silva (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Ronaldo Celerino da Silva (Examinador Externo)
Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz Pernambuco

Mestre Thays Maria Costa de Lucena (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico a minha maior saudade, minha mãe
Josineide Maria de Fontes (*in memoriam*)
que sempre foi meu tudo, hoje meu anjo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me trouxe até aqui e me fez suportar todo este penoso processo. Nas vezes que tive dúvidas, Ele foi minha certeza e apontou sempre o caminho certo, para que não desistisse. Pelos amigos da igreja, que foram e são verdadeiros irmãos que Ele colocou em minha vida. Amo vocês.

Agradeço aos meus pais, Damião Manoel e Josineide Maria (*in memoriam*), que sempre me deram todo o apoio necessário e que, juntamente com meus irmãos Hailton e Deybson, foram minha casa durante toda essa fase da minha vida. Pessoas por quem luto e me esforço em ser cada dia melhor. Obrigado a todos os familiares que sempre estiveram presente e apoiando.

Agradeço a Samara Rayelli, meu presente de Deus através da universidade, que com o seu amor e presença me ajudou a estar sempre firme no propósito de Deus em minha vida, te amo.

Agradeço aos meus amigos, em especial a Aline Silva, que sempre foi minha amiga/irmã, com quem dividi e divido todos os meus pequenos surtos, alegrias e espiritualidade. Obrigado Thamires Tayná, Juliana Oliveira, Vitória Vanessa, Edmilson Costa, José Carlos e todos os que conheci nessa fase acadêmica, pelas risadas, trabalhos desenvolvidos e momentos de muito aprendizado.

Agradeço à Prof^a Vilma Loreto, por todo apoio e orientação durante grande parte da graduação, pelo conhecimento e práticas adquiridas por seu intermédio.

Por fim, mas não menos importante, agradeço às minhas orientadoras Prof^a Jaqueline Azevedo e Débora Miranda, que me acolheram e se dispuseram a me ajudar neste trabalho, pessoas incríveis e de grande sabedoria, por quem tenho muita estima.

"Acho que nesses momentos de grandes tristezas tem-se a necessidade de olhar para o céu em lugar de chorar..."

(Teresa Martin)

RESUMO

A tuberculose (TB) é uma doença que tem como agente etiológico o *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), bactéria conhecida por sua alta virulência, e resistência observada em alguns casos. Apesar do conhecimento sobre sua entrada nas células do hospedeiro, macrófagos alveolares, estudos apontam que podem existir outras vias de entrada, mediadas por diferentes moléculas. Esta revisão bibliográfica teve como principal objetivo revisar estes estudos, reunindo os potenciais biomarcadores de entrada do patógeno, bem como descrever suas diferentes vias. Foram encontradas uma variedade de 9 moléculas envolvidas no processo de internalização do *Mtb*, sejam estas presentes no próprio agente ou em células do hospedeiro, além de diferentes vias. Dessa forma, os estudos contribuem para o conhecimento da infecção causada pelo *Mtb*, e novos estudos são necessários para a descoberta de eventuais novas vias de entrada que possam surgir, além da contribuição para a terapêutica da doença.

Palavras-chave: Doença respiratória; Tuberculose; Proteínas; Marcadores; Pneumopatia.

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is a disease caused by the *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), a bacterium known for its high virulence and observed resistance in some cases. Despite the understanding of its entry into host cells, specifically alveolar macrophages, studies suggest the existence of alternative entry pathways mediated by different molecules. The primary objective of this literature review was to assess these studies, identifying potential pathogen entry biomarkers and describing their respective pathways. A variety of nine molecules involved in Mtb internalization were found, either within the pathogen itself or in host cells, along with distinct entry pathways. Consequently, these studies contribute to the understanding of Mtb infection, highlighting the necessity for further research to uncover potential new entry pathways and enhance therapeutic strategies for the disease.

Keywords: Respiratory disease; Tuberculosis; Proteins; Markers; Lung disease;

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Representação esquemática de proteínas do envelope celular incorporadas na parede celular do complexo <i>M. tuberculosis</i>	16
Figura 2 -	Visão geral da infecção por <i>Mtb</i>	19
Figura 3 -	Fluxograma (Etapas utilizadas na metodologia)	25
Figura 4 -	Mecanismo pelo qual o SDC4 auxilia a invasão do <i>Mtb</i> nas células epiteliais pulmonares	28
Figura 5 -	Papel do TREM2 na defesa antibacteriana de macrófagos contra <i>M. tuberculosis</i>	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Biomarcadores envolvidos no curso de entrada da infecção pelo
Mycobacterium tuberculosis

26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Arp2/3	Actin-Related Proteins
AGP	Peptidoglicano-arabinogalactano
CDC42	Cell Division Cycle 42
Células M	Células microdobradas
CLRs	Receptores de lectina tipo C
COVID	Doença do coronavírus
CR3	Receptor de complemento 3
DC-SIGN	Moléculas de adesão intercelular específicas de células dendríticas - não integrinas
DIM	Dimicocerosato de ftiocerol
ERO	Espécies reativas do oxigênio
GFP	Proteína verde fluorescente
HAUSP	Protease específica da ubiquitina associada ao herpesvírus
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HNPs	Peptídeos de neutrófilos humanos
ILTB	Infecção latente da tuberculose
<i>M. tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MR	Receptor de manose
MOI	Multiplicidade de infecção
<i>Mtb</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MTBC	Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
NLRs	Receptores do tipo NOD
N-WASp	Wiskott–Aldrich Syndrome protein
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PRRs	Receptores de reconhecimento de padrões

SAA-1	Amilóide sérico A1
SDC-4	Syndecan-4
SDF1	Stromal cell-derived factor
SGMS1	Esfingomielina sintase 1
SR-B1	Receptor necrófago classe B tipo 1
TFN	Fator de necrose tumoral (TNF)
TLRs	Receptores Toll-like
TREM-2	Triggering receptor expressed on myeloid cells 2
UGCG	UDP-glicose ceramida glicosiltransferase

LISTA DE SÍMBOLOS

- α Alfa
- β Beta
- γ Gama

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	17
2.2	EPIDEMIOLOGIA DA TUBERCULOSE	18
2.3	TRANSMISSÃO E FATORES DE RISCO	18
2.4	PATOGÊNESE	20
2.5	EVASÃO IMUNOLÓGICA	21
2.6	RESPOSTAS IMUNOLÓGICAS	21
2.6.1	Resposta Imune Inata	21
2.6.2	Resposta Imune Adaptativa	22
3	OBJETIVOS	24
3.1	OBJETIVO GERAL	24
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4	METODOLOGIA	25
4.1	ESTRATÉGIA DE BUSCA	25
4.2	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	25
4.3	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	25
4.4	ETAPAS DO TRABALHO	25
5	RESULTADOS	27
5.1	SELEÇÃO DE ARTIGOS	27
5.2	SYNDECAN-4 (SDC-4)	28
5.3	Rv0180c	29
5.4	RECEPTOR DESENCADEADO EXPRESSO NAS CÉLULAS MIELÓIDES 2 (TREM-2)	30
5.5	AMILÓIDE A SÉRICA HUMANA 1 (SAA-1)	31
5.6	Rv0590A	32
5.7	ESFINGOMIELINA	33
5.8	DIMICOSCEROSATO DE FTIOCEROL (DIM)	34
5.9	RECEPTOR NECRÓFAGO B1 (SR-B1) E EsxA	35
6	DISCUSSÃO	37

7	CONCLUSÃO	39
	REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

O *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) é o agente causador da tuberculose (TB), doença infecciosa que pode ocasionar distúrbios pulmonares, e ainda, extra-pulmonares, como tuberculose óssea, tuberculose cutânea, entre outras. Além disso, pode-se apresentar de forma latente ou ativa, sendo esta última a mais preocupante, devido a sua gravidade (Pai et al., 2016).

O *Mtb* está, juntamente com outras 4 espécies, no complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), grupo de bactérias do gênero *Mycobacterium* capazes de causar TB em seres humanos ou em outros organismos. É um bacilo gram-positivo, aeróbio, com preferência para tecidos bem oxigenados, e intracelular obrigatório, que desencadeia uma resposta à imunidade celular. Quanto à sua estrutura, a parede celular é rica em lipídios, com uma camada característica de ácidos micólicos, o que lhe confere resistência ácido-álcool (Martin et al., 2014).

Segundo o Relatório Global de TB 2023 da Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que 10,6 milhões de pessoas adoeceram com TB em 2022, o que é um aumento quando comparado a anos anteriores, sendo 10,3 milhões em 2021 e 10,0 milhões em 2020. Dessa forma, estima-se que a taxa de incidência de TB tenha aumentado em 1,9%. Quanto à mortalidade, a OMS prevê que a TB ocupe o segundo lugar como causa de morte por um único agente infeccioso, depois da COVID-19, em 2022 (OMS, 2023).

A principal forma conhecida de entrada do *M. tuberculosis* no organismo é através da infecção em macrófagos alveolares, ou ainda, macrófagos intersticiais (Pai et al., 2016) pelas vias respiratórias, porém precisa-se compreender melhor quais são as interações moleculares ocorridas no processo, além dos receptores envolvidos. Dessa forma, o principal objetivo deste trabalho foi identificar na literatura disponível, marcadores moleculares envolvidos no curso de entrada da infecção pelo *Mtb* em células do hospedeiro.

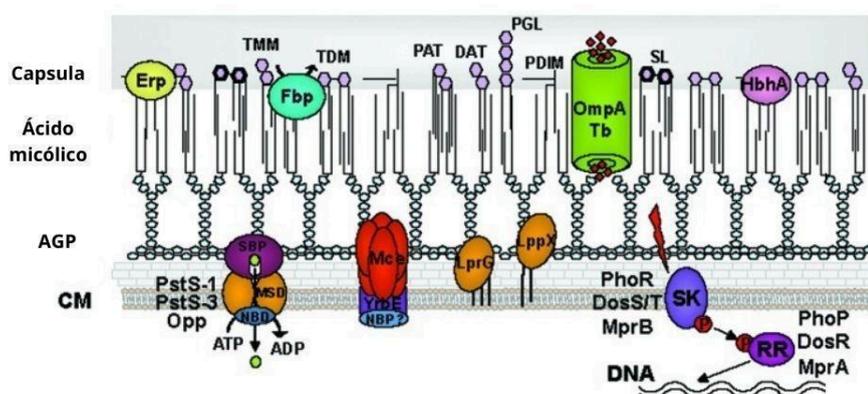
Os biomarcadores ou marcadores biológicos podem ser proteínas, genes, hormônios, enzimas, entre outros, que servem como indicadores de processos biológicos, ou respostas a algum fármaco durante intervenção terapêutica (Biomarkers Definitions Working Group, 2001).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Mycobacterium tuberculosis*

Pertencente ao gênero *Mycobacterium*, a *Mycobacterium tuberculosis* é uma bactéria gram-positiva, aeróbica e não esporulante, mais conhecida por ser o agente etiológico da tuberculose. Sua estrutura é envolvida por uma parede celular complexa (figura 1) e composta por uma alta proporção de lipídios, incluindo ácidos micólicos, que conferem resistência a agentes antimicrobianos, contribuindo para sua sobrevivência intracelular e complexo peptidoglicano-arabinogalactano (AGP). Além disso, a parede celular, contém importantes proteínas e outros lipídios complexos, como fosfatidilinositol mannosil e lipoglicanos que auxiliam na interação patógeno-hospedeiro (Martin et al., 2014; Forrellad et al., 2013).

Figura 1 - Representação esquemática de proteínas do envelope celular incorporadas na parede celular do complexo *M. tuberculosis*.



Fonte: Adaptado de Forrellad et al. (2014).

O *M. tuberculosis* pertence ao Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), juntamente com os patógenos humanos e animais *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* e *M. bovis*, também causando a TB em humanos. O complexo foi formado a partir de estudos que mostraram uma similaridade de sequência de DNA superior a 99,9% entre eles, diferindo apenas pelos raros polimorfismos de nucleotídeo único sinônimos, variações genéticas no genoma (Martin et al., 2014; Smith et al., 2003).

2.2 EPIDEMIOLOGIA DA TUBERCULOSE

As doenças infecciosas respiratórias estão entre as três principais causas de morbidade e mortalidade em adultos e crianças, totalizando cerca de quatro milhões de óbitos por ano em todo o mundo. Ao longo dos séculos, epidemias de doenças respiratórias causadas por patógenos, (por exemplo: vírus ou bactérias), tem sido um grande problema de saúde pública, com destaque para a tuberculose (TB) que possui uma das mais altas taxas globais de mortalidade, sendo considerada até antes da pandemia do Coronavírus Disease-19 (COVID-19), a principal causa de óbitos por um único agente infeccioso (OMS, 2021).

Dados do último relatório global, realizado em 2023, apontam um aumento de 1,9% na incidência dos casos. O número de casos registrados em 2022 foi de 10,6 milhões, seguido de 10,3 e 10,0 milhões nos respectivos anos anteriores e com a pandemia da COVID-19 foi possível observar uma redução no número de pessoas diagnosticadas com tuberculose, no Brasil por exemplo, em 2020 o número foi de 70.554 enquanto que em 2019 se teve 79.784 casos diagnosticados (BRASIL, 2023). Longe do marco da Estratégia da OMS para acabar com a TB de uma redução de 50% até 2025, a “end TB”, a redução líquida na taxa de incidência de 2015 a 2022 foi de apenas 8,7% (OMS, 2023).

Sobre a redução da incidência em diferentes regiões do mundo, destacam-se as regiões Europeia e Africana com redução de 25% e 23%, respectivamente, entre os anos de 2015 a 2022. Nas demais regiões a redução foi a seguinte: Mediterrâneo Oriental (7,4%), Sudeste Asiático (6,6%) e Pacífico Ocidental (3,7%). Na região das Américas a tendência é preocupante, com aumento líquido de 14% entre 2015 e 2022 (OMS, 2023).

O Brasil, assim como a maior parte da América do Sul, está na lista dos países onde a incidência de TB em 2022 foi mais de 5% superior à de 2015. A incidência de TB no Brasil em 2015 foi de mais 69 mil, aumentando para 78.057 em 2022. O estado de Pernambuco está entre os mais preocupantes, com número de incidência de 52,8 mil (BRASIL, 2023).

2.3 TRANSMISSÃO E FATORES DE RISCO

A transmissão de *M. tuberculosis* se dá pelo transporte de pequenas gotículas de aerossóis, seja através da tosse de algum infectado ou até mesmo fala ou espirro (Yates et al., 2016). Ao inalar as gotículas respiratórias contendo o bacilo, estes vão percorrer as vias aéreas, superiores e/ou inferiores chegando então aos pulmões. Nos alvéolos pulmonares o *Mtb* pode entrar em contato com macrófagos alveolares, onde serão fagocitados. Estudos evidenciam, ainda, que além desta rota convencional pelos macrófagos, o patógeno pode entrar por meio de outras células do hospedeiro, como células epiteliais pulmonares e células dendríticas (Rahlwes et al., 2023).

Após a infecção, a tuberculose (TB) pode ocorrer de forma latente ou ativa, nesta última os principais sintomas são: tosse prolongada (às vezes com sangue), dor no peito, fraqueza, fadiga, perda de peso, febre e suor noturno. Geralmente os pulmões são os órgãos mais afetados, mas a TB também pode atingir os rins, o cérebro, a coluna, a pele e entre outros, sendo conhecida como tuberculose extrapulmonar. A forma latente é caracterizada pela formação do granuloma, estrutura que impede a propagação da infecção, não apresentando sintomas (OMS, 2023).

Os principais fatores de risco associados à TB são diabetes mellitus, tabagismo, álcool e uso de outras drogas, bem como a coinfeção pelo vírus HIV/Aids. A inalação da fumaça do tabaco, ou consumo das substâncias citadas, criam condições para o desenvolvimento da TB pela perpetuação de uma disfunção ciliar, ocasionando uma resposta imune reduzida, apresentando defeitos na atuação dos macrófagos, e podendo ter ou não uma diminuição da contagem de células T CD4. Dessa forma, estes fatores podem elevar o risco de persistência do *Mtb* após o tratamento, além da progressão da doença e o risco de infecção latente por tuberculose (ILTb) (Cunha et al., 2021). Não obstante, a coinfeção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), pode também causar um distúrbio no funcionamento do sistema imune, visto que a Aids tem como principal característica a imunossupressão através da perda manifesta de células T CD4+ no sangue, tecidos linfóides e mucosas (Moir et al., 2011).

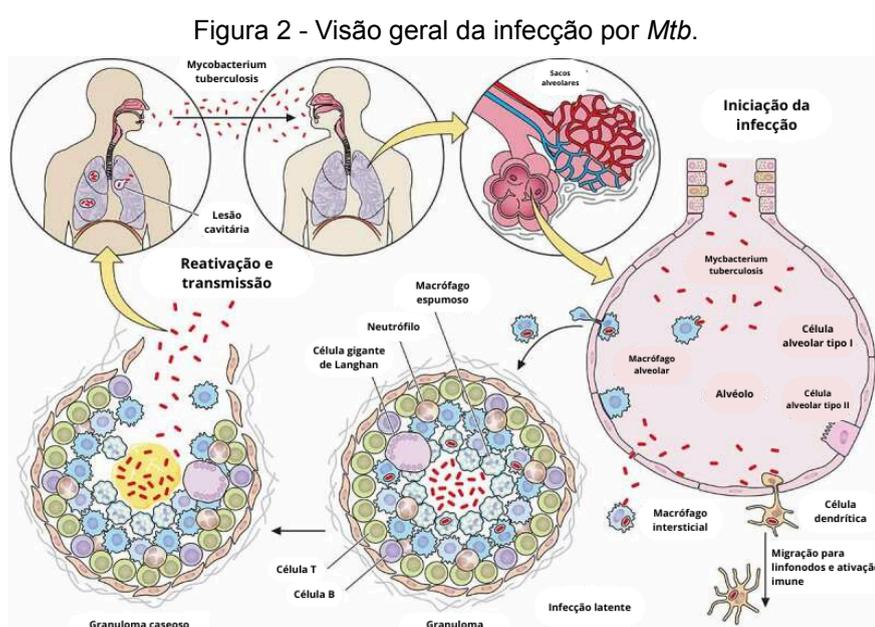
A diabetes mellitus aparece como fator de risco devido a alta taxa de falência do tratamento para TB em indivíduos com a comorbidade, além de risco de óbito.

Outrossim, o grupo apresenta o risco de desenvolver resistência às drogas utilizadas, além da TB poder provocar intolerância à glicose (Cunha et al., 2021).

2.4 PATOGÊNESE

Ao entrar pelas vias aéreas (figura 2), chegando aos alvéolos pulmonares, o *M. tuberculosis* é fagocitado pelo macrófago onde irá residir inicialmente em um vacúolo endocítico denominado fagossomo, que em fusão com o lisossomo forma o fagolisossomo. Em seguida, os macrófagos infectados poderão residir no interstício, ou ainda, juntamente com células dendríticas infectadas, podem migrar do pulmão para os gânglios linfáticos de drenagem para preparar e ativar as células T e B (Rahlwes et al., 2023).

Dentro do interstício, os macrófagos englobam os bacilos extracelulares que escaparam da fagocitose inicial ou que foram liberados das células mortas. Os macrófagos alveolares e intersticiais infectados, juntamente com macrófagos não infectados, monócitos inflamatórios, neutrófilos e células T recrutadas pela inflamação e dano tecidual formam o granuloma. Desta forma, na maioria das infecções primárias, a infecção é controlada, seja através da erradicação completa do bacilo, ou através da formação de um granuloma estável (Smith et al., 2003).



Fonte: Adaptado de Rahlwes et al. (2023).

A formação do granuloma faz com que o bacilo permaneça em estado de dormência, limitando a progressão da infecção e restringindo qualquer dano tecidual a uma região pequena e bem circunscrita, o que configura a infecção latente da tuberculose (ILTb). Não obstante, a fase ativa da doença ainda pode acontecer, quer seja diretamente após a infecção primária ou após a reativação da infecção latente, geralmente no contexto de imunossupressão, pelo rompimento do granuloma (Rahlwes et al., 2023). A tuberculose ativa é caracterizada pela rápida multiplicação do patógeno e disseminação para outros órgãos do corpo, como pele, ossos, rins, entre outros, ocasionando até mesmo tuberculose extrapulmonar.

2.5 EVASÃO IMUNOLÓGICA

Para garantir a sobrevivência, o *Mycobacterium tuberculosis* se utiliza de diferentes mecanismos para escapar do sistema imunológico. Nos macrófagos, principais células atingidas pela infecção, interrompem vias que têm como função eliminar o patógeno. Ao bloquear a NADPH oxidase, por exemplo, o *Mtb* prejudica a via da fagocitose associada a LC3, que normalmente transporta microrganismos para o lisossoma. Além disso, a apoptose das células hospedeiras infectadas podem ser bloqueadas através da desintoxicação de espécies reativas do oxigênio (ERO) fagossômicas pelo gene NuoG (Chandra et al., 2022).

Um outro método utilizado é a partir da interação das PE_PGRS38, família de proteínas do *Mtb*, com a protease específica da ubiquitina associada ao herpesvírus (HAUSP), que regula negativamente a produção de citocinas, e aumenta a carga de bacilos intracelulares em macrófagos primários derivados da medula óssea (Kim et al., 2022).

2.6 RESPOSTAS IMUNOLÓGICAS

2.6.1 Resposta Imune Inata

A resposta à infecção pelo *M. tuberculosis* tem início com a fagocitose por macrófagos ou células dendríticas, que tem um papel crucial na ativação de respostas imunes adaptativas, através da apresentação de antígenos. Os macrófagos alveolares produzem níveis elevados de fator de necrose tumoral (TNF), que limita o crescimento de *Mtb* intracelulares (Cooper, 2015; Scriba et al., 2017).

Os sistemas de receptores de reconhecimento de padrões (PRR) do hospedeiro, atuam detectando padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) do *Mtb*. Dentre os PRRs envolvidos na detecção de *Mtb*, estão os receptores Toll-like (TLRs), receptores de lectina tipo C (CLRs), moléculas de adesão intercelular específicas de células dendríticas (DC) - não integrinas (DC-SIGN), receptor de manose (MR) e receptores do tipo NOD (NLRs) relacionados à ativação do inflamassoma (Ponnusamy e Arumugam, 2022).

Os neutrófilos também podem auxiliar no combate à infecção primária. O recrutamento por CXCL8, quimiocinas liberadas por macrófagos alveolares, aumentam a fagocitose e morte por neutrófilos. Eles podem matar, ainda, através da liberação de peptídeos antimicrobianos, incluindo peptídeos de neutrófilos humanos (HNPs) 1–3, LL-37 e lipocalina 2 (Scriba et al., 2017).

A partir da fusão dos macrófagos recrutados em torno de macrófagos infectados, dos quais alguns se diferenciam em células epitelióides e outros se fundem para se tornarem células gigantes multinucleadas, têm-se a formação do granuloma. Nesta estrutura estão presentes, ainda, neutrófilos recrutados que intercalam com os macrófagos e estão envolvidos por linfócitos - células B e células T. O granuloma serve para conter a propagação da infecção, porém também pode servir como barreira, impedindo a chegada de medicamentos ou até mesmo a atuação da resposta imune adaptativa (Scriba et al., 2017).

2.6.2 Resposta Imune Adaptativa

A resposta imune adaptativa ainda não é tão bem compreendida como a resposta inata, porém estudos vêm apontando as funções das células T e B na patogênese da TB. As células T CD4 têm sido as mais estudadas, e foi demonstrada a expressão de citocinas IFN- γ , TNF e/ou IL-2, além da produção de IL-17, porém seu envolvimento na patologia ainda não é bem estabelecido. As células T CD4

podem atuar, ainda, ajudando na indução de respostas de células B e células T CD8. Através da produção de IL-2 ou pela ativação de células apresentadoras de antígeno, as células T CD4 induzem respostas de células T CD8 (Pollara et al., 2021; Flynn e Chan, 2022).

As funções das células T CD8 ainda seguem pouco compreendidas, enquanto tem-se uma rica produção de citocinas pelas células T CD4, as T CD8 produzem citocinas mínimas. Um fato que ainda causa dúvidas é o de que, durante a infecção, a resposta adaptativa das células T ao patógeno são relativamente lentas (Flynn e Chan, 2022).

As células B e anticorpos, também modulam as respostas imunes ao *Mtb* e são necessárias para o desenvolvimento de uma imunidade ideal contra o patógeno, regulando a produção de citocinas, a resposta neutrofílica e a inflamação granulomatosa, além de modular a imunidade induzida por vacina. As células B podem processar e apresentar antígenos às células T, secretar anticorpos (Ab) e modular a inflamação através da produção de IL-10. As classes de Ab específicos para antígeno micobacteriano relatados nas infecções por *Mtb* são IgG, IgA e IgM. O IgG atua na ativação de células Natural Killers (células NK), que promove a fagocitose mediada por células dependente de Ab, dessa forma as células NK matam células infectadas, restringindo o crescimento de *Mtb*. Os Abs IgA e IgM, embora secretados pelas células B durante a patogênese, ainda não se sabe de que forma eles atuam no combate à infecção (Scriba et al., 2017; Flynn e Chan, 2022).

Através da produção de citocinas, as células B podem regular a resposta imune por meio do IFN tipo 1, por exemplo. O IFN tipo 1 promove o desenvolvimento de macrófagos anti-inflamatórios, porém o *Mtb* pode também induzir a expressão da citocina para diminuir a resistência à defesa do hospedeiro, atenuando a produção de IL-1 α/β . Dessa forma, é possível que o IFN tipo I das células B desempenhe um papel na diminuição da imunidade anti-tuberculose (Flynn e Chan, 2022).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Identificar os potenciais marcadores moleculares envolvidos na infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis* em células do hospedeiro.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Listar os principais marcadores moleculares envolvidos no curso de entrada da infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*;
- b) Revisar possíveis novas vias de entrada da infecção pelo *Mtb*;
- c) Descrever as vias de entrada da infecção pelo *Mtb*.

4 METODOLOGIA

4.1 ESTRATÉGIA DE BUSCA

O trabalho foi realizado através da metodologia de revisão de literatura narrativa. Durante o período de Novembro a Dezembro de 2023, foram feitas pesquisas nos principais bancos de dados - PubMed e Science Direct (Elsevier). Para a busca dos artigos científicos foram utilizados os seguintes descritores: “Mycobacterium tuberculosis”, “Biomarkers” e “Entry”, com uso do operador booleano “and”. Os artigos foram selecionados conforme os critérios de inclusão e exclusão descritos abaixo.

4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Os critérios de inclusão foram artigos originais em língua portuguesa ou inglesa, publicados nos últimos 5 anos.

4.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

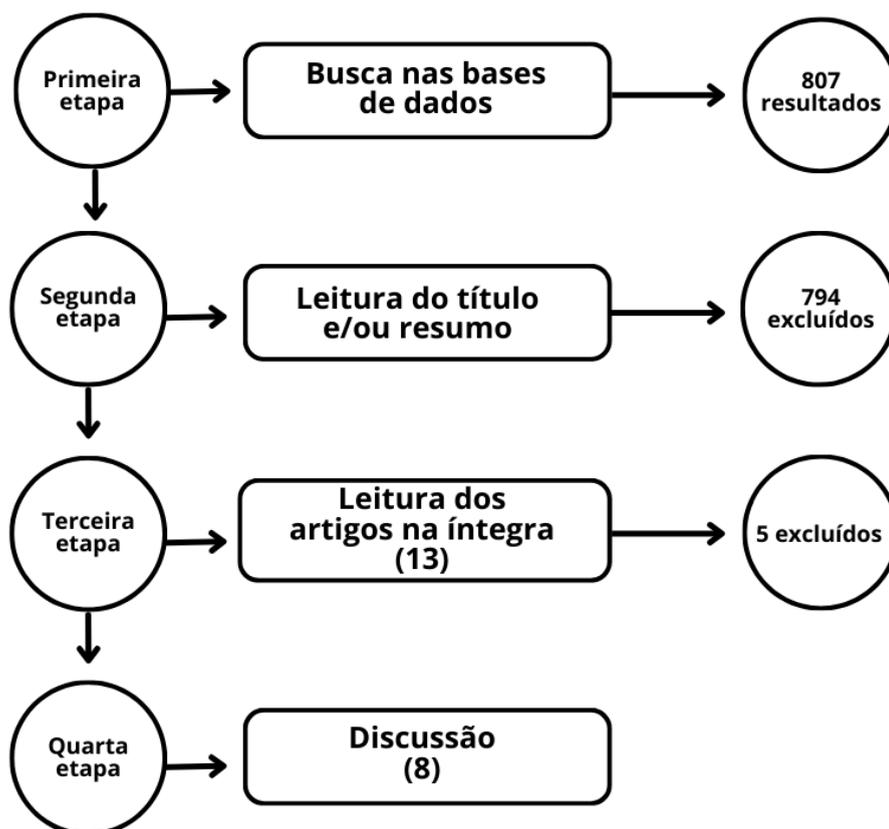
Os critérios de exclusão foram artigos em outros idiomas que não o português ou inglês, artigos que não foram possível ter o acesso, revisões, comentários, e cartas ao editor.

4.4 ETAPAS DO TRABALHO

Após aplicação dos descritores e seleção dos filtros, inicialmente foram identificados 807 resultados, incluindo revisões, relatos de caso e estudos de coorte publicados em revistas. Com base nos critérios de elegibilidade adotados e leitura dos resumos, 794 artigos foram excluídos.

Após análise e leitura, treze artigos foram selecionados e estavam de acordo com os critérios supracitados. Dessa forma, foram excluídos 5, tendo-se uma amostra final de 8 artigos para a discussão

Figura 3 - Fluxograma (Etapas utilizadas na metodologia).



Fonte: O autor (2023).

5 RESULTADOS

5.1 SELEÇÃO DE ARTIGOS

Após a análise dos artigos, 8 estudos (tabela 1) abordaram a entrada do *Mycobacterium tuberculosis* em células do hospedeiro, trazendo novas moléculas envolvidas no processo e discutindo diferentes vias da entrada do patógeno.

Tabela 1. Biomarcadores envolvidos no curso de entrada da infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*.

Biomarcadores	Funções	Vias	Tipo de Estudo	Referências
DIM	Remodela a membrana plasmática.	Macrófagos derivados de monocitos humanos.	<i>In vitro</i> .	Augenstreich et al. (2019)
SR-B1	Interage com a EsxA, presente no <i>Mtb</i> .	Células M adenóides animais e humanas.	<i>In vitro</i> .	Khan et al. (2020)
EsxA	Interage com o SR-B1, presente em células M.	Células M adenóides animais e humanas.	<i>In vitro</i> .	Khan et al. (2020)
Rv0180c	Promove a atividade do receptor de complemento 3.	Macrófagos de camundongos.	<i>In vitro</i> .	Payrus et al. (2021)
SAA-1	Interage com proteínas de membrana do <i>Mtb</i> .	Macrófagos humanos.	<i>In vitro</i> .	Kawka et al. (2021)
Esfingomielina	-	Macrófagos, células dendríticas e monocitos humanos.	<i>In vitro</i> .	Niekamp et al. (2021)
SDC-4	Remodela o	Células epiteliais	<i>In vitro</i> .	Wen et al.

	citoesqueleto de actina; inibe as vias de sinalização CDC42, N-WASp e Arp2/3.	pulmonares humanas.		(2022)
TREM-2	Promove a atividade de receptores de membrana.	Macrófagos humanos.	<i>In vitro.</i>	Dabla et al. (2022)
Rv0590A	-	Macrófagos humanos.	<i>In vitro.</i>	Kumar et al. (2023)

Fonte: O autor (2023).

5.2 SYNDECAN-4 (SDC-4)

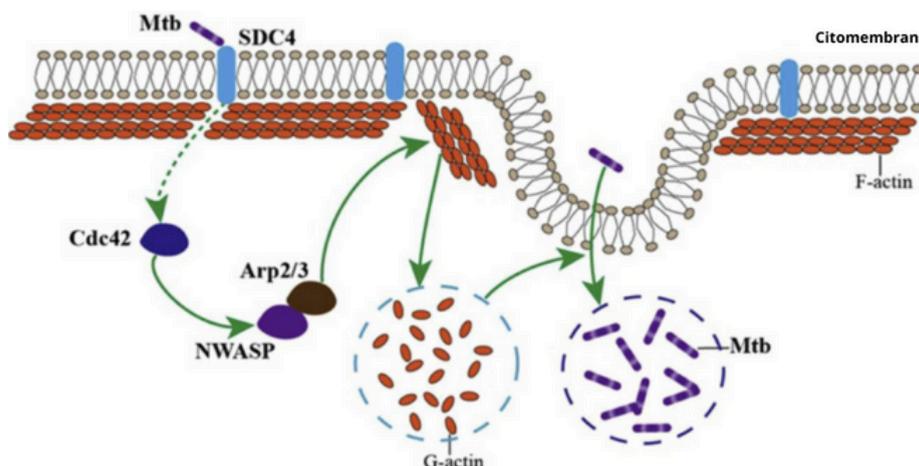
O Syndecan-4 (SDC-4) é uma proteína transmembrana, mediadora central da adesão celular, migração, proliferação, endocitose e mecanotransdução. Suas interações extracelulares são mediadas pelos glicosaminoglicanos, cadeias lineares de polissacarídeos que estão ligadas covalentemente no núcleo proteico. Além disso, SDC-4 também medeia múltiplas vias de sinalização intracelular que atuam em paralelo através da ativação de efetores comuns a essas vias (Elfenbein e Simons, 2013).

Wen et al. (2022) observaram que após um aumento no nível da expressão do SDC-4 em células epiteliais pulmonares infectadas por *Mycobacterium tuberculosis*, suspeitaram que o mesmo estaria auxiliando na entrada do patógeno. A partir da geração de duas linhas celulares de superexpressão e *knockdown* de SDC-4, foi possível notar que a eficiência de infecção de *Mtb* foi significativamente aumentada em células que superexpressam SDC-4, mas foi marcadamente diminuída em células *knockdown* de SDC-4, o que comprovou o seu envolvimento na entrada da micobactéria.

O estudo evidenciou, ainda, de quais formas o SDC-4 viabiliza a entrada do *Mtb* nessas células. A ligação do patógeno ao SDC-4 regula a remodelação do

citoesqueleto de actina (figura 4), diminuindo a proporção de F-actina/G-actina, sendo um facilitador. Outra alternativa, seria a partir das vias de sinalização CDC42, N-WASP e Arp2/3, este controle se dá pela inibição das vias, aumentando a eficiência da infecção por *Mtb* nas células epiteliais pulmonares (Wen et al., 2022).

Figura 4. Mecanismo pelo qual o SDC4 auxilia a invasão do *Mtb* nas células epiteliais pulmonares.



Fonte: Adaptado de Wen et al. (2022).

Mais experimentos foram realizados evidenciando que SDF1 e AMD3100 podem inibir a entrada do *Mtb* nas células epiteliais do pulmão. Com a ligação do SDF1 ao SDC-4 a ligação do *Mtb* é impossibilitada, pois o sítio de ligação já está ocupado, da mesma forma, a adição de AMD3100 às células cultivadas aumenta a ligação entre SDF1 e SDC-4, bloqueando assim a ligação do *Mtb* e inibindo a sua entrada nas células (Wen et al., 2022).

5.3 Rv0180c

Presente na membrana do *Mtb*, a Rv0180c é uma provável proteína transmembrana conservada de função até então desconhecida (Cáceres et al., 2011). Payros et al. (2021), com a identificação de vários genes relacionados com importantes eventos que levam à infecção dos pulmões por *M. tuberculosis*, detectaram três novos genes não descritos anteriormente, entre eles, o gene Rv0180c, que codifica a proteína.

Buscando compreender a biologia do rv0180c na infecção, inicialmente desativaram o gene através de mutação, em pulmões de camundongos. Com isto, observaram que a infecciosidade de *Mtb* durante experiências de competição ou de infecção independente foi reduzida, indicando que o rv0180c está envolvido na entrada do patógeno.

A nível celular, foi analisada a atuação do rv0180c em macrófagos. Com a incubação das células com bactérias fluorescentes (GFP) na multiplicidade de infecção de 10 bactérias para 1 macrófago (MOI 10:1) por 1h a 37°C, foi observada uma redução na infecção em células com rv0180c mutante quando comparada com selvagens ou geneticamente complementados (Payros et al., 2021).

Outros experimentos do grupo mostraram, ainda, que a desativação do gene rv0180c afeta a ligação de *Mtb* aos macrófagos e que, além disso, rv0180c é necessário para uma entrada ideal através do receptor de complemento 3 (CR3) e para replicação intracelular. Os resultados apontam que o reconhecimento de CR3 por um carboidrato na superfície da micobactéria está prejudicado com um rv0180c não funcional. Por fim, especula-se que o Rv0180c esteja direta ou indiretamente envolvido nas propriedades mecânicas da parede celular e pode, dessa forma, promover a atividade de certos receptores para garantir uma internalização bem-sucedida do patógeno (Payros et al., 2021).

5.4 RECEPTOR DESENCADEADO EXPRESSO NAS CÉLULAS MIELÓIDES 2 (TREM-2)

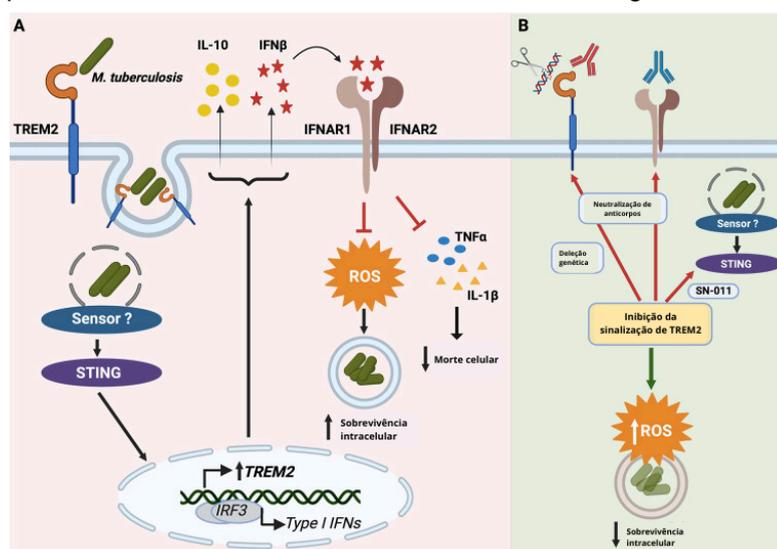
O receptor desencadeador expresso em células mieloides 2 (TREM-2), é um receptor de superfície que pertence à família das glicoproteínas transmembrana TREM, que tem como algumas das funções regular a diferenciação e função de macrófagos, micróglia, células dendríticas, osteoclastos e plaquetas (Klesney-Tait et al., 2006).

Dabla et al. (2022) demonstraram que estes receptores podem mediar a entrada do *M. tuberculosis* em macrófagos primários derivados de monócitos humanos (figura 5). Inicialmente, com a deleção de TREM-2, foi observada uma redução da fagocitose de *Mtb*, enquanto que com a superexpressão do gene houve um aumento da fagocitose, sugerindo que o TREM-2 contribui para o processo. Este

auxílio se daria através da ligação do *Mtb* ao receptor, isto foi confirmado a partir da neutralização mediada por anticorpos de TREM-2, onde foi notada uma redução considerável na capacidade do macrófago fagocitar o patógeno.

O estudo sugere, ainda, que o *Mtb* se utiliza do TREM-2 para garantir a sua sobrevivência intracelular. Os dados apontam que, através de um mecanismo dependente da sinalização de IFN tipo I, a infecção desencadeia uma forte regulação positiva da expressão de TREM-2 em macrófagos e sugere que o bacilo pode explorar este aumento da expressão para a sua sobrevivência pós-infecção (figura 5). Esta sobrevivência seria garantida a partir de uma alteração na produção de citocinas em macrófagos, mediada pelo TREM-2.

Figura 5 - Papel do TREM-2 na defesa antibacteriana de macrófagos contra *M. tuberculosis*.



Autor: Adaptado de Dabla et al. (2022).

5.5 AMILÓIDE A SÉRICA HUMANA 1 (SAA-1)

As amilóides A séricas são uma família de proteínas de resposta de fase aguda, sendo a amilóide sérica A 1 (SAA-1) provocada por sinais inflamatórios (Lee et al., 2020). Kawka et al. (2021) demonstraram que o *Mycobacterium tuberculosis* liga-se à SAA-1 através de uma interação específica entre os ligantes *Mtb* e a proteína SAA1 em macrófagos. Para confirmar a especificidade de ligação foram realizados estudos de inibição competitiva com SAA1 não marcado e marcado com biotina. A internalização do patógeno acontece a partir da ligação, os dados

sugerem que a interação pode ser um mecanismo que favorece a colonização de macrófagos humanos para garantir a localização intracelular do patógeno.

Buscando entender melhor se a interação com a amilóide A sérica humana favorece a invasão de macrófagos humanos por *Mtb*, o grupo fez uma incubação do bacilo com SAA1 a uma concentração de 15 µg/mL antes da infecção de macrófagos humanos, o que resultou em um aumento significativo no número de células bacterianas localizadas intracelularmente, além disso, o efeito modulador da ligação de SAA1 foi significativo em comparação com o controle de bactérias que não foram opsonizadas com a proteína.

O estudo identificou, ainda, cinco proteínas ligantes da membrana do *Mtb* que interagem com a proteína SAA1, sendo elas: AtpA, ABC, EspB, ThiC e TB18. A AtpA, cadeia alfa da ATP sintase micobacteriana, apresentou a maior afinidade de ligação com a SAA1. Essas proteínas não foram descritas anteriormente como ligantes micobacterianos que interagem com componentes solúveis ou de membrana do hospedeiro.

5.6 Rv0590A

A Rv0590A é uma proteína presente na membrana do *Mtb* codificada pelo operon *mce2*, e juntamente com os operons *mce1*, *mce3* e *mce4*, codifica proteínas invasivas/adesivas da superfície celular e podem desempenhar um papel na invasão e sobrevivência do *M. tuberculosis* em macrófagos durante os estágios iniciais da infecção (Kumar et al., 2023).

Kumar et al. (2023) selecionaram a Rv0590A, para entender o seu envolvimento na patogênese da tuberculose. O estudo começou pela identificação de peptídeos antigênicos e simulação imunológica *in silico*, identificando 19 peptídeos promíscuos, dos quais 5 foram rotulados como antigênicos pela ferramenta VaxiJen 2.0. A simulação imunológica, através do servidor C-ImmSim previu respostas imunes como a ativação de células T CD4 e macrófagos à injeção da proteína Rv0590A, bem como a indução de citocinas pró-inflamatórias (IFN-γ e IL-12) e anti-inflamatórias (IL-10 e TGF-β).

Com isto, o estudo testou os efeitos da regulação positiva do gene Rv0590A na invasão de macrófagos. As células foram infectadas por cepas de superexpressão de Rv0590A e o resultado foi um número maior de unidades formadoras de colônias (UFC) nesses macrófagos, quando comparado com os macrófagos infectados por cepas selvagens. O máximo de UFC foi observado às 6 h de infecção com redução às 24 horas, a partir de degeneração dos macrófagos (Kumar et al., 2023).

O estudo demonstrou, ainda, o estímulo da secreção de citocinas imunomoduladoras pela Rv0590A. Macrófagos foram infectados com Rv0590A e lisado de células inteiras de *Mtb*, e comparados com macrófagos não infectados às 6 e 24 horas de infecção. A produção de TNF e IFN- γ foi significativamente maior nos macrófagos infectados pela Rv0590A e *Mtb*. Não obstante, a produção de TNF foi também maior em resposta ao *Mtb* do que à Rv0590A às 24 horas de infecção, enquanto a secreção de IFN- γ foi comparável.

Da mesma forma, a produção de IL-10 também foi maior nas linhagens celulares infectadas com Rv0590 e *Mtb* às 24 horas de infecção. Quando comparadas, a secreção de IL-10 em resposta à proteína Rv0590A foi significativamente maior do que em resposta a *Mtb* às 24 horas de infecção. Por outro lado, a produção de IL-10 foi comparável ao controle não estimulado às 6 horas de infecção.

5.7 ESFINGOMIELINA

A esfingomielina é um dos principais fosfolipídios que constituem a matriz hidrofóbica das membranas dos mamíferos e podem atuar como fonte de ceramida na sinalização celular e apoptose, além de formar nanodomínios com colesterol e ceramida (Goñi, 2022).

Para discutir o envolvimento de esfingomielina na captação de *M. tuberculosis*, Niekamp et al. (2021) utilizaram quatro linhagens celulares fagocíticas diferentes: macrófagos RAW 246.7 murinos, células dendríticas DC2.4 murinas, monócitos humanos THP-1 e U937. Inicialmente, as células foram tratadas com Myr e FB1 durante 3 dias, com o objetivo de diminuir os níveis de esfingomielina. Foi comparada então, a captação de *Mtb* em células com baixos níveis de

esfingomielina e células selvagens, e em todos os quatro modelos celulares analisados, foi observado que o tratamento com Myr e FB1 causou uma redução de 40 a 60% na captação de *Mtb* em relação aos seus controles de tipo selvagem. Dessa forma, é notável que a esfingomielina atua na internalização do *Mtb* em macrófagos, células dendríticas e monócitos.

O estudo traz ainda que a captação eficiente de *Mtb* pelos fagócitos é altamente dependente de uma via intacta da biossíntese de esfingomielina, enquanto a produção de glicosfingolípidos é dispensável para este processo. Isto foi evidenciado pelo uso de células U937 *knockout* para enzima esfingomielina sintase 1 (SGMS1), que medeia a produção de esfingomielina, e *knockdown* gênico de UDP-glicose ceramida glicosiltransferase (UGCG), enzima que medeia a produção de glicosfingolípidos. Os resultados foram uma redução de aproximadamente 60% na captação fagocítica de *Mtb* pelas células U937, e em contrapartida, a ablação genética de UGCG não teve impacto na captação de *Mtb* pelas células THP-1.

5.8 DIMICOCEROSATO DE FTIOCEROL (DIM)

Encontrados principalmente na parede celular de micobactérias, os dimicocerosatos de ftiocerol (DIMs) são lipídios altamente hidrofóbicos contendo 2 múltiplas cadeias de ácidos graxos ramificadas com metil. Esses lipídios são particularmente abundantes em *M. tuberculosis* e configuram grande virulência (Augenstreich et al., 2019).

Augenstreich et al. (2019) demonstraram, inicialmente, que após 40 horas de infecção de macrófagos por *Mtb* tipo selvagem (MOI 15:1) a fração de membrana dos macrófagos infectados apresentou um espectro de massa semelhante à assinatura lipídica do DIM isolado do *Mtb*, indicando sua presença. Dessa forma, os dados apoiam que ocorre uma transferência de DIM da membrana do bacilo para os macrófagos infectados, desde que elas sejam expostas na superfície do *Mtb*, visto que após a infecção de macrófagos com uma cepa mutante sem *lppX*, uma lipoproteína necessária para a translocação do DIM para a membrana externa do *Mtb*, não foram identificados DIM na membrana dos macrófagos.

O estudo evidencia, ainda, que o DIM fica em forma cônica dentro da bicamada lipídica do hospedeiro e sua presença pode mudar a conformação dessa bicamada. Utilizando membranas lipídicas feitas de uma mistura 3:1 (mol/mol) de DOPE e SOPC, o grupo observou que nesta composição lipídica, as membranas permaneceram estabilizadas para temperaturas de até 48,85 °C e, em contrapartida, a incorporação de 5% de DIM desestabilizou a conformação.

Os dados do estudo apontam que esta desestruturação da membrana de macrófagos aumenta a eficiência do *Mtb* para infectar macrófagos. Foi confirmado que um mutante deficiente em DIM infectou uma porcentagem menor de macrófagos, em relação a uma cepa selvagem, e o pré-tratamento de macrófagos com DIM restaurou a porcentagem de células infectadas, chegando a ser semelhante ao observado com a cepa selvagem em macrófagos não tratados.

5.9 RECEPTOR NECRÓFAGO B1 (SR-B1) e EsxA

A EsxA é uma proteína secretada pelo sistema de secreção ESX-1 Tipo VII do *Mtb*. Identificada pela primeira vez como um potencial antígeno de células T, tem papel na regulação imunológica e interage com múltiplas proteínas celulares e vias de sinalização (Bao et al., 2021). O receptor necrófago classe B tipo 1 (SR-B1) é uma proteína receptora presente ricamente em células M de camundongo e humanas tanto in vitro quanto in vivo. O receptor já foi descrito anteriormente impulsionando a transcitose de lipoproteína de baixa densidade de células endoteliais para promover aterosclerose (Khan et al., 2020 e Huang et al., 2019).

Khan et al. (2020), descreveram a participação de EsxA e SR-B1 na internalização do *M. tuberculosis*, primeiro mostraram que o gene T7SS era o responsável pela secreção da proteína EsxA, importante fator de virulência presente na superfície do *Mtb*, e que além disso se ligava fortemente a superfície das células microdobradas (células M). Na busca pelo receptor da célula M que se liga ao EsxA, encontraram SR-B1, e para confirmar seu envolvimento, células foram expostas ao EsxA recombinante na presença ou ausência de SR-B1. Os resultados mostraram que a maioria das células positivas para EsxA foram positivas para SR-B1, sugerindo que EsxA se liga preferencialmente a células M que expressam SR-B1.

Com a redução do SR-B1 foi possível notar uma redução na translocação do *Mtb*, evidenciando então que o SR-B1 está envolvido na internalização do patógeno.

O estudo demonstrou ainda, pela primeira vez, a existência de células M expressando SR-B1 nas glândulas adenoides humanas. Por citometria de fluxo observaram que aproximadamente 10% das células adenoides eram células epiteliais, enquanto que cerca de 1% eram células M. Quando feita a análise das células M por citometria de fluxo, constatou-se que 20% delas eram positivas para SR-B1 em comparação com menos de 2% das outras células epiteliais.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo de revisão identificou 9 moléculas envolvidas na patogênese, ajudando a elucidar o conhecimento de vias alternativas da infecção por *Mtb* em células do hospedeiro.

A começar pelas células epiteliais pulmonares, pode-se dizer que o sucesso da infecção por esta via se dá pela menor hostilidade do ambiente, visto que as células epiteliais não são prejudiciais ao bacilo e ainda podem ser favoráveis a sua translocação célula-célula (Krishnan et al., 2010). Confirmando o envolvimento do SDC4 na infecção pelo *Mtb*, o que já foi previsto por Zimmermann et al. (2016), Wen et al. (2022) investigou o papel desempenhado pelo SDC4, evidenciando que a expressão de SDC4 pode mediar a remodelação do citoesqueleto de actina, que está associado à infecção eficiente por *Mtb*, regulando as vias de sinalização Cdc42, N-WASP e Arp2/3.

Os macrófagos são importantes células imunológicas e primeira linha de defesa contra o *Mtb*, nos pulmões, onde se tem grande parte da interação *Mtb*-Macrófagos, estão presentes os macrófagos alveolares e intersticiais. Estes primeiros, localizados na parte interna do pulmão, são responsáveis por 55% das células do sistema imunológico pulmonar (Bo et al., 2023). A referida interação vem sendo alvo de muitos estudos, alguns dos quais foram analisados neste trabalho.

Uma primeira observação é a de que todas as interações que resultam em uma intermediação da entrada do *Mtb* na célula ocorre na membrana plasmática. O gene/proteína *rv0180c*, do bacilo, foi evidenciado por Payros et al. (2021) como necessário para uma entrada ideal através do receptor de complemento 3 (CR3) nos macrófagos, porém os mecanismos que medeiam esta interação ainda permanecem obscuros e os estudos com *rv0180c* são escassos.

Em macrófagos primários derivados de monócitos humanos, Dabla et al. (2022) demonstraram a atuação do TREM-2, receptor desencadeador expresso em células mieloides 2, os dados apontam que o auxílio do TREM-2 se dá pela ligação do *Mtb* ao receptor, e que o mesmo ainda pode garantir a sobrevivência intracelular do patógeno através da alteração na produção de citocinas nos macrófagos. Os resultados obtidos pelo grupo são consistentes com outros em que é evidenciado

que esse receptor participa da fagocitose de outras bactérias como *E. coli* e *Streptococcus pneumoniae* (N'Diaye et al., 2009; Sharif et al., 2014).

Pela primeira vez é demonstrado que uma bactéria gram-positiva, sobretudo a *Mtb*, se liga a amilóide sérica A 1 humana e que essa ligação promove a entrada do bacilo em macrófagos (Kawka et al., 2021; Hari-Dass et al., 2005). O estudo apresentou ainda proteínas da superfície celular do *Mtb* que estariam mediando essa ligação, a AtpA demonstrou maior afinidade com SAA1.

Um outro estudo bastante promissor evidenciou que o dimicocerosato de ftiocerol (DIM) poderia mudar a conformação da membrana plasmática de macrófagos (Augenstreich et al., 2019). Como demonstrado para outros lipídios apolares (Campomanes et al., 2019; Bacle et al., 2017), esta localização pode desestabilizar a fase lamelar da membrana, o que favorece um aumento na permeabilidade, abrindo portas para a infecção pelo *Mtb*. Os resultados também esclarecem o motivo de um mutante deficiente em DIM ser menor eficaz na infecção de macrófagos (Astarie-Dequeker et al., 2009).

A Rv0590A e a esfingomiéline também foram evidenciadas como favorecendo a infecção de macrófagos pelo *Mtb* (Niekamp et al. 2021; Kumar et al., 2023), porém suas funções no processo ainda seguem incompreendidas, embora não haja dúvidas de seu envolvimento. A proteína Rv0590A purificada também provocou um aumento na produção de TNF, IFN- γ e IL-10. A sugestão ainda, é de que a esfingomiéline permite a formação de microdomínios enriquecidos com colesterol/esfingolípido, o que é consistente com relatos anteriores de que o colesterol é essencial na infecção pelo *Mtb* (Slotte et al., 2013; Gatfield et al., 2000).

Por fim, tem-se EsxA, presente na superfície do *Mtb*, e SR-B1, presente na superfície das células microdobradas (células M), que interagem entre si para internalização do *Mtb* em células M humanas (Khan et al., 2020). O contato de EsxA como SR-B1 leva à internalização mediada pelo receptor, semelhante à sua função em outras patologias (Heo et al., 2006; Manzoni et al., 2017).

7 CONCLUSÃO

Os estudos são bastante promissores e apresentam não só as vias de entrada convencionalmente conhecidas, ou seja, macrófagos alveolares ou células dendríticas, mas também células microdobradas adenóides e células epiteliais pulmonares, indicando a busca, pelo bacilo, de novos mecanismos para uma infecção bem sucedida. Não obstante, alguns dos marcadores identificados são também responsáveis por garantir a sobrevivência do *Mtb*, favorecendo sua patogenicidade.

A partir do exposto, tem-se a noção do quanto a infecção por *Mycobacterium tuberculosis* ainda precisa ser compreendida. A cada novo estudo, aumenta-se o conhecimento a respeito do patógeno e também da patologia. Com os novos marcadores descobertos e descritos, tornam-se possíveis novas maneiras de combater a infecção, seja através de vacinas ou até mesmo outras alternativas terapêuticas. Dessa forma, é imprescindível que se continue a estudar as diferentes maneiras/vias de entrada do *Mtb*, visto que esse pode ser também resultado de diferentes mudanças no seu desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

- ASTARIE-DEQUEKER, C. et al. Phthiocerol dimycocerosates of *M. tuberculosis* participate in macrophage invasion by inducing changes in the organization of plasma membrane lipids. **PLoS pathogens**, v. 5, n. 2, p. e1000289, 2009.
- AUGENSTREICH, J. et al. The conical shape of DIM lipids promotes *Mycobacterium tuberculosis* infection of macrophages. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 116, n. 51, p. 25649–25658, 2019.
- BACLE, A. et al. Interdigitation between triglycerides and lipids modulates surface properties of lipid droplets. **Biophysical journal**, v. 112, n. 7, p. 1417–1430, 2017.
- BAO, Y.; WANG, L.; SUN, J. A small protein but with diverse roles: A review of EsxA in *Mycobacterium*-host interaction. **Cells** (Basel, Switzerland), v. 10, n. 7, p. 1645, 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico Tuberculose 2023**. Brasília, 2023.
- BO, H. et al. *Mycobacterium tuberculosis*-macrophage interaction: Molecular updates. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 13, p. 1062963, 2023.
- CÁCERES, S. M. et al. The *Mycobacterium tuberculosis* membrane protein Rv0180c: Evaluation of peptide sequences implicated in mycobacterial invasion of two human cell lines. **Peptides**, v. 32, n. 1, p. 1–10, 2011.
- CAMPOMANES, P.; ZONI, V.; VANNI, S. Local accumulation of diacylglycerol alters membrane properties nonlinearly due to its transbilayer activity. **Communications chemistry**, v. 2, n. 1, 2019.
- CHANDRA, P.; GRIGSBY, S. J.; PHILIPS, J. A. Immune evasion and provocation by *Mycobacterium tuberculosis*. **Nature reviews. Microbiology**, v. 20, n. 12, p. 750–766, 2022.
- COOPER, A. M. Cell-mediated immune responses in tuberculosis. **Annual review of immunology**, v. 27, n. 1, p. 393–422, 2009.
- CUNHA, J. P. A. DA et al. Fatores de risco e comorbidades associados aos casos de tuberculose notificados no município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 8, p. e8676, 2021.
- DA SAGRADA, S. T. M. E. História de uma alma. [s.l.] Paulus Editora, 2022.
- DABLA, A. et al. TREM2 promotes immune evasion by *Mycobacterium tuberculosis* in human macrophages. **mBio**, v. 13, n. 4, p. e0145622, 2022.
- ESCALANTE, P. Tuberculosis. **Annals of internal medicine**, v. 36, p. 154–155, 1904.

FLYNN, J. L.; CHAN, J. Immune cell interactions in tuberculosis. **Cell**, v. 185, n. 25, p. 4682–4702, 2022.

FORRELLAD, M. A. et al. Virulence factors of the Mycobacterium tuberculosis complex. **Virulence**, v. 4, n. 1, p. 3–66, 2013.

GATFIELD, J.; PIETERS, J. Essential role for cholesterol in entry of mycobacteria into macrophages. **Science** (New York, N.Y.), v. 288, n. 5471, p. 1647–1650, 2000.

GOÑI, F. M. Sphingomyelin: What is it good for? **Biochemical and biophysical research communications**, v. 633, p. 23–25, 2022.

GONZÁLEZ-MARTIN, J. Microbiología de la tuberculosis. **Seminarios de la Fundacion Espanola de Reumatologia**, v. 15, n. 1, p. 25–33, 2014.

BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. **Clinical pharmacology and therapeutics**, v. 69, n. 3, p. 89–95, 2001.

HARI-DASS, R. et al. Serum amyloid A protein binds to outer membrane protein A of gram-negative bacteria. **The journal of biological chemistry**, v. 280, n. 19, p. 18562–18567, 2005.

HEO, T.-H. et al. Hepatitis C virus E2 links soluble human CD81 and SR-B1 protein. **Virus research**, v. 121, n. 1, p. 58–64, 2006.

HUANG, L. et al. SR-B1 drives endothelial cell LDL transcytosis via DOCK4 to promote atherosclerosis. **Nature**, v. 569, n. 7757, p. 565–569, 2019.

KAWKA, M. et al. Mycobacterium tuberculosis binds human serum amyloid A, and the interaction modulates the colonization of human macrophages and the transcriptional response of the pathogen. **Cells** (Basel, Switzerland), v. 10, n. 5, p. 1264, 2021.

KHAN, H. S. et al. Identification of scavenger receptor B1 as the airway microfold cell receptor for Mycobacterium tuberculosis. **eLife**, v. 9, 2020.

KIM, J.-S. et al. PE_PGRS38 interaction with HAUSP downregulates antimycobacterial host defense via TRAF6. **Frontiers in immunology**, v. 13, p. 862628, 2022.

KLESNEY-TAIT, J.; TURNBULL, I. R.; COLONNA, M. The TREM receptor family and signal integration. **Nature immunology**, v. 7, n. 12, p. 1266–1273, 2006.

KRISHNAN, N.; ROBERTSON, B. D.; THWAITES, G. The mechanisms and consequences of the extra-pulmonary dissemination of Mycobacterium tuberculosis. **Tuberculosis** (Edinburgh, Scotland), v. 90, n. 6, p. 361–366, 2010.

- KUMAR, C. et al. Expression of mammalian cell entry genes in clinical isolates of *M. tuberculosis* and the cell entry potential and immunological reactivity of the Rv0590A protein. **Medical microbiology and immunology**, v. 212, n. 6, p. 407–419, 2023.
- LEE, J.-Y. et al. Serum amyloid A proteins induce pathogenic Th17 cells and promote inflammatory disease. **Cell**, v. 180, n. 1, p. 79–91.e16, 2020.
- MANZONI, G. et al. Plasmodium P36 determines host cell receptor usage during sporozoite invasion. **eLife**, v. 6, 2017.
- MOIR, S.; CHUN, T.-W.; FAUCI, A. S. Pathogenic mechanisms of HIV disease. **Annual review of pathology**, v. 6, n. 1, p. 223–248, 2011.
- N'DIAYE, E.-N. et al. TREM-2 (triggering receptor expressed on myeloid cells 2) is a phagocytic receptor for bacteria. **The journal of cell biology**, v. 184, n. 2, p. 215–223, 2009.
- NIEKAMP, P. et al. Sphingomyelin Biosynthesis Is Essential for Phagocytic Signaling during *Mycobacterium tuberculosis* Host Cell Entry. **mBio**, v. 12, n. 1, 2021.
- PAI, M. et al. Tuberculosis. Nature reviews. **Disease primers**, v. 2, p. 16076, 2016.
- PAYROS, D. et al. Rv0180c contributes to *Mycobacterium tuberculosis* cell shape and to infectivity in mice and macrophages. **PLoS pathogens**, v. 17, n. 11, p. e1010020, 2021.
- POLLARA, G. et al. Exaggerated IL-17A activity in human in vivo recall responses discriminates active tuberculosis from latent infection and cured disease. **Science translational medicine**, v. 13, n. 592, 2021.
- PONNUSAMY, N.; ARUMUGAM, M. Interaction of host pattern recognition receptors (PRRs) with *Mycobacterium tuberculosis* and Ayurvedic management of tuberculosis: A systemic approach. **Infectious disorders drug targets**, v. 22, n. 2, p. e130921196420, 2022.
- RAHLWES, K. C. et al. Pathogenicity and virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. **Virulence**, v. 14, n. 1, p. 2150449, 2023.
- SCRIBA, T. J.; COUSSENS, A. K.; FLETCHER, H. A. Human Immunology of Tuberculosis. Em: **Tuberculosis and the Tubercle Bacillus**. Washington, DC, USA: ASM Press, 2017. p. 213–237.
- SHARIF, O. et al. The triggering receptor expressed on myeloid cells 2 inhibits complement component 1q effector mechanisms and exerts detrimental effects during pneumococcal pneumonia. **PLoS pathogens**, v. 10, n. 6, p. e1004167, 2014.
- SLOTTE, J. P. Biological functions of sphingomyelins. **Progress in lipid research**, v. 52, n. 4, p. 424–437, 2013.

SMITH, I. Mycobacterium tuberculosis pathogenesis and molecular determinants of virulence. **Clinical microbiology reviews**, v. 16, n. 3, p. 463–496, 2003.

Tuberculosis. Disponível em:

<<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>>. Acesso em: 22 fev. 2024.

WEN, D. et al. Syndecan-4 assists Mycobacterium tuberculosis entry into lung epithelial cells by regulating the Cdc42, N-WASP, and Arp2/3 signaling pathways. **Microbes and infection**, v. 24, n. 4, p. 104931, 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global tuberculosis report 2023. Geneva, Switzerland: **World Health Organization**, 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global tuberculosis report 2021. Geneva, Switzerland: **World Health Organization**, 2021.

YATES, T. A. et al. The transmission of Mycobacterium tuberculosis in high burden settings. **The Lancet infectious diseases**, v. 16, n. 2, p. 227–238, 2016.

ZIMMERMANN, N. et al. Syndecans promote mycobacterial internalization by lung epithelial cells: Sdc4 in mycobacterial infection. **Cellular microbiology**, v. 18, n. 12, p. 1846–1856, 2016.