

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DE PORTO ALEGRE – UFCSPA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS

Gabriel Tassi Mousquer

**Avaliação da variabilidade genética  
de receptores *toll-like* e sua relação  
com a sindemia HIV-1/tuberculose  
na população gaúcha**

UFCSPA  
Universidade Federal de Ciências da Saúde  
de Porto Alegre

Porto Alegre  
2021

**Gabriel Tassi Mousquer**

**Avaliação da variabilidade genética  
de receptores toll-like e sua relação  
com a sindemia HIV-1/tuberculose  
na população gaúcha**

Dissertação submetida ao Programa  
de Pós-Graduação em Biociências da  
Fundação Universidade Federal de  
Ciências da Saúde de Porto Alegre  
como requisito para a obtenção do  
grau de Mestre

Orientadora: Dra. Marilu Fiegenbaum

**Porto Alegre  
2021**

## **INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS**

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), subvencionado pelo Edital de Fomento Interno da UFCSPA nº 01/2019/PROPPG e pelo Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT), pertencente ao Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS) da Secretaria Estadual da Saúde do Rio Grande do Sul (SES/RS). O aluno recebeu bolsa institucional concedida pela UFCSPA através do Programa de Apoio à Pós-Graduação - Modalidade de Bolsa de Pós-Graduação, nível de Mestrado.

*"O aspecto mais triste da vida atualmente é que a ciência ganha conhecimento mais rapidamente do que a sociedade ganha sabedoria."*

Isaac Asimov

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Ceres e Claudio, pelo apoio incondicional, por me ensinarem sempre a questionar e persistir, incentivando meu senso crítico e até mesmo ajudando na formulação de algumas das perguntas de pesquisa desta dissertação, vocês zelam pelos meus sonhos como se fossem os seus, por isso, lhes sou eternamente grato.

À minha irmã, Shaiane, que não contente em ser minha melhor amiga, também me presenteou com o Gustavo e a Maluzinha, o melhor cunhado e a sobrinha mais querida que poderiam existir. Obrigado por acreditarem em mim e me apoiarem em todos os meus projetos.

À minha eterna paixão (e colega), Naiane, com quem compartilho a formação, os sonhos, as tomadas, os lanches, as bagunças da Monalisa e as alegrias dessa vida. Muito obrigado pelo companheirismo, parceria, paciência e dedicação comigo. Já são sete anos juntos, repletos de desafios e conquistas, esta é só mais uma de muitas que ainda estão por vir.

À Prof.<sup>a</sup> Dra. Marilu Fiegenbaum, minha querida orientadora, que me acompanha desde a graduação e foi imprescindível para que este trabalho se tornasse realidade. Obrigado pelos ensinamentos, pelos conselhos, pela confiança no meu trabalho, por apostar em mim e, sobretudo, pela amizade.

Aos demais professores do PPG Biociências, em especial às Prof.<sup>as</sup> Vanessa Mattevi, Alessandra Peres, Júlia Genro, Silvana de Almeida, Elizandra Braganhol e Ana Gorini da Veiga que, junto com a Prof.<sup>a</sup> Marilu, contribuíram imensamente para minha formação profissional, as quais são alguns dos meus maiores exemplos no ensino e na pesquisa.

Às minhas colegas do Laboratório de Biologia Molecular da UFCSPA, com quem tirei dúvidas, compartilhei medos e anseios, dei muitas risadas e, sobretudo, aprendi muito. Meus agradecimentos também aos ICs e estagiários Ana Pompeu e Thales Chaves, vocês contribuíram imensamente para este projeto, ele não seria possível sem vocês.

Por fim um agradecimento igualmente especial aos funcionários do apoio técnico da UFCSPA, principalmente às secretárias Gabriela e Isabela, pela atenção e dedicação despendidas ao longo deste mestrado. Muito obrigado!

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>8</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>10</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>11</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>1.1 Tuberculose.....</b>	<b>12</b>
1.1.1 Etiologia e conceitos gerais .....	12
1.1.2 Epidemiologia .....	13
1.1.3 Patogenia .....	14
<b>1.2 Vírus da imunodeficiência Humana.....</b>	<b>16</b>
1.2.1 Etiologia e conceitos gerais .....	16
1.2.2 Epidemiologia .....	17
1.2.3 Patogenia .....	18
<b>1.3 Coinfecção HIV-1/TB .....</b>	<b>21</b>
1.3.1 Etiologia e conceitos gerais .....	21
1.3.2 Epidemiologia .....	22
1.3.3 Patogenia .....	23
<b>1.4 Receptores tipo <i>Toll</i> .....</b>	<b>25</b>
1.4.1 Receptores de reconhecimento de padrões .....	25
1.4.2 Receptores tipo <i>Toll</i> .....	26
1.4.3 Imunogenética e TLRs.....	27
<b>1.5 COVID-19 .....</b>	<b>30</b>
1.5.1 Etiologia e conceitos gerais .....	30
1.5.2 Coinfecção TB/COVID-19 .....	32
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>37</b>
<b>2.1 Objetivo geral .....</b>	<b>37</b>
<b>2.2 Objetivos específicos .....</b>	<b>37</b>
<b>3. ARTIGOS CIENTÍFICOS .....</b>	<b>38</b>
<b>3.1 Artigo 1 .....</b>	<b>39</b>
<b>3.2 Artigo 2 .....</b>	<b>46</b>
<b>3.3 Artigo 3 .....</b>	<b>67</b>
<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>99</b>
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>102</b>

<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>103</b>
<b>7. ANEXOS .....</b>	<b>137</b>
<b>8. CURRÍCULO LATTES .....</b>	<b>143</b>

**LISTA DE ABREVIATURAS**

1	
2	
3	ACE2 – Enzima conversora da angiotensina 2
4	Aids – Síndrome da imunodeficiência adquirida
5	CCR5 – C-C receptor quimiocina tipo 5
6	CDCT – Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
7	Células NK – Células <i>natural killer</i>
8	COVID-19 – Doença do coronavírus 2019
9	CXCR4 – C-X-C receptor quimiocina tipo 4
10	DAMPs – Padrões moleculares associados ao dano
11	DNA – Ácido desoxirribonucleico
12	FEPPS – Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde
13	IGRA – Ensaio de liberação de interferon- $\gamma$
14	IFN- $\gamma$ – Inteferon- $\gamma$
15	IL-1 – Interleucina 1
16	IL-4 – Interleucina 4
17	IL-6 – Interleucina 6
18	IL-12 – Interleucina 12
19	IL-13 – Interleucina 13
20	ILT6 – Tuberculose latente
21	INCT-TB – Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose
22	HBV – Vírus da hepatite B
23	HCV – Vírus da hepatite C
24	HIV – Vírus da imunodeficiência humana
25	HIV-1 – Vírus da imunodeficiência humana tipo 1
26	HIV-2 – Vírus da imunodeficiência humana tipo 2
27	HLA – Sistema antígeno leucocitário humano
28	MCP-1 – Proteína quimioatraente de monócitos-1
29	<i>M. tuberculosis</i> – <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
30	NF- $\kappa\beta$ – Fator nuclear $\kappa\beta$
31	NLR – Receptores tipo NOD
32	PAMPs – Padrões moleculares associados a patógenos
33	PCR – Reação em cadeia da polimerase
34	PRRs – Receptores de reconhecimento de padrões

1	RLRs – Receptores tipo RIG
2	RNA – Ácido ribonucleico
3	RS – Rio Grande do Sul
4	SARS-CoV-2 – Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2
5	SES – Secretaria Estadual da Saúde
6	SIRI – Síndrome inflamatória da reconstituição imune
7	SIV – Vírus da imunodeficiência símia
8	TARV – Terapia antirretroviral
9	TB – Tuberculose ativa
10	TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido
11	TLRs – Receptores <i>toll-like</i>
12	TLR2 – Receptor <i>toll-like 2</i>
13	TLR3 – Receptor <i>toll-like 3</i>
14	TLR4 – Receptor <i>toll-like 4</i>
15	TLR7 – Receptor <i>toll-like 7</i>
16	TLR8 – Receptor <i>toll-like 8</i>
17	TNF- $\alpha$ – Fator de necrose tumoral- $\alpha$
18	TMPRSS2 – Receptores da protease transmembrana serina 2
19	UFCSPA – Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
20	UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
21	
22	
23	
24	
25	
26	
27	
28	
29	
30	
31	
32	

**ABSTRACT**

1  
2  
3 The tuberculosis (TB) and acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)  
4 pandemics still impose huge challenges for public health in the 21st century.  
5 In co-infected individuals, *Mycobacterium tuberculosis* and the human  
6 immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) act synergistically; not by chance, TB is  
7 the main cause of death among people living with AIDS. Together, both  
8 diseases accounted for about 1.9 million victims in 2019. In the same year, the  
9 COVID-19 pandemic, caused by the coronavirus of severe acute respiratory  
10 syndrome 2 (SARS-CoV-2) emerged as the leading cause of death among  
11 infectious diseases, threatening TB and AIDS control programs worldwide. The  
12 convergence between these three pandemics can result in catastrophic  
13 consequences, especially in underdeveloped and developing countries, such as  
14 Brazil. Therefore, understanding how SARS-CoV-2, *M. tuberculosis* and HIV-1  
15 interact among themselves is fundamental for the development of prevention  
16 and treatment strategies against these infections diseases. Toll-like receptors  
17 (TLRs) are in the front line in the body's innate defense against different classes  
18 of microorganisms. Polymorphisms in the *TLR2* rs111200466, *TLR4* rs4986790  
19 and *TLR8* rs3764880 genes have already been associated with susceptibility to  
20 TB and HIV-1, separately; however, the immunogenetics of HIV-1/TB co-  
21 infection remains an unexplored topic. The present study conducted an analysis  
22 of the immunogenetics of the aforementioned polymorphisms, looking for  
23 associations between the genetic variants of TLRs with susceptibility, or  
24 resistance, to HIV-1, TB and HIV-1/TB co-infection in the population of the  
25 Brazilian state of Rio Grande do Sul. Our results point to the association  
26 between rs111200466 variants with higher CD3<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T lymphocyte  
27 counts in HIV-1 seropositive individuals, as well as with susceptibility to HIV-  
28 1/TB co-infection; the rs4986790 was associated with susceptibility to TB and  
29 also with HIV-1/TB co-infection. Finally, we also conducted a systematic review  
30 of the current literature on TB/COVID-19 co-infection, identifying *M. tuberculosis*  
31 as a risk factor for the development of COVID-19.

32

33

## RESUMO

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33

As pandemias da tuberculose (TB) e da síndrome da imunodeficiência adquirida (aids) se impõem como alguns dos maiores desafios para a saúde pública no século XXI. Em indivíduos coinfectados, o *Mycobacterium tuberculosis* e o vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) atuam de maneira sinérgica. Não por acaso, a TB é a principal causa de morte de indivíduos com aids. Somadas, ambas doenças contabilizaram cerca de 1,9 milhão de vítimas em 2019; no mesmo ano, a pandemia da COVID-19, doença causada pelo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2), emergiu, despontando como a principal causa de morte dentre as doenças infectocontagiosas e ameaçando os programas de controle da TB e da aids em todo o mundo. A convergência entre as três pandemias pode resultar em consequências catastróficas, principalmente em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, como o Brasil. Logo, compreender como o SARS-CoV-2, o *M. tuberculosis* e o HIV-1 interagem entre si é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de prevenção e tratamento contra essas doenças infecciosas. Os receptores tipo *Toll* (TLRs) compõem a linha de frente na defesa inata do organismo contra diferentes microrganismos. Polimorfismos nos genes *TLR2* rs111200466, *TLR4* rs4986790 e *TLR8* rs3764880 já foram associados com a suscetibilidade à TB e ao HIV-1, separadamente; contudo, a imunogenética da coinfeção HIV-1/TB permanece como um tema ainda inexplorado. O presente estudo conduziu uma análise da imunogenética dos polimorfismos supramencionados, buscando associações entre as variantes genéticas dos TLRs com a suscetibilidade, ou resistência, ao HIV-1, à TB e à coinfeção HIV-1/TB na população do Rio Grande do Sul (RS). Os resultados apontam para a associação entre variantes do rs111200466 com maiores contagens de linfócitos T CD3<sup>+</sup> e CD4<sup>+</sup> em indivíduos HIV-1 soropositivos, tal como com a suscetibilidade à coinfeção HIV-1/TB; já o rs4986790 foi associado com a suscetibilidade à TB e também à coinfeção HIV-1/TB. Por fim, também foi conduzida uma revisão sistemática da literatura vigente sobre a coinfeção TB/COVID-19, identificando o *M. tuberculosis* como um fator de risco para o desenvolvimento da COVID-19.

# 1 INTRODUÇÃO

## 2 1.1 Tuberculose

### 3 1.1.1 Etiologia e conceitos gerais

4  
5  
6 A bactéria patogênica *Mycobacterium tuberculosis*, causadora da  
7 tuberculose (TB), possui história evolutiva intimamente relacionada à espécie  
8 humana. Desde seu surgimento na África há cerca de 40 mil anos, o bacilo  
9 acompanhou os fluxos migratórios da humanidade, se diversificando e  
10 disseminando pelo planeta (Wirth *et al.*, 2008; Bañuls *et al.*, 2015; Brites e  
11 Gagneux, 2015). Atualmente, os resultados desse processo coevolutivo milenar  
12 repercutem na resiliência e na adaptabilidade do *M. tuberculosis* frente aos  
13 desafios do mundo moderno (Gagneux, 2012). Mesmo com todas as  
14 descobertas a respeito de sua fisiopatologia e o desenvolvimento dos  
15 antibióticos, a TB persiste como a segunda principal causa de morte no mundo  
16 causada por um único agente etiológico, superada apenas pela doença por  
17 coronavírus – 2019 (COVID-19) (WHO, 2020).

18 Estima-se que um terço da população mundial esteja infectada de forma  
19 latente pela TB, todavia apenas cerca de 10% dos indivíduos efetivamente  
20 progridem para a doença ativa (Rosman e Oner-Eyuboglu, 1998; Fraser *et al.*,  
21 1999; Frieden *et al.*, 2003). O *M. tuberculosis* é um patógeno oportunista,  
22 diretamente associado com más condições socioeconômicas e uma baixa  
23 qualidade de vida da população, afetando principalmente indivíduos  
24 imunocomprometidos ou em situação de vulnerabilidade social (WHO, 2020).  
25 Conseqüentemente, a grande maioria dos casos de TB e das mortes em  
26 decorrência da doença concentram-se em países subdesenvolvidos ou em  
27 desenvolvimento, como o Brasil (WHO, 2020). A TB também é a principal  
28 causa de morte entre indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência  
29 humana (HIV); logo, a sindemia HIV/TB é apontada como um dos maiores  
30 desafios para as autoridades e agências de saúde na atualidade (WHO, 2020).

31 A primeira linha do tratamento antibiótico para a TB consiste na ingestão  
32 diária de um combinado de quatro medicamentos ao longo de, no mínimo, seis  
33 meses (WHO, 2020). Cada droga do coquetel antibiótico visa um alvo diferente  
34 contra o bacilo; contudo, a medicação pode provocar intensos efeitos colaterais

1 (Yee *et al.*, 2003). Os fármacos empregados na terapêutica da TB apresentam  
2 caráter bactericida ou bacteriostático; seus mecanismos de ação envolvem, por  
3 exemplo, a inibição de enzimas fundamentais para o ciclo de vida do *M.*  
4 *tuberculosis*, como sua RNA polimerase ou as enzimas envolvidas na formação  
5 da parede celular do bacilo (Sotgiu *et al.*, 2015; WHO, 2020). Devido a sua  
6 longa duração e a severidade de seus efeitos adversos, o tratamento da TB  
7 enfrenta muita resistência de adesão (Yee *et al.*, 2003; WHO, 2020). O número  
8 de casos de abandono ou de interrupção prematura do regime antibiótico  
9 contra a TB é relativamente alto; não por acaso, nas últimas décadas, a  
10 incidência de cepas multirresistentes de *M. tuberculosis* vem aumentando de  
11 maneira alarmante (Dean *et al.*, 2017; WHO, 2020).

### 13 1.1.2 Epidemiologia

15 Em 2019, foram diagnosticados cerca de 10 milhões de novos casos de  
16 TB no mundo, sendo cerca de 815 mil casos entre indivíduos HIV-1  
17 soropositivos; a incidência global da doença foi estimada em 130  
18 casos/100.000 indivíduos. Ainda em 2019, cerca de 1,2 milhão de pessoas  
19 morreram em função da TB, exclusivamente, enquanto que outras 208 mil  
20 morreram em decorrência da coinfeção HIV/TB (WHO, 2020). O Brasil é um  
21 dos 30 países que, juntos, concentram cerca de 87% de todos os casos de TB;  
22 o país ainda integra a lista das 20 nações que apresentam as maiores  
23 incidências mundiais da doença (WHO, 2020). No ano de 2019 o Brasil  
24 registrou cerca de 74 mil casos de TB, sendo que, destes, aproximadamente 6  
25 mil correspondem a indivíduos coinfectados pelo HIV; no mesmo ano, a  
26 incidência nacional de TB foi estimada em 35 casos/100.000 indivíduos  
27 (BRASIL, 2020a). Ainda com relação aos indicadores brasileiros, em 2019  
28 foram registradas cerca 3.5 mil mortes por TB entre indivíduos HIV-1  
29 soronegativos, juntamente com outras 870 entre indivíduos coinfectados HIV-  
30 1/TB (WHO, 2020).

31 A epidemiologia da TB no estado brasileiro do Rio Grande do Sul (RS)  
32 em particular é, em suma, preocupante: em 2019, o estado ostentou a 7ª maior  
33 incidência nacional de TB, com 46.6 casos/100.000 indivíduos; Porto Alegre,  
34 sua capital, exibiu, no mesmo período, uma incidência de 84.4 casos/100.000

1 indivíduos. O RS ainda detém dados alarmantes para outros indicadores,  
2 apresentando percentual de cura entre novos casos de TB abaixo da média  
3 nacional e um elevado percentual de abandono de tratamento (BRASIL,  
4 2020a). A situação da TB no território gaúcho é especialmente delicada, pois o  
5 RS se configura como um ambiente prolífero para sindemias, tendo em vista  
6 que o estado também possui uma elevada prevalência de indivíduos infectados  
7 pelos vírus HIV, vírus da hepatite C (HCV) e vírus da hepatite B (HBV), todos  
8 considerados fatores de risco para a TB (BRASIL, 2020a; WHO, 2009).  
9 Conseqüentemente, o percentual de indivíduos coinfectados pelo HIV-1 dentre  
10 novos casos de TB é de 14,5% no RS e de 17,5% na cidade de Porto Alegre,  
11 valores bem maiores do que a média nacional, de cerca de 8,4% (BRASIL,  
12 2020a).

13

#### 14 1.1.3 Patogenia

15

16 O *M. tuberculosis* é um patógeno intracelular facultativo; de transmissão  
17 por via aérea, a TB se propaga através de gotículas de saliva contendo bacilos  
18 viáveis, expelidas principalmente durante a expectoração por indivíduos  
19 infectados pela forma ativa da doença (Frieden *et al.*, 2003). Após inalação das  
20 gotículas, alguns bacilos alcançam os alvéolos pulmonares, onde são  
21 primeiramente confrontados por uma resposta imunológica não específica e  
22 composta, principalmente, por macrófagos e células dendríticas (Cooper, 2009;  
23 Liu *et al.*, 2017). Os macrófagos alveolares realizam a fagocitose bacilar; as  
24 bactérias são contidas em fagossomas, que então se fundem a lisossomos que  
25 as digerem. Todavia, um dos mecanismos patogênicos empregados pelo *M.*  
26 *tuberculosis* é a evasão do fagolisossoma, onde os bacilos subvertem a  
27 resposta imune e inibem a maturação dos fagossomas (Vergne *et al.*, 2004;  
28 Deretic *et al.*, 2006; Goldberg *et al.*, 2014). Ainda assim, os macrófagos ativos  
29 no sítio da infecção também combatem o bacilo através da produção de  
30 espécies reativas de oxigênio, ou nitrogênio, além da expressão de citocinas  
31 pró-inflamatórias, tais como o interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e o fator de necrose tumoral  
32  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (Flesch e Kaufmann *et al.*, 1991; Rich *et al.*, 1997; Chan *et al.*, 2001).  
33 As células dendríticas, por sua vez, processam antígenos do *M. tuberculosis* e  
34 migram até os linfonodos, onde os apresentam aos linfócitos T CD4+; após o

1 reconhecimento antigênico, os linfócitos diferenciam-se em células T auxiliares  
2 Th1 e Th17, que são específicas contra a TB (Zhu *et al.*, 2010; Jagannath *et*  
3 *al.*, 2009; Cooney *et al.*, 2010). As células Th1 e Th17 se deslocam para os  
4 sítios de infecção nos alvéolos, onde passam a produzir citocinas pró-  
5 inflamatórias e a ativar os macrófagos locais, promovendo uma potente  
6 resposta imune frente aos bacilos (Lyadova e Panteleev, 2015). A infiltração  
7 celular nos pulmões, decorrente da cooperação entre as respostas inata e  
8 adaptativa, resulta na formação de um granuloma pulmonar (Russel, 2007). O  
9 granuloma é composto por um núcleo de macrófagos infectados pelo *M.*  
10 *tuberculosis*, envolto por camadas de macrófagos saudáveis, células *natural*  
11 *killer* (células NK), linfócitos e outros tipos celulares do sistema imune (Sunders  
12 e Britton, 2007). Os bacilos permanecem então contidos inativos no interior do  
13 granuloma pelo resto da vida do hospedeiro, de forma latente, ou podem vir a  
14 se multiplicar e evadir o granuloma, dando início à TB ativa (Ehlers e Schaible,  
15 2013).

16 Apesar de o *M. tuberculosis* acometer principalmente os pulmões (TB  
17 pulmonar), alguns bacilos podem se esquivar da resposta imune e infectar  
18 outros sítios, tais como pleura, meninges, ossos, rins e intestinos, por exemplo  
19 (TB extrapulmonar) condição comumente observada em indivíduos  
20 imunossuprimidos, como portadores do HIV-1 (Chaisson *et al.*, 1987; Shafer *et*  
21 *al.*, 1991; Jones *et al.*, 1993; Sharma *et al.*, 2005; de Noronha *et al.*, 2008;  
22 Diedrich e Flynn, 2011). As razões exatas a respeito do porquê que apenas  
23 alguns dos indivíduos expostos ao bacilo desenvolvem TB ativa, enquanto que  
24 outros são capazes de controlar ou erradicar a infecção, permanecem incertas  
25 (Ogus *et al.*, 2004). Contudo, acredita-se que uma combinação complexa de  
26 fatores envolvendo ambiente, patógeno e hospedeiro, participam  
27 fundamentalmente na determinação da suscetibilidade ao *M. tuberculosis*, tal  
28 como do prognóstico da infecção (Flynn e Chan, 2001).

29 Nas últimas décadas diversas publicações apontam para importância de  
30 uma resposta imune “moderada” contra o bacilo, na qual o perfil imunogenético  
31 do hospedeiro é crucial na definição das relações de resistência/suscetibilidade  
32 à TB (Bellamy *et al.*, 2000; Jepson *et al.*, 2001; Cobat *et al.*, 2013; Meyer e  
33 Thye, 2014). Diversos estudos evidenciaram o protagonismo de receptores tipo  
34 *Toll* (TLRs) na vigilância imunológica contra o *M. tuberculosis* e na manutenção

1 da homeostase do sistema imune (Reiling *et al.*, 2002; Dreennan *et al.*, 2004;  
2 Faridgohar e Nikoueinejad, 2017). O presente projeto visa, como um de seus  
3 objetivos, avaliar a influência de diferentes polimorfismos nos genes que  
4 codificam os TLRs, na suscetibilidade ou na resistência à TB e suas  
5 manifestações clínicas na população do RS.

## 7 **1.2 Vírus da imunodeficiência humana**

### 9 1.2.1 Etiologia e conceitos gerais

11 O vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) originou-se a partir  
12 de transmissões zoonóticas do vírus da imunodeficiência símia (SIV) entre  
13 humanos e outros grandes primatas na região central da África, no início do  
14 século XX (Hahn *et al.*, 2000; Sharp e Hahn, 2011). O HIV-1 é um vírus de alta  
15 variabilidade genética e de alto potencial infeccioso. Os primeiros casos fora do  
16 continente africano ocorreram no final da década de 1970 e, rapidamente, o  
17 patógeno se disseminou pelo mundo, recebendo o status de pandemia global  
18 (Sharp e Hahn, 2011). Após se propagar, o HIV-1 sofreu diversas mutações, se  
19 diferenciando em múltiplos grupos, subgrupos e formas recombinantes, cada  
20 qual com suas características próprias de infectividade, virulência e  
21 agressividade (Hemelaar *et al.*, 2011; Eberle *et al.*, 2012). O vírus da  
22 imunodeficiência humana tipo 2 (HIV-2) também se originou na África central a  
23 partir de transmissões zoonóticas do SIV entre humanos e macacos; contudo,  
24 apresenta infectividade reduzida e variabilidade genética inferior à do HIV-1  
25 (Hahn *et al.*, 2000). Devido a tais diferenças, atualmente o HIV-2 ainda  
26 apresenta distribuição geográfica restrita, sendo mais comumente encontrado  
27 no centro do continente africano (Requejo, 2006).

28 O HIV-1 é um lentivírus que, gradualmente, infecta e deteriora as células  
29 do sistema imunológico, apresentando tropismo principalmente por linfócitos T  
30 CD4+, podendo causar a síndrome da imunodeficiência adquirida (aids).  
31 Fluidos corporais tais como sangue, sêmen, muco vaginal e leite materno  
32 podem conter o vírus em sua forma livre ou no interior de células. O contágio  
33 pode ocorrer por via sexual, transfusões sanguíneas, uso de drogas injetáveis,  
34 acidentes com materiais perfurocortantes e pela transmissão materno-infantil,

1 seja ao longo da gravidez ou durante a amamentação (Shaw e Hunter, 2012).  
2 A progressão da infecção induz uma condição de imunodeficiência onde o  
3 organismo se torna suscetível a infecções por patógenos oportunistas, tais  
4 como o *M. tuberculosis* (Sonnenberg *et al.*, 2005); logo, os indivíduos HIV-1  
5 soropositivos não perecem devido à ação do vírus em si, mas por  
6 consequência de coinfeções por outros microrganismos.

7 Até o presente momento, não existe imunização ou cura contra nenhum  
8 dos tipos ou subtipos do HIV-1, todavia, avanços como o desenvolvimento de  
9 novos fármacos antirretrovirais e medidas de democratização do acesso ao  
10 tratamento têm melhorado bastante o prognóstico dos portadores do vírus  
11 (UNAIDS, 2020; BRASIL, 2020c). Quando devidamente tratada, a aids deixa  
12 de se manifestar como uma doença terminal e, atualmente, já é vista como  
13 uma doença crônica e administrável (Hoy-Ellis e Fredriksen-Goldsen *et al.*,  
14 2007). Os fármacos antirretrovirais podem ser empregados tanto na prevenção  
15 da infecção quanto no tratamento de indivíduos soropositivos ao HIV-1  
16 (UNAIDS, 2020). A profilaxia pré-exposição e a profilaxia pós-exposição são  
17 capazes de reduzir significativamente as chances de contágio pelo HIV-1  
18 (Grant *et al.*, 2010; Baeten *et al.*, 2012; Thigpen *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2014;  
19 Cohen *et al.*, 2014). O tratamento com antirretrovirais em indivíduos  
20 soropositivos também é amplamente positivo pois, além de desacelerar a  
21 progressão da infecção para a aids, reduz consideravelmente o risco de  
22 transmissão do vírus (Vernazza *et al.*, 1997; Ibáñez *et al.*, 1999; Quinn *et al.*,  
23 2000; Granich *et al.*, 2009). A terapia antirretroviral (TARV) tem como propósito  
24 afetar componentes e etapas indispensáveis para o ciclo e replicação do HIV:  
25 agindo no bloqueio da ligação do vírus com os receptores celulares (De Clercq  
26 e Schols, 2001); impedindo a fusão do envelope viral com a membrana  
27 citoplasmática (Jiang *et al.*, 2002); inibindo enzimas vitais para o vírus, como a  
28 transcriptase reversa, a integrase e a protease (Kohlstaedt *et al.*, 1992; Flexner,  
29 1998; Pommier *et al.*, 2005).

30

### 31 1.2.2 Epidemiologia

32

33 Mais de 32 milhões de pessoas já morreram em decorrência da aids  
34 desde o início da epidemia, estando a maior parte dos óbitos concentrada na

1 região da África subsaariana (UNAIDS, 2020). Atualmente, cerca de 38 milhões  
2 de pessoas estão infectadas pelo HIV-1 em todo o mundo, o que representa  
3 uma prevalência global de cerca de 0.05 casos/100.000 indivíduos. Estima-se  
4 que, em 2019, ocorreram por volta de 1,7 milhão de novas infecções pelo HIV-  
5 1 em todo o mundo; no mesmo ano, cerca de 690 mil pessoas morreram em  
6 função da aids (UNAIDS, 2020). Devido a políticas públicas que favorecem o  
7 acesso universal ao tratamento da infecção e à profilaxia contra o vírus, o  
8 Brasil é considerado um exemplo internacional no combate ao HIV; contudo, o  
9 país apresenta atualmente 920 mil indivíduos infectados, com uma incidência  
10 estimada em 0.23 casos/100.00 indivíduos. No ano de 2019, foram registrados  
11 cerca de 48 mil novos casos de infecção pelo HIV-1 no Brasil; 14 mil pessoas  
12 morreram por consequências da aids no país (UNAIDS, 2020).

13 O estado do RS e o município de Porto Alegre apresentam os piores  
14 resultados nos indicadores epidemiológicos nacionais para o HIV-1 e a aids:  
15 enquanto que a taxa média de detecção de aids no Brasil em 2019 foi de cerca  
16 de 17,8 casos/100.000 indivíduos, no RS o valor é de 28,3 casos/100.000  
17 indivíduos e, em Porto Alegre, 58,5 casos/100.000 indivíduos (BRASIL, 2020c).  
18 Ao analisarmos o coeficiente nacional de mortalidade por aids, também para o  
19 ano de 2019 observa-se uma média nacional de 4,1 óbitos/100.000 indivíduos,  
20 já no RS esse valor se eleva para 7,6 óbitos/100.000 indivíduos enquanto que  
21 Porto Alegre atinge incríveis 22 óbitos/100.000 indivíduos (BRASIL, 2020c). Os  
22 dados epidemiológicos sobre o HIV-1 e a aids no território gaúcho são ainda  
23 mais preocupantes se somados aos indicadores referentes às outras doenças  
24 infectocontagiosas que também proliferam no RS, como as hepatites virais ou a  
25 própria TB. Não por acaso, o estado e sua capital apresentam as maiores  
26 proporções nacionais de coinfectados por HIV-1/TB (BRASIL, 2020c).

### 27 28 1.2.3 Patogenia 29

30 O principal alvo do HIV-1 são linfócitos T CD4+, e a entrada do vírus nas  
31 células depende da interação deste com o C-X-C receptor quimiocina tipo 4  
32 (CXCR4) ou com o C-C receptor quimiocina tipo 5 (CCR5) (Deng *et al.*, 1996;  
33 Dragic *et al.*, 1996). Caso a interação entre os quimiorreceptores e as  
34 glicoproteínas virais aconteça corretamente, o envelope viral se funde à

1 membrana plasmática da célula e o ácido ribonucleico (RNA) do HIV-1 é  
2 liberado para dentro do citoplasma (Alkhatib *et al.*, 1996). Para que o material  
3 genético viral possa ser incorporado pelo genoma do hospedeiro, o HIV-1 faz  
4 uso de sua transcriptase reversa, que converte seu RNA em ácido  
5 desoxirribonucleico (DNA); uma vez convertido, o DNA do HIV-1 se combina ao  
6 DNA do hospedeiro através da ação da enzima integrase viral (Goff, 1992).  
7 Para se replicar e gerar novas cópias, o HIV-1 faz uso da maquinaria celular,  
8 produzindo longas cadeias de proteínas virais (Lehmann-Che e Saïb, 2004). A  
9 própria sensibilização da resposta imune pode culminar na ativação de fatores  
10 de transcrição que promovem um aumento da replicação viral (Equils *et al.*,  
11 2003). Após a transcrição, as longas cadeias de proteínas virais são  
12 sintetizadas, liberadas no citoplasma, migram até a superfície celular e se  
13 combinam formando cópias ainda imaturas do HIV-1; após serem expelidas da  
14 célula, são clivadas pela enzima HIV-1 protease e se recombinam formando  
15 cópias maduras e patogênicas do vírus (Lehmann-Che e Saïb, 2004).

16 A infecção pelo HIV-1 é caracterizada por três estágios bastante  
17 distintos entre si, nos quais as contagens celulares e o número de cópias virais  
18 tendem a variar bastante (Fauci, 2003); entre duas a dez semanas, após o  
19 contágio inicial pelo vírus, ocorre o estágio agudo da infecção; o vírus  
20 rapidamente ataca as os linfócitos T CD4+ e prolifera exponencialmente; como  
21 consequência, as contagens do CD4+ circulante do hospedeiro decaem  
22 abruptamente, enquanto que sua viremia apresenta um pico acentuado (Fauci,  
23 2003) Hernandez-Vargas e Middleton, 2013). Os sintomas clínicos da infecção  
24 aguda pelo HIV-1 incluem febre, cefaleia e erupções cutâneas; tal estágio  
25 também é marcado pelo aumento no risco de transmissão do HIV-1 (UNAIDS,  
26 2018). O estágio crônico, ou assintomático da infecção pelo HIV-1, sucede o  
27 estágio agudo; ele é decorrente do controle da replicação viral por meio da  
28 ação de anticorpos específicos contra o vírus. O número de cópias do HIV-1  
29 circulantes é substancialmente reduzido, todavia, o vírus persiste se  
30 multiplicando principalmente em reservatórios como os pulmões e os  
31 linfonodos; ainda assim, a infecção pode permanecer cronificada por mais de  
32 dez anos (Mattapallil *et al.*, 2005). Durante o estágio crônico, o indivíduo ainda  
33 é capaz de transmitir o vírus, contudo, sua contagem CD4+ se eleva e atinge  
34 valores estáveis, enquanto que o número total de cópias virais pode

1 permanecer indetectável (Fauci, 2003); nos pacientes chaO terceiro, e último,  
2 estágio da infecção é a aids, decorrente da exaustão do sistema imune,  
3 especificamente das células T (Appay e Sauce, 2008; Sauce *et al.* 2013). As  
4 contagens CD4+ decaem abaixo do valor de 200 células/mm<sup>2</sup> e o número de  
5 cópias virais dispara; o indivíduo se torna altamente suscetível a infecções por  
6 patógenos oportunistas, como o *M. tuberculosis*, com um prognóstico estimado  
7 em 3 anos de vida (Fauci, 2003; UNAIDS, 2020). Por conta de fatores  
8 genéticos, o tempo de progressão do estágio crônico para a aids pode variar  
9 significativamente. Enquanto progressores rápidos tendem a evoluir para a aids  
10 rapidamente (entre 3 a 5 anos), progressores lentos, mesmo sem  
11 terapia antiretroviral, levam até 10 anos para apresentar imunodeficiência. Em  
12 contrapartida, uma pequena parcela dos indivíduos infectados tende a passar  
13 décadas com carga viral indetectável e sem progredir para a aids, sendo  
14 classificados como controladores de elite (UNAIDS, 2020).

15 Estudos em populações de risco para o HIV-1, avaliando trabalhadores  
16 da saúde, profissionais do sexo, neonatos de mães soropositivas e usuários de  
17 drogas injetáveis, revelaram que alguns indivíduos, quando expostos ao vírus,  
18 apresentam resistência frente à infecção (Clerici *et al.*, 1994; Fowke *et al.*,  
19 1996; Legrand *et al.*, 2006). A resistência natural ao HIV-1 pode ser atribuída a  
20 diferentes fatores, como cepas virais incompetentes, respostas imunes atípicas  
21 ou constituição genética específica do hospedeiro (Burastero *et al.*, 1996;  
22 Rhodes *et al.*, 2000; Miyazawa *et al.*, 2009). No caso de indivíduos dotados de  
23 uma constituição genética favorável contra o vírus, um exemplo clássico é a  
24 mutação *CCR5-Δ32* do gene que codifica o CCR5 (Dean *et al.*, 1996; Liu *et al.*,  
25 1996; Samson *et al.*, 1996); tal mutação leva a síntese de uma forma truncada  
26 do CCR5, que não é exposta na superfície celular, aumentando a resistência  
27 de seu portador frente ao HIV-1 (Huang *et al.*, 1996). Estudos avaliando a  
28 relação entre o perfil imunogenético do hospedeiro com a suscetibilidade ao  
29 HIV-1 já identificaram o papel de diferentes componentes do sistema imune,  
30 envolvendo desde o sistema antígeno leucocitário humano (HLA) até os TLRs  
31 (Miyazawa *et al.*, 2009; Sironi *et al.*, 2012). Um dos objetivos deste projeto é,  
32 justamente, avaliar relações entre a variabilidade genética dos *TLRs* na  
33 população gaúcha e sua associação com a suscetibilidade, ou resistência, à  
34 infecção pelo HIV-1 e a progressão à aids.

## 1.3 Coinfecção HIV-1/TB

### 1.3.1 Etiologia e conceitos gerais

O risco de um indivíduo HIV-1 soropositivo desenvolver TB ativa é de 16 a 27 vezes maior do que o de um indivíduo hígido (WHO, 2020); estima-se que um terço dos indivíduos portadores do HIV-1 também esteja infectado pelo *M. tuberculosis*, contabilizando cerca de 12 milhões de coinfectados em todo o mundo (Getahun et al., 2010). Mesmo sendo tratável, a TB persiste como a doença mais frequente e principal causa de morte entre a população HIV-1 soropositiva (WHO, 2020). O diagnóstico de TB tende a ser mais complicado em indivíduos HIV-1 soropositivos do que nas demais pessoas, muito devido a incapacidade desses indivíduos gerarem uma resposta inflamatória satisfatória contra o *M. tuberculosis*; logo, coinfectados HIV-1/TB podem apresentar baciloscopia negativa, radiografia de tórax sem evidência de lesão cavitária e resultados falso-negativos para testes tuberculínicos ou ensaios de liberação de interferon- $\gamma$  (IGRA) (Cobelens et al., 2006; Monkongdee et al., 2009; Cain et al., 2010; Cox et al., 2010; Trajman et al., 2013; WHO, 2020). Do ponto de vista terapêutico, a coinfecção representa um grande desafio, por combinar fármacos da TARV com os da terapia antibiótica. Como consequência, podem ocorrer interações indesejadas entre os medicamentos, provocando hepatotoxicidade e efeitos adversos em geral (Bliven-Sizemore et al., 2012); alguns casos ainda resultam no desenvolvimento da síndrome inflamatória da reconstituição imune (SIRI) (Meintjes et al., 2008). Vale ressaltar que, mesmo após o início da TARV, os indivíduos infectados pelo HIV-1 ainda apresentam uma suscetibilidade aumentada à TB (Du Bruyn e Wilkinson, 2016). A coinfecção HIV/TB é também associada com a falência no tratamento contra a TB, assim como aparenta ser um fator de risco para o desenvolvimento de TB multirresistente e de TB extrapulmonar (Chaisson et al., 1987; Shafer et al., 1991; Jones et al., 1993; Jenny-Avital e Joseph, 2009; Mesfin et al., 2014; WHO 2020).

O desenvolvimento de TB ativa em indivíduos infectados pelo HIV-1 pode ser atribuído a, pelo menos, duas vias distintas: o aumento da suscetibilidade à infecção inicial pelo *M. tuberculosis* ou uma maior propensão

1 à reativação de uma infecção latente pelo bacilo (Selwyn *et al.*, 1989; Cohn e  
2 O'Brien, 1998; Girardi *et al.*, 2000; Kato-Maeda e Small, 2000). Contudo,  
3 evidências sugerem que ambas as situações podem ocorrer  
4 concomitantemente, logo, as duas possibilidades devem ser cuidadosamente  
5 consideradas entre diferentes países e populações (Bruchfeld *et al.*, 2015). A  
6 partir da análise filogenética das cepas de *M. tuberculosis* que infectam um  
7 indivíduo com TB ativa, é possível diferenciar as infecções recentes pelo bacilo  
8 e os casos de reativação ou reinfeção da TB latente (Cohn e O'Brien, 1998;  
9 Kato-Maeda e Small, 2000). Países considerados não-endêmicos para TB  
10 tendem a apresentar um predomínio de casos novos de infecção em sua  
11 população coinfetada, padrão frequentemente associado a infecções  
12 nosocomiais (Beck-Sague *et al.*, 1992; Daley *et al.*, 1992; Edlin *et al.*, 1992;  
13 Small *et al.*, 1994). Em contrapartida, em territórios considerados endêmicos  
14 para a TB, observa-se uma maior incidência de casos de reativação do bacilo e  
15 reinfeção entre indivíduos soropositivos para o HIV-1 (Charalambous *et al.*,  
16 2008; Narayanan *et al.*, 2010; Crampin *et al.*, 2010). O RS, por exemplo, é tido  
17 como uma região endêmica tanto para o HIV-1 quanto para a TB; logo, a  
18 adoção de medidas profiláticas visando o controle da TB latente e o  
19 investimento em campanhas de conscientização quanto aos riscos da doença,  
20 focadas na população HIV-1 soropositiva, apresentam grande potencial no  
21 combate à sindemia HIV-1/TB no estado (BRASIL, 2020c).

22

### 23 1.3.2 Epidemiologia

24

25 Apesar da recente redução no número total de casos e de óbitos, a  
26 sindemia HIV/TB persiste como uma ameaça global à saúde devido,  
27 principalmente, a falhas no diagnóstico e no tratamento da TB (WHO, 2020).  
28 72% de toda a população coinfetada reside no continente africano, contudo o  
29 Brasil está presente na lista das 20 nações com maior prevalência da  
30 coinfecção HIV-1/TB (WHO, 2018). No Brasil, os programas nacionais de  
31 combate à TB e ao HIV-1 ainda apresentam um alcance restrito, sobretudo  
32 entre populações em condição de vulnerabilidade social, como indivíduos com  
33 histórico de encarceramento, usuários de drogas e alcoolistas; as falhas na  
34 atenção à saúde desses grupos são alguns dos fatores associados à alta

1 prevalência da coinfeção no país (Campos e Pianta, 2001). Como  
2 mencionado anteriormente, o RS e Porto Alegre ostentam indicadores  
3 preocupantes no que diz respeito à TB e ao HIV-1: o estado e sua capital  
4 lideram os rankings nacionais de prevalência da coinfeção e da mortalidade  
5 decorrente dela, também apresentando uma baixa adesão à TARV entre os  
6 indivíduos coinfectados (BRASIL, 2020c). Ainda que os dados epidemiológicos  
7 apontem para uma clara responsabilidade do poder público na configuração  
8 atual da sindemia gaúcha de HIV/TB, sua singularidade faz do RS um ambiente  
9 propício para o estudo da imunogenética da coinfeção. Logo, a identificação  
10 de possíveis genes associados à suscetibilidade, ou resistência, ao *M.*  
11 *tuberculosis* e ao HIV-1 pode proporcionar informações importantes a respeito  
12 da fisiopatologia da coinfeção e, assim, auxiliar no desenvolvimento de novas  
13 estratégias terapêuticas para conter a progressão da sindemia.

### 14 15 1.3.3 Patogenia

16  
17 A gravidade da coinfeção HIV-1/TB se deve principalmente à atuação  
18 sinérgica entre o *M. tuberculosis* e o HIV-1, onde um patógeno acaba por  
19 favorecer a proliferação do outro e vice-versa, refletindo num sério  
20 comprometimento do estado de saúde do hospedeiro (Rosas-Taraco *et al.*,  
21 2006; Du Bruyn e Wilkinson, 2016). Logo após a infecção inicial pelo HIV-1,  
22 antes mesmo de seu estágio agudo e da queda no número total de linfócitos T  
23 CD4+ circulantes já se observa um aumento da suscetibilidade à TB  
24 (Sonnenberg *et al.*, 2005). O HIV, além de também ter o pulmão como um  
25 reservatório anatômico, apresenta uma predileção por linhagens de linfócitos T  
26 CD4+ Th1 e Th17, específicos contra o *M. tuberculosis* e fundamentais na  
27 defesa do organismo frente ao bacilo (Geldmacher *et al.*, 2008, 2010; Murray *et*  
28 *al.*, 2018). Os efeitos deletérios do HIV-1 não se restringem às células T CD4+  
29 o número total de linfócitos T CD8+ também sofre uma redução significativa  
30 devido a ação viral. Tais células atuam ativamente na imunidade adaptativa  
31 contra o *M. tuberculosis*, repelindo infecções recentes e participando do  
32 controle da TB latente, logo, quedas em suas contagens refletem num maior  
33 risco de desenvolvimento da doença ativa (Wong *et al.*, 2013; Behar, 2013;  
34 Nunes-Alves *et al.*, 2014). O vírus também afeta a função dos macrófagos,

1 principal tipo celular envolvido na resposta contra o *M. tuberculosis*,  
2 comprometendo principalmente a formação e a manutenção do granuloma  
3 (Wahl *et al.*, 1989; Spear *et al.*, 1990; Patel *et al.*, 2007; Pathak *et al.*, 2010;  
4 Walter *et al.*, 2016). A infecção pelo HIV-1 ainda apresenta outro impacto  
5 negativo sobre imunidade frente ao bacilo, pois o vírus interfere na expressão  
6 de citocinas e de outros mediadores inflamatórios que agem no controle da TB  
7 (Wahl *et al.*, 1989; Day *et al.*, 2006; Jones *et al.*, 1993; Kalsdorf *et al.*, 2009;  
8 Haas *et al.*, 2011). Logo, fica evidente que o HIV-1 possui papel determinante  
9 no aumento da suscetibilidade à infecção pelo *M. tuberculosis*, tal como na  
10 progressão da TB latente para a TB ativa em indivíduos coinfectados.

11 Por outro lado, a TB também atua com agente catalisador na progressão  
12 da infecção pelo HIV-1 para a aids, estimulando a replicação viral, acelerando a  
13 queda no número de células T CD4+ e tornando o indivíduo mais suscetível a  
14 infecções oportunistas (Pape *et al.*, 1993; Whalen *et al.*, 1995, 2000; Badri *et al.*,  
15 2001). A exposição do organismo ao *M. tuberculosis* normalmente resulta  
16 numa severa resposta inflamatória, que ainda pode ser potencializada em  
17 indivíduos que fazem uso da TARV; todavia, reações imunológicas tão  
18 acentuadas são consideradas um risco em potencial para a população HIV-1  
19 soropositiva (John e French, 1998; Toossi, 2000). Como mencionado  
20 anteriormente, o HIV-1 e o *M. tuberculosis* compartilham o pulmão como  
21 reservatório anatômico; ambos patógenos também apresentam tropismo por  
22 células fagocíticas (Landay *et al.*, 1993; Sierra-Madero *et al.*, 1994; Nakata *et al.*,  
23 1995, 1997; Costiniuk e Jenabian, 2014). Presentes na superfície de  
24 macrófagos alveolares, TLRs são capazes de reconhecer antígenos do *M.*  
25 *tuberculosis*, promovendo através do fator nuclear  $\kappa\beta$  (NF- $\kappa\beta$ ), a transcrição de  
26 citocinas contra o bacilo (Belvin e Anderson, 1996; Yang *et al.*, 1998;  
27 Kirschning *et al.*, 1998; Underhill *et al.*, 1999). Todavia, em indivíduos  
28 coinfectados, o HIV-1 se aproveita da resposta imune contra a micobactéria e  
29 faz uso do NF- $\kappa\beta$  em seu próprio processo de transcrição (Nakata *et al.*, 1997;  
30 Equils *et al.*, 2003; Báfica *et al.*, 2003, 2004; Drennan *et al.*, 2005). A replicação  
31 do HIV-1 também é estimulada pelo *M. tuberculosis* de forma indireta, através  
32 de quimiocinas e citocinas, oriundas da defesa imunológica frente ao bacilo  
33 (Israel-Biet *et al.*, 1991; Toossi *et al.*, 1997, 2001; Hoshino *et al.*, 2004); o TNF-  
34  $\alpha$  por exemplo, está relacionado com a replicação do HIV-1 em linfócitos T

1 CD4+ e com a ativação e cópias virais latentes (Garrait *et al.*, 1997; Hoshino *et*  
2 *al.*, 2002; Rosas-Taraco *et al.*, 2006). Já na imunidade adaptativa frente ao  
3 bacilo, linfócitos T CD4+ Th1 e Th17 expressam uma maior proporção do  
4 correceptor CCR5 em suas superfícies celulares, se tornando mais suscetíveis  
5 à infecção pelo HIV-1 (Matthews *et al.*, 2012).

6 Mesmo sendo patógenos bastante distintos e que passaram a coexistir  
7 há pouco tempo, o *M. tuberculosis* e o HIV-1 desenvolveram uma relação de  
8 cooperação, gerando uma combinação potencialmente fatal aos  
9 indivíduos coinfectados. Ainda que a medicina tenha atingido grandes  
10 conquistas nas últimas décadas, como advento de novos fármacos  
11 antirretrovirais, que transformaram completamente o prognóstico para a  
12 população HIV-1 soropositiva, a TB persiste como uma contínua grande  
13 ameaça à saúde, (WHO, 2020). Dentro de tal contexto, torna-se clara e urgente  
14 a necessidade por maiores investimentos e de pesquisas que buscam entender  
15 os efeitos da coinfeção, elucidando sua patogenia, buscando possíveis novos  
16 alvos terapêuticos, elaborando estratégias para conter a sindemia e, sobretudo,  
17 visando melhorar a qualidade de vida dos indivíduos coinfectados.

## 18

### 19 **1.4 Receptores tipo Toll**

#### 20

#### 21 1.4.1 Receptores de reconhecimento de padrões

#### 22

23 O sistema imunológico inato é a primeira linha de defesa do organismo  
24 frente a possíveis ameaças, capaz de controlar e até erradicar diferentes  
25 classes de patógenos, mesmo sem ter tido um encontro prévio com os mesmos  
26 (Medzhitov e Janeway, 2000). Os dois principais mecanismos de resposta da  
27 imunidade inata são a inflamação e a defesa antiviral. A inflamação é mediada  
28 principalmente por duas citocinas: o TNF- $\alpha$  e a interleucina-1 (IL-1); ambas  
29 promovem o recrutamento de fagócitos e células dendríticas para o sítio da  
30 infecção, visando eliminar microrganismos patogênicos e células danificadas.  
31 Por outro lado, a defesa antiviral objetiva, especificamente, impedir a replicação  
32 viral e destruir células infectadas por vírus, atuando por meio da ação de  
33 interferons e de células NK, respectivamente. A imunidade inata requer uma  
34 delicada regulação para que danos desnecessários ou excessivos ao

1 hospedeiro sejam evitados. O controle da homeostase imunológica depende  
2 intrinsecamente de mecanismos moduladores, dentre os quais fazem parte uma  
3 variedade de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), juntamente  
4 com quimiocinas e citocinas (Medzhitov e Janeway, 2000; Abbas *et al.*, 2013).

5 OS PRRs identificam estruturas comuns em diversos microrganismos,  
6 as quais não são encontradas nas células saudáveis do hospedeiro. São  
7 reconhecidas justamente as moléculas essenciais para a sobrevivência dos  
8 patógenos; logo, os microrganismos não são capazes de evadir a imunidade  
9 inata através de mutações simples ou apenas deixando de expressar os alvos  
10 do reconhecimento (Medzhitov e Janeway, 2000; Abbas *et al.*, 2013). O  
11 conjunto das moléculas microbianas capazes de induzir resposta pelos  
12 receptores do sistema imune inato é chamado de padrões moleculares  
13 associados a patógenos (PAMPs). Diferentes tipos celulares são capazes de  
14 identificar diferentes PAMPs; macrófagos, por exemplo, expressam receptores  
15 específicos que reconhecem lipopolissacarídeos (LPS) bacterianos. Dentre as  
16 variedades de PRRs se destacam os TLRs, receptores tipo NOD (NLRs) e  
17 receptores tipo RIG (RLRs) (Mogensen, 2009). Os os receptores do sistema  
18 imune inato têm seus genes codificados na linhagem germinativa, então não  
19 sofrem influência da recombinação somática; conseqüentemente, apresentam  
20 um poder de reconhecimento mais restrito e específico quando comparados  
21 aos receptores da imunidade adaptativa (Medzhitov e Janeway, 1997; Abbas *et*  
22 *al.*, 2013).

#### 23 24 1.4.2 Receptores tipo *Toll*

25  
26 Os TLRs consistem numa classe de glicoproteínas transmembrana. São  
27 homólogos à proteína *Toll*, originalmente descrita em moscas do gênero  
28 *Drosophila*; nos insetos a *Toll* atua durante o desenvolvimento embrionário e no  
29 sistema imunológico dos indivíduos adultos (Lemaitre *et al.*, 1996; Medzhitov *et*  
30 *al.*, 1997; Rock *et al.*, 1998). Nos seres humanos os TLR são expressos,  
31 principalmente, na superfície de macrófagos, células NK e células dendríticas,  
32 desempenhando um papel fundamental na vigilância antimicrobiana da  
33 imunidade inata (Medzhitov *et al.*, 2001). Até o presente momento, dez  
34 variedades funcionais dos TLRs já foram descritas em humanos, cada qual

1 capaz de identificar PAMPs específicos (Takeda e Akira, 2007). O TLR2, por  
2 exemplo, reconhece lipoglicanos bacterianos; o TLR4 é específico para LPS; já  
3 os TLR3, TLR7 e TLR8 reconhecem ácidos nucleicos (Hoshino *et al.*, 1999;  
4 Kirshchning *et al.*, 1998; Poltorak *et al.*, 1998; Chow *et al.*, 1999; Takeuchi *et*  
5 *al.*, 1999; Alexopoulou *et al.*, 2001; Morr *et al.*, 2002; Diebold *et al.*, 2004; Heil  
6 *et al.*, 2004; Lund *et al.*, 2004). Os TLRs podem se situar na membrana  
7 plasmática, identificando PAMPs livres no meio extracelular, ou também podem  
8 estar contidos em endossomos, detectando indícios de possíveis patógenos  
9 intracelulares (Kawai e Akira, 2008). Apesar de normalmente se organizarem  
10 em estruturas homodiméricas, alguns TLRs são capazes de cooperar entre si,  
11 formando heterodímeros; a combinação entre TLRs diferentes é positiva, pois  
12 assim ambos aumentam seu poder de discriminação (Ozinsky *et al.*, 2000;  
13 Takeuchi *et al.*, 2001).

14 A sinalização via TLRs é um ponto chave das relações de resistência e  
15 suscetibilidade entre patógeno e hospedeiro. De fato, os TLRs são  
16 responsáveis por dar início e orquestrar grande parte das respostas que  
17 compõem a imunidade inata, porém seu estímulo também resulta na ativação  
18 da imunidade adquirida (Akira *et al.* 2001, 2006; Taxereau *et al.*, 2005; Iwasaki  
19 e Medzhitov, 2004). A interação dos PAMPs com os TLRs leva à ativação de  
20 fatores de transcrição como o NF- $\kappa$ B que, por sua vez, promovem o aumento  
21 da expressão de interferons, citocinas e moléculas antimicrobianas nas células  
22 estimuladas (Akira e Kishimoto, 1997; Yao *et al.*, 1997; Li *et al.*, 2001). As  
23 citocinas podem possuir desde um efeito local moderado, recrutando fagócitos  
24 para o local da infecção, ou até mesmo um efeito sistêmico, causando febre,  
25 por exemplo (Abbas *et al.*, 2013). Os genes que codificam os TLRs fazem parte  
26 da linhagem germinativa, contudo, alguns indivíduos podem herdar mutações e  
27 polimorfismos associados com uma maior suscetibilidade a determinados  
28 patógenos, resultando em infecções recorrentes e graves pneumonias  
29 bacterianas (Medzhitov e Janeway, 1997; Misch *et al.*, 2008; Skevaki *et al.*,  
30 2015).

31

### 32 1.4.3 Imunogenética e TLRs

33

34 Ainda que os receptores da imunidade inata não apresentem o mesmo

1 poder de discriminação que os receptores da imunidade adquirida, alterações  
2 em sua constituição gênica podem ter grande influência sobre a integridade  
3 das defesas do organismo. Como mencionado anteriormente, variações  
4 genéticas dos *TLRs* podem estar relacionadas com uma maior propensão a  
5 certas infecções; da mesma forma, já foram descritos polimorfismos nos *TLRs*  
6 associados com um aumento da resistência imunológica frente a alguns  
7 patógenos (Abel *et al.*, 2002; Reiling *et al.*, 2002; Branger *et al.*, 2004;  
8 Dreennan *et al.*, 2004; Báfica *et al.*, 2005; Taxereau *et al.*, 2005; Skevaki *et al.*,  
9 2015). Esses achados apontam para a importância dos *TLRs* na resposta  
10 imune; logo, o estudo das relações imunogenéticas envolvendo os *TLRs* e a  
11 proteção do organismo diante de determinados microrganismos pode resultar  
12 em importantes descobertas a respeito da fisiopatologia das infecções.

13 Pesquisas no gene *TLR2* humano, o qual codifica o receptor *TLR2*,  
14 descreveram uma deleção de 22 pares de base em sua região promotora  
15 (rs111200466), abrangendo os nucleotídeos entre as posições -196 a -174  
16 (Eder *et al.*, 2004). Testes *in vitro* com linhagens de células portadoras do  
17 genótipo -196 a -174 del/del do *TLR2* demonstraram que a deleção altera  
18 significativamente a função do promotor gênico, reduzindo a expressão do  
19 *TLR2* na superfície celular (Noguchi *et al.*, 2004). A variante alélica -196 a -174  
20 del já foi associada ao desenvolvimento de sintomas clínicos de TB e ao  
21 aumento da contagem de células NK em populações chinesas (Chen *et al.*,  
22 2010). O genótipo homocigoto para deleção foi associado com a  
23 suscetibilidade à TB nas populações paquistanesa, bissau-guineanesa,  
24 estadunidense e argentina (Velez *et al.*, 2010; Khan *et al.*, 2014). Mais  
25 recentemente, a deleção também foi associada com o aumento da  
26 suscetibilidade à infecção pelo HIV-1 em populações do norte da Índia (Vidyant  
27 *et al.*, 2017). Tais achados sugerem um papel protetor do *TLR2* na defesa  
28 imunológica e, também, reforçam a importância de um estudo mais  
29 aprofundado dos efeitos do polimorfismo de deleção -196 a -174 do *TLR2*,  
30 sobretudo em indivíduos coinfectados HIV/TB.

31 Análises no gene *TLR4* identificaram dois polimorfismos de troca de  
32 sentido, ambos com uma frequência relativamente comum na população:  
33 Asp299Gly (rs4986790) e Thr399Ile (rs4986791) (Arbour *et al.*, 2000). Tal como  
34 o *TLR2*, o *TLR4* é um receptor de superfície celular, responsável pela

1 identificação de ameaças externas. Em condições normais, o TLR4 atua  
2 ativamente na proteção do organismo frente a bactérias Gram-positivas e  
3 contra o *M. tuberculosis* (Hoshino *et al.* 1999; Reiling *et al.*, 2002); contudo, os  
4 polimorfismos Asp299Gly e Thr399Ile alteram o domínio extracelular do  
5 receptor, comprometendo sua função no reconhecimento da endotoxina LPS  
6 (Arbour *et al.*, 2000). Ambas variações foram associadas com o  
7 desenvolvimento de TB pulmonar na população indiana, porém alguns autores  
8 ainda discordam de tal relação (Najmi *et al.*, 2010; Tian *et al.*, 2013; Vidyant *et*  
9 *al.*, 2018). Em contrapartida, diversas publicações apontam para uma  
10 contribuição dos polimorfismos Asp299Gly e Thr399Ile em complicações  
11 decorrentes da infecção pelo HIV, envolvendo, inclusive, um possível aumento  
12 na suscetibilidade à TB ativa em indivíduos coinfectados (Ferber *et al.*, 2007;  
13 Pulido *et al.*, 2010; Papadopoulos *et al.*, 2010). Tendo em vista o papel ainda  
14 controverso do TLR4 nas infecções por *M. tuberculosis* e pelo HIV, as  
15 variações Asp299Gly e Thr399Ile se apresentam como potenciais alvos para o  
16 estudo da imunogenética da coinfecção na população gaúcha.

17 Diferentemente do TLR2 e do TLR4, o TLR8 é um receptor endossomal,  
18 responsável pela vigilância interna contra ácidos nucleicos oriundos de  
19 patógenos intracelulares, como o *M. tuberculosis* e o HIV-1 (Cervantes *et al.*,  
20 2012). Ainda que as variações do *TLR8* não sejam tão conhecidas e  
21 estudadas, alguns de seus polimorfismos já demonstraram associação com a  
22 predisposição a certas patologias, sobretudo com infecções virais (Cervantes *et*  
23 *al.*, 2012; Wang *et al.*, 2014; Fernández-Rodríguez *et al.*, 2015). O polimorfismo  
24 funcional *TLR8* Met1Val (rs3764880), localizado no principal *exon* do gene,  
25 interfere no *start codon* de sua isoforma B, resultando em um TLR8 truncado;  
26 consequentemente, as vias de sinalização do receptor são prejudicadas,  
27 afetando a resposta frente aos patógenos (Oh *et al.*, 2008). A variante *TLR8*  
28 Met1Val já foi associada com a suscetibilidade à TB na população  
29 paquistanesa em geral, tal como em indivíduos do sexo masculino da  
30 Indonésia e da Rússia (Davila *et al.*, 2008; Bukhari *et al.*, 2015). Contudo, na  
31 infecção pelo HIV-1 a variante *TLR8* Met1Val aparenta possuir um caráter  
32 protetivo, estando associada com a redução da progressão da infecção em  
33 alemães e em africanos subsaarianos; o polimorfismo ainda foi associado com  
34 a não progressão da infecção pelo HCV em indivíduos coinfectados HIV-1/HCV

1 (Oh *et al.*, 2008; MacKelprang *et al.*, 2013; Fernández-Rodríguez *et al.*, 2015).  
2 Os diferentes efeitos resultantes de um único genótipo do polimorfismo *TLR8*  
3 *Met1Val* demonstram que, apesar de ativarem a mesma resposta imune, o  
4 HIV-1 e o *M. tuberculosis* apresentam estratégias de sobrevivência bastante  
5 distintas. Dentro de tal contexto, uma avaliação da distribuição genotípica da  
6 variante *TLR8 Met1Val* em indivíduos coinfectados HIV/TB pode ser bastante  
7 promissora, oferecendo uma nova perspectiva para a análise da interação  
8 entre os microrganismos durante o decorrer da coinfeção, sobretudo em um  
9 cenário sindêmico como o do RS.

10 O Brasil figura na lista dos 20 países de maior prevalência da coinfeção  
11 HIV-1/TB; a situação é especialmente grave no RS e em Porto Alegre, que  
12 apresentam os piores indicadores epidemiológicos nacionais para a sindemia  
13 (BRASIL, 2020c; WHO, 2020). Apesar dos dados apontarem para uma  
14 importante responsabilidade do Estado nas epidemias gaúchas de TB e aids, a  
15 contribuição de fatores genéticos do hospedeiro não pode ser descartada, pois  
16 ambas são doenças complexas. Tendo em vista a carência de dados  
17 referentes ao perfil imunogenético da população gaúcha, o atual contexto da  
18 sindemia HIV/TB no RS e o “desconhecido” que ainda permeia a atuação dos  
19 TLRs diante da coinfeção, a avaliação da influência de polimorfismos em  
20 *TLRs* na imunidade ao HIV-1 e ao *M. tuberculosis* se apresenta como um  
21 tópico pertinente de estudo. A descoberta de possíveis relações entre variantes  
22 genéticas de *TLRs* com a suscetibilidade, ou resistência, ao HIV-1 e à TB pode  
23 oferecer informações importantes sobre como opera a imunidade em indivíduos  
24 coinfectados. Por sua vez, uma melhor compreensão do papel dos TLRs e de  
25 suas interações nas respostas imunológicas durante a sindemia HIV-1/TB pode  
26 ser a chave para novas estratégias tanto na prevenção quanto na terapêutica  
27 contra o *M. tuberculosis* e o HIV-1 (Equils *et al.*, 2004; Anandaiah *et al.*, 2013).

## 28 29 **1.5 COVID-19**

### 30 31 **1.5.1 Etiologia e conceitos gerais**

32  
33 Desde o dia 11 de março de 2020, quando a Organização Mundial da  
34 Saúde (OMS) elevou o status da contaminação pelo coronavírus da síndrome

1 respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2) para pandemia, estima-se que mais  
2 de 110 milhões de pessoas já foram infectadas e que cerca de 2 milhões  
3 faleceram vítimas da COVID-19 em todo o mundo (WHO, 2021). Nem todos os  
4 indivíduos expostos ao novo coronavírus são infectados, assim como nem  
5 todos os infectados desenvolvem sintomas da COVID-19. O SARS-CoV-2 se  
6 propaga pelo ar através de gotículas contaminadas que, quando inaladas,  
7 conduzem as partículas virais até o trato respiratório inferior, na região dos  
8 alvéolos pulmonares. Diferentemente do *M. tuberculosis*, que possui predileção  
9 por macrófagos alveolares, o repertório de alvos do novo coronavírus é bem  
10 mais diversificado (Brites; Gagneux, 2015). Para infectar as células o SARS-  
11 CoV-2 liga-se aos receptores da protease transmembrana serina 2 (TMPRSS2)  
12 e da enzima conversora da angiotensina 2 (ACE2) utilizando sua proteína *spike*  
13 (Devaux *et al.*, 2020; Hoffmann *et al.*, 2020; Kuba *et al.*, 2005); ambos  
14 receptores podem ser encontrados na membrana de diversos tipos celulares, o  
15 que favorece a disseminação do vírus para outros órgãos (Hamming *et al.*,  
16 2004; Jia *et al.*, 2005; Xu *et al.*, 2020). Ao entrar na célula e sequestrar sua  
17 maquinaria para se replicar, o SARS-CoV-2 pode induzir a morte celular por  
18 diferentes mecanismos, incluindo necroptose e piroptose. A necroptose e a  
19 piroptose consistem em tipos de morte imunogênicas, nas quais as células  
20 liberam padrões moleculares associados ao dano (DAMPs) e outras moléculas  
21 pró-inflamatórias no microambiente ao seu redor (Christofferson & Yuan *et al.*,  
22 2010; Fink & Cookson *et al.*, 2005). Os DAMPs liberados, por sua vez, são  
23 reconhecidos por receptores específicos nas células adjacentes, ativando uma  
24 resposta inflamatória intensa contra o vírus, que pode resultar em quebra da  
25 homeostase imunológica e posterior imunopatologia (Germolec *et al.*, 2018;  
26 Tay *et al.*, 2020; Tian *et al.*, 2020; Tufan *c*).

27 Ao detectarem DAMPs, os macrófagos locais passam a expressar  
28 citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, como a IL-6, a proteína induzida por  
29 IFN (IP-10), o IFN- $\gamma$  e a proteína quimioatraente de monócitos-1 (MCP1), que  
30 recrutam fagócitos e linfócitos T até o sítio infeccioso (Antonio *et al.*, 2020;  
31 Tufan; *et al.*, 2020; Vabret *et al.*, 2020; Zhou Y *et al.*, 2020). Manifestações  
32 assintomáticas ou mais leves da COVID-19 são caracterizadas por uma  
33 resposta antiviral robusta, protagonizada por interferons de tipo I e linfócitos T  
34 CD4<sup>+</sup> Th1, CD8<sup>+</sup>, os quais, juntamente com anticorpos específicos, são

1 capazes de conter e eliminar completamente a infecção. No entanto, no caso  
2 de indivíduos que apresentam alguma comorbidade ou desequilíbrio  
3 imunológico, essa resposta imunológica tende a tardar; conseqüentemente,  
4 mais células são infectadas, desencadeando um potente feedback pró-  
5 inflamatório autossustentável (Henderson *et al.*, 2020; Centis *et al.*, 2020;  
6 Stochino *et al.*, 2020; Tadolini *et al.*, 2020; Zhou F *et al.*, 2020). Essa resposta  
7 desproporcional leva à infiltração excessiva de neutrófilos e monócitos no  
8 pulmão que, quando estimulados, resultam em tempestades de citocinas  
9 (Alunno *et al.*, 2020; Henderson *et al.*, 2020; Oberfeld *et al.*, 2020; Shaw *et al.*,  
10 2018). A expressão elevada de citocinas inflamatórias em função do SARS-  
11 CoV-2, tais como IL-1, IL-6 e IL-12, aumenta a permeabilidade vascular nos  
12 pulmões, contribuindo para o acúmulo de secreção e líquidos (Liao *et al.*, 2020;  
13 Tian *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2020). Conseqüentemente, formam-se edemas  
14 pulmonares, os quais podem resultar em pneumonia, aumentando os riscos de  
15 falência respiratória. A COVID-19 também produz um quadro de linfopenia pelo  
16 acúmulo e destruição de linfócitos nos sítios de infecção, reduzindo o número  
17 de células circulantes e exaurindo a medula óssea, o que torna o organismo  
18 mais vulnerável a patógenos oportunistas (Liu *et al.*, 2020b; Miyahara *et al.*,  
19 2019; Zheng *et al.*, 2020a).

20 O efeito avassalador do SARS-CoV-2 sobre o sistema imunológico  
21 facilita a disseminação do vírus para outros órgãos, em especial para rins,  
22 coração e intestinos, que expressam altos níveis do receptor ACE2 (Gu *et al.*,  
23 2005). Tal infecção sistêmica, somada à resposta inflamatória exacerbada, é  
24 altamente danosa para o organismo, de forma que muitos infectados com  
25 COVID-19 acabam morrendo em decorrência de falência múltipla de órgãos.  
26 Vale ressaltar que, mesmo após a alta, alguns indivíduos permanecem com a  
27 carga viral positiva, ressaltando a dificuldade do sistema imune em eliminar o  
28 patógeno. Sumariamente, a infecção pelo SARS-CoV-2 pode ser dividida em  
29 duas fases: a inicial, na qual a imunidade age de forma protetora contra o vírus,  
30 e a secundária, onde a COVID-19 subverte a resposta imunológica e os  
31 sucessivos estímulos inflamatórios resultam em imunopatologia e dano tecidual  
32 (Liao *et al.*, 2020; Stochino *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2020; Yang, 2020).

33

34 1.4.2 Coinfecção TB/COVID-19

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

Os alvéolos pulmonares são como campos de batalha para a TB e para a COVID-19, entretanto, enquanto a TB se infiltra silenciosamente no território inimigo como o cavalo de Tróia, a COVID-19 gera o caos, induzindo a piroptose e explodindo as células hospedeiras. De maneira geral, indivíduos com um sistema imunológico homeostático respondem satisfatoriamente frente a ambas as infecções, contendo ou eliminando os patógenos (Sakurai *et al.*, 2020). Contudo, no caso da TB, evidências recentes indicam que, mesmo durante a latência, o *M. tuberculosis* persiste se multiplicando e causando lesões cavitárias (Kursar *et al.*, 2007). A manutenção dos granulomas requer uma fina e permanente imunomodulação, onde perturbações causadas por outros agentes infecciosos tendem a induzir a reativação da doença (Zhang & Liu, 2018; Flynn *et al.*, 2011). Em contrapartida, o dano produzido pela TB nos pulmões, somado ao seu impacto na imunidade local, aumenta a suscetibilidade do organismo a patógenos de transmissão aérea (Tadolini *et al.*, 2020).

Dados de um estudo de caso-controle conduzido na China indicam que a TB, em sua forma latente ou ativa, é um fator de risco para o desenvolvimento da COVID-19; o mesmo estudo também sugere que a TB pode estar associada com o agravamento dos sintomas da COVID-19 (Zhou, F. *et al.*, 2020). Os resultados da primeira coorte internacional que acompanhou pacientes coinfectados TB/COVID-19 corroboram essas suspeitas, indicando que indivíduos curados da TB, mas portadores de cicatrizes pulmonares, apresentam pior prognóstico para a COVID-19 (Tadolini *et al.*, 2020). Em contrapartida, até o presente momento o impacto do novo coronavírus na suscetibilidade e progressão da TB ainda não foi avaliado. De todo modo, podemos inferir que o *M. tuberculosis* e o SARS-CoV-2 atuam de maneira sinérgica ao compartilharem o mesmo hospedeiro. Mesmo ainda sem dados experimentais a respeito da coinfeção TB/COVID-19, sabemos que o *M. tuberculosis* e o SARS-CoV-2 interferem drasticamente no microambiente pulmonar (Lenaerts *et al.*, 2015; Liao *et al.*, 2020). Durante a infecção por TB latente, a persistência da micobactéria induz estímulos pró-inflamatórios constantes no parênquima pulmonar; os quais são necessários para manter a integridade estrutural do granuloma (Mack *et al.*, 2009; Ling & Flynn, 2012). As

1 principais citocinas que contribuem na contenção do bacilo, o TNF e o IFN- $\gamma$ ,  
2 também têm um papel chave na imunomodulação pró-inflamatória da resposta  
3 contra outros coronavírus causadores da SARS (Wang *et al.*, 2007). Assim, é  
4 provável que os estímulos contra a TB e a COVID-19 se somem nos indivíduos  
5 coinfectados, levando ao acúmulo de células ativas no pulmão, a tempestades  
6 de citocinas e, logo, à imunopatologia. A morte das células pulmonares por  
7 necrose e piroptose resulta ainda na dispersão local de DAMPs que, por sua  
8 vez, intensificam o feedback inflamatório no trato respiratório inferior.

9 Como mencionado anteriormente, a resposta imunológica Th1 contra a  
10 TB é caracterizada pelo predomínio de fagócitos e linfócitos T CD4+  
11 específicos; no entanto, a defesa frente ao SARS-CoV-2 também depende de  
12 linfócitos especializados (Nikitina *et al.*, 2018; Shen; Chen, 2018; Zenaro *et al.*,  
13 2009). No primeiro momento, a coinfeção TB/COVID-19 deve atrasar ou  
14 sabotar a resposta contra o novo coronavírus, enquanto que, com o passar do  
15 tempo, os sucessivos estímulos inflamatórios resultam na exaustão  
16 generalizada das células T (Diao *et al.*, 2020; Zheng *et al.*, 2020b). Tanto na TB  
17 quanto na COVID-19, os linfócitos atuam como mediadores, orquestrando a  
18 liberação de citocinas e quimiocinas no sítio infeccioso; a linfopenia decorrente  
19 da coinfeção afeta diretamente essa regulação da resposta imune contra os  
20 patógenos; a principal consequência observada disso é a expressão  
21 exacerbada de citocinas, principalmente pró-inflamatórias (Etna *et al.*, 2014;  
22 Henderson *et al.*, 2020; Mack *et al.*, 2009; Miotto *et al.*, 2001; Wang *et al.*,  
23 2007). Algumas citocinas expressas na coinfeção também podem apresentar  
24 efeitos secundários, como o aumento na expressão do receptor ACE2 na  
25 superfície celular, estimulada pelo IFN- $\gamma$ . Já a IL-4 e a IL-13 são associadas  
26 com danos imunopatológicos e com um pior prognóstico tanto para a TB  
27 quanto para a COVID-19 (Busatta *et al.*, 2020; Heitmann *et al.*, 2014). A quebra  
28 na homeostase imune decorrente da linfopenia também é acompanhada de um  
29 aumento considerável do número de neutrófilos infiltrados no pulmão. Os  
30 neutrófilos, por si só, pouco contribuem para o controle das infecções pelo *M.*  
31 *tuberculosis* ou pelo SARS-CoV-2 em fase crônica, no entanto sua presença  
32 está associada com a intensificação de estímulos inflamatórios e dano tecidual  
33 (Muefong; Sutherland, 2020). De fato, a relação entre o número de linfócitos e  
34 neutrófilos já foi identificada como um possível marcador de risco para a TB e

1 para a COVID-19 (Liu *et al.*, 2020a; Miyahara *et al.*, 2019).

2 Sob uma perspectiva macroscópica, as lesões cavitárias provocadas  
3 pela TB remodelam a arquitetura pulmonar (Dheda *et al.*, 2005). O parênquima  
4 necrosado é substituído por um epitélio fibrótico, reduzindo as superfícies  
5 disponíveis para as trocas gasosas; formam-se bronquiectasias e  
6 broncoestenoses que restringem o fluxo aéreo, enquanto os capilares  
7 obstruídos dificultam a drenagem de líquidos (Curtis, 1957; Rosenzweig &  
8 Stead, 1966). De modo geral, as alterações macroestruturais decorrentes da  
9 TB comprometem o funcionamento e as defesas do trato respiratório inferior,  
10 principalmente quando somadas às consequências da resposta inflamatória  
11 exacerbada contra o SARS-CoV-2, como a formação de edemas.  
12 Consequentemente, o pulmão torna-se mais suscetível a complicações  
13 severas, como a pneumonia e a insuficiência respiratória. É provável que esta  
14 seja a razão pela qual indivíduos com cicatriz pulmonar de TB, apresentem pior  
15 prognóstico na infecção pelo novo coronavírus. Cabe salientar que a TB  
16 apresenta um espectro bastante heterógeno de lesões, que variam de acordo  
17 com a estirpe da cepa bacteriana e resposta imune do hospedeiro (Dormans *et*  
18 *al.*, 2004). Indivíduos com um histórico de infecções recorrentes pela TB com  
19 elevado grau de fibrose pulmonar, provavelmente devem apresentar uma maior  
20 suscetibilidade ao novo coronavírus, o que reforça a necessidade de atenção  
21 especial para os casos de TB recorrente ou resistente (Hnizdo *et al.*, 2000;  
22 Ralph *et al.*, 2013; Ravimohan *et al.*, 2018).

23 Por fim, medicamentos utilizados no tratamento da COVID-19 podem  
24 contribuir para a progressão da TB. Algumas das estratégias farmacológicas  
25 propostas para o controle dos danos da COVID-19 envolvem a modulação da  
26 resposta imunológica com corticoides, com o objetivo de tentar reduzir a  
27 inflamação excessiva (Zhang *et al.*, 2020). No entanto, apesar de estar se  
28 revelando uma abordagem promissora, o uso de fármacos imunomoduladores  
29 deve ser avaliado considerando o histórico clínico de cada indivíduo e levando  
30 em conta as características epidemiológicas da população local. Fármacos com  
31 função anti-inflamatória, como bloqueadores do TNF- $\alpha$ , por exemplo, podem  
32 aumentar a suscetibilidade frente a patógenos oportunistas, como o *M.*  
33 *tuberculosis*, ou até mesmo comprometer a integridade estrutural de  
34 granulomas (Cisneros & Murray, 1996; Shu *et al.*, 2010). Logo, apesar da

1 necessidade urgente de se desenvolver terapias contra a COVID-19, deve-se  
2 ter muita cautela na escolha do regime de tratamento para que os fármacos  
3 empregados não perturbem a homeostase imunológica e resultem em efeitos  
4 colaterais indesejados (Atal; Fatima, 2020; Felsenstein *et al.*, 2020).

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

## 2 OBJETIVO

### 2.1 Objetivo geral

O objetivo principal deste estudo fora avaliar se os diferentes genótipos definidos pelos polimorfismos dos genes *TLR2* (rs111200466), *TLR4* (rs4986790) e *TLR8* (rs3764880) apresentam relação com a suscetibilidade, ou resistência, ao desenvolvimento de TB ativa, à infecção pelo HIV-1 ou à coinfeção HIV/TB.

Vale ressaltar que quando o projeto do presente estudo foi originalmente idealizado, no ano de 2018, a TB e a aids ainda despontavam como as duas principais causas de morte entre as doenças infectocontagiosas no mundo. Contudo, com o surgimento e ascensão da COVID-19, o planejamento original foi alterado; diante da urgência da situação e visando também contemplar a investigação de dados preliminares da pandemia, optou-se por elaborar um artigo de revisão sobre a patologia da coinfeção TB/COVID, o qual já foi publicado e encontra-se disponível abaixo.

### 2.2 Objetivos específicos

- I. Estimar as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos dos genes *TLR2* (rs111200466), *TLR4* (rs4986790) e *TLR8* (rs3764880) na população gaúcha.
- II. Comparar as diferenças nas frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos estudados entre os diferentes grupos amostrais, verificando possíveis relações de proteção ou suscetibilidade à TB, à infecção pelo HIV-1 e à coinfeção HIV-1/TB.
- III. Avaliar as variações nas frequências alélicas e genotípicas observadas internamente dentre os grupos TB, HIV-1 e HIV-1/TB, tal como sua relação com o prognóstico das infecções.
- IV. Avaliar possíveis variáveis epidemiológicas que podem interferir na suscetibilidade e prognóstico das infecções.
- V. Avaliar os dados preliminares a respeito da patologia da coinfeção TB/COVID-19 e seus impactos na evolução clínica de ambas doenças.

### 1 3. ARTIGOS CIENTÍFICOS

2 Considerando que a pandemia gerou alguns problemas de ordem  
3 prática para execução do projeto de maneira adequada, os resultados obtidos a  
4 partir deste estudo serão apresentados no seguinte formato:

5 Artigo 1 – “*Pathology of TB/COVID-19 Co-Infection: The phantom menace*”,  
6 publicado na revista *Tuberculosis* - DOI: 10.1016/j.tube.2020.102020; artigo de  
7 revisão sistemática redigido e publicado durante a pandemia (índice de  
8 impacto: 2.576).

9 Artigo 2 – “*TLR2 rs111200466 polymorphism and its influence on CD3+ and*  
10 *CD4+ T lymphocyte counts of HIV-1 seropositive individuals in southern Brazil*”;  
11 artigo original submetido à revista *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (índice  
12 de impacto: 2.280; instruções para autores:  
13 <https://memorias.ioc.fiocruz.br/instructions-to-authors>).

14 Artigo 3 – “*Polymorphisms in toll-like receptors 2, 4 and 8 and its implications*  
15 *for susceptibility to TB, HIV-1 and HIV-1/TB co-infection in the Southern Brazil*  
16 *population*”, sendo preparado para submissão na revista *Infection, Genetics*  
17 *and Evolution* (índice de impacto: 2.773; instruções para autores:  
18 [https://www.elsevier.com/journals/infection-genetics-and-evolution/1567-](https://www.elsevier.com/journals/infection-genetics-and-evolution/1567-1348/guide-for-authors)  
19 [1348/guide-for-authors](https://www.elsevier.com/journals/infection-genetics-and-evolution/1567-1348/guide-for-authors)).

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

### 1 **3.1 Artigo 1**

2 “*Pathology of TB/COVID-19 Co-Infection: The phantom menace*”, publicado na  
3 revista *Tuberculosis* - DOI: 10.1016/j.tube.2020.102020 – artigo de revisão  
4 sistemática redigido e publicado durante a pandemia (índice de impacto:  
5 2.576).

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

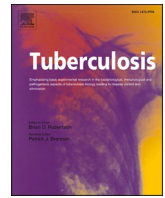
31

32



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.



# Pathology of TB/COVID-19 Co-Infection: The phantom menace

Gabriel Tassi Mousquer<sup>a</sup>, Alessandra Peres<sup>a,b</sup>, Marilu Fiegenbaum<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Graduate Program in Biosciences, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre (UFCSA), Porto Alegre, Brazil

<sup>b</sup> Basic Health Sciences Department, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre (UFCSA), Porto Alegre, Brazil

## ARTICLE INFO

### Keywords:

Tuberculosis  
COVID-19  
Inflammation  
Immunopathology  
Cytokines

## ABSTRACT

Tuberculosis (TB) and coronavirus disease 2019 (COVID-19) are currently the two main causes of death among infectious diseases. There is an increasing number of studies trying to elucidate the interactions between *Mycobacterium tuberculosis* and SARS-CoV-2. Some of the first case reports point to a worsening of respiratory symptoms in co-infected TB/COVID-19 individuals. However, data from the cohort studies has shown some conflicting results. This study proposes to conduct a systematic review on the current literature on TB/COVID-19 co-infection cohorts, evaluating clinical and epidemiological data, focusing on its implications to the immune system. From an immunological perspective, the TB/COVID-19 co-infection has the potential to converge in a "perfect storm". The disorders induced by each pathogen to the immunomodulation tend to induce an unbalanced inflammatory response, which can promote the progression and worsening of both diseases. Understanding the nature of the interactions between *M. tuberculosis* and SARS-CoV-2 will be crucial for the development of therapeutic strategies against co-infection.

## 1. Introduction

Considered by the World Health Organization (WHO) as the "public enemy number one", coronavirus disease 2019 (COVID-19) brought chaos to the healthcare systems across the globe. Suddenly, humanity was faced with a deadly new pathogen, capable of spreading quickly and aggressively through the host's organism, as among society as well. While the COVID-19 second wave haunts nations that already seemed to have overcome the pandemic some countries, like Brazil, are still hostages to SARS-CoV-2. In Africa, South America and Southeast Asia, the crisis may become even worse, as COVID-19 may end up converging with another deadly disease: the tuberculosis (TB) [1,2].

In contrast with COVID-19, which we are just beginning to understand, TB is an ancient threat that menaces mankind since prehistoric ages, for at least 70,000 years [3]. This coevolution has shaped *M. tuberculosis* as a pathogen highly adapted to coexist and thrive among the humanity. Consequently, it is estimated that 2 billion people are latently infected with TB worldwide (LTBI) [4]. Each individual with LTBI has approximately a 10% chance of developing the disease in its active form throughout life, however, this risk may vary geographically and rise to 50% in individuals co-infected by the human

immunodeficiency virus (HIV) [4]. Although, TB persists as the leading cause of death among infectious diseases; however, since April 2020 COVID-19 has shown similar numbers of daily deaths worldwide [5]. The convergence between these two deadly diseases raises concern among health authorities, especially in TB endemic countries.

The consequences of the COVID-19 pandemic poses serious challenges to TB control programs, mainly by impairing TB diagnosis and treatment. Due to the similarities between TB and COVID-19 symptoms, countries with a precarious diagnostic structure suffer to properly identify these infections; this issue negatively influences in therapeutic decision-making and, therefore, impacts in prognosis of both diseases [6–9]. TB treatment adherence and continuity are also affected by the lack of resources, drugs and medical supplies, as well as by the reduction of the mobility of patients and healthcare professionals; which can result in treatment failure and, consequently, in an increase in incidence of multidrug-resistant TB (TB-MDR) [10,11]. Another crucial aspect is that both TB and COVID-19 share similar social determinants, including poverty, overcrowding, diabetes and air pollution [12]. Some countries are already facing these side effects of the pandemic, however, the consequences of COVID-19 for TB go far beyond logistical and administrative issues [13].

\* Corresponding author. Basic Health Sciences Department, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Sarmiento Leite, 245/403, Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail addresses: [gabriel\\_mousquer@hotmail.com](mailto:gabriel_mousquer@hotmail.com) (G.T. Mousquer), [peres@ufcsa.edu.br](mailto:peres@ufcsa.edu.br) (A. Peres), [marilu.fiegenbaum@gmail.com](mailto:marilu.fiegenbaum@gmail.com), [mariluf@ufcsa.edu.br](mailto:mariluf@ufcsa.edu.br) (M. Fiegenbaum).

<https://doi.org/10.1016/j.tube.2020.102020>

Received 14 July 2020; Received in revised form 10 September 2020; Accepted 10 November 2020

Available online 17 November 2020

1472-9792/© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Many individuals who develop active TB are immunocompromised and/or live in a situation of social vulnerability. In this context, the emergence of the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), in the middle of the 20th century, has enhanced TB dissemination, which was relatively controlled until then [14–16]. *M. tuberculosis* and HIV interact cooperatively, impairing host's defenses, as the immune system is exhausted and both pathogens spread through the organism [17,18]. The synergy between these diseases resulted in a deadly syndemic of global proportions; currently TB is the main cause of death among HIV-seropositive individuals. COVID-19 rises now as a new menace, due to its devastating impact on the immune system and, mainly, to the lung functions [19,20].

Therefore, becomes clear the urgency for further studies focused on TB/COVID-19 co-infection, in order to try to contain this new pathogen association. This article presents a brief systematic review of TB/COVID-19 co-infection on the current literature, focusing on case reports and cohorts studies, in an effort to point out the main immunological aspects involved in this pathology.

## 2. Methodology

### 2.1. Research databases

This review was performed in accordance with the guidelines of the Center for Reviews and Dissemination (CRD) of York University [21]. The search for suitable studies was focused on papers available on the PubMed database, published until August 31, 2020.

The search strategy was based on the use of the following keywords, combined or separated, always accompanied by "tuberculosis" and "COVID-19" among them: "immune response", "SARS", "mycobacterium", "coronavirus" and "co-infection". In addition, the bibliography of the reviewed studies was also evaluated to support the results discussion.

### 2.2. Study selection

Two authors (GM and MF) carried out the studies selection for this review independently; any divergences were resolved in discussion with the help of the third author (AP). The following selection criteria were applied:

- Study design: cohorts and case reports;
- Sample size: at least 20 cases of TB/COVID-19 co-infection per study;
- Study population and assessed outcome: individuals proven to be co-infected with LTBI or active TB and COVID-19, regardless of the outcome.

After the first searches on PubMed, combining the keywords previously mentioned, a total of 144 results were obtained. Most of these publications were duplicated or diverged from the scope of this review. After a superficial analysis of the titles and abstracts, 11 case report and cohort studies were selected. These studies were then evaluated, considering the number of TB/COVID-19 co-infected individuals, the description of the clinical data and the information regarding the treatment outcome. At the end of the selection process, only 6 studies were chosen to compose this review.

The reason for focusing on studies with larger samples and more complete data sets, is because they provide a better representation of the general population, in addition to being more a robust evidence of the relationships between pathogens.

### 2.3. Data extraction

From the 6 studies that met to the review selection criteria, the following information was extracted: study design, sample size, clinical features, outcomes, main findings and limitations. Two authors (GM and MF) independently assessed all data, with differences being discussed

and solved with a help of a third author (AP).

### 2.4. Data synthesis and analysis

All the data collected from the reviewed studies were critically assessed by the authors and summarized in Table 1. Some of the information, regarding the clinical characteristics of the TB/COVID-19 co-infection, was not described in a standardized manner in their respective articles, therefore, not all the data presented in Table 1 can be paired between the studies. In addition, some of the mentioned studies were published before the outcome information's could be evaluated, therefore, they do not present this data.

## 3. Results

The results of this review are described in Table 1. In summary, most of the evaluated studies point to an association between TB and COVID-19. Both active TB and a previous history of TB seem to be related to an increased risk for the development of COVID-19, as well as worsening the infection prognosis [22–27].

However, there are still few clinical data on TB/COVID-19 co-infection, and some of the first published case reports and cohort studies have significant limitations. In general, the samples sizes are quite small, most of studies have been conducted in countries with a low TB burden and clinical features are not well described on the papers. Another important aspect is the lack of information on other pre-existing diseases and comorbidities, such as obesity, hypertension or diabetes; in most of cases, it is even difficult to identify whether TB was diagnosed before or during treatment for COVID-19.

Despite these limitations, the reviewed studies offer an evidence that supports that TB contributes to the susceptibility and the worsening of COVID-19. However, it is worth mentioning that other factors such as social conditions, comorbidities, elderly and access to healthcare directly influences the prognosis of TB/COVID-19 co-infection.

## 4. Discussion

The first cohort evaluating the association between TB and COVID-19 consisted of international cooperation, grouping 49 cases of co-infection from 8 different countries; this study identified a higher mortality among elderly people with a previous history of TB, however, regional differences in the COVID-19 treatment protocols may have interfered in the evaluated outcomes [22]. The study published by Chen et al. reported that TB increases the susceptibility to COVID-19 and the severity of its symptoms [23]. Nevertheless, it is worth mentioning some significant limitations of this study, such as its small sample size and the lack of clinical criteria to define the presence of TB. Two Italian cohorts also investigated the interactions between TB and COVID-19, in both of them; most of the cases were composed of migrants and refugees. Both studies also suggest that the co-infection is a clinically manageable condition, although that it can be potentiated due by elderly or in the presence of comorbidities [24,25]. Another study, conducted in the Philippines, reinforced the deleterious role of TB over COVID-19, associating the co-infection with a greater risk of morbidity and mortality [26]. However, the most significant evidence of the influence of TB on the prognosis of COVID-19 came from a South African cohort conducted by Davies et al. Data of more than 3 million patients treated by the public health system, with or without COVID-19, were compared taking into account the presence of other comorbidities, including TB and HIV. The results indicate that both the previous history of TB, as well as current TB and TB associated with HIV increase the risk of death in patients infected with COVID-19 [27].

Recently, two other reviews, including a meta-analysis, were conducted with data from case reports and cohorts of co-infected TB/COVID-19 individuals [12,28]. Both studies did not identify a direct association of TB with the worsening of COVID-19, however, it should be

**Table 1**  
Review of the main TB/COVID-19 cohorts published so far.

Reference	Country	Sample Size (co-infected/total)	Clinical features	Outcomes (% deaths)	Study main findings	Limitations
Tadolini (22)	Multinational	49/49	Majority of males, 43 were symptomatic. 36 had active TB and another 13 had a previous history of TB. Some patients also had other comorbidities, such as HIV infection, diabetes and cancer	18 recovered individuals, 25 still on treatment and 6 deaths	Larger studies are needed to understand the role played by SARS-CoV-2 in the progression from latent TB infection to the active disease, as well as the role of <i>M. tuberculosis</i> in the progression of COVID-19. In seven cases, COVID-19 occurred in patients with TB sequelae. They were older than the other patients and had higher mortality (although not statistically significant)	International cohort composed of a heterogeneous cluster of cases, with differences in therapeutic protocols and access to healthcare services, cannot be considered representative either of the European nor of the global situation.
Chen (23)	China	36/86	Co-infected individuals showed a faster development of respiratory symptoms, as well as a more severe clinical manifestation.	Not available.	TB infection likely increases susceptibility to SARS-CoV-2, and increases COVID-19 severity	The inclusion criteria applied to classify individuals with TB are not very specific, making the co-infected group composed of a miscellany of cases with heterogeneous clinical manifestations. Lack of information on social determinants and comorbidities that may be influencing the co-infection prognosis
Stochino (24)	Italy <sup>a</sup>	20/20	Majority of males, 13 had lymphocytopenia and one had thrombocytopenia. Severe respiratory failure was observed only in the deceased patient. Biochemical tests did not show major deviations from expected values, except for D-dimer levels	12 recovered individuals, 5 still on treatment and 1 death	The impact of TB/COVID-19 co-infection appears to be clinically manageable with proper care. Rigorous infection control practices and personal protection devices are fundamental to prevent the risk of in-hospital transmission, especially when dealing with a highly vulnerable population	Clinical symptoms may have been partly under-estimated due to cultural and linguistic barriers as the vast majority of patients were recent immigrants. The duration of follow-up was limited to a few weeks, thus not allowing for assessment of longer-term outcomes
Motta (25)	Italy <sup>a</sup>	69/69	Among the individuals who died, the vast majority were male, elderly and with comorbidities such as hypertension, alcoholism and diabetes	61 recovered individuals and 8 deaths	Mortality is likely to occur in elderly patients with comorbidities; TB might not be a major determinant of mortality; migrants in this study had lower mortality, probably because of their younger age and lower number of co-morbidities	International cohort composed of a heterogeneous cluster of cases, with differences in therapeutic protocols and access to healthcare services, cannot be considered representative either of the European nor of the global situation.
Sy (26)	Philippines	172/860	Majority of males, many with hypertension and/or diabetes. Most of deaths were among older individuals and with several comorbidities	95 recovered individuals and 43 deaths (34 unknown)	Co-infection with TB increased morbidity and mortality in COVID-19 patients	Lack of information on social determinants and comorbidities that may be influencing the co-infection prognosis
Davies (27)	South Africa	2128/22308	Majority of females, many with hypertension and/or diabetes. Most of deaths were among older individuals and with several comorbidities	Coinfected HIV seronegative individuals 879 Previous TB + COVID-19: 45 deaths 155 Current TB + COVID-19: 10 deaths Coinfected HIV seropositive individuals 864 Previous TB + COVID-19: 42 deaths 172 Current TB + COVID-19: 16 deaths	Both past history of TB, current TB and TB associated with HIV increase the risk of death in patients infected by COVID-19	Lack of information on social determinants and comorbidities that may be influencing the co-infection prognosis

<sup>a</sup> Although the studies were carried out in Italy, most of the cases evaluated were in migrants.

noted that these reviews only evaluated the literature available until then, not including the results of the South African cohort, for example [27]. An assessment conducted by a task force composed of specialists in immunology and microbiology, concluded that despite the current lack of data on co-infection, it is quite likely that there is indeed a relationship between TB and the worsening prognosis of COVID-19, as well as

COVID-19 with the progression of TB. However, there has not yet been time for these analyzes to be properly conducted [29]. Over time, more studies describing TB/COVID-19 should be published, confirming these hypotheses. Even so, the lack of data from TB endemic countries and with a high incidence of COVID-19, such as Brazil and India, remains intriguing. What can already be established as a consensus is that

co-infection is particularly dangerous for people in conditions of social vulnerability, the elderly and people with other comorbidities, such as diabetes and hypertension. Considering that a significant part of the individuals who develop active TB is part of this group highlights the need for special attention to these populations during the pandemic.

There is still no experimental data of immunopathological aspects regarding TB/COVID-19 co-infection. However, based on the findings of population studies, together with what is already known about the etiology of each disease, it is possible to discuss some aspects of co-infection. Both TB and COVID-19 have airborne transmission, both affect mainly the lungs, have similar symptoms and share the same social determinants. However, *M. tuberculosis* and SARS-CoV-2, present significant differences in their pathogenesis, understanding them, as well as learning about their interactions may contribute to the development of new strategies for the prevention and treatment of TB/COVID-19 co-infection. *M. tuberculosis* and SARS-CoV-2 may act synergistically when they share the same host. *M. tuberculosis* interferes drastically in the pulmonary microenvironment; during latent TB infection, the persistence of mycobacteria induces a chronic pro-inflammatory response in the lung parenchyma, which is necessary to maintain the structural integrity of granuloma [30–32]. The main cytokines that contribute to the containment of the bacillus, TNF and IFN- $\gamma$ , also play a key role in the pro-inflammatory immunomodulation of the response against SARS-CoV-2 [33]; it is likely that stimuli against TB and COVID-19 add up in co-infected individuals, leading to the accumulation of active cells in the lung, cytokine storms and, therefore, immunopathology. The death of lung cells, due to necrosis and pyroptosis, also results in the local dispersion of DAMPs, which intensifies the inflammatory feedback in the lower respiratory tract.

The pulmonary alveoli are like battlegrounds for TB and COVID-19. However, while *M. tuberculosis* silently infiltrates into the lungs, trying to avoid the over-stimulation of the immune system, SARS-CoV-2 presents a much more aggressive approach, inducing pyroptosis and promoting immunopathology and tissue damage [34,35]. In most cases, individuals with a balanced immune system respond satisfactorily to both infections, containing or eliminating pathogens [36]. However, recent evidences indicate that, even during latency, *M. tuberculosis* persists multiplying and causing cavitory lesions [37]. The maintenance of granulomas requires fine and permanent immunomodulation, where disturbances caused by other infectious agents, such as HIV, tend to induce the activation of the disease [38,39]. Nevertheless, none of the reviewed studies set out to verify a possible causal relationship between the reactivation of TB due to SARS-CoV-2 infection. In contrast, the damage produced by TB in the lungs added to its impact on local immunity, increases the body's susceptibility to airborne pathogens [22]. This is probably the main reason for the increased risk of developing COVID-19 in patients with current or past history of TB.

The Th1 immune response against TB is characterized by the predominance of specific phagocytes and CD4 + T lymphocytes; however, the defenses against SARS-CoV-2 also depends on specialized lymphocytes [40–43]. At first, the TB/COVID-19 co-infection should delay or jeopardize the response against SARS-CoV-2, while successive inflammatory stimuli over time would result in a generalized exhaustion of T cells [44,45]. Both in TB and COVID-19, lymphocytes act as immune mediators, orchestrating the release of cytokines and chemokines at the infectious site; lymphopenia resulting from coinfection directly affects this regulation of the immune response against pathogens. The main consequence observed from lymphopenia is the exacerbated expression of cytokines, mainly pro-inflammatory [31,33,42,46–48]. Some of these cytokines expressed in co-infection may also have side effects, such as an increased expression of the ACE2 receptor on cell surface, stimulated by the IFN- $\gamma$  [49]. IL-4 and IL-13 are associated with immunopathological damage and with a worse prognosis for TB and COVID-19 [50,51]. The collapse in immune homeostasis due to lymphopenia is also followed by a considerable increase in the number of neutrophils infiltrated into the lungs [52]. Neutrophils, by themselves, do not contribute as much to the

control of infections by *M. tuberculosis* or SARS-CoV-2 in the chronic phase; however, their presence is associated with the intensification of inflammatory stimuli and tissue damage [52]. In fact, the relationship between the number of lymphocytes and neutrophils has already been identified as a possible risk marker for TB and for COVID-19 [53,54].

From a macroscopic perspective, the cavitory lesions caused by TB reshape the pulmonary architecture [55]. The necrotic parenchyma is replaced by a fibrotic epithelium, reducing the surfaces available for gas exchange; bronchiectasis and bronchostenosis that are formed restrain the airflow, while obstructed capillaries compromises the lung fluid drainage [56–58]. In general, the macrostructural changes resulting from TB compromise the functioning and defense of the lower respiratory tract, which could be a complication given the consequences of an exacerbated inflammatory response against SARS-CoV-2, such as a formation of an edema. Consequently, the lung becomes more susceptible to severe complications, such as pneumonia and respiratory failure; this is likely one of the reasons why individuals with previous history of TB, presenting pulmonary scars and fibrosis, seems to be more susceptible to SARS-CoV-2 and have a worse COVID-19 prognosis [22,26,27]. However, it should be noted that TB present a very heterogeneous spectrum of lesions, which vary according to the bacterial strain and the host's immune response [59]. These findings reinforces the need for special attention in cases of iterant or resistant TB [60–63].

Some of the pharmacological strategies proposed to control the damage caused by COVID-19 involve the modulation of immune response with corticosteroids, in order to try to reduce excessive inflammation [64]. However, the use of immunomodulators should be evaluated considering the clinical history of each individual and taking into account the epidemiological characteristics of the local population. Drugs with anti-inflammatory function, such as TNF- $\alpha$  blockers, for example, can increase the susceptibility to opportunistic pathogens, such as *M. tuberculosis*, or even compromise the structural integrity of granulomas, [65,66]. Therefore, despite the urgent need to develop of new therapies against COVID-19, we must be cautious when choosing the treatment regimen so that these drugs do not disturb immune homeostasis and result in unwanted side effects [67,68].

## 5. Final considerations

What we know about the TB epidemiology and pathology can contribute extremely to our efforts against COVID-19 pandemic; likewise, what we are learning while facing COVID-19 can be of great help in the development of new diagnostic and therapeutic strategies against TB [69,70]. Although the attention of the scientific community is focused on SARS-CoV-2, we cannot forget about older threats. Before the pandemic, TB was already neglected, even though it was the deadliest infectious disease in the world. However, with the arrival of COVID-19, the call for investment in TB control and research programs becomes even more urgent. The review's findings indicate that TB increases susceptibility to COVID-19, as well as contributing to the worsening of its symptoms subset. Individuals in a situation of social vulnerability or presenting comorbidities have a worse prognosis. On the other hand, there are still no data regarding the influence of SARS-CoV-2 on the TB progression. Given the evidence of a probable synergism between *M. tuberculosis* and the new coronavirus, such as the severity of symptoms and sequelae of co-infection, the need for further practical studies of the TB/COVID-19 pathogenesis is evident. It is possible that in the coming months there will be an increase in the number of cases of active TB, as a side effect of the COVID-19 pandemic. Therefore, understanding how pathogens share and proliferate in the pulmonary microenvironment, as well as elucidating the mechanisms involved in the susceptibility and prognosis of both infections, will be fundamental for the development of new strategies for the prevention and treatment of TB/COVID-19 co-infection.

## References

- [1] McQuaid CF, McCreesh N, Read JM, Sumner T, Houben RMGJ, White RG, et al. The potential impact of COVID-19-related disruption on tuberculosis burden. *Eur Respir J* 2020. <https://doi.org/10.1183/13993003.01718-2020>. 2001718.
- [2] Saunders MJ, Evans CA. COVID-19, tuberculosis and poverty: preventing a perfect storm. *Eur Respir J* 2020;56. <https://doi.org/10.1183/13993003.01348-2020>.
- [3] Brites D, Gagneux S. Co-evolution of Mycobacterium tuberculosis and Homo sapiens. *Immunol Rev* 2015;264:6–24. <https://doi.org/10.1111/immr.12264>.
- [4] Saunders BM, Britton WJ. Life and death in the granuloma: immunopathology of tuberculosis. *Immunol Cell Biol* 2007;85:103–11. <https://doi.org/10.1038/sj.icb.7100027>.
- [5] Who. WHO siterep 73. World Heal Organ; 2020. p. 2633. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2633>. 2019.
- [6] Alagna R, Besozzi G, Codecasa LR, Gori A, Migliori GB, Raviglione M, et al. Celebrating world tuberculosis day at the time of COVID-19. *Eur Respir J* 2020;55: 2000650. <https://doi.org/10.1183/13993003.00650-2020>.
- [7] Amimo F, Lambert B, Magit A. What does the COVID-19 pandemic mean for HIV, tuberculosis, and malaria control? *Trop Med Health* 2020;48:32. <https://doi.org/10.1186/s41182-020-00219-6>.
- [8] Togun T, Kampmann B, Stoker NG, Lipman M. Anticipating the impact of the COVID-19 pandemic on TB patients and TB control programmes. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2020;19:1–6. <https://doi.org/10.1186/s12941-020-00363-1>.
- [9] Getnet F, Demissie M, Worku A, Gobena T, Tschopp R, Girmachew M, et al. Delay in diagnosis of pulmonary tuberculosis increases the risk of pulmonary cavitation in pastoralist setting of Ethiopia. *BMC Pulm Med* 2019;19:1–10. <https://doi.org/10.1186/s12890-019-0971-y>.
- [10] Mitchison DA. How drug resistance emerges as a result of poor compliance during short course chemotherapy for tuberculosis. *Int J Tubercul Lung Dis* 1998;2:10–5.
- [11] Espinal MA, Laserson K, Camacho M, Fusheng Z, Kim SJ, Tlali E, et al. Determinants of drug-resistant tuberculosis: analysis of 11 countries. *Int J Tubercul Lung Dis* 2001;5:887–93.
- [12] Singh A, Prasad R, Gupta A, Das K, Gupta N. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 and pulmonary tuberculosis: convergence can be fatal. *Monaldi Arch Chest Dis* 2020;90. <https://doi.org/10.4081/monaldi.2020.1368>.
- [13] Hozhabri H, Piceci Sparascio F, Sohrabi H, Mousavifar L, Roy R, Scribano D, et al. The global emergency of novel coronavirus (SARS-CoV-2): an update of the current status and forecasting. *Int J Environ Res Publ Health* 2020;17. <https://doi.org/10.3390/ijerph17165648>.
- [14] Goldsmith MF. Forgotten ( almost ) but not gone , tuberculosis suddenly looms large on domestic scene. *JAMA, J Am Med Assoc* 1990;246:165–6.
- [15] Pokrovsky V. Tuberculosis and HIV/AIDS: the alien and the predator. *Lancet* 2017; 390:1618–9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32384-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32384-X).
- [16] RoW Shafer, Kim DS, Weiss JP, Quale JM. Extrapulmonary tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. *Medicine (Baltim)* 1991;70: 384–97.
- [17] Bell LCK, Noursadeghi M. Pathogenesis of HIV-1 and mycobacterium tuberculosis co-infection. *Nat Rev Microbiol* 2018;16:80–90. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.128>.
- [18] Diedrich CR, O'Hern J, Wilkinson RJ. HIV-1 and the Mycobacterium tuberculosis granuloma: a systematic review and meta-analysis. *Tuberculosis* 2016;98:62–76. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2016.02.010>.
- [19] Shi Y, Wang Y, Shao C, Huang J, Gan J, Huang X, et al. COVID-19 infection: the perspectives on immune responses. *Cell Death Differ* 2020;27:1451–4. <https://doi.org/10.1038/s41418-020-0530-3>.
- [20] Tufan A, Avanoğlu Güler A, Matucci-Cerinic M. Covid-19, immune system response, hyperinflammation and repurposing anti-rheumatic drugs. *Turk J Med Sci* 2020;50:620–32. <https://doi.org/10.3906/sag-2004-168>.
- [21] University of York. Systematic Reviews: CRD's guidance for undertaking reviews in health care. n.d.
- [22] Tadolini M, Codecasa LR, García-García J-M, Blanc F-X, Borisov S, Alffenaar J-W, et al. Active tuberculosis, sequelae and COVID-19 co-infection: first cohort of 49 cases. *Eur Respir J* 2020. <https://doi.org/10.1183/13993003.01398-2020>. 2001398.
- [23] Chen Y, Wang Y, Fleming J, Yu Y, et al. Active or latent tuberculosis increases susceptibility to COVID-19 and disease severity. *MedRxiv* 2020:2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.10.20033795>. 03.10.20033795.
- [24] Stochino C, Villa S, Zucchi P, Parravicini P, Gori A, Raviglione MC. Clinical characteristics of COVID-19 and active tuberculosis co-infection in an Italian reference hospital. *Eur Respir J* 2020;56. <https://doi.org/10.1183/13993003.01708-2020>.
- [25] Motta I, Centis R, D'Ambrosio L, García-García JM, Goletti D, Gualano G, et al. Tuberculosis, COVID-19 and migrants: preliminary analysis of deaths occurring in 69 patients from two cohorts. *J Pulmonol* 2020;26:233–40.
- [26] Sy KTL, Uy NJLH, Uy J. Previous and active tuberculosis increases risk of death and prolongs recovery in patients with COVID-19. *O Infect Dis (Auckl)* 2020:2020. <https://doi.org/10.1101/2020.07.22.20154575>. 07.22.20154575.
- [27] Davies M-A. HIV and risk of COVID-19 death : a population cohort study from the western cape province , South Africa . Author : western cape department of health in collaboration with the national institute for communicable diseases , South Africa . Corresponding aut. *MedRxiv* 2020;1–21.
- [28] Gao Y, Liu M, Chen Y, Shi S, Geng J, Tian J. Association between tuberculosis and COVID-19 severity and mortality: a rapid systematic review and meta-analysis. *J Med Virol* 2020;10–2. <https://doi.org/10.1002/jmv.26311>.
- [29] Min Ong CW, Migliori GB, Raviglione M, MacGregor-Skinner G, Sotgiu G, Alffenaar J-W, et al. Epidemic and pandemic viral infections: impact on tuberculosis and the lung. A consensus by the world association for infectious diseases and immunological disorders (WAaidid), global tuberculosis network (GTN) and members # of ESCMID study group for myco. *Eur Respir J* 2020: 2001727. <https://doi.org/10.1183/13993003.01727-2020>.
- [30] Liao M, Liu Y, Yuan J, Wen Y, Xu G, Zhao J, et al. The landscape of lung bronchoalveolar immune cells in COVID-19 revealed by single-cell RNA sequencing. *MedRxiv* 2020:2020. <https://doi.org/10.1101/2020.02.23.20026690>. 02.23.20026690.
- [31] Mack U, Migliori GB, Sester M, Rieder HL, Ehlers S, Goletti D, et al. LTBI: latent tuberculosis infection or lasting immune responses to M. tuberculosis? A TBNET consensus statement. *Eur Respir J* 2009;33:956–73. <https://doi.org/10.1183/09031936.00120908>.
- [32] Ling P, Flynn J. Understanding latent tuberculosis: a moving target. *J Immunol* 2012;185:15–22. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0903856>.
- [33] Wang W, Ye L, Ye L, Li B, Gao B, Zeng Y, et al. Up-regulation of IL-6 and TNF- $\alpha$  induced by SARS-coronavirus spike protein in murine macrophages via NF- $\kappa$ B pathway. *Virus Res* 2007;128:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.02.007>.
- [34] Ehlers S, Schaible UE. The granuloma in tuberculosis: dynamics of a host-pathogen collusion. *Front Immunol* 2012;3:1–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00411>.
- [35] Yang M. Cell pyroptosis, a potential pathogenic mechanism of 2019-nCoV. *SSRN*; 2019. Preprint.
- [36] Sakurai A, Sasaki T, Kato S, Hayashi M, Tsuzuki S, Ishihara T, et al. Natural history of asymptomatic SARS-CoV-2 infection. *New Engl J Med Corre* 2020:1–2. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2013020>.
- [37] Kursar M, Koch M, Mitrücker H-W, Nouailles G, Bonhagen K, Kamradt T, et al. Cutting edge: regulatory T cells prevent efficient clearance of Mycobacterium tuberculosis. *J Immunol* 2007;178:2661–5. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.5.2661>.
- [38] Chai Q, Zhang Y, Liu CH. Mycobacterium tuberculosis: an adaptable pathogen associated with multiple human diseases. *Front Cell Infect Microbiol* 2018;8:1–15. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00158>.
- [39] Flynn JL, Chan J, Lin P. Macrophages and control of granulomatous inflammation in tuberculosis. *Mucosal Immunol* 2012;4:271–8. <https://doi.org/10.1038/mi.2011.14.Macrophages>.
- [40] Zenaro E, Donini M, Dusi S. Induction of Th1/Th17 immune response by Mycobacterium tuberculosis: role Induction of Th1/Th17 immune response by Mycobacterium tuberculosis : role of dectin-1, mannose receptor, and DC-SIGN. *J Leukoc Biol* 2009;86:1–9. <https://doi.org/10.1189/jlb.0409242>.
- [41] Shen H, Chen ZW. The crucial roles of Th17-related cytokines/signal pathways in M. tuberculosis infection. *Cell Mol Immunol* 2017;15:216–25. <https://doi.org/10.1038/cmi.2017.128>.
- [42] Nikitina IY, Panteleev AV, George A, Serdyuk YV, Nenasheva TA, Nikolaev AA, et al. Th1, Th17, and Th1Th17 lymphocytes during tuberculosis: Th1 lymphocytes predominate and appear as low-differentiated CXCR3+CCR6+ cells in the blood and highly differentiated CXCR3+/-CCR6- cells in the lungs. *J Immunol* 2018; 200:2090. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1701424>. 103.
- [43] Zhou Y, Fu B, Zheng X, Wang D, Zhao C. Aberrant pathogenic GM-CSF+ T cells and inflammatory CD14+CD16+ monocytes in severe pulmonary syndrome patients of a new coronavirus. *BioRxiv* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.02.12.945576>.
- [44] Zheng M, Gao Y, Wang G, Song G, Liu S, Sun D, et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol* 2020:7–9. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0402-2>.
- [45] Wu Y, Chen Y. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019. *Front Immunol* 2020;11:1–7. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00827>.
- [46] Miotto D, Christodoulou P, Olivenstein R, Taha R, Cameron L, Tscopoulos A, et al. Expression of IFN- $\gamma$  - inducible protein ; monocyte chemotactic proteins 1 , 3 , and 4 ; and eotaxin in T H 1 - and T H 2-mediated lung diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:664–70. <https://doi.org/10.1067/mai.2001.113524>.
- [47] Henderson LA, Canna SW, Schulters GS, Volpi S, Lee PY, Kernan KF, et al. On the alert for cytokine storm: immunopathology in COVID-19. *Arthritis Rheum* 2020: 1–5. <https://doi.org/10.1002/art.41285>. 0.
- [48] Etna MP, Giacomini E, Severa M, Coccia EM. Pro-and anti-inflammatory cytokines in tuberculosis: a two-edged sword in TB pathogenesis. *Semin Immunol* 2014;26: 543–51. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2014.09.011>.
- [49] Ziegler CGK, Allon SJ, Nyquist SK, Mbano IM, MiaoConstatine VN, Tzouanas N. SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. *Cell* 2020;181: 1016–35. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.035>.
- [50] Busatta C, Paula V De, Luise M, Azevedo V, Paula A, Martins C. IL-4/IL-13 remodeling pathway of covid-19 lung injury. *Res Sq* 2020:1–14. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-34688/v1>.
- [51] Heitmann L, Dar MA, Schreiber T, Erdmann H, Behrends J, McKenzie ANJ, et al. The IL-13/IL-4R $\alpha$  axis is involved in tuberculosis-associated pathology. *J Pathol* 2014;338–50. <https://doi.org/10.1002/path.4399>.
- [52] Muefung CN, Sutherland JS. Neutrophils in tuberculosis-associated inflammation and lung pathology. *Front Immunol* 2020;11:1–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00962>.
- [53] Liu Y, Du X, Chen J, Jin Y, Peng L, Wang HXH, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as an independent risk factor for mortality in hospitalized patients with COVID-19. *J Infect* 2020;81:6–12. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.002>.

- [54] Miyahara R, Piyaworawong S, Naranbhai V, Prachamat P, Kriengwatanapong P, Tsuchiya N, et al. Predicting the risk of pulmonary tuberculosis based on the neutrophil-to-lymphocyte ratio at TB screening in HIV-infected individuals. *BMC Infect Dis* 2019;19:1–9. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4292-9>.
- [55] Dheda K, Booth H, Huggett JF, Johnson MA, Zumla A, Rook GAW. Lung remodeling in pulmonary tuberculosis. *J Infect Dis* 2005;192:1201–9. <https://doi.org/10.1086/444545>.
- [56] Curtis JK. The significance of bronchiectasis associated with pulmonary tuberculosis. *Am J Med* 1957;894–903. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(57\)90025-6](https://doi.org/10.1016/0002-9343(57)90025-6).
- [57] Rosenzweig DY, Stead WW. The role of tuberculosis and other forms of bronchopulmonary necrosis in the pathogenesis of bronchiectasis. *AmRev Respir Dis* 1966;93:769–85.
- [58] Kern A. Cytokine networks in the regulation of inflammation and fibrosis in the lung. *Chest* 1990;97:1439–45. <https://doi.org/10.1378/chest.97.6.1439>.
- [59] Dormans J, Burger M, Aguilar D, Hernandez-Pando R, Kremer K, Roholl P, et al. Correlation of virulence, lung pathology, bacterial load and delayed type hypersensitivity responses after infection with different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes in a BALB/c mouse model. *Clin Exp Immunol* 2004;137:460–8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2004.02551.x>.
- [60] Kim YH, Kim HT, Lee KS, Ph D, Uh ST, Cung YT, et al. Fiberoptic bronchoscopic observations of endobronchial tuberculosis before and early after antituberculosis chemotherapy. *Chest* 1993;103:673–7. <https://doi.org/10.1378/chest.103.3.673>.
- [61] Hnizdo E, Singh T, Churchyard G. Chronic pulmonary function impairment caused by initial and recurrent pulmonary tuberculosis following treatment. *Thorax* 2000;55:32–8. <https://doi.org/10.1136/thorax.55.1.32>.
- [62] Ravimohan S, Kornfeld H, Weissman D, Bisson GP. Tuberculosis and lung damage: from epidemiology to pathophysiology. *Eur Respir Rev* 2018;27. <https://doi.org/10.1183/16000617.0077-2017>.
- [63] Ralph AP, Kenangalem E, Waramori G, Pontororing GJ, Sandjaja, Tjitra E, et al. High morbidity during treatment and residual pulmonary disability in pulmonary tuberculosis: under-recognised phenomena. *PLoS One* 2013;8:1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080302>.
- [64] Zhang W, Zhao Y, Zhang F, Wang Q, Li T, Liu Z, et al. The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): the experience of clinical immunologists from China. *Clin Immunol* 2020;214:108393. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108393>.
- [65] Alzeer AH, FitzGerald JM. Corticosteroids and tuberculosis: risks and use as adjunct therapy. *Tuber Lung Dis* 1993;74:6–11. [https://doi.org/10.1016/0962-8479\(93\)90060-b](https://doi.org/10.1016/0962-8479(93)90060-b).
- [66] Cisneros JR, Murray KM. Corticosteroids in tuberculosis. *Ann Pharmacother* 1996;30:1298–303. <https://doi.org/10.1177/106002809603001115>.
- [67] Shu C, Wu H, Yu M, Wang J, Lee C, Wang H, et al. Use of high-dose inhaled corticosteroids is associated with pulmonary tuberculosis in patients with chronic. *Medicine (Baltim)* 2010;89:53–61. <https://doi.org/10.1097/MD.0b013e3181cafcd3>.
- [68] Felsenstein S, Herbert JA, McNamara PS, Hedrich CM. COVID-19: immunology and treatment options. *Clin Immunol* 2020;215:108448. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108448>.
- [69] Atal S, Fatima Z. IL-6 inhibitors in the treatment of serious COVID-19: a promising therapy? *Pharmaceut Med* 2020. <https://doi.org/10.1007/s40290-020-00342-z>.
- [70] Dara M, Sotgiu G, Reichler CY, Chiang CBE, Migliori GB. New diseases and old threats: lessons from tuberculosis for the COVID-19 response Impact of COVID-19 on tuberculosis control in China. *Int J Tuberc Lung Dis* n.d.:544. 5.

1 **3.2 Artigo 2**

2 “TLR2 rs111200466 polymorphism and its influence on CD3+ and CD4+ T  
3 lymphocyte counts of HIV-1 seropositive individuals in southern Brazil”; artigo  
4 original submetido à revista *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* – (índice de  
5 impacto: 2.280; instruções para autores:  
6 <https://memorias.ioc.fiocruz.br/instructions-to-authors>).

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

1 ***TLR2* rs111200466 polymorphism and its influence on CD3<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T lymphocyte**  
2 **counts in HIV-1 seropositive individuals in southern Brazil.**

3 Gabriel Tassi Mousquer<sup>1</sup> ([gabriel\\_mousquer@hotmail.com](mailto:gabriel_mousquer@hotmail.com)), Ana Carolina Pompeu  
4 Saraiva<sup>1,2</sup> ([anapompeusaraiva@gmail.com](mailto:anapompeusaraiva@gmail.com)), Mariana Milano<sup>2,3</sup>  
5 ([marianamilano@hotmail.com](mailto:marianamilano@hotmail.com)), Bruno Rutkoski Dörr<sup>4</sup> ([brunodorr@gmail.com](mailto:brunodorr@gmail.com)),  
6 Sabrina Esteves de Matos Almeida<sup>5</sup> ([sabrina.gene@gmail.com](mailto:sabrina.gene@gmail.com)), Elizângela Costa da  
7 Silva<sup>6</sup> ([eliz.ecs@gmail.com](mailto:eliz.ecs@gmail.com)), Elis Regina Dalla Costa<sup>1</sup> ([dallacostaer@gmail.com](mailto:dallacostaer@gmail.com)), Maria  
8 Lucia Rosa Rossetti<sup>2,3,7</sup> ([mrossett@terra.com.br](mailto:mrossett@terra.com.br)), Lia Gonçalves Possuelo<sup>8</sup>  
9 ([liapossuelo@unisc.br](mailto:liapossuelo@unisc.br)), Vanessa Suñe Mattevi<sup>1,9</sup> ([vmattevi@ufcspa.edu.br](mailto:vmattevi@ufcspa.edu.br)), Marilu  
10 Fiegenbaum<sup>1,9\*</sup> ([marilu.fiegenbaum@gmail.com](mailto:marilu.fiegenbaum@gmail.com), [mariluf@ufcspa.edu.br](mailto:mariluf@ufcspa.edu.br)).

11

12 1. Graduate Program in Biosciences, Federal University of Health Sciences of Porto  
13 Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, Brazil.

14 2. Center for Scientific and Technological Development, Health Secretariat of the State  
15 of Rio Grande do Sul State (CDCT/SES/RS), Porto Alegre, Brazil.

16 3. Graduate Program in Cell and Molecular Biology, Federal University of the State of  
17 Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.

18 4. Central Laboratory of Rio Grande do Sul State – Virology Department (LACEN/RS),  
19 Porto Alegre, Brazil.

20 5. Feevale University, Novo Hamburgo, RS, Brazil.

21 6. Center for Biosciences and Biotechnology, State University of the North Fluminense  
22 Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes, Brazil.

23 7. Graduate Program in Cellular and Molecular Biology Applied to Health, Lutheran  
24 University of Brazil (ULBRA), Canoas, Brazil.

1 8. Department of Biology and Pharmaceutical Sciences and the Post-Graduation  
2 Program in Health Promotion, University of Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, Brazil.

3 9. Basic Health Sciences Department, Federal University of Health Sciences of Porto  
4 Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, Brazil.

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19 **\* Corresponding author:**

20 Marilu Fiegenbaum

21 Basic Health Sciences Department

22 Federal University of Health Sciences of Porto Alegre

23 Address: Sarmiento Leite, 245/403 - Porto Alegre – RS – Brazil

24 e-mail: marilu.fiegenbaum@gmail.com; [mariluf@ufcspa.edu.br](mailto:mariluf@ufcspa.edu.br)

**1 Abstract**

2 The toll-like receptor 2 (TLR2) plays a key role in innate immunity, identifying  
3 molecular patterns associated with pathogens (PAMPs) and orchestrating the  
4 immunomodulation against potential threats. However, the constant pro-  
5 inflammatory stimuli induced via TLR2 by PAMPs by the human immunodeficiency  
6 virus type-1 (HIV-1), as well as by opportunistic pathogens, contribute to the immune  
7 exhaustion in HIV-1 seropositive individuals. The rs111200466 polymorphism is a  
8 deletion, located in the promoter region of the *TLR2* gene, which reduces the  
9 expression of the receptor on the cell surface. To evaluate the influence of  
10 rs111200466 on the progression of HIV-1 infection, we compared the different *TLR2*  
11 genotypes with the CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocyte loads in HIV-1 infected  
12 individuals. Our results indicate that the rs111200466 heterozygous genotype is  
13 associated with higher CD3<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> cell counts and may influence in the progression  
14 of the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). These findings highlight TLR2 as a  
15 possible target for the therapeutic immunomodulation against HIV-1 infection.

16

17 **Keywords:** TLR2; HIV-1; polymorphism; immunomodulation; T lymphocytes.

18

19

20

21

22

23

24

## 1 INTRODUCTION

2 Almost four decades after the discovery of HIV, AIDS persists as one of the main  
3 causes of death among all infectious diseases worldwide (Palm 2020). The high genetic  
4 variability, added to its resilience and versatility to evade and subvert the immune  
5 system, make HIV-1 a formidable pathogen. Despite all the advances in the  
6 development of high activity antiretroviral therapy (HAART), HIV-1 resists latently,  
7 taking refuge in the cells of reservoir tissues, such as lymph nodes (Pantaleo et al.  
8 1991). The immune exhaustion, previously controlled with the use of antiretroviral  
9 drugs, is now threatened by the emergence of HIV-1 pan-resistant strains (Puertas et  
10 al. 2020). In this context, the urgency for the development of new HIV-1 treatment  
11 strategies, based on immunomodulation, is evident. Among the possible therapeutic  
12 candidates for immunotherapy, TLR2 is undoubtedly a good bet, especially due to its  
13 wide repertoire of recognizable PAMPs.

14 The rs111200466 is an insertion/deletion polymorphism, located in the  
15 promoter region -196 to -174 of the human *TLR2* gene, which significantly reduces the  
16 expression of the TLR2 receptor and has been associated with susceptibility to  
17 different pathogens (Noguchi et al. 2004, Chen et al. 2010, Re et al. 2016, Lourenço et  
18 al. 2020). However, studies of rs111200466 among HIV-1 seropositive individuals have  
19 shown controversial results. While in the North Indian population the homozygous  
20 variant genotype was associated with increased susceptibility to HIV-1, in the Spanish  
21 population its effect appears to be protective against infection (Vidyant et al. 2017,  
22 Royo et al. 2018). The Spanish researchers also identified a relationship between the  
23 deletion in *TRL2* gene with lower CD4<sup>+</sup> T lymphocyte counts, as well as with a worse  
24 prognosis for HIV-1 infection (Laplana et al. 2020). Despite the divergences between

1 the studies, these findings emphasize the *TLR2* as a genetic factor associated to  
2 immune variability and *TLR2* as a potential target for new immunomodulatory  
3 therapies against HIV-1 (Macedo et al. 2018).

4 The aim of this study was to elucidate the role of *TLR2* genetic variability in the  
5 progression of HIV-1 infection, by analyzing the influence of rs111200466  
6 polymorphism on CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocyte loads in HIV-1 seropositive  
7 individuals from the Southern Brazilian population, comparing their lymphocyte counts  
8 over the years during the post-diagnostic monitoring.

9

## 10 **METHODOLOGY**

11 This is a retrospective cohort study, conducted in accordance with the  
12 principles of ethics in research with human beings and approved by the ethics  
13 committees of the Federal University of Health Sciences of Porto Alegre (UFCSPA)  
14 #3.265.993 and the Health Secretariat of the State of Rio Grande do Sul (SES-RS)  
15 #09/2011. DNA samples from 85 HIV-1 seropositive individuals were analyzed; these  
16 samples were originally collected by other studies between 2011 and 2015 and stored  
17 at the biobank of the Center for Scientific and Technological Development (CDCT) of  
18 SES-RS. The information regarding the epidemiological profile of the study population  
19 was obtained from the sample records in digital databases. Ethnic determination  
20 followed the classification 'race/color' by self-identification, based on the same  
21 methodology adopted by the official Brazilian populational census (IBGE 2010),  
22 previously validated by other authors (Cardena et al. 2013); according to this self-  
23 identification, subjects were divided in three skin color categories: white, brown and  
24 black.

1           The rs111200466 polymorphism was analyzed by the polymerase chain  
2 reaction, using the following primer sequences: forward 5'-CACGGAGGCAGCGAGAAA  
3 and reverse 5'-CTGGGCCGTGCAAAGAAG. Genotyping was performed by  
4 electrophoresis on a 4% agarose gel, in which the visualization of a single 286 bp  
5 amplicon identifies the homozygous wild type genotype, a single 264 bp amplicon  
6 identifies the variant homozygous genotype (deleterious) and, therefore, the  
7 simultaneous presence of the two amplicons with 264 bp and 286 bp characterizes the  
8 heterozygous genotype. To confirm the electrophoresis results, a sample of each  
9 genotype was also sequenced using the Sanger method, ensuring that the  
10 amplification occurred in the correct loci.

11           Clinical data and lymphocyte counts were obtained in collaboration with the  
12 Virology Laboratory of SES-RS, based on the records of the Notifiable Diseases  
13 Information System (SINAN) of the Brazilian Ministry of Health. Until 2016, periodic  
14 lymphocyte count tests were part of the routine in the Brazilian HIV-1 monitoring  
15 protocol. HAART used to start only after confirmation of progression to AIDS  
16 (Secretaria Estadual da Saúde do Rio Grande Sul, Brasil 2016); therefore, we chose to  
17 focus our analyses on the first years of post-diagnostic follow-up, prior to patients  
18 adhering to HAART. To perform a standardized assessment of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> T  
19 lymphocyte counts, the annual means were calculated from each patient's medical  
20 history follow-up.

21           Statistical analyses were performed using the software SPSS® version 20.0.  
22 (IBM, United States). Continuous variables are presented as mean ± standard deviation  
23 and qualitative variables are presented as absolute frequency and percentage. The  
24 Hardy-Weinberg Equilibrium was verified by the chi-square test. Quantitative variables

1 were compared among groups by Kruskal-Wallis and categorical variables were  
2 compared using chi-square tests, a  $p < 0.05$  indicated statistical significance. In  
3 addition, a Cox regression analysis was performed using the time to reach CD4 + cells  
4 levels  $< 200$  cells/mm<sup>3</sup> in years as the dependent variable. To estimate the hazard ratio  
5 (HR), variables that could influence the course of CD4+ cells were tested using Cox  
6 regression in a univariate model. The following variables were included: TB coinfection,  
7 sex, age and ethnicity. Variables with a  $p < 0.1$  were maintained in the multivariate  
8 model to address the effect of *TLR2* polymorphism.

9

## 10 **RESULTS**

### 11 **Sample description**

12 Sociodemographic and epidemiological characteristics of the study population  
13 are described in Table 1. The sample was composed mainly by males (62.7%), the  
14 average age of the study subjects was 37 years old (standard deviation of  $\pm 13$  years)  
15 and most of them were self-declared white (56.25%). In general, the evaluated  
16 individuals had their lymphocyte counts monitored for approximately 7 years, the  
17 average lymphocyte loads at the baseline were 1486.25 CD3 + cells / mm<sup>3</sup>, 450.94 CD4  
18 + cells / mm<sup>3</sup> and 1003.73 CD8 + cells / mm<sup>3</sup>. The frequency of the allelic variant in the  
19 study sample was 14%.

### 20 **Association of rs111200466 with CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> levels**

21 The data from the CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes counts according to  
22 *TLR2* rs111200466 genotypes are described in Table 2. Our results indicate that the  
23 heterozygous genotype is associated with higher CD3<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> total loads, based on  
24 the average of all counts performed ( $p = 0.018$  and  $p = 0.007$ , respectively). By

1 chronologically assessing the three first years of lymphocyte counts, the relationship  
2 between the heterozygous genotype with higher CD3<sup>+</sup> (1<sup>st</sup> year  $p = 0.007$  and 2<sup>nd</sup> year  
3  $p = 0.002$ ) and higher CD4<sup>+</sup> loads (1<sup>st</sup> year  $p = 0.014$  and 2<sup>nd</sup> year  $p = 0.010$ ) is once  
4 again observed during the first two years of post-diagnosis follow-up. However, it is  
5 noteworthy that this trend is no longer observed from the second year after diagnosis,  
6 as well as no association was identified between rs111200466 genotypes and CD8<sup>+</sup> T  
7 lymphocyte loads.

8 A multivariate Cox regression was performed using the time to reach CD4<sup>+</sup> <  
9 200 cells / mm<sup>3</sup> in years as the dependent variable. Through this analysis, we observed  
10 that heterozygous seem to show a trend to a slower reduction of CD4<sup>+</sup> levels over time  
11 (HR= 0.29, 95% CI=0.27–1.25,  $p=0.098$ , Figure 1) and, therefore, a slower progression  
12 to AIDS.

13

#### 14 **DISCUSSION**

15 Our findings highlight the influence of *TLR2* expression on CD3<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T  
16 lymphocyte loads in HIV-1 seropositive individuals. These impacts are more evident  
17 during the first two years after HIV-1 diagnosis (Table 2), at the beginning of the  
18 chronic phase of the infection, and seem to contribute to a slower progression to AIDS  
19 (Figure 1). It is worth mentioning that no associations between the rs111200466  
20 genotypes and the CD8<sup>+</sup> T lymphocyte counts were identified. The fact that the  
21 polymorphism is associated only with CD3<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> cells might be explained by the  
22 higher tropism of HIV-1 or these cell types and to its importance during the course of  
23 infection (Cheng-Mayer et al. 1990). There is growing evidence on the influence of  
24 TLR2 on the prognosis of HIV-1 infection. Despite recognizing mainly constitutive

1 lipopolysaccharides from Gram-positive bacteria, TLR2 is also sensitive to HIV-1 capsid  
2 glycoproteins, such as p17, p24 and gp41 (Henrick et al. 2015). The stimulation of TLR2  
3 triggers an intracellular cascade that culminates in the activation of the transcription  
4 factor NF- $\kappa$ B, which promotes the synthesis of molecules involved in the pro-  
5 inflammatory response, such as cytokines and chemokines (Kopp & Medzhitov 2003).  
6 However, in HIV-1 infected cells, NF- $\kappa$ B also promotes the transcription of proviruses  
7 integrated into the host's genome (Báfica et al. 2003, 2004, Equils et al. 2003).  
8 Consequently, the expression of *TLR2* is associated with increased reactivation and  
9 replication of HIV-1 copies, as well as with greater cell permissiveness to the virus  
10 (Ding & Chang 2012, Novis et al. 2013, Bolduc et al. 2017). Furthermore, the activation  
11 of the immune response by TLR2 also promotes local inflammation with the  
12 recruitment of active CD4<sup>+</sup> T lymphocytes, providing an additional substrate for viral  
13 infection (Henrick et al. 2015).

14         It is likely that immune activation by triggering TLR2 is the reason why the  
15 rs111200466 heterozygous individuals have higher CD4<sup>+</sup> T counts. The moderate  
16 expression of TLR2 results in less stimulation of the receptor and, consequently, less  
17 viral replication, reducing the exhaustion of the immune system. In contrast,  
18 individuals homozygous for the deletion are more prone to be infected by  
19 opportunistic pathogens, which also result in greater immune activation and cell  
20 exhaustion. Therefore, the heterozygous genotype represents a balanced response  
21 pathway, avoiding exacerbated stimulation of the receptor, while providing protection  
22 against opportunistic infections. In fact, although immune activation is advantageous  
23 in the initial innate defense against HIV-1, in the chronic phase it becomes harmful (Ipp  
24 & Zemlin 2013). According to this hypothesis, studies with the simian

1 immunodeficiency virus (SIV) in primates indicate that species that present a more  
2 moderate inflammatory response throughout chronic infection tend to not progress to  
3 AIDS (Pandrea & Apetrei 2010, Chahroudi et al. 2012, McGary et al. 2014, Palesch et al.  
4 2018).

5       Pharmacological immunomodulation of TLRs has already been tested  
6 successfully in experimental trials, which reinforces the importance of understanding  
7 the influence of TLRs on the prognosis of HIV-1 infection (Cheng et al. 2018, Saxena et  
8 al. 2019). Although our results point in the opposite direction from what was observed  
9 in the Spanish population by Laplana et al. 2020, they reinforce the evidence that TLR2  
10 plays an important role in the immunomodulation of HIV-1 seropositive patients. This  
11 ambivalence played by TLR2 in HIV-1 infection has already been demonstrated in  
12 studies with other members of his class and, apparently, the stage of infection and the  
13 cell type involved also influence the outcome (Schlaepfer et al. 2006, Biasin et al. 2010,  
14 Hernández et al. 2011, Sironi et al. 2012, MacKelprang et al. 2013). It is likely that other  
15 polymorphisms in the *TLR2* also contribute to the regulation of its expression and,  
16 consequently, influence in the lymphocyte counts (MacKelprang et al. 2013); besides  
17 that, genetic differences between the Brazilian and Spanish populations may also  
18 explain the disparity in the results. Our study has important limitations, such as the  
19 lack of analysis of ancestry and, above all, its small sample size; however, it offers a  
20 rare opportunity to assess chronological variations in lymphocyte loads in the pre-  
21 HAART period. Ongoing studies by our group with larger sample banks will allow  
22 further analyses of the relationships between polymorphisms in the TLR genes with  
23 lymphocyte counts and AIDS progression.

24

## 1           **CONCLUSION**

2   The activation of the innate immune response is one of the key mechanisms involved  
3   in the progression of HIV-1 infection. Understanding how cellular receptors modulate  
4   host's defenses is fundamental to the development of new therapeutic strategies  
5   against the virus. Our findings emphasize the importance of TLR2 for the CD3<sup>+</sup> and  
6   CD4<sup>+</sup> T lymphocytes loads during the first years after seroconversion and reinforces the  
7   hypothesis that a more balanced, or moderate, immune response confers an  
8   advantage during the chronic phase of HIV-1 infection, contributing to a slower  
9   progression to AIDS. Finally, the role of TLR2 in pathogenesis of HIV-1 infection is  
10  highlighted, as well as its potential use as a target for immunomodulation.

## 12           **REFERENCES**

- 13  Báfica A, Scanga CA, Schito M, Chaussabel D, Sher A 2004. Influence of Coinfecting  
14       Pathogens on HIV Expression: Evidence for a Role of Toll-Like Receptors. *J.*  
15       *Immunol.* 172: 7229–7234.
- 16  Báfica A, Scanga CA, Schito ML, Hieny S, Sher A 2003. Cutting Edge: In Vivo Induction of  
17       Integrated HIV-1 Expression by Mycobacteria Is Critically Dependent on Toll-Like  
18       Receptor 2. *J. Immunol.* 171: 1123–1127.
- 19  Biasin M, Piacentini L, Caputo S Lo, Naddeo V, Pierotti P, Borelli M, Trabattoni D,  
20       Mazzotta F, Shearer GM, Clerici M 2010. TLR Activation Pathways in HIV-1–  
21       Exposed Seronegative Individuals. *J. Immunol.* 184: 2710–2717.
- 22  Bolduc J-F, Ouellet M, Hany L, Tremblay MJ 2017. Toll-Like Receptor 2 Ligation  
23       Enhances HIV-1 Replication in Activated CCR6<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T Cells by Increasing Virus  
24       Entry and Establishing a More Permissive Environment to Infection. *J. Virol.* 91: 1–

- 1           15.
- 2   Cardena MMSG, Ribeiro-dos-Santos Â, Santos S, Mansur AJ, Pereira AC, Fridman C  
3           2013. Assessment of the Relationship between Self-Declared Ethnicity,  
4           Mitochondrial Haplogroups and Genomic Ancestry in Brazilian Individuals. *PLoS*  
5           *One* 8.
- 6   Chahroudi A, Bosinger SE, Vanderford TH, Paiardini M, Silvestri G 2012. Natural SIV  
7           hosts: Showing AIDS the door. *Science (80-. )*. 335: 1188–1193.
- 8   Chen Y, Hsiao C, Chen C, Chin C, Liu S, Wu C, Eng H, Chao T, Tsen C, Wang Y, Lin M  
9           2010. Toll-like receptor 2 gene polymorphisms, pulmonary tuberculosis , and  
10          natural killer cell counts. *BMC Med. Genet.* 11: 1–10.
- 11   Cheng-Mayer C, Quiroga M, Tung JW, Dina D, Levy JA 1990. Viral determinants of  
12          human immunodeficiency virus type 1 T-cell or macrophage tropism,  
13          cytopathogenicity, and CD4 antigen modulation. *J. Virol.* 64: 4390–4398.
- 14   Cheng L, Wang Q, Li G, Banga R, Ma J, Yu H, Yasui F, Zhang Z, Pantaleo G, Perreau M,  
15          Zurawski S, Zurawski G, Levy Y, Su L 2018. TLR3 agonist and CD40-targeting  
16          vaccination induces immune responses and reduces HIV-1 reservoirs. *J. Clin.*  
17          *Invest.* 128: 4387–4396.
- 18   Ding J, Chang TL 2012. TLR2 Activation Enhances HIV Nuclear Import and Infection  
19          through T Cell Activation-Independent and -Dependent Pathways. *J. Immunol.*  
20          188: 992–1001.
- 21   Equils O, Schito ML, Karahashi H, Madak Z, Yarali A, Michelsen KS, Sher A, Arditi M  
22          2003. Toll-Like Receptor 2 (TLR2) and TLR9 Signaling Results in HIV-Long Terminal  
23          Repeat Trans -Activation and HIV Replication in HIV-1 Transgenic Mouse Spleen  
24          Cells: Implications of Simultaneous Activation of TLRs on HIV Replication . *J.*

- 1        *Immunol.* 170: 5159–5164.
- 2        Henrick BM, Yao XD, Rosenthal KL 2015. HIV-1 structural proteins serve as PAMPs for  
3        TLR2 heterodimers significantly increasing infection and innate immune  
4        activation. *Front. Immunol.* 6: 1–15.
- 5        Hernández JC, Arteaga J, Paul S, Kumar A, Latz E, Urcuqui-Inchima S 2011. Up-  
6        regulation of TLR2 and TLR4 in dendritic cells in response to hiv type 1 and  
7        coinfection with opportunistic pathogens. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 27: 1099–  
8        1109.
- 9        IBGE 2010. Censo demográfico 2010.
- 10        Ipp H, Zemlin A 2013. The paradox of the immune response in HIV infection: When  
11        inflammation becomes harmful. *Clin. Chim. Acta* 416: 96–99.
- 12        Kopp E, Medzhitov R 2003. Recognition of microbial infection by Toll-like receptors.  
13        *Curr. Opin. Immunol.* 15: 396–401.
- 14        Laplana M, Bravo MJ, Fernández-Fuertes M, Ruiz-Garcia C, Alarcón-Martin E,  
15        Colmenero J de D, Caruz A, Fibla J, Real LM, Royo JL 2020. Toll-Like Receptor 2  
16        Promoter -196 to -174 Deletion Affects CD4 Levels Along Human  
17        Immunodeficiency Virus Infection Progression. *J. Infect. Dis.* 222: 2007–2011.
- 18        Lourenço CDM, Susi MD, Cristina M, Junior VS, Paula A, Vila S, Rodrigues-flemming GH,  
19        Goloni-bertollo EM, Silva AE, Oliveira-cucolo JG De, Rodrigues-fleming GH, Maria  
20        E, Paulo S, Cristina M, Junior VS, Paula A, Vila S, Rodrigues-flemming H, Goloni-  
21        bertollo EM, Oliveira-cucolo JG De 2020. Characterization and strong risk  
22        association of TLR2 del -196 to -174 polymorphism and Helicobacter pylori and  
23        their influence on mRNA expression in gastric cancer. 12: 535–549.
- 24        Macedo AB, Novis CL, Assis CM De, Sorensen ES, Moszczyński P, Huang SH, Ren Y,

- 1 Spivak AM, Jones RB, Planelles V, Bosque A 2018. Dual TLR2 and TLR7 agonists as  
2 HIV latency-reversing agents. *JCI insight* 3: 1–17.
- 3 MacKelprang RD, Bigham AW, Celum C, Bruyn G De, Beima-Sofie K, John-Stewart G,  
4 Ronald A, Mugo NR, Buckingham KJ, Bamshad MJ, Mullins JI, McElrath MJ,  
5 Lingappa JR 2014. Toll-like receptor polymorphism associations with HIV-1  
6 outcomes among sub-saharan Africans. *J. Infect. Dis.* 209: 1623–1627.
- 7 McGary CS, Cervasi B, Chahroudi A, Micci L, Taaffe J, Meeker T, Silvestri G, Davenport  
8 MP, Paiardini M 2014. Increased Stability and Limited Proliferation of CD4+  
9 Central Memory T Cells Differentiate Nonprogressive Simian Immunodeficiency  
10 Virus (SIV) Infection of Sooty Mangabeys from Progressive SIV Infection of Rhesus  
11 Macaques. *J. Virol.* 88: 4533–4542.
- 12 Noguchi E, Nishimura F, Fukai H, Kim J, Ichikawa K, Shibasaki M, Arinami T 2004. An  
13 association study of asthma and total serum immunoglobulin E levels for Toll-like  
14 receptor polymorphisms in a Japanese population. *Clin. Exp. Allergy* 34: 177–183.
- 15 Novis CL, Archin NM, Buzon MJ, Verdin E, Round JL, Lichterfeld M, Margolis DM,  
16 Planelles V, Bosque A 2013. Reactivation of latent HIV-1 in central memory CD4+ T  
17 cells through TLR-1/2 stimulation. *Retrovirology* 10: 1.
- 18 Palesch D, Bosinger SE, Tharp GK, Vanderford TH, Paiardini M, Chahroudi A, Johnson  
19 ZP, Kirchhoff F, Hahn BH, Norgren RB, Patel NB, Sodora DL, Dawoud RA, Stewart  
20 CB, Seepo SM, Harris RA, Liu Y, Raveendran M, Han Y, English A, Thomas GWC,  
21 Hahn MW, Pipes L, Mason CE, Muzny DM, Gibbs RA, Sauter D, Worley K, Rogers J,  
22 Silvestri G 2018. Sooty mangabey genome sequence provides insight into AIDS  
23 resistance in a natural SIV host. *Nature* 553: 77–81.
- 24 Palm D 2020. Seizing the Square. *Seizing Sq.*

- 1 Pandrea I, Apetrei C 2010. Where the wild things are: Pathogenesis of SIV infection in  
2 African nonhuman primate hosts. *Curr. HIV/AIDS Rep.* 7: 28–36.
- 3 Pantaleo G, Graziosi C, Butini L, Pizzo PA, Schnittman SM, Kotler DP, Fauci AS 1991.  
4 Lymphoid organs function as major reservoirs for human immunodeficiency virus.  
5 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88: 9838–9842.
- 6 Puertas MC, Ploumidis G, Ploumidis M, Fumero E, Clotet B, Walworth CM, Petropoulos  
7 CJ, Martinez-picado J 2020. Articles Pan-resistant HIV-1 emergence in the era of  
8 integrase strand-transfer inhibitors : a case report. *The Lancet Microbe* 1: e130–  
9 e135.
- 10 Re V De, Zorzi M De, Caggiari L, Lauletta G, Tornesello L, Fognani E, Miorin M, Racanelli  
11 V, Quartuccio L, Gragnani L, Russi S, Pavone F, Ghersetti M, Garlatti E, Casarin P,  
12 Bomben R, Mazzaro C, Basaglia G 2016. HCV-related liver and lymphoproliferative  
13 diseases : association with polymorphisms of IL28B and TLR2. 7.
- 14 Royo JL, Alarcón-Martín E, Díaz-Fuentes J, Colmenero JD, Bravo MJ 2018. Discordance  
15 in TLR2 (–196 to –174) polymorphism effect on HIV infection risk. *J. Gene Med.*  
16 20: 3–4.
- 17 Saxena M, Sabado RL, Mar M La, Mohri H, Salazar AM, Dong H, Rosa JC Da, Markowitz  
18 M, Bhardwaj N, Miller E 2019. Poly-ICLC, a TLR3 agonist, induces transient innate  
19 immune responses in patients with treated HIV-infection: A randomized double-  
20 blinded placebo controlled trial. *Front. Immunol.* 10: 1–12.
- 21 Schlaepfer E, Audigé A, Joller H, Speck RF 2006. TLR7/8 Triggering Exerts Opposing  
22 Effects in Acute versus Latent HIV Infection. *J. Immunol.* 176: 2888–2895.
- 23 Secretaria Estadual da Saúde do Rio Grande Sul - Coordenação de DST/AIDS, Brasil.  
24 Universidade Federal do Rio Grande do Sul B 2016. *Protocolo Clínico para*

1 *acompanhamento e tratamento de pessoas com HIV/AIDS na Atenção Primária à*  
2 *Saúde.*

3 Sironi M, Biasin M, Cagliani R, Forni D, Luca M De, Saulle I, Caputo S Lo, Mazzotta F,  
4 Macías J, Pineda JA, Caruz A, Clerici M 2012. A Common Polymorphism in TLR3  
5 Confers Natural Resistance to HIV-1 Infection . *J. Immunol.* 188: 818–823.

6 Vidyant S, Chatterjee A, Agarwal V, Dhole TN 2017. Susceptibility to HIV-1 infection is  
7 influenced by toll like receptor-2 (-196 to -174) polymorphism in a north Indian  
8 population. *J. Gene Med.* 19.

9

1 **Table 1: Epidemiological characterization of the study population.**

<b>VARIABLE</b>		
<b>Male Sex</b>	54/85 (62.7%)	
<b>Age (years)<sup>1</sup></b>	37 ( $\pm$ 13)	
<b>Color<sup>2</sup></b>		
White	18/32 (56.25%)	
Brown	12/32 (37.5%)	
Black	2/32 (6.25%)	
<b>Tobacco smoking</b>	18/32 (56.25%)	
<b>Alcohol abuse</b>	7/32 (21.88%)	
<b>Drug users</b>	15/32 (46.88%)	
<b>Prior incarceration</b>	6/32 (18.75%)	
<b>Years of CD4 dosages</b>	7	
<b>T lymphocyte counts<sup>1</sup></b>	Baseline	Final
CD3 <sup>+</sup> (cells / mm <sup>3</sup> )	1486.25 $\pm$ 506.09	1491.91 $\pm$ 672.96
CD4 <sup>+</sup> (cells / mm <sup>3</sup> )	450.94 $\pm$ 263.95	530.40 $\pm$ 340.59
CD8 <sup>+</sup> (cells / mm <sup>3</sup> )	1003.73 $\pm$ 412.47	965 $\pm$ 481.76

2 <sup>1</sup> Mean ( $\pm$ standard deviation), <sup>2</sup> Self-identification according to the 'race/color'  
3 classification scheme adopted by the official 2010 Brazilian census.

4

5

1 Table 2. CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocyte counts according to TLR2 genotypes of rs111200466

	GENOTYPES			P
	wt/wt	wt/del	del/del	
<b>N</b>	64	18	3	
<b>CD3<sup>+</sup> T LYMPHOCYTE COUNTS</b>				
<b>Average of all counts after HIV diagnosis (cells / mm<sup>3</sup>)</b>	1435,1 (1193.6; 1875.9)	1829 (1736.6; 2113)	1520,9 (1320; 1995.3)	0.018
<b>1<sup>st</sup> year after diagnosis</b>	1541 (1164.2; 1629.6)	1720.7 (1448.3; 1947.5)	2123 (1631.5; 2483)	0.007
<b>2<sup>nd</sup> year after diagnosis</b>	1576.3 (1284; 1863.3)	1965.8 (1645.7; 2112.3)	2035 (1806; 2316.1)	0.002
<b>3<sup>rd</sup> year after diagnosis</b>	1940 (1598; 2211)	1618 (1235; 2193)	1689.3 (1378.1; 2333.4)	0.704
<b>CD4<sup>+</sup> T LYMPHOCYTE COUNTS</b>				
<b>Average of all counts after HIV diagnosis (cells / mm<sup>3</sup>)</b>	448.8 (226.3; 631.8)	643.6 (540.3; 767)	397.2 (256.9; 475)	0.007
<b>1<sup>st</sup> year after diagnosis</b>	419.5 (264; 633.6)	536.7 (419; 771)	502 (325; 593)	0.014
<b>2<sup>nd</sup> year after diagnosis</b>	513 (361.5; 716.5)	742 (459.2; 842)	477.7 (347.8; 492.1)	0.010
<b>3<sup>rd</sup> year after diagnosis</b>	532 (380; 716)	680.2 (534.4; 7845)	303.2 (251.2; 474.3)	0.135
<b>CD8<sup>+</sup> T LYMPHOCYTE COUNTS</b>				
<b>Average of all counts after HIV diagnosis (cells / mm<sup>3</sup>)</b>	952 (706.7; 1160)	1164 (941.2; 1327.2)	977,3 (889.2; 1373.1)	0.105

<b>1<sup>st</sup> year after diagnosis</b>	878.5 (634; 1112.5)	1031.6 (821; 1332)	1480 (1214.3; 1789.5)	0.720
<b>2<sup>nd</sup> year after diagnosis</b>	1003 (700.5; 1144)	1175.2 (989.7; 1298.5)	1280 (1184.2; 1330.7)	0.710
<b>3<sup>rd</sup> year after diagnosis</b>	985 (720.5; 1390)	1073.5 (994.7; 1280.4)	750.5 (608.9; 1392.7)	0.659

1 N, sample size; wt, wild type; del, deletion; P, p-value. Data presented as median and interquartile range.

2

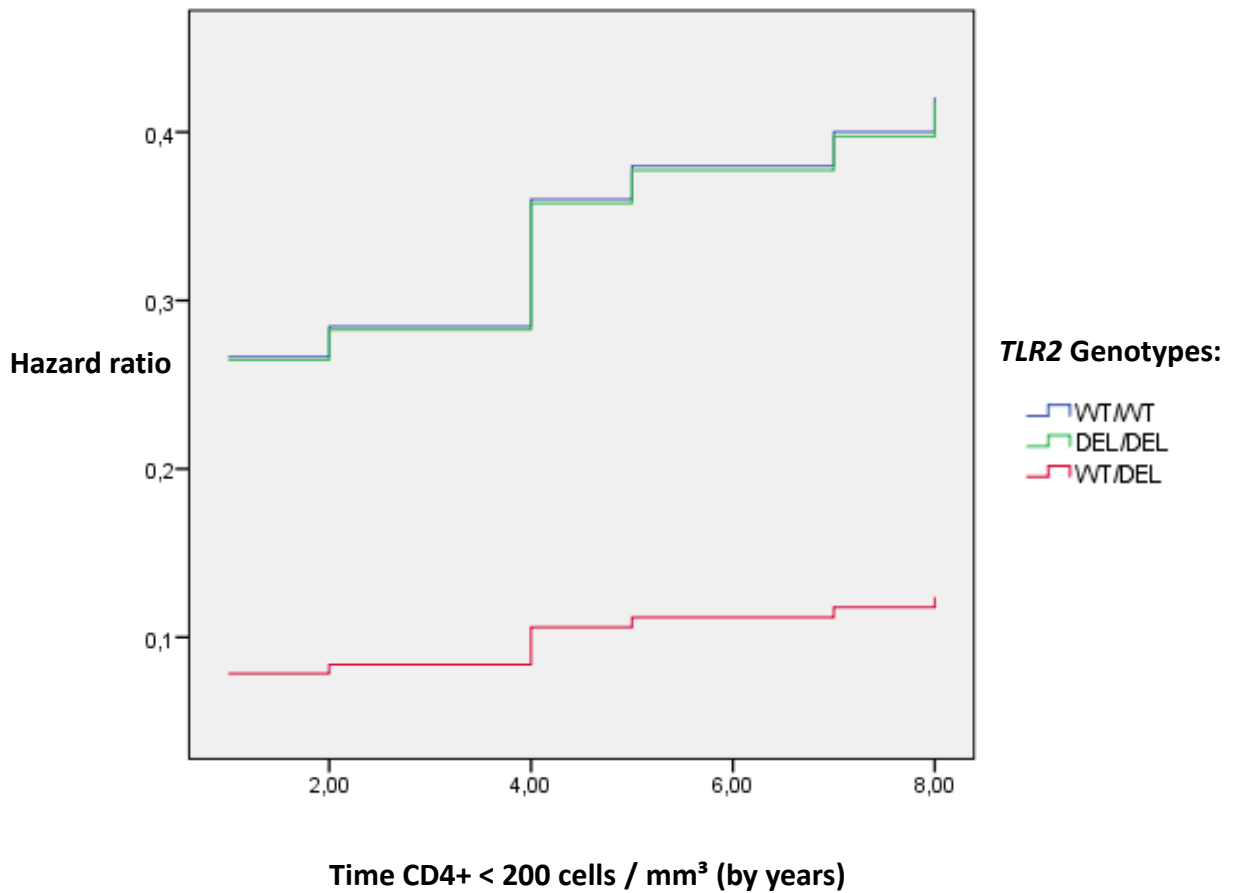
3

4

5

6

- 1 **Figura 1.** Multivariate Cox regression was performed using the time to reach CD4<sup>+</sup> <
- 2 200 cells / mm<sup>3</sup> in years as the dependent variable. Wt/wt = reference group; Wt/del:
- 3 HR=0.29 (0.07-1.25), p=0.098; del/del: HR=0.99 (0.13-7.37), p=0.995.



- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15

### 1 **3.3 Artigo 3**

2 *“Polymorphisms in toll-like receptors 2, 4 and 8 and their implications in the*  
3 *susceptibility to TB, HIV-1 infection and HIV-1/TB co-infection in the Southern*  
4 *Brazil population”, sendo preparado para submissão na revista Infection,*  
5 *Genetics and Evolution (índice de impacto: 2.773; instruções para autores:*  
6 *[https://www.elsevier.com/journals/infection-genetics-and-evolution/1567-](https://www.elsevier.com/journals/infection-genetics-and-evolution/1567-1348/guide-for-authors)*  
7 *1348/guide-for-authors).*

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

1 **Polymorphisms in toll-like receptors 2, 4 and 8 and their implications in the**  
 2 **susceptibility to TB, HIV-1 infection and HIV-1/TB co-infection in the Southern Brazil**  
 3 **population**

4 Gabriel Tassi Mousquer<sup>1</sup> ([gabriel\\_mousquer@hotmail.com](mailto:gabriel_mousquer@hotmail.com)), Thales Cardoso Chaves<sup>1</sup>,  
 5 ([thalescc7@gmail.com](mailto:thalescc7@gmail.com)), Mariana Milano<sup>2,3</sup> ([marianamilano@hotmail.com](mailto:marianamilano@hotmail.com)), Sabrina  
 6 Esteves de Matos Almeida<sup>4</sup> ([sabrina.gene@gmail.com](mailto:sabrina.gene@gmail.com)), Elizângela Costa da Silva<sup>5</sup>  
 7 ([eliz.ecs@gmail.com](mailto:eliz.ecs@gmail.com)), Gisela Unis<sup>6</sup> ([giselaunis@gmail.com](mailto:giselaunis@gmail.com)), Elis Regina Dalla Costa<sup>2</sup>  
 8 ([dallacostaer@gmail.com](mailto:dallacostaer@gmail.com)), Maria Lucia Rosa Rossetti<sup>2,3,7</sup> ([mrossett@terra.com.br](mailto:mrossett@terra.com.br)), Lia  
 9 Gonçalves Possuelo<sup>8</sup> ([liapossuelo@unisc.br](mailto:liapossuelo@unisc.br)), Vanessa Suñe Mattevi<sup>1,9</sup>  
 10 ([vmattevi@ufcspa.edu.br](mailto:vmattevi@ufcspa.edu.br)), Marilu Fiegenbaum<sup>1,9\*</sup> ([marilu.fiegenbaum@gmail.com](mailto:marilu.fiegenbaum@gmail.com),  
 11 [mariluf@ufcspa.edu.br](mailto:mariluf@ufcspa.edu.br)).

12

13 1. Graduate Program in Biosciences, Federal University of Health Sciences of Porto  
 14 Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, Brazil

15 2. Center for Scientific and Technological Development, Health Secretariat of the State  
 16 of Rio Grande do Sul State (CDCT/SES/RS), Porto Alegre, Brazil.

17 3. Graduate Program in Cell and Molecular Biology, Federal University of the State of  
 18 Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.

19 4. Feevale University, Novo Hamburgo, Brazil.

20 5. Center for Biosciences and Biotechnology, State University of the North Fluminense  
 21 Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes, Brazil.

22 6. Hospital Sanatório Partenon (HSP), Porto Alegre, Brazil.

23 7 Graduate Program in Cellular and Molecular Biology Applied to Health, Lutheran  
 24 University of Brazil (ULBRA), Canoas, Brazil.

1 8. Department of Biology and Pharmaceutical Sciences and the Post-Graduation  
2 Program in Health Promotion, University of Santa Cruz do Sul - UNISC, Santa Cruz do  
3 Sul, Brazil.

4 9. Basic Health Sciences Department, Federal University of Health Sciences of Porto  
5 Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, Brazil.

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19 **\* Corresponding author:**

20 Marilu Fiegenbaum

21 Basic Health Sciences Department

22 Federal University of Health Sciences of Porto Alegre

23 Address: Sarmiento Leite, 245/403 - Porto Alegre – RS – Brazil

24 e-mail: marilu.fiegenbaum@gmail.com; mariluf@ufcspa.edu.br

1           **HIGHLIGHTS**

- 2   - Toll-like receptors play a key role in the pathology of HIV-1/TB co-infection;
- 3   - Only a few studies have evaluated the immunogenetics of HIV-1/TB co-infection;
- 4   - *TLR2* rs111200466 is associated with susceptibility to co-infection;
- 5   - *TLR4* rs4986790 variant allele appears to be a risk factor for TB and the HIV-1/TB co-
- 6   infection.

**ABSTRACT**

Despite the efforts of the scientific community to combat the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and tuberculosis (TB) syndemic, there are still few studies related to the immunogenetics of the co-infection. When sharing the same host, the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and the bacillus *Mycobacterium tuberculosis* act synergistically, forcing the immune system to its limits. Toll-like receptors (TLR) are in the frontline of innate immunovigilance, identifying molecular patterns associated with pathogens (PAMPs) and orchestrating the immune response in the defense of the organism. The polymorphisms *TLR2* rs111200466, *TLR4* rs4986790 and *TLR8* rs3764880 have already been associated with susceptibility to TB and HIV-1 in different human populations, however, their influence in co-infected individuals have not yet been properly evaluated. In the present study, the allelic and genotypic frequencies of the aforementioned polymorphisms were compared between the following groups: healthy individuals, active TB, HIV-1 seropositive and HIV-1/TB co-infected individuals. Our results indicate that the variant homozygous genotype of rs111200466 is associated with susceptibility to HIV-1/TB co-infection; the rs4986790 G299 allele appears to be associated with a higher risk for the development of active TB and also with the susceptibility to co-infection.

**Keywords:** HIV-1; AIDS; tuberculosis; co-infection; toll-like receptor.

## 1 INTRODUCTION

2 Tuberculosis (TB) and acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) are two of  
3 the main causes of death among all infectious diseases worldwide (UNAIDS, 2020). It is  
4 estimated that one third of seropositive individuals for human immunodeficiency virus  
5 type 1 (HIV-1) are also latently infected by the bacillus *Mycobacterium tuberculosis*,  
6 accounting for 12 million co-infected worldwide (Getahun et al., 2010). The risk of an  
7 HIV-1 seropositive person to develop active TB is about 20 times greater than for a  
8 healthy individual, thus TB persists as the leading cause of death among people living  
9 with AIDS (WHO, 2020). It is estimated that about 609 thousand people died of AIDS in  
10 2019, including 208 thousand HIV-1/TB co-infected individuals; in other words, TB was  
11 responsible for almost one third of the deaths in the HIV-1 seropositive population  
12 (UNAIDS, 2020). The severity of co-infection is mainly due to the synergistic interaction  
13 between the pathogens, favoring their mutual replication and resulting in a rapid  
14 impairment of the host's health (Du Bruyn & Wilkinson, 2016). The high incidence of  
15 active TB in individuals infected with HIV-1 can be attributed to two mechanisms:  
16 reactivation of the disease in individuals with latent infection by *M. tuberculosis* (ILTB)  
17 or susceptibility to an initial infection with the bacillus (Davis & Ramakrishnan, 2009; P.  
18 Ling, J. Flynn, 2012; Ramakrishnan, 2012; Russell, 2007); in both cases,  
19 immunosuppression caused by the virus is one of the triggers for disease progression  
20 (Bell & Noursadeghi, 2018; Diedrich et al., 2016). Therefore, the immune system plays a  
21 determining role in the prognosis of HIV-1/TB co-infection, and some of the main players  
22 involved in the response to both pathogens are pattern recognition receptors, such as  
23 toll-like receptors (TLR) (Kopp & Medzhitov, 2003).

24 TLRs are transmembrane proteins, present on the cell surface or in endosomes,

1 expressed mainly by phagocytic cells; they recognize pathogen-associated molecular  
2 patterns (PAMPs) and induce the activation of the immune response against different  
3 classes of microorganisms (Akira & Takeda, 2004; Pasare & Medzhitov, 2004; Takeda et  
4 al., 2003). Ten varieties of TLR have already been identified in humans, each with its own  
5 structural configuration and presenting a particular repertoire of target PAMPs  
6 (Kawasaki & Kawai, 2014; Kopp & Medzhitov, 2003). TLR2, for example, is a surface  
7 receptor that forms heterodimers with TLR6 and TLR1, mainly identifying  
8 liposaccharides and lipoproteins present in the cell wall of Gram-positive bacteria and  
9 in the bacillus *M. tuberculosis* (Aliprantis et al., 1999; Schwandner et al., 1999; Yang et  
10 al., 1998). *TLR4* is also a surface receptor, however, it forms homodimers among  
11 themselves and recognizes mainly the lipopolysaccharide (LPS), present in Gram-  
12 negative bacteria and in *M. tuberculosis* (Chow et al., 1999; Hoshino et al., 2016). TLR8  
13 is a homodimeric endosomal receptor, capable of identifying single-stranded RNAs  
14 (ssRNA) of viruses and other intracellular pathogens, including HIV-1 (Ohto et al., 2014;  
15 Tanji et al., 2015). Genetic polymorphisms in these three varieties of TLRs mentioned  
16 above have already been related to greater susceptibility to active TB and to HIV-1  
17 infection, however, there are still no data on their role in the susceptibility and prognosis  
18 of HIV-1/TB co-infection (Lama & Planelles, 2007; Raghavan et al., 2012; Varzari et al.,  
19 2019).

20 The rs111200466 polymorphism is a 22-base pair (bp) deletion in the promoter  
21 region -196 to -174 of the *TLR2* gene, which significantly reduces the expression of the  
22 receptor on the cell surface (Noguchi et al., 2004); its variants have already been  
23 associated with increased susceptibility to active TB, HIV-1 infection and changes in CD4<sup>+</sup>  
24 T lymphocyte counts in seropositive individuals (Chen et al., 2010; Khan et al., 2014;

1 Laplana et al., 2020; Vidyant et al., 2017). The single nucleotide polymorphism (SNP)  
2 rs4986790 Asp299Gly of *TLR4* consists in a meaningless base exchange that alters the  
3 extracellular domain of TLR4 and, consequently, interferes in the affinity between the  
4 receptor and the PAMPs; the homozygous variant G/G genotype is strongly associated  
5 with susceptibility to HIV-1 in Caucasian populations in the United States, Greece, and  
6 Spain, as well as in the Indian population (Papadopoulos et al., 2010; Pine, McElrath, &  
7 Bochud, 2009; Pulido et al., 2010; S. Vidyant et al., 2019). The SNP rs3764880 Met1Val  
8 of *TLR8* has a relatively common frequency within the human population; it is a non-  
9 synonymous functional variant, which regulates the translation of the two main  
10 isoforms of TLR8. The reference A allele has already been associated with susceptibility  
11 to TB in different populations, however, in HIV-1 seropositive individuals the same allele  
12 seems to have a protective role against the virus, being associated with a better  
13 prognosis of the infection (Oh et al., 2008; Varzari et al., 2019; Wang et al., 2018).

14 This study proposes an analysis of the influence of rs111200466, rs4986790 and  
15 rs3764880 polymorphisms on the susceptibility to infection by *M. tuberculosis* and HIV-  
16 1, aiming to understand the contribution of *TLR2*, *TLR4* and *TLR8* in the immunogenetics  
17 and pathogenesis of TB, of AIDS and the dynamics of HIV-1/TB co-infection in a  
18 population of southern Brazil.

19

## 20 **METHODOLOGY**

### 21 **Study design, study population, and sampling**

22 This is a retrospective case-control study, using sample banks and clinical data  
23 from studies previously conducted by our research group. All experiments were carried  
24 out according to the precepts of ethics and biosafety, with the approval of the

1 participating institutions (Ethics approval # 3,265,993). In total, 1016 samples were  
2 analyzed, divided among 4 different sample groups:

3 - Control group: composed of 174 healthy individuals, without any comorbidities,  
4 HIV-1 seronegative and without previous or current diagnosis of TB;

5 - TB group: composed of 314 individuals with clinical diagnosis of active TB,  
6 tested with negative serology for HIV-1;

7 - HIV-1 group: composed of 429 individuals with a confirmatory diagnosis of HIV-  
8 1, without a previous history of TB;

9 - HIV-1/TB group: composed of 99 individuals tested with a confirmatory  
10 diagnosis of HIV-1 and with a clinical diagnosis of active pulmonary TB.

11 The DNA samples genotyped in the present study are part of the biorepository  
12 of the Molecular Biology Laboratory of the Federal University of Health Sciences of Porto  
13 Alegre (UFCSPA); samples are stored frozen at -20°C, already purified and diluted to a  
14 use concentration of 10ng / µL. The clinical and epidemiological data of the study  
15 population were obtained by consulting the respective databases of the biorepository.

16

### 17 **Molecular analysis**

18 The -196 to -174 (rs111200466) deletion of *TLR2* was investigated using the  
19 polymerase chain reaction (PCR) technique. For DNA amplification, the following primer  
20 sequences were used: forward 5 ' CACGGAGGCAGCGAGAAA and reverse 5 '  
21 CTGGGCCGTGCAAAGAAG (Tahara et al., 2007). PCR products were by electrophoresis in  
22 a 3.5% agarose gel; the presence of a single 286bp amplicon identifies the ancestral  
23 homozygous genotype, the visualization of a single 264bp amplicon indicates the variant  
24 homozygous genotype, while the heterozygote is identified by the simultaneous

1 presence of two amplicons of 286bp and 264bp, respectively.

2 The genotyping of the *TLR4* rs4986790 and *TLR8* rs3764880 polymorphisms were  
3 performed through allelic discrimination by amplifying the region of interest. The real-  
4 time PCR method with TaqMan® SNP hydrolysis probes from Applied Biosystem  
5 (C\_\_11722238\_2 and C\_\_2183830\_10, respectively) was used. The procedures were  
6 performed according to the manufacturer's guidelines.

7

### 8 **Statistical analysis**

9 Statistical analyses were performed using the statistical software SPSS® version  
10 21.0 (IBM, United States). The Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was checked for the  
11 studied polymorphisms using the chi-square test. Differences in the distribution of allele  
12 and genotype frequencies between groups were assessed using the chi-square test and  
13 odds ratios, calculated with a 95% confidence interval. Chi-square was also used in the  
14 analysis of epidemiological variables, maintaining a 95% confidence interval, with a  
15 significance level set at 0.05.

16

## 17 **RESULTS**

### 18 **Sample description**

19 The sociodemographic and epidemiological characteristics of each group of the  
20 study population are described in Table 1. In general, the sample was composed mainly  
21 by male sex individuals (57.6%), the average age of the study subjects was 39 years old  
22 (standard deviation of  $\pm 13$  years) and most of them were self-declared white (57.9%).  
23 Alcohol and tobacco abuse were reported in 12.1% and 32.7% of all study subjects,  
24 respectively. All epidemiological variables showed significant differences in its

1 frequencies among the groups. With the exception of TB/HIV-1 co-infected individuals,  
2 the male gender was predominant in all the groups. The HIV-1 group had the highest  
3 average age (44 years, standard deviation of  $\pm 13$  years), as well as being the only group  
4 whose largest portion of individuals self-declared black. Finally, alcohol and / or tobacco  
5 abuse was reported mainly in the TB and HIV-1/TB co-infection groups.

6

### 7 **Genotyping of *TLR2*, *TLR4* and *TLR8* polymorphisms**

8 The data of *TLR2*, *TLR4* and *TLR8* polymorphisms genotyping are shown in Table  
9 2. In total, 440 samples were genotyped for the *TLR2* rs111200466 polymorphism. With  
10 exception of HIV-1/TB co-infected individuals, all groups have a genotypic distribution  
11 consistent with HWE. The overall frequency of the variant allele (del) was 17%, however,  
12 there were no significant differences in the allelic distribution between the groups ( $p =$   
13 0.427). The HIV-1/TB co-infected individuals had a higher frequency of the variant  
14 homozygous genotype (del/del) when compared with the other groups (9.2%,  $p =$   
15 0.042), the statistical difference was also confirmed by the residual analysis (adjusted  
16 residual = 2.65,  $p < 0.01$ ). These results suggest that the *TLR2* rs111200466 del/del  
17 genotype acts as a possible risk factor for HIV-1/TB co-infection.

18 The rs4986790 of the *TLR4* was evaluated in 993 samples. All groups have  
19 genotypic distribution according to HWE. The global frequency of the variant G allele  
20 was 4% and there were no differences in the allelic, or genotypic, distribution between  
21 the groups. However, as shown in Table 3, by individually assessing the risk ratio  
22 between the presence of the G allele and the different study outcomes, it is observed  
23 that the variant allele is associated with a higher risk of developing TB and of HIV-1/TB  
24 co-infection; it is also worth mentioning that, in the present study, no associations were

1 identified between the G allele and HIV-1 mono-infection.

2       Finally, 872 samples were also genotyped for the SNP rs3764880 of *TLR8*,  
3 however, none of the groups showed genotypic distribution consistent with HWE. The  
4 global frequency of the variant allele was 36%, similar to the frequency observed in  
5 other Latin American populations (dbSNP, ABraOM). There were no differences in the  
6 allelic, or genotypic, distribution between the groups. As this polymorphism does not  
7 agree with HWE in any of the study groups and that no association was identified in the  
8 preliminary assessments, no further analysis was performed for this SNP.

9

## 10       **DISCUSSION**

11       The convergence between the AIDS and TB epidemics resulted in the emergence  
12 of a deadly syndemic of global proportions (Du Bruyn & Wilkinson, 2016; Min Ong et al.,  
13 2020). As both AIDS and TB are complex diseases and, therefore, multifactorial, the  
14 study of their pathogenesis depends on a multidisciplinary evaluation, reconciling the  
15 perspectives of environmental, genetic and epidemiological variables. One of the key  
16 factors for the widespread of co-infection is that HIV-1 and *M. tuberculosis* share the  
17 same socioeconomic determinants, affecting mainly populations in conditions of social  
18 vulnerability (BRASIL, 2019; UNAIDS, 2020; WHO, 2020). Unfortunately, data on  
19 personal income, education, history of institutionalization and drug use could not be  
20 assessed for this study due to limitations in the standardization of variables among the  
21 different sample banks used; however, according to the data available in Table 1, some  
22 considerations about the study population profile can be inferred. It is worth mentioning  
23 that, despite the use of two different sample banks in the study, all samples, regardless  
24 of the group, were collected in the same region of the east side of the city of Porto

1 Alegre, in southern Brazil; therefore, we can assume that environmental factors, such as  
2 the degree of exposure to the pathogens, were similar in all groups evaluated.

3         The high frequencies of male individuals, observed in the TB and HIV-1 groups,  
4 were already expected due to the epidemiological profile of TB and AIDS in Brazil, where  
5 both diseases mainly affect men (BRASIL, 2020a; BRASIL, 2020b); however, the HIV-1/TB  
6 co-infection group showed a predominance of female individuals, probably due to the  
7 fact that HIV-1 seropositive women are more concerned about their own health than  
8 seropositive men, showing greater adherence to the infection monitoring and,  
9 therefore, carrying out more periodic examinations of their HIV-1 status and diagnosis  
10 of eventual opportunistic pathogens (Merzel, 2000; Travassos et al., 2002). The HIV-1  
11 group was the one with the highest age averages, reflecting a trend towards late  
12 diagnosis of the infection due to the absence of clinical symptoms throughout its chronic  
13 phase (BRASIL, 2020a). In Brazil, social disparities are closely associated with skin color.  
14 Black and brown people compose the largest portion of the low-income and  
15 marginalized population, who are most vulnerable to infectious diseases, including TB  
16 and AIDS (BRASIL, 2020a; BRASIL, 2020b); however, the differences observed in this  
17 study between the TB and HIV-1 groups are probably due to the use of specimens from  
18 different sample banks and the adoption of self-identification criteria for skin color  
19 evaluation in our studies. The abusive consumption of alcohol and tobacco was also  
20 assessed among the study population, since both drugs are well-known risk factors for  
21 TB and HIV-1 (BRASIL, 2019); not by chance, the highest user frequencies were observed  
22 in the TB, HIV-1 infection and HIV-1/TB co-infection groups.

23         Regarding the genotyping, our findings suggest an association between the  
24 variant homozygous genotype of rs111200466 with susceptibility to HIV-1/TB co-

1 infection in the Southern Brazil population. The homozygous genotype for the *TLR2* -196  
2 to -174 deletion has been previously associated with lower natural killer cell counts and  
3 the development of TB symptoms in the Chinese population, with susceptibility to  
4 pulmonary TB in the Pakistani population and with susceptibility to HIV-1 infection in  
5 the North Indian population (Chen et al., 2010; Khan et al., 2014; Vidyant et al., 2017).  
6 The heterozygous genotype of rs111200466 has already been associated with  
7 susceptibility to TB in the Argentine, American and Bissau-Guyanese populations, while  
8 the presence of the variant allele is associated with a worse prognosis of HIV-1 infection  
9 in the Spanish population (Velez et al., 2010; Laplana et al., 2020). An unpublished study,  
10 developed by our group, also observed association of the heterozygous genotype of  
11 rs111200466 with higher CD3<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T lymphocyte counts in the HIV-1 seropositive  
12 individuals from southern Brazil. Based on literature records associating the *TLR2* -196  
13 to -174 deletion with susceptibility to mono-infection by HIV-1 and TB, we assume that  
14 in co-infected individuals carrying the del/del genotype, the reduction of the expression  
15 of TLR2 on the cell surface impairs the immunovigilance and immunomodulation of the  
16 response against HIV-1 and *M. tuberculosis*, increasing its pathogenicity. The city of  
17 Porto Alegre, where the study samples were collected, is the location with the highest  
18 incidence of HIV-1 in the Americas and is also TB endemic region (BRASIL, 2020b);  
19 considering that most of the local population must have already been exposed to *M.*  
20 *tuberculosis*, we believe that the rs111200466 polymorphism may be associated with  
21 co-infection by increasing susceptibility to TB among the HIV-1 seropositive individuals.  
22 Since HIV-1 impairs the formation of an effective immune response against  
23 opportunistic pathogens, the *TLR2* -196 to -174 deletion ultimately maximizes the  
24 intrinsic TB propensity in seropositive individuals (Henrick et al., 2015). This context also

1 explains the high frequency of the deletion among the healthy control group, since,  
2 despite the harmful genotype, their natural immunocompetence protects them from  
3 TB.

4 Another relevant result of genotyping was observed for the SNP rs4986790 of  
5 TLR4, as shown in Table 3. The variant allele G299 appears to be associated with a  
6 greater risk for the development of TB and HIV-1/TB co-infection. This is a particularly  
7 interesting finding, although the G299 allele has been previously associated with the  
8 development of TB in the Moldovan population, it is more commonly associated with  
9 susceptibility to HIV-1, especially in Caucasian populations (Kim & Jeong, 2021;  
10 Papadopoulos et al., 2010; Pine, McElrath, Bochud, et al., 2009; Pulido et al., 2010;  
11 Varzari et al., 2019). As the TLR4 rs4986790 alters the extracellular domain of the  
12 receptor, its major functional consequence is the loss of affinity to PAMPs, impairing its  
13 function in the recognition of pathogens and therefore its immunovigilance activity  
14 (Burke et al., 2007). Once again, considering the high incidence of TB in Porto Alegre, it  
15 is likely that this relationship has been highlighted since more people are exposed to *M.*  
16 *tuberculosis* on a daily basis, including HIV-1 seropositive individuals (BRASIL, 2020a).  
17 However, it should be noted that, due to the low frequency of the variant allele in the  
18 study population, no direct associations were identified between the genotypes defined  
19 by the rs4986790 polymorphism and the evaluated outcomes. The rs4986790 is  
20 commonly associated with the SNP rs4986791 of TLR4, which is also related to the  
21 susceptibility to TB, however, unfortunately we were unable to perform the genotyping  
22 of both SNPs due to limitations imposed by the COVID-19 pandemic in Brazil (Liu et al.,  
23 2016). Anyway, we still hope to conduct a joint analysis of the SNP's rs4986790 and  
24 rs4986791 of TLR4 in our study population will be performed in the near future which

1 might help to elucidate the role of TLR4 in HIV-1/TB co-infection.

2         On the other hand, the SNP rs3764880 of *TLR8* showed genotypic distribution  
3 inconsistent with HWE. The genotyping was repeated and revised, and the results  
4 remained unchanged. The general frequency of the variant allele in the study sample  
5 was calculated at 36%, similar to the results observed in other studies with rs3764880  
6 in the Brazilian population (Naslavsky, et al., 2020). It is also worth mentioning that this  
7 polymorphism presents a wide variation in its allele frequencies between different  
8 populations, which may explain the disagreement with the HWE. However, the results  
9 of the analysis of allelic and genotypic frequencies defined by SNP rs3764880 in the  
10 study population do not indicate any direct association with the evaluated outcomes.  
11 The only highlight is due to the TB group, which presented a higher frequency of the G  
12 variant allele of 36% ( $p = 0.069$ ) despite this polymorphism being more commonly  
13 associated with HIV-1 resistance (MacKelprang et al., 2013; Oh et al., 2008).

14         Recent findings of in vitro and in vivo studies have greatly expanded our  
15 understanding of the immune response against HIV-1/TB coinfection, helping to  
16 elucidate the role played by TLR's and, especially, by TLR2 in the pathogenesis of AIDS  
17 and TB. It is well established, for example, that intracellular defense mechanisms,  
18 orchestrated by the activation of the TLR2 receptor by *M. tuberculosis*, result in the  
19 activation of the transcription factor NF- $\kappa$ B, which ends up being employed by HIV-1 in  
20 the expression of its genome and thus contributing to the process of viral replication  
21 and progression to AIDS (Báfica et al., 2003, 2004; Henrick et al., 2015; Kawai & Akira,  
22 2007). After TLR2 activation, the cytokines released in the immune response against *M.*  
23 *tuberculosis* promote the recruitment of HIV-1 target cells such as T lymphocytes,  
24 monocytes and macrophages (Ding & Chang, 2012; Pasare & Medzhitov, 2004;

1 Schwartz, 1994; Zenaro et al., 2009). The stimulation of the TLR2 in HIV-1 infected CD4+  
2 T cells by *M. tuberculosis* PAMPs results in increased virus infectivity, increased cell  
3 susceptibility to HIV-1, reactivation of latent copies of HIV-1 and also the increased viral  
4 permissiveness (Bell & Noursadeghi, 2018; Bolduc et al., 2017; Ding & Chang, 2012; Ipp  
5 & Zemlin, 2013; Lama & Planelles, 2007). Another important dysfunction provoked by  
6 HIV-1/TB co-infection and triggered by the stimulation of TLRs is the cooperative  
7 modulation of macrophage apoptosis mechanism, by homeostatic control of calcium  
8 influx (Mehto et al., 2015). The fact is that regardless of the pathway employed by the  
9 HIV-1 and *M. tuberculosis*, the TLRs directly influence the susceptibility and prognosis of  
10 co-infection. Thus, the study of TLRs function in HIV-1/TB co-infection patients allow us  
11 to envision new therapeutic perspectives against the syndemic. Vitamin D, for example,  
12 has been shown to be effective in restoring immune responses impaired by HIV-1,  
13 contributing as a therapeutic adjuvant in TLRs signaling pathways against TB in alveolar  
14 macrophages (Anandaiah et al., 2013; Resistance et al., 2020). Protease inhibitors,  
15 already integrated in conventional HIV-1 treatment regimen, have also been shown to  
16 be useful in the control of TB co-infection since they block NF- $\kappa$ B induced by the  
17 activation of TLR2, preventing it from contributing in the viral transcription process  
18 (Equils et al., 2004).

19 It is important to mention that this study presents limitations. Firstly, due to the  
20 use of sample banks and clinical data originally collected by other studies, some  
21 information on the epidemiological profile of the investigated population could not be  
22 assessed. Among the epidemiological variables that were analyzed there was no pairing,  
23 so there are statistically significant differences in the demographic profile of the study  
24 groups; however, considering that such differences were not in critical variables and,

1 therefore, have a limited impact on the evaluated outcomes, we chose not to exclude  
2 those individuals from the study groups. Another limitation was that some samples were  
3 not genotyped for all the studied polymorphisms because of low availability of genetic  
4 material. Finally, due to the COVID-19 pandemic, many of our experiments and analyses  
5 were impaired, indirectly impacting in the study results. We were unable to complete  
6 the genotyping of all samples for the *TLR2* rs111200466, as we did for the other  
7 polymorphisms, precluding a better analysis of the deletion impacts. The limitations of  
8 COVID-19 also postponed our plans for the *TLR4* rs4986791 genotyping, making it  
9 impossible to analyze its haplotype with SNP rs4986790 and the role of *TLR4* in the  
10 pathogenesis of co-infection. We hope that with the advent of mass immunization  
11 against COVID-19, these missing analyzes will be completed soon.

12

### 13 **CONCLUSION**

14 The HIV-1/TB syndemic persists as a major public health problem, affecting  
15 mainly individuals in conditions of social vulnerability. Despite the strong influence of  
16 socioenvironmental factors, the host's immunogenetics also contributes significantly to  
17 the susceptibility and prognosis of co-infection. Our results suggest that deletions and  
18 SNPs in *TLR2* and *TLR4* may interfere with the immunovigilance performed by the  
19 receptors. In the Southern Brazil population, the homozygous variant genotype of  
20 rs111200466 of *TLR2* appears to be associated with susceptibility to HIV-1/TB co-  
21 infection, while the G299 variant allele of rs4986790 has been shown to be a risk factor  
22 for the development of active TB and also in susceptibility to co-infection. These findings  
23 highlight, above all, the role of TLRs in the immune response and the pathogenesis of  
24 co-infection, thus pointing them out as possible therapeutic targets for new

1 pharmacological strategies based on immunomodulation against AIDS and TB.

## 2 REFERENCES

- 3 Akira, S., & Takeda, K. (2004). Toll-like receptor signalling. *Nature Reviews Immunology*,  
4 4(7), 499–511. <https://doi.org/10.1038/nri1391>
- 5 Aliprantis, A. O., Yang, R. B., Mark, M. R., Suggett, S., Devaux, B., Radolf, J. D., Klimpel,  
6 G. R., Godowski, P., & Zychlinsky, A. (1999). Cell activation and apoptosis by  
7 bacterial lipoproteins through Toll- like receptor-2. *Science*, 285(5428), 736–739.  
8 <https://doi.org/10.1126/science.285.5428.736>
- 9 Anandaiah, A., Sinha, S., Bole, M., Sharma, S. K., Kumar, N., Luthra, K., Li, X., Zhou, X.,  
10 Nelson, B., Han, X., Tachado, S. D., Patel, N. R., & Koziela, H. (2013). Vitamin D  
11 rescues impaired Mycobacterium tuberculosis-mediated tumor necrosis factor  
12 release in macrophages of HIV-seropositive individuals through an enhanced toll-  
13 like receptor signaling pathway in vitro. *Infection and Immunity*, 81(1), 2–10.  
14 <https://doi.org/10.1128/IAI.00666-12>
- 15 Báfica, A., Scanga, C. A., Schito, M., Chaussabel, D., & Sher, A. (2004). Influence of  
16 Coinfecting Pathogens on HIV Expression: Evidence for a Role of Toll-Like  
17 Receptors. *The Journal of Immunology*, 172(12), 7229–7234.  
18 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.12.7229>
- 19 Báfica, A., Scanga, C. A., Schito, M. L., Hieny, S., & Sher, A. (2003). Cutting Edge: In Vivo  
20 Induction of Integrated HIV-1 Expression by Mycobacteria Is Critically Dependent  
21 on Toll-Like Receptor 2. *The Journal of Immunology*, 171(3), 1123–1127.  
22 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.3.1123>
- 23 Bell, L. C. K., & Noursadeghi, M. (2018). Pathogenesis of HIV-1 and mycobacterium  
24 tuberculosis co-infection. *Nature Reviews Microbiology*, 16(2), 80–90.

- 1 <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.128>
- 2 Bolduc, J.-F., Ouellet, M., Hany, L., & Tremblay, M. J. (2017). Toll-Like Receptor 2 Ligation  
3 Enhances HIV-1 Replication in Activated CCR6+ CD4+ T Cells by Increasing Virus  
4 Entry and Establishing a More Permissive Environment to Infection. *Journal of*  
5 *Virology*, 91(4), 1–15. <https://doi.org/10.1128/jvi.01402-16>
- 6 BRASIL, M. da S. (2020). Boletim Epidemiológico HIV / Aids | 2020a. *Secretaria de*  
7 *Vigilância Em Saúde*, 1, 68.
- 8 BRASIL, M. da S. Secretaria de Vigilância em Saúde. (2019). Panorama epidemiológico da  
9 coinfeção TB-HIV no Brasil 2019. *Boletim Epidemiológico*, 50, 23.
- 10 BRASIL, M. da S. Secretaria de Vigilância em Saúde. (2020). Boletim Epidemiológico  
11 Especial. Tuberculose 2020b. *Boletim Epidemiológico*, 39.
- 12 Burke, D. F., Worth, C. L., Priego, E.-M., Cheng, T., Smink, L. J., Todd, J. A., & Blundell, T.  
13 L. (2007). Genome bioinformatic analysis of nonsynonymous SNPs. *BMC*  
14 *Bioinformatics*, 8(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-8-301>
- 15 Chen, Y. C., Hsiao, C. C., Chen, C. J., Chin, C. H., Liu, S. F., Wu, C. C., Eng, H. L., Chao, T. Y.,  
16 Tsen, C. C., Wang, Y. H., & Lin, M. C. (2010). Toll-like receptor 2 gene  
17 polymorphisms, pulmonary tuberculosis, and natural killer cell counts. *BMC*  
18 *Medical Genetics*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2350-11-17>
- 19 Chow, J. C., Young, D. W., Golenbock, D. T., Christ, W. J., & Gusovsky, F. (1999). Toll-like  
20 receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. *Journal of*  
21 *Biological Chemistry*, 274(16), 10689–10692.  
22 <https://doi.org/10.1074/jbc.274.16.10689>
- 23 Davis, J. M., & Ramakrishnan, L. (2009). The Role of the Granuloma in Expansion and  
24 Dissemination of Early Tuberculous Infection. *Cell*, 136(1), 37–49.

- 1        <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.11.014>
- 2        Diedrich, C. R., O'Hern, J., & Wilkinson, R. J. (2016). HIV-1 and the Mycobacterium  
3        tuberculosis granuloma: A systematic review and meta-analysis. *Tuberculosis*, *98*,  
4        62–76. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2016.02.010>
- 5        Ding, J., & Chang, T. L. (2012). TLR2 Activation Enhances HIV Nuclear Import and  
6        Infection through T Cell Activation-Independent and -Dependent Pathways. *The*  
7        *Journal of Immunology*, *188*(3), 992–1001.  
8        <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1102098>
- 9        Du Bruyn, E., & Wilkinson, R. J. (2016). The Immune Interaction between HIV-1 Infection  
10        and Mycobacterium tuberculosis. *Microbiology Spectrum*, *4*(6), 1–29.  
11        <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.tbtb2-0012-2016>
- 12        Equils, O., Shapiro, A., Madak, Z., Liu, C., & Lu, D. (2004). Human immunodeficiency virus  
13        type 1 protease inhibitors block toll-like receptor 2 (TLR2)- and TLR4-induced NF-  
14        κB activation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *48*(10), 3905–3911.  
15        <https://doi.org/10.1128/AAC.48.10.3905-3911.2004>
- 16        Getahun, H., Gunneberg, C., Granich, R., & Nunn, P. (2010). HIV infection-associated  
17        tuberculosis: The epidemiology and the response. *Clinical Infectious Diseases*,  
18        *50*(SUPPL. 3), 201–207. <https://doi.org/10.1086/651492>
- 19        Henrick, B. M., Yao, X. D., & Rosenthal, K. L. (2015). HIV-1 structural proteins serve as  
20        PAMPs for TLR2 heterodimers significantly increasing infection and innate immune  
21        activation. *Frontiers in Immunology*, *6*(AUG), 1–15.  
22        <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00426>
- 23        Hoshino, K., Takeuchi, O., Kawai, T., Sanjo, H., Ogawa, T., Takeda, Y., Takeda, K., & Akira,  
24        S. (2016). Pillars Article: Cutting Edge: Toll-Like Receptor 4 (TLR4)-Deficient Mice

- 1 Are Hyporesponsive to Lipopolysaccharide: Evidence for TLR4 as the Lps Gene  
2 Product. *J. Immunol.* 1999. 162: 3749-3752. *Journal of Immunology (Baltimore,*  
3 *Md. : 1950), 197(7), 2563–2566.* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27638938>
- 4 Ipp, H., & Zemlin, A. (2013). The paradox of the immune response in HIV infection: When  
5 inflammation becomes harmful. *Clinica Chimica Acta, 416, 96–99.*  
6 <https://doi.org/10.1016/j.cca.2012.11.025>
- 7 Kawai, T., & Akira, S. (2007). Signaling to NF- $\kappa$ B by Toll-like receptors. *Trends in Molecular*  
8 *Medicine, 13(11), 460–469.* <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2007.09.002>
- 9 Kawasaki, T., & Kawai, T. (2014). Toll-like receptor signaling pathways. *Frontiers in*  
10 *Immunology, 5(SEP), 1–9.* <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00461>
- 11 Khan, A. ul H., Aslam, M. A., Hussain, I., Naz, A. G., Rana, I. A., Ahmad, M. M., Ali, M., &  
12 Ahmad, S. (2014). Role of Toll-like receptor 2 (-196 to -174) polymorphism in  
13 susceptibility to pulmonary tuberculosis in Pakistani population. *International*  
14 *Journal of Immunogenetics, 41(2), 105–111.* <https://doi.org/10.1111/iji.12086>
- 15 Kim, Y., & Jeong, B. (2021). Strong Association of the rs4986790 Single Nucleotide  
16 Polymorphism (SNP) of the Toll-Like Receptor 4 (TLR4) Gene with Human  
17 Immunodeficiency Virus (HIV) Infection: A Meta-Analysis. *Genes, 12(36), 1–8.*
- 18 Kopp, E., & Medzhitov, R. (2003). Recognition of microbial infection by Toll-like  
19 receptors. *Current Opinion in Immunology, 15(4), 396–401.*  
20 [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(03\)00080-3](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(03)00080-3)
- 21 Lama, J., & Planelles, V. (2007). Host factors influencing susceptibility to HIV infection  
22 and AIDS progression. *Retrovirology, 4, 1–25.* [https://doi.org/10.1186/1742-4690-](https://doi.org/10.1186/1742-4690-4-52)  
23 [4-52](https://doi.org/10.1186/1742-4690-4-52)
- 24 Laplana, M., Bravo, M. J., Fernández-Fuertes, M., Ruiz-Garcia, C., Alarcón-Martin, E.,

- 1 Colmenero, J. de D., Caruz, A., Fibla, J., Real, L. M., & Royo, J. L. (2020). Toll-Like  
2 Receptor 2 Promoter -196 to -174 Deletion Affects CD4 Levels Along Human  
3 Immunodeficiency Virus Infection Progression. *The Journal of Infectious Diseases*,  
4 222(12), 2007–2011. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa327>
- 5 Ling P., Flynn J. (2012). Understanding Latent Tuberculosis: A Moving Target. *Journal of*  
6 *Immunology*, 185(1), 15–22.  
7 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0903856>.Understanding
- 8 Liu, R., Mo, Y. Y., Wang, H. L., Tan, Y., Wen, X. J., Deng, M. J., Yan, H., & Li, L. (2016). The  
9 relationship between toll like receptor 4 gene rs4986790 and rs4986791  
10 polymorphisms and sepsis susceptibility: A meta-analysis. *Scientific Reports*,  
11 6(October), 1–13. <https://doi.org/10.1038/srep38947>
- 12 MacKelprang, R. D., Bigham, A. W., Celum, C., Bruyn, G. De, Beima-Sofie, K., John-  
13 Stewart, G., Ronald, A., Mugo, N. R., Buckingham, K. J., Bamshad, M. J., Mullins, J.  
14 I., McElrath, M. J., & Lingappa, J. R. (2013). Toll-like receptor polymorphism  
15 associations with HIV-1 outcomes among sub-saharan Africans. *Journal of*  
16 *Infectious Diseases*, 209(10), 1623–1627. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit807>
- 17 Mehto, S., Antony, C., Khan, N., Arya, R., Selvakumar, A., Tiwari, B. K., Vashishta, M.,  
18 Singh, Y., Jameel, S., & Natarajan, K. (2015). Mycobacterium tuberculosis and  
19 human immunodeficiency virus type 1 cooperatively modulate macrophage  
20 apoptosis via toll like receptor 2 and calcium homeostasis. *PLoS ONE*, 10(7), 1–20.  
21 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131767>
- 22 Merzel, C. (2000). Gender differences in health care access indicators in an urban, low-  
23 income community. *American Journal of Public Health*, 90(6), 909–916.  
24 <https://doi.org/10.2105/AJPH.90.6.909>

- 1 Min Ong, C. W., Migliori, G. B., Raviglione, M., MacGregor-Skinner, G., Sotgiu, G.,  
2 Alffenaar, J.-W., Tiberi, S., Adlhoch, C., Alonzi, T., Archuleta, S., Brusin, S., Cambau,  
3 E., Capobianchi, M. R., Castilletti, C., Centis, R., Cirillo, D. M., D'Ambrosio, L., Delogu,  
4 G., Esposito, S. M. R., ... Goletti, D. (2020). Epidemic and pandemic viral infections:  
5 impact on tuberculosis and the lung. A consensus by the World Association for  
6 Infectious Diseases and Immunological Disorders (WAidid), Global Tuberculosis  
7 Network (GTN) and members # of ESCMID Study Group for Myco. *European*  
8 *Respiratory Journal*, 2001727. <https://doi.org/10.1183/13993003.01727-2020>
- 9 Naslavsky, M. S., Scliar, M. O., Yamamoto, G. L., Wang, J. Y. T., Zverinova, S., Karp, T.,  
10 Nunes, K., Ceroni, J. R. M., de Carvalho, D. L., da Silva Simões, C. E., Bozoklian, D.,  
11 Nonaka, R., Silva, N. dos S. B., da Silva Souza, A., de Souza Andrade, H., Passos, M.  
12 R. S., Castro, C. F. B., Mendes-Junior, C. T., Mercuri, R. L. V, ... Zatz, M. (2020).  
13 Whole-genome sequencing of 1,171 elderly admixed individuals from the largest  
14 Latin American metropolis (São Paulo, Brazil). *BioRxiv*, 2020.09.15.298026.  
15 <https://doi.org/10.1101/2020.09.15.298026>
- 16 Noguchi, E., Nishimura, F., Fukai, H., Kim, J., Ichikawa, K., Shibasaki, M., & Arinami, T.  
17 (2004). An association study of asthma and total serum immunoglobulin E levels for  
18 Toll-like receptor polymorphisms in a Japanese population. *Clinical and*  
19 *Experimental Allergy*, 34(2), 177–183. [https://doi.org/10.1111/j.1365-](https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2004.01839.x)  
20 [2222.2004.01839.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2004.01839.x)
- 21 Oh, D. Y., Taube, S., Hamouda, O., Kücherer, C., Poggensee, G., Jessen, H., Eckert, J. K.,  
22 Neumann, K., Storek, A., Pouliot, M., Borgeat, P., Oh, N., Schreier, E., Pruss, A.,  
23 Hattermann, K., & Schumann, R. R. (2008). A functional toll-like receptor 8 variant  
24 is associated with HIV disease restriction. *Journal of Infectious Diseases*, 198(5),

- 1       701–709. <https://doi.org/10.1086/590431>
- 2       Ohto, U., Tanji, H., & Shimizu, T. (2014). Structure and function of toll-like receptor 8.  
3       *Microbes and Infection*, 16(4), 273–282.  
4       <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2014.01.007>
- 5       Papadopoulos, A. I., Ferwerda, B., Antoniadou, A., Sakka, V., Galani, L., Kavatha, D.,  
6       Panagopoulos, P., Poulakou, G., Kanellakopoulou, K., Van Der Meer, J. W. M.,  
7       Giamarellos-Bourboulis, E. J., & Netea, M. G. (2010). Association of toll-like  
8       receptor 4 Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms with increased infection risk in  
9       patients with advanced HIV-1 infection. *Clinical Infectious Diseases*, 51(2), 242–247.  
10      <https://doi.org/10.1086/653607>
- 11      Pasare, C., & Medzhitov, R. (2004). Toll-like receptors: Linking innate and adaptive  
12      immunity. *Microbes and Infection*, 6(15), 1382–1387.  
13      <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2004.08.018>
- 14      Pine, S. O., McElrath, M. J., Bochud, P.-Y., McElrath, J. M., & Bouchud, P.-Y. (2009).  
15      Polymorphisms in TLR4 and TLR9 influence viral load in a seroincident cohort of  
16      HIV-1infeceted individuals. *Aids*, 23(18), 2387–2395.  
17      <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328330b489.Polymorphisms>
- 18      Pulido, I., Leal, M., Genebat, M., Pacheco, Y. M., Saez, M. E., & Soriano-Sarabia, N.  
19      (2010). The TLR4 ASP299GLY Polymorphism is a Risk Factor for Active Tuberculosis  
20      in Caucasian HIV-Infected Patients. *Current HIV Research*, 8(3), 253–258.  
21      <https://doi.org/10.2174/157016210791111052>
- 22      Raghavan, S., Alagarasu, K., & Selvaraj, P. (2012). Immunogenetics of HIV and HIV  
23      associated tuberculosis. *Tuberculosis*, 92(1), 18–30.  
24      <https://doi.org/10.1016/j.tube.2011.08.004>

- 1 Ramakrishnan, L. (2012). Revisiting the role of the granuloma in tuberculosis. *Nature*  
2 *Reviews Immunology*, 12(5), 352–366. <https://doi.org/10.1038/nri3211>
- 3 Resistance, D., Ayelign, B., Workneh, M., Molla, M. D., & Dessie, G. (2020). Role Of  
4 Vitamin-D Supplementation In TB / HIV Co-Infected Patients. *Infection and Drug*  
5 *Resistance*, 13, 111–118.
- 6 Russell, D. G. (2007). Who puts the tubercle in tuberculosis? *Nature Reviews*  
7 *Microbiology*, 5(1), 39–47. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1538>
- 8 Schwandner, R., Dziarski, R., Wesche, H., Rothe, M., & Kirschning, C. J. (1999).  
9 Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by Toll-like  
10 receptor 2. *Journal of Biological Chemistry*, 274(25), 17406–17409.  
11 <https://doi.org/10.1074/jbc.274.25.17406>
- 12 Schwartz, D. N. (1994). Relationship of the manifestations of tuberculosis to CD4 cell  
13 counts in patients with human immunodeficiency virus infection. *Infectious*  
14 *Diseases in Clinical Practice*, 3(3), 216–217. [https://doi.org/10.1097/00019048-](https://doi.org/10.1097/00019048-199405000-00022)  
15 [199405000-00022](https://doi.org/10.1097/00019048-199405000-00022)
- 16 Tahara T., Arisawa T., Wang F., Shibata T., Nakamura M., Sakata M., Hirata I. & Nakano  
17 E. (2007). Toll-like receptor 2 –196 to 174del polymorphism influences the  
18 susceptibility of Japanese people to gastric cancer. *Cancer Science*, 98(11); 1790–  
19 1794. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2007.00590.x>
- 20 Takeda, K., Kaisho, T., & Akira, S. (2003). Toll-like receptors. *Annual Review of*  
21 *Immunology*, 21(1), 335–376.  
22 <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.21.120601.141126>
- 23 Tanji, H., Ohto, U., Shibata, T., Taoka, M., Yamauchi, Y., Isobe, T., Miyake, K., & Shimizu,  
24 T. (2015). Toll-like receptor 8 senses degradation products of single-stranded RNA.

- 1       *Nature Structural and Molecular Biology*, 22(2), 109–116.  
2       <https://doi.org/10.1038/nsmb.2943>
- 3       Travassos, C., Viacava, F., Pinheiro, R., & Brito, A. (2002). Utilização dos serviços de saúde  
4       no Brasil: Gênero, características familiares e condição social. *Revista*  
5       *Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health*, 11(5–6),  
6       365–373. <https://doi.org/10.1590/S1020-49892002000500011>
- 7       UNAIDS. (2020). Seizing the moment. Global AIDS update 2020. *Unaid*s, 436.  
8       [https://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/2020\\_%0Aglobal-aids-](https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2020_%0Aglobal-aids-report_en.pdf)  
9       [report\\_en.pdf](https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2020_%0Aglobal-aids-report_en.pdf)
- 10      Varzari, A., Deyneko, I. V., Vladei, I., Grallert, H., Schieck, M., Tudor, E., & Illig, T. (2019).  
11      Genetic variation in TLR pathway and the risk of pulmonary tuberculosis in a  
12      Moldavian population. *Infection, Genetics and Evolution*, 68(December 2018), 84–  
13      90. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.12.005>
- 14      Velez, D. R., Wejse, C., Stryjewski, M. E., Abbate, E., Hulme, W. F., Myers, J. L., Estevan,  
15      R., Patillo, S. G., Olesen, R., Tacconelli, A., Sirugo, G., Gilbert, J. R., Hamilton, C. D.,  
16      (2010). Variants in toll-like receptors 2 and 9 influence susceptibility to pulmonary  
17      tuberculosis in Caucasians, African-Americans, and West Africans. *Human Genetics*,  
18      127(1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00439-009-0741-7>.Variants
- 19      Vidyant, S., Chatterjee, A., & Dhole, T. N. (2019). A single-nucleotide polymorphism in  
20      TLR4 is linked with the risk of HIV-1 infection. *British Journal of Biomedical Science*,  
21      76(2), 59–63. <https://doi.org/10.1080/09674845.2018.1559486>
- 22      Vidyant, S., Chatterjee, A., Agarwal, V., & Dhole, T. N. (2017). Susceptibility to HIV-1  
23      infection is influenced by toll like receptor-2 (–196 to –174) polymorphism in a  
24      north Indian population. *Journal of Gene Medicine*, 19(8).

- 1        <https://doi.org/10.1002/jgm.2971>
- 2        Wang, M. G., Zhang, M. M., Wang, Y., Wu, S. Q., Zhang, M., & He, J. Q. (2018). Association  
3        of TLR8 and TLR9 polymorphisms with tuberculosis in a Chinese Han population: A  
4        case-control study. *BMC Infectious Diseases*, *18*(1), 1–8.  
5        <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3485-y>
- 6        WHO, World Health Organization. (2020). *Global tuberculosis report 2020* ISBN.
- 7        Yang, R. B., Mark, M. R., Gray, A., Huang, A., Xie, M. H., Zhang, M., Goddard, A., Wood,  
8        W. I., Gurney, A. L., & Godowski, P. J. (1998). Toll-like receptor-2 mediates  
9        lipopolysaccharide-induced cellular signalling. *Nature*, *395*(6699), 284–288.  
10       <https://doi.org/10.1038/26239>
- 11       Zenaro, E., Donini, M., & Dusi, S. (2009). Induction of Th1/Th17 immune response by  
12       *Mycobacterium tuberculosis* : role of dectin-1, mannose receptor, and DC-SIGN .  
13       *Journal of Leukocyte Biology*, *86*(6), 1393–1401.  
14       <https://doi.org/10.1189/jlb.0409242>
- 15
- 16
- 17

1 **Table 1: Epidemiological characterization of the study population.**

	<b>CONTROL</b>	<b>TB</b>	<b>HIV-1</b>	<b>HIV-1/TB</b>	<b>TOTAL</b>	<b>P</b>
	<b>(N=174)</b>	<b>(N=314)</b>	<b>(N=429)</b>	<b>(N=99)</b>	<b>(N=1016)</b>	<b>value</b>
<b>Male Sex</b>	90 (51.4%)	221 (69.5%)	233 (54.3%)	41 (46.6%)	585 (57.6%)	0,001
<b>Age (years)<sup>1</sup></b>	36 ±16	37 ±14	44 ±10	39 ±10	39 ±13	0,001
<b>Color<sup>2</sup></b>						
White	126 (72.4%)	199 (63.4%)	127 (40.6%)	62 (71.3%)	514 (57.9%)	
Black	39 (22.4%)	73 (23.2%)	185 (59.1%)	17 (19.5%)	314 (35.4%)	0,001
Brown	9 (5.2%)	42 (13.4%)	1 (0.3%)	8 (9.2%)	58 (6.7%)	
<b>Tobacco smoking</b>	28 (16.2%)	146 (46.2%)	84 (26.8%)	32 (37.6%)	290 (32.7%)	0,001
<b>Alcohol abuse</b>	0 (0%)	53 (19.3%)	0 (0%)	10 (14.5%)	63 (12.1%)	0,001

2 N, number of samples. 1 Mean (±standard deviation), 2 Self-identified according to the  
3 'race/color' classification scheme adopted by the official Brazilian census.

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

1 **Table 2: Genotypic and allelic distributions of the *TLR2*, *TLR4* and *TLR8* polymorphisms in the**  
 2 **evaluated groups.**

	<b>CONTROL</b>	<b>TB</b>	<b>HIV-1</b>	<b>HIV-1/TB</b>
<b>rs111200466</b>				
<b>N</b>	130	158	53	99
<b>Genotypes</b>				
<b>Ins/Ins</b>	89 (68.5%)	116 (73.4%)	35 (66%)	70 (70.9%)
<b>Ins/Del</b>	34 (26.2%)	39 (24.7%)	18 (34%)	20 (20.2%)
<b>Del/Del</b>	7 (5.4%)	3 (1.9%)	0 (0%)	9 (9.1%)
<b>P value</b>	0.042			
<b>Alleles</b>				
<b>Ins</b>	212 (81.5%)	271 (85.7%)	88 (83%)	160 (80.8%)
<b>Del</b>	48 (18.5%)	45 (14.3%)	18 (17%)	38 (19.2%)
<b>P value</b>	0.427			
<b>rs4986790</b>				
<b>N</b>	172	309	428	84
<b>Genotypes</b>				
<b>AA</b>	150 (87.2%)	287 (92.9%)	392 (91,6%)	78 (92,9%)
<b>AG</b>	21 (12.2%)	22 (7.1%)	36 (8,4%)	6 (7.1%)
<b>GG</b>	1 (0.6%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>P value</b>	0.183			
<b>Alleles</b>				
<b>A</b>	321 (93.31%)	596 (96.44%)	820 (95.79%)	162 (96.30%)
<b>G</b>	23 (6.69%)	22 (3.56%)	36 (4.21%)	6 (3.70%)

<b>P value</b>	0.128			
<hr/>				
<b>rs3764880</b>				
<b>N</b>	173	310	303	86
<b>Genotypes</b>				
<b>AA</b>	94 (54.3%)	172 (55.5%)	159 (52,5%)	49 (57%)
<b>AG</b>	41 (23.7%)	43 (13.9%)	66 (21,8%)	13 (15.1%)
<b>GG</b>	38 (22%)	95 (30,6%)	78 (25,7%)	24 (27.9%)
<b>P value</b>	0.061			
<b>Alleles</b>				
<b>A</b>	229 (66.2%)	387 (62.42%)	384 (63.37%)	111 (64.54%)
<b>G</b>	117 (33.8%)	233 (37.58%)	222 (36.63%)	61 (35.46%)
<b>P value</b>	0.695			

- 1 N, number of samples; Ins, insertion allele; Del, deletion allele; A, adenine allele; G, guanine  
2 allele.  
3

1 **Table 3: Odds ratio between the presence of the G variant allele of the *TLR4* rs4986790**  
 2 **polymorphism and the evaluated groups.**

<b>OUTCOME</b>	<b>N</b>	<b>O.R.</b>	<b>C.I. (95%)</b>	<b>P value</b>
<b>Only TB</b>	309	0.43	0.21 - 0.86	0.017
<b>TB + co-infection HIV-1/TB</b>	393	0.39	0.20 - 0.77	0.006
<b>Only HIV-1</b>	428	0.69	0.37 - 1.28	0.237
<b>HIV-1 + co-infection HIV-1/TB</b>	512	0.61	0.34 - 1.12	0.112
<b>TB or HIV-1 infection</b>	821	0.55	0.32 - 0.96	0.035
<b>Co-infection HIV-1/TB</b>	84	0.31	0.10 - 0.98	0.047

3 n, number of samples; O.R., odds ratio; C.I., confidence interval.

3

4

5

6

7

8

9

10

11

#### 1 4. DISCUSSÃO

2  
3 Quando este trabalho foi originalmente idealizado, ainda no ano de 2018,  
4 a TB e a aids despontavam como as duas principais causas de morte entre as  
5 doenças infectocontagiosas no mundo. Esperava-se, esperançosamente, que  
6 um dia ambas doenças seriam superadas graças à ciência e ao avanço da  
7 medicina. Entretanto, em 2020 a COVID-19 assombrou a sociedade  
8 contemporânea, se alastrando rapidamente pelo mundo e colocando a  
9 humanidade de joelhos. A TB e a aids finalmente haviam sido desbancadas,  
10 infelizmente devido à emergência de uma doença ainda mais ameaçadora.

11 Dadas as devidas diferenças a respeito de suas etiologias, a TB, a aids e  
12 a COVID-19 compartilham uma característica epidemiológica fundamental: o  
13 alto número de indivíduos infectados assintomáticos. Ou seja, apesar de serem  
14 doenças com morbidade elevada, manifestação clínica, na maioria das vezes,  
15 tende a não ser tão evidente. Consequentemente, são doenças que acabam  
16 sendo negligenciadas pelas autoridades e pela sociedade, o que contribui para  
17 sua ampla disseminação, sobretudo entre as parcelas mais vulneráveis e  
18 marginalizadas da população, para as quais o acesso aos serviços de saúde  
19 costuma ser mais limitado. Não por acaso, as periferias de países  
20 subdesenvolvidos ou em desenvolvimento como o Brasil se tornaram um  
21 ambiente prolífero para coinfeções e sindemias, como a HIV-1/TB e a  
22 TB/COVID-19.

23 No Artigo 1, "*Pathology of TB/COVID-19 Co-Infection: The phantom*  
24 *menace*", publicado no periódico *Tuberculosis (Elsevier)*, conduzimos uma  
25 revisão sistemática das publicações disponíveis descrevendo coortes de  
26 indivíduos coinfectados com TB/COVID-19. Primeiramente é importante  
27 salientar que a falta de dados sobre este tópico foi um importante viés para as  
28 análises, tendo em vista a baixa disponibilidade de artigos publicados sobre este  
29 tema e a falta de padronização para a caracterização dos grupos amostrais, tal  
30 como na apresentação dos resultados. Contudo, nossa revisão aponta que a TB  
31 atua como um fator de risco para o desenvolvimento de COVID-19 enquanto  
32 que, em contrapartida, a COVID-19 pode possivelmente influenciar no  
33 desenvolvimento de TB ativa em indivíduos infectados de forma latente pelo  
34 bacilo *M. tuberculosis*. Este estudo destaca-se pelo seu pioneirismo na análise

1 das relações entre a COVID-19 e a TB, visando levantar questionamentos  
2 quanto aos possíveis impactos indiretos da pandemia.

3 No Artigo 2, "*TLR2 rs111200466 polymorphism and its influence on CD3+*  
4 *and CD4+ T lymphocyte counts of HIV-1 seropositive individuals in southern*  
5 *Brazil*", submetido ao periódico Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz),  
6 descrevemos a relação entre o genótipo heterozigoto da deleção rs111200466  
7 do *TLR2* com maiores contagens de linfócitos T CD3<sup>+</sup> e CD4<sup>+</sup> em indivíduos HIV-  
8 1 soropositivos. Este polimorfismo apresenta resultados bastante controversos  
9 entre diferentes populações avaliadas, sendo associado tanto com a proteção  
10 contra o HIV-1 quanto com a suscetibilidade ao vírus. Tais diferenças,  
11 entretanto, podem ser explicadas por variações nas frequências alélicas, em  
12 função do próprio *background* genético de cada população ou etnia avaliada.  
13 Nossa população está em acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg e nossos  
14 achados sugerem que uma resposta inflamatória mais equilibrada, ou  
15 moderada, durante a fase crônica da infecção pelo HIV-1 é mais vantajosa para  
16 o hospedeiro, pois resulta em uma progressão mais lenta para aids.

17 O Artigo 3, "*Polymorphisms in toll-like receptors 2, 4 and 8 and its*  
18 *implications for susceptibility to TB, HIV-1 and HIV-1//TB co-infection in the*  
19 *Southern Brazil population*", ainda não foi finalizado, mas deverá ser submetido  
20 ao periódico *Infection, Genetics and Evolution (Elsevier)*. Nossos resultados  
21 prévios indicam que o genótipo homozigoto da deleção rs111200466 do *TLR2*  
22 está associado com maior suscetibilidade à coinfeção HIV-1/TB, enquanto que  
23 o alelo G299 do rs4986790 do *TLR4* está associado com a suscetibilidade à TB  
24 ativa e, também, com a coinfeção HIV-1/TB. Assim como no caso do Artigo 2,  
25 as frequências de ambos os polimorfismos variam de acordo com a literatura,  
26 contudo, supomos que tais diferenças também podem ser atribuídas a  
27 diferenças no *background* genético das populações avaliadas. O polimorfismo  
28 rs3764880 do *TLR8* não apresentou distribuição alélica consistente com o  
29 equilíbrio de Hardy Weinberg e nem diferenças estatisticamente significativas  
30 entre os grupos avaliados.

31 Tendo em vista a literatura escassa e a falta de interesse científico pelo  
32 estudo das coinfeções, fica evidente a urgência pelo desenvolvimento de novas  
33 pesquisas sobre esse tópico. A compreensão da influência da imunogenética  
34 dos TLRs na coinfeção HIV-1/TB, por exemplo, pode ajudar a identificar

1 possíveis novos alvos para terapias imunomodulatórias contra os patógenos,  
2 como o uso de agonistas, ou bloqueadores, do TLR2. Já a avaliação da  
3 patogenia da TB/COVID-19, pode contribuir para a discussão quanto à  
4 colateralidade dos tratamentos que estão sendo atualmente propostos contra o  
5 SARS-CoV-2, como as possíveis consequências do uso inadvertido de  
6 corticoides em indivíduos portadores de TB latente.

7 Por fim, é importante esclarecer que algumas das atividades inicialmente  
8 propostas no projeto foram diretamente afetadas pelas limitações logísticas  
9 impostas pela COVID-19. Entre as principais consequências da pandemia,  
10 destaca-se o adiamento, por tempo indeterminado, das genotipagens do SNP  
11 rs4986791 do *TLR4*; tal como o postergação da conclusão das genotipagens da  
12 deleção rs111200466 do *TLR2* que, por sua vez, já haviam sido iniciadas.  
13 Conseqüentemente, o Artigo 3, anexado ao final da dissertação, ainda não está  
14 concluído, e será devidamente finalizado somente após o término das  
15 genotipagens dos polimorfismos do *TLR2* e do *TLR4*. Ainda que nem todas das  
16 análises originalmente propostas tenham sido realizadas, vale destacar a  
17 inclusão de um tópico adicional ao projeto, referente à avaliação da patologia da  
18 coinfeção TB/COVID-19, conforme disposto no Artigo 1, já aceito e publicado  
19 pelo periódico *Tuberculosis* da *Elsevier*.

20

## 1 5. CONCLUSÃO

2

3 O presente estudo se focou em analisar a patologia das três principais  
4 causas de morte entre as doenças infectocontagiosas no mundo: a COVID-19,  
5 a TB e a aids; e também das coinfeções TB/COVID-19 e HIV-1/TB. De maneira  
6 geral, pode se apontar que uma resposta imune balanceada é um denominador  
7 comum para a resistência e para o bom prognóstico contra o SARS-CoV-2, o *M.*  
8 *tuberculosis* e o HIV-1. No caso da coinfeção TB/COVID-19, nossa revisão  
9 sistemática indica que a TB atua como um fator de risco para o desenvolvimento  
10 da COVID-19, provavelmente devido ao somatório de estímulos pró-  
11 inflamatórios no epitélio pulmonar. Avaliando a imunogenética dos receptores  
12 TLR e sua relação com a suscetibilidade à coinfeção HIV-1/TB, nossos  
13 resultados indicam que o genótipo heterozigoto para a deleção rs111200466 do  
14 *TLR2* está associado com maiores contagens de linfócitos T CD3<sup>+</sup> e CD4<sup>+</sup> em  
15 indivíduos HIV-1 soropositivos; em contrapartida, o genótipo homozigoto  
16 variante do rs111200466 foi relacionado com a suscetibilidade à coinfeção HIV-  
17 1/TB. Tais resultados dão suporte à hipótese de que uma resposta imune  
18 balanceada, ou seja, com uma expressão moderada do receptor TLR2, é mais  
19 vantajosa na defesa do hospedeiro. Por fim, o alelo G299 do SNP rs4986790 do  
20 *TLR4*, que altera o poder de discriminação do receptor, foi associado com a  
21 suscetibilidade à TB e à coinfeção HIV-1/TB. Somadas, estas evidencias  
22 destacam o protagonismo dos receptores TLR na construção da resposta imune  
23 contra o HIV-1 e o *M. tuberculosis*, reforçando a influência da imunogenética na  
24 suscetibilidade e no prognóstico de ambas as infecções.

25

26

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBAS AK, LICHTMAN AH, PILLAI S. *Imunologia básica*. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.
2. ABEL B, THIEBLEMONT N, QUESNIAUX VJ, BROWN N, MPAGI J, MIYAKE K, et al. Toll-like receptor 4 expression is required to control chronic *Mycobacterium tuberculosis* infection in mice. *J Immunol* 2002; 169:3155–62.
3. AKIRA S, KISHIMOTO T. NF-IL6 and NF- $\kappa$ B in cytokine gene regulation. *Adv Immunol* 1997; 65:1–46.
4. AKIRA S, TAKEDA K, KAISHO T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol* 2001; 2:675–80.
5. AKIRA S, UEMATSU S, TAKEUCHI. O Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124:783–801.
6. ALEXOPOULOU L, CZOPIK-HOLT A, MEDZHITOV R, FLAVELL R. Recognition of double stranded RNA and activation of NF $\kappa$ B by Toll-like receptor 3. *Nature* 2001; 413:696–712.
7. ALKHATIB G, COMBADIÈRE C, BRODER CC, FENG Y, KENNEDY PE, MURPHY PM, et al. CC CKR5: a RANTES, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. *Science* 1996; 272(5270):1955–8.
8. ALUNNO A, CARUBBI F, RODRÍGUEZ-CARRIO J. Storm, typhoon, cyclone or hurricane in patients with COVID-19? Beware of the same storm that has a different origin. *RMD Open* 2020; 6(1):1–4.
9. ANANDIAH, A, SINHA S, BOLE M, SHARMA SK, KUMAR N, LUTHRA K, et al. Vitamin D Rescues Impaired *Mycobacterium tuberculosis*-

- 1 Mediated Tumor Necrosis Factor Release in Macrophages of HIV-  
2 Seropositive Individuals through an Enhanced Toll-Like Receptor  
3 Signaling Pathway In Vitro. *Infect Immun* 2013; 81(1):2–10.  
4
- 5 10. ANTONIO EC, MEIRELES MR, DE SOUZA BRAGATTE MA, VIEIRA GF.  
6 Can the protection be among us? Previous viral contacts and prevalent  
7 HLA alleles could be avoiding an even more disseminated COVID-19  
8 pandemic. medRxiv 2020.  
9
- 10 11. APPAY V, SAUCE D. Immune activation and inflammation in HIV-1  
11 infection: causes and consequences. *J Pathol* 2008; 214:231–41.  
12
- 13 12. ARBOUR NC, LORENZ E, SCHUTTE BC, ZABNER J, KLINE JN, JONES  
14 M, et al. TLR4 mutations are associated with endotoxin  
15 hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet* 2000; 25:187–91.  
16
- 17 13. ATAL S, FATIMA Z. IL-6 Inhibitors in the Treatment of Serious COVID-19:  
18 A Promising Therapy? *Pharmaceut Med* 2020; 34(4):223–31.  
19
- 20 14. BADRI M, EHRLICH R, WOOD R, PULERWITZ T, MAARTENS G.  
21 Association between tuberculosis and HIV disease progression in a high  
22 tuberculosis prevalence area. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001; 5:225–32.  
23
- 24 15. BAETEN JM, DONNELL D, NDASE P, MUGO NR, CAMPBELL JD,  
25 WANGISI J, et al. Antiretroviral prophylaxis for HIV prevention in  
26 heterosexual men and women. *N Engl J Med* 2012; 367:399–410.  
27
- 28 16. BÁFICA A, SCANGA CA, SCHITO ML, HIENY S, SHER A. Cutting edge:  
29 in vivo induction of integrated HIV-1 expression by mycobacteria is  
30 critically dependent on Toll-like receptor 2. *J Immunol* 2003; 171:1123–7.  
31
- 32 17. BÁFICA A, SCANGA CA, SCHITO M, CHAUSSABEL D, SHER A.  
33 Influence of coinfecting pathogens on HIV expression: evidence for a role  
34 of Toll-like receptors. *J Immunol* 2004; 172:7229–34.

- 1 18. BÁFICA A, SCANGA CA, FENG CG, LEIFER C, CHEEVER A, SHER A.  
2 TLR9 regulates Th1 responses and cooperates with TLR2 in mediating  
3 optimal resistance to *Mycobacterium tuberculosis*. *J Exp Med* 2005;  
4 202:1715–24  
5
- 6 19. BAÑULS AL, SANOU A, ANH NT, GODREUIL S. *Mycobacterium*  
7 *tuberculosis*: ecology and evolution of a human bacterium. *J Med Microbiol*  
8 2015; 64:1261–9.  
9
- 10 20. BECK-SAGUE C, DOOLEY SW, HUTTON MD, OTTEN J, BREEDEN A,  
11 CRAWFORD JT, et al. Hospital outbreak of multidrug-resistant  
12 *Mycobacterium tuberculosis* infections. Factors in transmission to staff and  
13 HIV-infected patients. *JAMA* 1992; 268:1280–6.  
14
- 15 21. BEHAR SM. Antigen-specific CD8(b) T cells and protective immunity to  
16 *tuberculosis*. *Adv Exp Med Biol* 2013; 783:141–63.  
17
- 18 22. BELLAMY R, BEYERS N, MCADAM KP, RUWENDE C, GIE R, SAMAAI  
19 P, et al. Genetic susceptibility to *tuberculosis* in Africans: a genome-wide  
20 scan. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(14):8005–9.  
21
- 22 23. BELVIN MP, ANDERSON KV. A conserved signaling pathway: the  
23 *Drosophila* toll-dorsal pathway. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1996; 12:393–416.  
24
- 25 24. BLIVEN-SIZEMORE EE, JOHNSON JL, GOLDBERG S, BURMAN WJ,  
26 VILLARINO ME, CHAISSON RE, et al. Effect of HIV infection on  
27 tolerability and bacteriologic outcomes of *tuberculosis* treatment. *Int J*  
28 *Tuberc Lung Dis* 2012; 16:473–9.  
29
- 30 25. BRANGER J, LEEMANS JC, FLORQUIN S, WEIJER S, SPEELMAN P,  
31 VAN DER PT. Toll-like receptor 4 plays a protective role in pulmonary  
32 *tuberculosis* in mice. *Int Immunol* 2004; 16:509–16.  
33
- 34 26. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico de

- 1 Tuberculose. Boletim Epidemiológico – 2020; Número Especial,  
2 Mar.2020a,1-40. [Citado em 05 de janeiro de 2021]. Disponível em:  
3 “[http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-epidemiologico-de-](http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-epidemiologico-de-tuberculose-2020)  
4 [tuberculose-2020](http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-epidemiologico-de-tuberculose-2020)”.
- 5
- 6 27.BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE: Panorama epidemiológico da  
7 coinfeção TB-HIV no Brasil – 2019; 50 (26):1-28. [Citado em 05 de  
8 janeiro de 2021]. Disponível em: “[http://www.aids.gov.br/pt-](http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2019/boletim-epidemiologico-tb-hiv-2019)  
9 [br/pub/2019/boletim-epidemiologico-tb-hiv-2019](http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2019/boletim-epidemiologico-tb-hiv-2019)”.
- 10
- 11 28.BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE: Boletim Epidemiológico de Hepatites  
12 Virais – 2020; Número Especial, Jul.2020b,1-80. [Citado em 05 de janeiro  
13 de 2021]. Disponível em: [Citado em 05 de janeiro de 2021]. Disponível  
14 em: “[http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-epidemiologico-](http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-epidemiologico-hepatites-virais-2020)  
15 [hepatites-virais-2020](http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-epidemiologico-hepatites-virais-2020)”.
- 16
- 17 29.BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE: Boletim Epidemiológico HIV/Aids –  
18 2020; Número Especial, Dez.2020c,1-68. [Citado em 25 de janeiro de  
19 2021]. Disponível em:// “[http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-](http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-epidemiologico-hivaids-2020)  
20 [epidemiologico-hivaids-2020](http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-epidemiologico-hivaids-2020)”.
- 21
- 22 30.BRITES D, GAGNEUX S. Co-evolution of Mycobacterium tuberculosis  
23 and Homo sapiens. *Immunol Rev* 2015; 264(1):6–24.
- 24
- 25 31.BURASTERO SE, GAFFI D, LOPALCO L, TAMBUSI G, BORGONOVO  
26 B, DE SANTIS C, et al. Autoantibodies to CD4 in HIV type 1-exposed  
27 seronegative individuals. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1996; 12(4):273–  
28 80.
- 29
- 30 32.BUSATTA C, PAULA V DE, LUISE M, AZEVEDO V, PAULA A, MARTINS  
31 C, et al. IL-4 / IL-13 Remodeling Pathway of Covid-19 Lung Injury. *Sci Rep*  
32 2020; 10,18689:1–14.
- 33
- 34 33.BRUCHFELD J, CORREIA-NEVES M, KÄLLENIUS G. Tuberculosis and

- 1 HIV Coinfection. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015; 5(7):a017871.
- 2
- 3 34. BUKHARI M, ASLAM MA, KHAN A, IRAM Q, AKBAR A, NAZ AG, et al.
- 4 TLR8 gene polymorphism and association in bacterial load in southern
- 5 Punjab of Pakistan: an association study with pulmonary tuberculosis. *Int*
- 6 *J Immunogenet* 2015; 42(1):46–51.
- 7
- 8 35. CAIN KP, MCCARTHY KD, HEILIG CM, MONKONGDEE P,
- 9 TASANEEYAPAN T, KANARA N, et al. An algorithm for tuberculosis
- 10 screening and diagnosis in people with HIV. *N Engl J Med* 2010; 362:707–
- 11 16.
- 12
- 13 36. CAMPOS RA, PIANTA C. Tuberculose: Histórico, epidemiologia e
- 14 imunologia, de 1990 a 1999, e co-infecção TB/HIV, de 1998 a 1999, Rio
- 15 Grande do Sul -Brasil. *Bol da Saúde* 2001; 15(1) 61–71.
- 16
- 17 37. CENTIS R, D'AMBROSIO L, GARCÍA-GARCÍA JM, GOLETTI G,
- 18 GUALANO G, LIPANI F, et al. Tuberculosis, COVID-19 and migrants:
- 19 Preliminary analysis of deaths occurring in 69 patients from two cohorts. *J*
- 20 *Pulmonol* 2020; 26(4):233–40.
- 21
- 22 38. CERVANTES JL, WEINERMAN B, BASOLE C, SALAZAR JC. TLR8: the
- 23 forgotten relative revindicated. *Cell Mol Immunol* 2012; 9(6):434–38.
- 24
- 25 39. CHAI Q, ZHANG Y, LIU CH. Mycobacterium tuberculosis: An adaptable
- 26 pathogen associated with multiple human diseases. *Front Cell Infect*
- 27 *Microbiol* 2018; 8(MAY):1–15.
- 28
- 29
- 30 40. CHAISSON RE, SCHECTER GF, THEUER CP, RUTHERFORD GW,
- 31 ECHENBERG DF, HOPEWELL PC. Tuberculosis in patients with the
- 32 acquired immunodeficiency syndrome. Clinical features, response to
- 33 therapy, and survival. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136:570–4.
- 34
- 35 41. CHAN ED, CHAN J, SCHLUGER NW. What is the role of nitric oxide in

- 1 murine and human host defense against tuberculosis? Current knowledge.  
2 Am. J Respir Cell Mol Biol 2001; 25:606–12.  
3
- 4 42. CHARALAMBOUS S, GRANT AD, MOLOI V, WARREN R, DAY JH, VAN  
5 HELDEN P, et al. Contribution of reinfection to recurrent tuberculosis in  
6 South African gold miners. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008; 12:942–8.  
7
- 8 43. CHEN YC, HSIAO CC, CHEN CJ, CHIN CH, LIU SF, WU CC et al. Toll-  
9 like receptor 2 gene polymorphisms, pulmonary tuberculosis, and natural  
10 killer cell counts. *BMC Med Genet* 2010; 11:17.  
11
- 12 44. CHOW JC, YOUNG DW, GOLENBOCK DT, CHRIST WJ, GUSOVSKY F.  
13 Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal  
14 transduction. *J Biol Chem* 1999; 274(16):10689–92.  
15
- 16 45. CHRISTOFFERSON DE, YUAN J. Necroptosis as an alternative form of  
17 programmed cell death. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22(2):263–8.  
18
- 19 46. CISNEROS JR, MURRAY KM. Corticosteroids in tuberculosis. *Ann*  
20 *Pharmacother* 1996; 30(11):1298–303.  
21
- 22 47. CLERICI M, LEVIN JM, KESSLER HA, HARRIS A, BERZOFKY JA,  
23 LANDAY AL, et al. HIV-specific T-helper activity in seronegative health  
24 care workers exposed to contaminated blood. *JAMA* 1994; 271(1):42–6.  
25
- 26 48. COBAT A, ORLOVA M, BARRERA LF, SCHURR E. Host genomics and  
27 control of tuberculosis infection. *Public Health Genomics* 2013; 16:44–9.  
28
- 29 49. COBELENS FG, EGWAGA SM, VAN GINKEL T, MUWINGE H, MATEE  
30 MI, BORGDORFF MW. Tuberculin skin testing in patients with HIV  
31 infection: limited benefit of reduced cutoff values. *Clin Infect Dis* 2006;  
32 43:634–9.  
33
- 34 50. COHEN SE, VITTINGHOFF E, ANDERSON PL, DOBLECKI-LEWIS S,

- 1 BACON O, CHEGE W, et al. Implementation of PrEP in STD clinics: high  
2 uptake and drug detection among MSM in the demonstration project; 21st  
3 Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2014, Março, 3–  
4 6; Boston, MA. 2014. Resumo 954.  
5
- 6 51.COHN DL, O'BRIEN RJ. The use of restriction fragment length  
7 polymorphism (RFLP) analysis for epidemiological studies of tuberculosis  
8 in developing countries. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2:16–26.  
9
- 10 52.COONEY R, BAKER J, BRAIN O, DANIS B, PICHULIK T, ALLAN P, et al.  
11 NOD2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing  
12 bacterial handling and antigen presentation. *Nat. Med* 2010; 16:90–7.  
13
- 14 53.COOPER AM. Cell-mediated immune responses in tuberculosis. *Annu*  
15 *Rev Immunol* 2009; 27:393–422.  
16
- 17 54.COSTINIUK CT, JENABIAN MA. The lungs as anatomical reservoirs of  
18 HIV infection. *Rev Med Virol* 2014; 24:35–54.  
19
- 20 55.COX JA, LUKANDE RL, LUCAS S, NELSON AM, VAN MARCK E,  
21 COLEBUNDERS R. Autopsy causes of death in HIV-positive individuals  
22 in sub-Saharan Africa and correlation with clinical diagnoses. *AIDS Rev.*  
23 2010; 12:183–94.  
24
- 25 56.CRAMPIN AC, MWAUNGULU JN, MWAUNGULU FD, MWAFULIRWA  
26 DT, MUNTHALI K, FLOYD S, et al. Recurrent TB: Relapse or reinfection?  
27 The effect of HIV in a general population cohort in Malawi. *AIDS* 2010;  
28 24:417–26.  
29
- 30 57.CURTIS JK. The significance of bronchiectasis associated with pulmonary  
31 tuberculosis. *Am J Med* 1957; 22(6):894–903.  
32
- 33 58.DALEY CL, SMALL PM, SCHECTER GF, SCHOOLNIK GK, MCADAM  
34 RA, JACOBS WR JR, et al. An outbreak of tuberculosis with accelerated

1 progression among persons infected with the human immunodeficiency  
2 virus. An analysis using restriction-fragment-length polymorphisms. *N*  
3 *Engl J Med* 1992; 326:231–5.

4  
5 59. DAY CL, KAUFMANN DE, KIEPIELA P, BROWN JA, MOODLEY ES,  
6 REDDY S, et al. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with  
7 T-cell exhaustion and disease progression. *Nature* 2006; 443:350–4.

8  
9 60. DAVILA S, HIBBERD ML, HARI DASS R, WONG HE, SAHIRATMADJA  
10 E, BONNARD C, et al. Genetic association and expression studies  
11 indicate a role of toll-like receptor 8 in pulmonary tuberculosis. *PLoS Genet*  
12 2008; 4(10):e1000218.

13  
14 61. DEAN AS, COX H, ZIGNOL M. Epidemiology of Drug-Resistant  
15 Tuberculosis. *Adv Exp Med Biol* 2017; 1019:209–20.

16  
17 62. DEAN M, CARRINGTON M, WINKLER C, HUTTLEY GA, SMITH MW,  
18 ALLIKMETS R, et al. Genetic restriction of HIV-1 infection and progression  
19 to AIDS by a deletion allele of the *CKR5* structural gene. Hemophilia  
20 Growth and Development Study, Multicenter AIDS Cohort Study,  
21 Multicenter Hemophilia Cohort Study, San Francisco City Cohort, ALIVE  
22 Study. *Science* 1996; 273(5283):1856–62.

23  
24 63. DENG H, LIU R, ELLMEIER W, CHOE S, UNUTMAZ D, BURKHART M,  
25 et al. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1.  
26 *Nature* 1996; 381(6584):661–6.

27  
28 64. DERETIC V, SINGH S, MASTER S, HARRIS J, ROBERTS E, KYEI G, et  
29 al. *Mycobacterium tuberculosis* inhibition of phagolysosome biogenesis  
30 and autophagy as a host defence mechanism. *Cell Microbiol* 2006;  
31 8(5):719–27.

32  
33 65. DE CLERCQ E, SCHOLS D. Inhibition of HIV infection by CXCR4 and  
34 CCR5 chemokine receptor antagonists. *Antivir Chem Chemother* 2001;

- 1           12(1):19–31.
- 2
- 3           66.DE NORONHA AL, BÁFICA A, NOGUEIRA L, BARRAL A, BARRAL-
- 4           NETTO M. Lung granulomas from Mycobacterium tuberculosis/HIV-1 co-
- 5           infected patients display decreased in situ TNF production. *Pathol Res*
- 6           *Pract* 2008; 204:155–61.
- 7
- 8           67.DEVAUX CA, ROLAIN JM, RAOULT D. ACE2 receptor polymorphism:
- 9           Susceptibility to SARS-CoV-2, hypertension, multi-organ failure, and
- 10          COVID-19 disease outcome. *J Microbiol Immunol Infect* 2020; 53(3):425–
- 11          35.
- 12
- 13          68.DHEDA K, BOOTH H, HUGGETT JF, JOHNSON MA, ZUMLA A, ROOK
- 14          GAW. Lung remodeling in pulmonary tuberculosis. *J Infect Dis* 2005;
- 15          192(7):1201–10.
- 16
- 17          69.DIAO B, WANG C, TAN Y, CHEN X, LIU Y, NING L, et al. Reduction and
- 18          Functional Exhaustion of T Cells in Patients With Coronavirus Disease
- 19          2019 (COVID-19). *Front Immunol* 2020; 11(May):1–7.
- 20
- 21          70.DIEBOLD SS, KAISHO T, HEMMI H, AKIRA S, REIS ESC. Innate antiviral
- 22          responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded
- 23          RNA. *Science* 2004; 303:1529–31.
- 24
- 25          71.DIEDRICH CR, FLYNN JL. HIV-1/mycobacterium tuberculosis coinfection
- 26          immunology: how does HIV-1 exacerbate tuberculosis? *Infect Immun*
- 27          2011; 79:1407–17.
- 28
- 29          72.DORMANS J, BURGER M, AGUILAR D, HERNANDEZ-PANDO R,
- 30          KREMER K, ROHOLL P, et al. Correlation of virulence, lung pathology,
- 31          bacterial load and delayed type hypersensitivity responses after infection
- 32          with different Mycobacterium tuberculosis genotypes in a BALB/c mouse
- 33          model. *Clin Exp Immunol* 2004; 137(3):460–8.
- 34
- 35          73.DRAGIC T, LITWIN V, ALLAWAY GP, MARTIN SR, HUANG Y,

- 1 NAGASHIMA KA, et al. HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the  
2 chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature* 1996; 381(6584):667–73.  
3
- 4 74. DRENNAN MB, NICOLLE D, QUESNIAUX VJ, JACOBS M, ALLIE  
5 N, MPAGI J, et al. Toll-like receptor 2–deficient mice succumb to  
6 *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Am J Pathol* 2004; 164:49–57.  
7
- 8 75. DU BRUYN E, WILKINSON RJ. The Immune Interaction between HIV-1  
9 Infection and *Mycobacterium tuberculosis*. *Microbiol Spectr* 2016; 4(6).  
10
- 11 76. EBERLE J., GURTLER L. HIV types, groups, subtypes and recombinant  
12 forms: Errors in replication, selection pressure and  
13 quasispecies. *Intervirology* 2012; 55:79–83.  
14
- 15 77. EDER W, KLIMECKI W, YU L, VON MUTIUS E, RIEDLER J, BRAUN-  
16 FAHRLÄNDER C, NOWAK D, MARTINEZ FD; ALEX Study Team. Toll-  
17 like receptor 2 as a major gene for asthma in children of European farmers.  
18 *J Allergy Clin Immunol* 2004 Mar; 113(3):482-8.  
19
- 20 78. EDLIN BR, TOKARS JI, GRIECO MH, CRAWFORD JT, WILLIAMS J,  
21 SORDILLO EM, et al. An outbreak of multidrug-resistant tuberculosis  
22 among hospitalized patients with the acquired immunodeficiency  
23 syndrome. *N Engl J Med* 1992; 326:1514–21.  
24
- 25 79. EHLERS S, SCHAIBLE UE. The granuloma in tuberculosis: dynamics of  
26 a host-pathogen collusion. *Front Immunol* 2013; 3:4–11.  
27
- 28 80. EQUILS O, SCHITO ML, KARAHASHI H, MADAK Z, YARALI A,  
29 MICHELSEN KS, et al. Toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR9 signaling  
30 results in HIV-long terminal repeat trans-activation and HIV replication in  
31 HIV-1 transgenic mouse spleen cells: implications of simultaneous  
32 activation of TLRs on HIV replication. *J Immunol* 2003; 170(10):5159–64.  
33
- 34 81. EQUILS O, SHAPIRO A, MADAK Z, LIU C, LU D. Human

- 1 Immunodeficiency Virus Type 1 Protease Inhibitors Block Toll-Like  
2 Receptor 2 (TLR2)- and TLR4-Induced NF- $\kappa$ B Activation. *Antimicrob*  
3 *Agents Chemother* 2004; 48(10):3905–911.
- 4  
5 82. ETNA MP, GIACOMINI E, SEVERA M, COCCIA EM. Pro-and anti-  
6 inflammatory cytokines in tuberculosis: A two-edged sword in TB  
7 pathogenesis. *Semin Immunol* 2014; 26(6):543–51.
- 8  
9 83. FAUCI, AS. HIV and AIDS: 20 years of science. *Nat Med* 2003; (7):839–  
10 43.
- 11  
12 84. FARIDGOHAR M, NIKOUEINEJAD H. New findings of Toll-like receptors  
13 involved in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Pathog Glob Health*  
14 2017; 111(5):256–64.
- 15  
16 85. FELSENSTEIN S, HERBERT JA, MCNAMARA PS, HEDRICH CM.  
17 COVID-19: Immunology and treatment options. *Clin Immunol* 2020;  
18 215(April):108448.
- 19  
20 86. FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ A, BERENQUER J, JIMÉNEZ-SOUSA MA,  
21 GARCÍA-ÁLVAREZ M, ALDÁMIZ-ECHEVARRÍA T, PINEDA-TENOR D,  
22 et al. Toll-like receptor 8 (TLR8) polymorphisms are associated with non-  
23 progression of chronic hepatitis C in HIV/HCV coinfecting patients. *Infect*  
24 *Genet Evol* 2015; 36:339–44.
- 25  
26 87. FERWERDA B, KIBIKI GS, NETEA MG, DOLMANS WM, VAN DER VEN  
27 AJ. The toll-like receptor 4 Asp299Gly variant and tuberculosis  
28 susceptibility in HIV-infected patients in Tanzania. *AIDS* 2007;  
29 21(10):1375–1377.
- 30  
31 88. FINK SL, COOKSON BT. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis:  
32 Mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infect Immun*  
33 2005; 73(4):1907–16.
- 34

- 1 89. FLESCHE IE, KAUFMANN SH. Mechanisms involved in mycobacterial  
2 growth inhibition by gamma interferon-activated bone marrow  
3 macrophages: role of reactive nitrogen intermediates. *Infect Immun* 1991;  
4 59:3213–3218.
- 5
- 6 90. FLEXNER C. HIV-protease inhibitors. *N Engl J Med* 1998; 338(18):1281–  
7 92.
- 8
- 9 91. FLYNN JL, CHAN J. Tuberculosis: latency and reactivation. *Infect Immun*  
10 2001; 69(7):195–201.
- 11
- 12 92. FLYNN JL, CHAN J, LIN PL. Macrophages and control of granulomatous  
13 inflammation in tuberculosis. *Mucosal Immunol* 2011; 4(3):271–8.
- 14
- 15 93. FOWKE KR, NAGELKERKE NJ, KIMANI J, SIMONSEN JN, ANZALA AO,  
16 BWAYO JJ, et al. Resistance to HIV-1 infection among persistently  
17 seronegative prostitutes in Nairobi, Kenya. *Lancet* 1996; 348(9038):1347–  
18 51.
- 19
- 20 94. FRASER RS, MULLER NL, COLMAN N, PARES PD EDS. *Mycobacteria*  
21 In: Fraser and Pares – *Diagnosis of Diseases of the Chest*. 4 ed.  
22 Philadelphia, PA, USA: Saunders Company, 1999.
- 23
- 24 95. FRIEDEN TR, STERLING TR, MUNSIFF SS, WATT CJ, DYE C.  
25 Tuberculosis. *Lancet* 2003; 362:887–99.
- 26
- 27 96. GAGNEUX S. Host-pathogen coevolution in human tuberculosis. *Philos*  
28 *Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2012; 367(1590):850–9.
- 29
- 30 97. GARRAIT V, CADRANEL J, ESVANTH, HERRY I, MORINET P, MAYAUD  
31 C, et al. Tuberculosis generates a microenvironment enhancing the  
32 productive infection of local lymphocytes by HIV. *J Immunol* 1997;  
33 159:2824–30.
- 34

- 1 98. GELDMACHER C, SCHUETZ A, NGWENYAMA N, CASAZZA JP,  
2 SANGA E, SAATHOFF E, et al. Early depletion of Mycobacterium  
3 tuberculosis specific T helper 1 cell responses after HIV-1 infection. *J*  
4 *Infect Dis* 2008; 198:1590–8.  
5
- 6 99. GELDMACHER C, NGWENYAMA N, SCHUETZ A, PETROVAS C,  
7 REITHERK, HEEREGRAVE EJ, et al. Preferential infection and depletion  
8 of Mycobacterium tuberculosis-specific CD4 T cells after HIV-1 infection.  
9 *J Exp Med* 2010; 207: 2869–81.  
10
- 11 100. GERMOLEC DR, SHIPKOWSKI KA, FRAWLEY RP, EVANS E. Markers  
12 of inflammation. *Methods Mol Biol* 2018; 1803:57–79.  
13
- 14 101. GETAHUN H, GUNNEBERG C, GRANICH R, NUNN P. HIV infection-  
15 associated tuberculosis: the epidemiology and the response. *Clin Infect Dis*  
16 2010; 50(3):201–7.  
17
- 18 102. GIRARDI E, RAVIGLIONE MC, ANTONUCCI G, GODFREY-FAUSSETT  
19 P, IPPOLITO G. Impact of the HIV epidemic on the spread of other  
20 diseases: The case of tuberculosis. *AIDS* 2000; 14:47–56.  
21
- 22 103. GOFF SP. Genetics of retroviral integration. *Ann Rev Genet* 1992;  
23 26:527–44.  
24
- 25 104. GOLDBERG MF, SAINI NK, PORCELLI SA. Evasion of Innate and  
26 Adaptive Immunity by Mycobacterium tuberculosis. *Microbiol Spectr* 2014;  
27 2(5)e101128.  
28
- 29 105. GRANICH RM, GILKS CF, DYE CBG. Universal voluntary HIV testing with  
30 immediate antiretroviral therapy as a strategy for elimination of HIV  
31 transmission: A mathematical model. *Lancet* 2009; 373:48–57.

- 1 106. GRANT RM, LAMA JR, ANDERSON PL, MCMAHAN V, LIU AY, VARGAS  
2 L, et al. Preexposure chemoprophylaxis for HIV prevention in men who have  
3 sex with men. *N Engl J Med* 2010; 363:2587–99.
- 4  
5 107. GU J, GONG E, ZHANG B, ZHENG J, GAO Z, ZHONG Y, et al. Multiple  
6 organ infection and the pathogenesis of SARS. *J Exp Med* 2005;  
7 202(3):415–24.
- 8  
9 108. HAAS A, ZIMMERMANN K, OXENIUS A. Antigen-dependent and -  
10 independent mechanisms of T and B cell hyperactivation during chronic HIV-  
11 1 infection. *J Virol* 2011; 85:12102–13.
- 12  
13 109. HAHN BH, SHAW GM, DE COCK KM, SHARP PM. AIDS as a zoonosis:  
14 scientific and public health implications. *Science* 2000; 287(5453):607–14.
- 15  
16 110. HAMMING I, TIMENS W, BULTHUIS MLC, LELY AT, NAVIS GJ, VAN  
17 GOOR H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for  
18 SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J*  
19 *Pathol* 2004; 203(2):631–7.
- 20  
21 111. HEIL F, HEMMI H, HOCHREIN H, AMPENBERGER F, KIRSCHNING C,  
22 AKIRA S, et al. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-  
23 like receptor 7 and 8. *Science* 2004; 303(5663):1526–29.
- 24  
25 112. HEITMANN L, DAR MA, SCHREIBER T, ERDMANN H, BEHREND S J,  
26 MCKENZIE ANJ, et al. The IL-13/IL-4R $\alpha$  axis is involved in tuberculosis-  
27 associated pathology. *J Pathol* 2014; 234(3):338–50.
- 28  
29 113. HEMELAAR J, GOUWS E, GHYS PD, OSMANOV S, WHO-UNAIDS  
30 NETWORK FOR HIV ISOLATION AND CHARACTERISATION. Global  
31 trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000-2007. *AIDS* 2011;  
32 25(5):679–8
- 33  
34 114. HENDERSON LA, CANNA SW, SCHULERT GS, VOLPI S, LEE PY,  
35 KERNAN KF, et al. On the Alert for Cytokine Storm: Immunopathology in

- 1 COVID-19. *Arthritis Rheumatol* 2020; 72(7):1059–63.
- 2
- 3 115. HERNANDEZ-VARGAS EA, MIDDLETON RH. Modeling the three stages  
4 in HIV infection. *J Theor Biol* 2013; 320:33–40.
- 5
- 6 116. HNIZDO E, SINGH T, CHURCHYARD G. Chronic pulmonary function  
7 impairment caused by initial and recurrent pulmonary tuberculosis following  
8 treatment. *Thorax* 2000; 55(1):32–8.
- 9
- 10 117. HOFFMANN M, KLEINE-WEBER H, SCHROEDER S, KRÜGER N,  
11 HERRLER T, ERICHSEN S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on  
12 ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease  
13 Inhibitor. *Cell* 2020; 181(2):271-280.e8.
- 14
- 15 118. HOSHINO K, TAKEUCHI O, KAWAI T, SANJO H, OGAWA T, TAKEDA  
16 Y, et al. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are  
17 hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene  
18 product. *J Immunol* 1999; 162(7):3749–52.
- 19
- 20 119. HOSHINO Y, NAKATA K, HOSHINO S, HONDA Y, TSE DB, SHIODA T,  
21 et al. Maximal HIV-1 replication in alveolar macrophages during tuberculosis  
22 requires both lymphocyte contact and cytokines. *J Exp Med* 2002; 195:495–  
23 505.
- 24
- 25 120. HOSHINO Y, TSE DB, ROCHFORD G, PRABHAKAR S, HOSHINO S,  
26 CHITKARA N, et al. Mycobacterium tuberculosis-induced CXCR4 and  
27 chemokine expression leads to preferential X4 HIV-1 replication in human  
28 macrophages. *J Immunol* 2004; 172:6251–8.
- 29
- 30 121. HOY-ELLIS CP, FREDRIKSEN-GOLDSSEN KI. Is AIDS chronic or  
31 terminal? The perceptions of persons living with AIDS and their informal  
32 support partners. *AIDS Care* 2007; 19(7):835–43.
- 33
- 34 122. HUANG Y, PAXTON WA, WOLINSKY SM, NEUMANN AU, ZHANG L, HE

- 1 T, et al. The role of a mutant CCR5 allele in HIV-1 transmission and disease  
2 progression. *Nat Med* 1996; 2(11):1240–43.  
3
- 4 123. IBÁÑEZ A, PUIG T, ELIAS J, CLOTET B, RUIZ L, MARTÍNEZ MA.  
5 Quantification of integrated and total HIV-1 DNA after long-term highly  
6 active antiretroviral therapy in HIV-1-infected patients. *AIDS* 1999; 13:1045–  
7 9.  
8
- 9 124. ISRAEL-BIET D, CADRANEL J, BELDJORD K, ANDRIEU JM, JEFFREY  
10 A, EVEN P. Tumor necrosis factor production in HIV-seropositive subjects.  
11 Relationship with lung opportunistic infections and HIV expression in  
12 alveolar macrophages. *J Immunol* 1991; 147:490–4.  
13
- 14 125. IWASAKI A, MEDZHITOV R. Toll-like receptor control of the adaptive  
15 immune responses. *Nat Immunol* 2004; 5:987–95.  
16
- 17 126. JAGANNATH C, LINDSEY DR, DHANDAYUTHAPANI S, XU Y, HUNTER  
18 RL JR, EISSA NT. Autophagy enhances the efficacy of BCG vaccine by  
19 increasing peptide presentation in mouse dendritic cells. *Nat Med* 2009;  
20 15:267–76.  
21
- 22 127. JENNY-AVITAL ER, JOSEPH K. Rifamycin-resistant *Mycobacterium*  
23 tuberculosis in the highly active antiretroviral therapy era: a report of 3  
24 relapses with acquired rifampin resistance following alternate-day rifabutin  
25 and boosted protease inhibitor therapy. *Clin Infect Dis* 2009; 48:1471–4.  
26
- 27 128. JEPSON A., FOWLER A., BANYA W, SINGH M, BENNETT S, WHITTLE  
28 H, HILL AV. Genetic regulation of acquired immune responses to antigens  
29 of *Mycobacterium tuberculosis*: a study of twins in West Africa. *Infect*  
30 *Immun.* 2001; 69(6):3989–94.  
31
- 32 129. JIA HP, LOOK DC, SHI L, HICKEY M, PEWE L, NETLAND J, et al. ACE2  
33 Receptor Expression and Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus  
34 Infection Depend on Differentiation of Human Airway Epithelia. *J Virol* 2005;

- 1           79(23):14614–21.
- 2
- 3       130. JIANG S, ZHAO Q, DEBNATH AK. Peptide and non-peptide HIV fusion  
4           inhibitors. *Curr Pharm Des* 2002; 8(8):563–80.
- 5
- 6       131. JOHN M, FRENCH MA. Exacerbation of the inflammatory response to  
7           *Mycobacterium tuberculosis* after antiretroviral therapy. *Med J Aust* 1998;  
8           169(9)473–4.
- 9
- 10      132. JONES BE, YOUNG SM, ANTONISKIS D, DAVIDSON PT, KRAMER F,  
11           BARNES PF. Relationship of the manifestations of tuberculosis to CD4 cell  
12           counts in patients with human immunodeficiency virus infection. *Am Rev*  
13           *Respir Dis.* 1993; 148:1292–7.
- 14
- 15      133. KALSDORF B, SCRIBA TJ, WOOD K, DAY CL, DHEDA K, DAWSON R,  
16           et al. HIV-1 infection impairs the bronchoalveolar T-cell response to  
17           mycobacteria. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180:1262–1270.
- 18
- 19      134. KATO-MAEDA M, SMALL PM. How molecular epidemiology has changed  
20           what we know about tuberculosis. *West J Med* 2000; 172:256–9.
- 21
- 22      135. KAWAI T, AKIRA S. Toll-like receptor and RIG-I-like receptor signalling.  
23           *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1143:1–20.
- 24
- 25      136. KHAN AU, ASLAM MA, HUSSAIN I, NAZ AG, RANA IA, AHMAD MM, et  
26           al. Role of Toll-like receptor 2 gene polymorphisms in susceptibility to  
27           pulmonary tuberculosis in Pakistani population. *Int J Immunogenet* 2014;  
28           41:105–11.
- 29
- 30      137. KIRSCHNING CJ, WESCHE H, MERRILL AYRES T, ROTHE M. Human  
31           toll-like receptor 2 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharide.  
32           *J Exp Med* 1998; 188(11):2091–7.
- 33
- 34      138. KOHLSTAEDT LA, WANG J, FRIEDMAN JM, RICE PA, STEITZ TA.

- 1 Crystal structure at 3.5 Å resolution of HIV-1 reverse transcriptase  
2 complexed with an inhibitor. *Science* 1992; 256(5065):1783–90.
- 3  
4 139. KUBA K, IMAI Y, RAO S, GAO H, GUO F, GUAN B, et al. A crucial role of  
5 angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced  
6 lung injury. *Nat Med* 2005; 11(8):875–9.
- 7  
8 140. KURSAR M, KOCH M, MITTRÜCKER H-W, NOUAILLES G, BONHAGEN  
9 K, KAMRADT T, et al. Cutting Edge: Regulatory T Cells Prevent Efficient  
10 Clearance of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol* 2007; 178(5):2661–5.
- 11  
12 141. LANDAY AL, SCHADE SZ, TAKEFMAN DM, KUHNS MC, MCNAMARA  
13 AL, ROSEN RL, et al. Detection of HIV-1 provirus in bronchoalveolar lavage  
14 cells by polymerase chain reaction. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993;  
15 6:171–5.
- 16  
17 142. LEGRAND FA, NIXON DF, LOO CP, ONO E, CHAPMAN JM, MIYAMOTO  
18 M, et al. Strong HIV-1-specific T cell responses in HIV-1-exposed uninfected  
19 infants and neonates revealed after regulatory T cell removal. *PLoS One*  
20 2006; 1(1):e102.
- 21  
22 143. LEHMANN-CHE J, SAÏB A. Early stages of HIV replication: how to hijack  
23 cellular functions for a successful infection. *AIDS Rev* 2004; 6(4):199–207.
- 24  
25 144. LEMAITRE B, NICOLAS E, MICHAUT L, REICHHART JM, HOFFMANN  
26 JA. The dorsoventral regulatory gene cassette *spatzle/Toll/cactus* controls  
27 the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell* 1996; 86:973–83.
- 28  
29 145. LENAERTS A, BARRY CE, DARTOIS V. Heterogeneity in tuberculosis  
30 pathology, microenvironments and therapeutic responses. *Immunol Rev*  
31 2015; 264(1):288–307.
- 32  
33 146. LI M, CARPIO DF, ZHENG Y, BRUZZO P, SINGH V, OUAZ F, et al. An  
34 essential role of the NF- $\kappa$ B/Toll-like receptor pathway in induction of

- 1 inflammatory and tissue repair gene expression by necrotic cells. *J Immunol*  
2 2001; 166:7128–35.
- 3
- 4 147. LIAO M, LIU Y, YUAN J, WEN Y, XU G, ZHAO J, et al. The landscape of  
5 lung bronchoalveolar immune cells in COVID-19 revealed by single-cell  
6 RNA sequencing. medRxiv 2020.
- 7
- 8 148. LING P, FLYNN J. Understanding Latent Tuberculosis: A Moving Target.  
9 *J Immunol* 2012; 185(1):15–22.
- 10
- 11 149. LIU A, COHEN S, FOLLANSBEE S, COHAN D, WEBER S, SACHDEV D,  
12 et al. Early experiences implementing pre-exposure prophylaxis (PrEP) for  
13 HIV prevention in San Francisco. *PLoS Med* 2014; 11:e1001613.
- 14
- 15 150. LIU CH, LIU H, GE B. Innate immunity in tuberculosis: host defense vs  
16 pathogen evasion. *Cell Mol Immunol* 2017;14(12):963–75.
- 17
- 18 151. LIU R, PAXTON WA, CHOE S, CERADINI D, MARTIN SR, HORUK R, et  
19 al. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some  
20 multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell* 1996; 86(3):367–77.
- 21
- 22 152. LIU Y, BI L, CHEN Y, WANG Y, FLEMING J, YU Y, et al. Active or latent  
23 tuberculosis increases susceptibility to COVID-19 and disease severity.  
24 medRxiv . 2020a Jan 1;2020.03.10.20033795.
- 25
- 26 153. LIU Y, DU X, CHEN J, JIN Y, PENG L, WANG HHX, et al. Neutrophil-to-  
27 lymphocyte ratio as an independent risk factor for mortality in hospitalized  
28 patients with COVID-19. *J Infect* 2020b; 81(1):e6–12.
- 29
- 30 154. LUND JM, ALEXOPOULOU L, SATO A, KAROW M, ADAMS NC, GALE  
31 NW, et al. Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor  
32 7. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(15):5598–603.
- 33
- 34 155. LYADOVA IV, PANTELEEV AV. Th1 and Th17 Cells in Tuberculosis:

1 Protection, Pathology, and Biomarkers. *Mediators Inflamm* 2015; e854507.

2  
3 156. MACK U, MIGLIORI GB, SESTER M, RIEDER HL, EHLERS S, GOLETTI  
4 D, et al. LTBI: Latent tuberculosis infection or lasting immune responses to  
5 *M. tuberculosis*? A TBNET consensus statement. *Eur Respir J* 2009;  
6 33(5):956–73.

7  
8 157. MACKELPRANG RD, BIGHAM AW, CELUM C, DE BRUYN G, BEIMA-  
9 SOFIE K, JOHN-STEWART G, et al. Toll-like receptor polymorphism  
10 associations with HIV-1 outcomes among sub-Saharan Africans. *J Infect*  
11 *Dis* 2013; 209(10):1623–7.

12  
13 158. MATTAPALLIL JJ, DOUEK DC, HILL B, NISHIMURA Y, MARTIN M,  
14 ROEDERER M. Massive infection and loss of memory CD4+ T cells in  
15 multiple tissues during acute SIV infection. *Nature* 2005; 434:1093–7.

16  
17 159. MATTHEWS K, NTSEKHE M, SYED F, SCRIBA T, RUSSELL J,  
18 TIBAZARWA K, et al. HIV-1 infection alters CD4<sup>+</sup> memory Tcell phenotype  
19 at the site of disease in extrapulmonary tuberculosis. *Eur J Immunol* 2012;  
20 42:147–57.

21  
22 160. MEDZHITOV RM, PRESTON-HURLBURT P, JANEWAY CA JR. A human  
23 homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive  
24 immunity. *Nature* 1997; 388:394–97.

25  
26 161. MEDZHITOV RM, JANEWAY CA JR. Innate immunity: the virtues of a  
27 nonclonal system of recognition. *Cell* 1997; 91:295–98.

28  
29 162. MEDZHITOV RM, JANEWAY CA., JR Innate immune recognition:  
30 mechanisms and pathways. *Immunol Rev* 2000; 173:89–97.

31  
32 163. MEDZHITOV RM. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev*  
33 *Immunol* 2001; 1(2):135–45.

34

- 1 164. MEINTJES G, LAWN SD, SCANO F, MAARTENS G, FRENCH MA,  
2 WORODRIA W, et al. Tuberculosis associated immune reconstitution  
3 inflammatory syndrome: case definitions for use in resource-limited settings.  
4 *Lancet Infect Dis* 2008; 8:516–23.  
5
- 6 165. MEYER CG, THYE T. Host genetic studies in adult pulmonary  
7 tuberculosis. *Semin Immunol* 2014; (6):445–53.  
8
- 9 166. MESFIN YM, HAILEMARIAM D, BIADGILIGN S, KIBRET KT. Association  
10 between HIV/AIDS and multi-drug resistance tuberculosis: a systematic  
11 review and meta-analysis. *PLoS One* 2014; 9(1):e82235.  
12
- 13 167. MIOTTO D, CHRISTODOULOPOULOS P, OLIVENSTEIN R, TAHA R,  
14 CAMERON L, TSICOPOULOS A, et al. Expression of IFN- $\gamma$ -inducible  
15 protein; monocyte chemotactic proteins 1 3 and 4; and eotaxin in TH1- and  
16 TH2-mediated lung diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107(4):664–70.  
17
- 18 168. MISCH EA, HAWN TR. Toll-like receptor polymorphisms and susceptibility  
19 to human disease. *Clin Sci (Lond)* 2008; 114: 347–60.  
20
- 21 169. MIYAHARA R, PIYAWORAWONG S, NARANBHAI V, PRACHAMAT P,  
22 KRIENGWATANAPONG P, TSUCHIYA N, et al. Predicting the risk of  
23 pulmonary tuberculosis based on the neutrophil-to-lymphocyte ratio at TB  
24 screening in HIV-infected individuals. *BMC Infect Dis* 2019; 19(1):1–9.  
25
- 26 170. MIYAZAWA M, LOPALCO L, MAZZOTTA F, LO CAPUTO S, VEAS F,  
27 CLERICI M. The ‘immunologic advantage’ of HIV-exposed seronegative  
28 individuals. *AIDS* 2009; 23:161–75.  
29
- 30 171. MOGENSEN TH. Pathogen Recognition and Inflammatory Signaling in  
31 Innate Immune Defenses; *Clin Microbiol Rev* 2009; 22(2):240–73.  
32
- 33 172. MONKONGDEE P, MCCARTHY KD, CAIN KP, TASANEEYAPAN T,  
34 NGUYEN HD, NGUYEN TN, et al. Yield of acid-fast smear and

- 1 mycobacterial culture for tuberculosis diagnosis in people with human  
2 immunodeficiency virus. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180:903–8.
- 3
- 4 173. MORR M, TAKEUCHI O, AKIRA S, SIMON MM, MUHLRADT PF.  
5 Differential recognition of structural details of bacterial lipopeptides by toll-  
6 like receptors. *Eur J Immunol* 2002; 32:3337–47.
- 7
- 8 174. MUEFONG CN, SUTHERLAND JS. Neutrophils in Tuberculosis-  
9 Associated Inflammation and Lung Pathology. *Front Immunol* 2020;  
10 11(May):1–9.
- 11
- 12 175. MURRAY LW, SATTI I, MEYEROWITZ J, JONES M, WILLBERG CB,  
13 USSHER JE, et al; Human Immunodeficiency Virus Infection Impairs Th1  
14 and Th17 Mycobacterium tuberculosis-Specific T-Cell Responses. *J Infect*  
15 *Dis* 2018; 217(11):1782–92.
- 16
- 17 176. NAJMI N, KAUR G, SHARMA SK, MEHRA NK. Human Toll-like receptor  
18 4 polymorphisms TLR4 Asp299Gly and Thr399Ile influence susceptibility  
19 and severity of pulmonary tuberculosis in the Asian Indian population.  
20 *Tissue Antigens* 2010; 76(2):102–9.
- 21
- 22 177. NAKATA K, WEIDEN M, HARKIN T, HOD, ROM WN. Low copy number  
23 and limited variability of proviral DNA in alveolar macrophages from HIV-1-  
24 infected patients: Evidence for genetic differences in HIV-1 between lung  
25 and blood macrophage populations. *Mol Med* 1995; 1:744–57.
- 26
- 27 178. NAKATA K, ROM WN, HONDA Y, CONDOS R, KANEGASAKI S, CAO Y,  
28 et al. Mycobacterium tuberculosis enhances human immunodeficiency  
29 virus-1 replication in the lung. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:996–  
30 1003.
- 31
- 32 179. NARAYANAN S, SWAMINATHAN S, SUPPLY P, SHANMUGAM S,  
33 NARENDRAN G, HARI L, et al. Impact of HIV infection on the recurrence of  
34 tuberculosis in South India. *J Infect Dis* 2010; 201:691–703

- 1  
2 180. NIKITINA IY, PANTELEEV A V., KOSMIADI GA, SERDYUK Y V.,  
3 NENASHEVA TA, NIKOLAEV AA, et al. Th1, Th17, and Th1Th17  
4 Lymphocytes during Tuberculosis: Th1 Lymphocytes Predominate and  
5 Appear as Low-Differentiated CXCR3 + CCR6 + Cells in the Blood and  
6 Highly Differentiated CXCR3 +/- CCR6 - Cells in the Lungs . J Immunol  
7 2018; 200(6):2090–103.  
8
- 9 181. NOGUCHI E, NISHIMURA F, FUKAI HI. An association study of asthma  
10 and total serum immunoglobulin E levels for Toll-like receptor polymorphisms  
11 in a Japanese population. Clin Exp Allergy 2004; 34: 177–83.  
12
- 13 182. NUNES-ALVES C, BOOTY MG, CARPENTER SM, JAYARAMAN P,  
14 ROTHCHILD AC, BEHAR SM. In search of a new paradigm for protective  
15 immunity to TB. Nat Rev Microbiol 2014; 12:289–99.  
16
- 17 183. OBERFELD B, ACHANTA A, CARPENTER K, CHEN P, GILLETTE NM,  
18 LANGAT P, et al. SnapShot: COVID-19. Cell 2020; 181(4):954-954.e1.  
19
- 20 184. OGUS AC, YOLDAS B, OZDEMIR T, UGUZ A, OLCEN S, KESER I, et al.  
21 The Arg753Gln polymorphism of the human Toll-like receptor 2 gene in  
22 tuberculosis disease. Eur Respir J 2004; 23: 219–23.  
23
- 24 185. OH DY, TAUBE S, HAMOUDA O, KÜCHERER C, POGGENSEE G,  
25 JESSEN H, et al. A functional toll-like receptor 8 variant is associated with  
26 HIV disease restriction. J Infect Dis 2008; 198(5):701–9.  
27
- 28 186. OZINSKY A, UNDERHILL DM, FONTENOT JD, HAJJAR AM, SMITH KD,  
29 WILSON CB, et al. The repertoire for pattern recognition of pathogens by  
30 the innate immune system is defined by cooperation between toll-like  
31 receptors. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000; 97(25):13766–71.  
32
- 33 187. PAPADOPOULOS AI, FERWERDA B, ANTONIADOU A, SAKKA V,  
34 GALANI L, KAVATHA D, et al. Association of toll-like receptor 4 Asp299Gly

- 1 and Thr399Ile polymorphisms with increased infection risk in patients with  
2 advanced HIV-1 infection. *Clin Infect Dis* 2010; (2):242–7.
- 3
- 4 188. PAPE JW, JEAN SS, HO JL, HAFNER A, JOHNSON WD JR. Effect of  
5 isoniazid prophylaxis on incidence of active tuberculosis and progression of  
6 HIV infection. *Lancet* 1993; 342:268–72.
- 7
- 8 189. PATEL NR, ZHU J, TACHADO SD, ZHANG J, WAN Z, SAUKKONEN J,  
9 et al. HIV impairs TNF-alpha mediated macrophage apoptotic response to  
10 *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol* 2007; 179:6973–80.
- 11
- 12 190. PATHAK S, WENTZEL-LARSEN T, ASJO B. Effects of in vitro HIV-1  
13 infection on mycobacterial growth in peripheral blood monocyte-derived  
14 macrophages. *Infect Immun* 2010; 78:4022–32.
- 15
- 16 191. POLTORAK A, HE X, SMIRNOVA I, LIU MY, VAN HUFFEL C, DU X, et  
17 al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations  
18 in Tlr4 gene. *Science* 1998; 282(5396):2085–8.
- 19
- 20 192. POMMIER Y, JOHNSON AA, MARCHAND C. Integrase inhibitors to treat  
21 HIV/AIDS. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4(3):236–48.
- 22
- 23 193. PULIDO I, LEAL M, GENEBAAT M, PACHECO YM, SÁEZ ME, SORIANO-  
24 SARABIA N. The TLR4 ASP299GLY polymorphism is a risk factor for active  
25 tuberculosis in Caucasian HIV-infected patients. *Curr HIV Res* 2010;  
26 8(3):253–8.
- 27
- 28 194. QUINN TC, WAWER MJ, SEWANKAMBO N, SERWADDA D, LI C,  
29 WABWIRE-MANGEN F, et al. Viral load and heterosexual transmission of  
30 human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med* 2000; 342:921–9.
- 31
- 32 195. RALPH AP, KENANGALEM E, WARAMORI G, PONTORORING GJ,  
33 SANDJAJA, TJITRA E, et al. High morbidity during treatment and residual  
34 pulmonary disability in pulmonary tuberculosis: Under-recognised

- 1 phenomena. PLoS One. 2013; 8(11):1–11.
- 2
- 3 196. RAVIMOHAN S, KORNFELD H, WEISSMAN D, BISSON GP.  
4 Tuberculosis and lung damage: From epidemiology to pathophysiology. Eur  
5 Respir Rev 2018; 27(147).
- 6
- 7 197. REILING N, HOLSCHER C, FEHRENBACH A. Cutting edge: Toll-like  
8 receptor (TLR)2– and TLR4-mediated pathogen recognition in resistance to  
9 airborne infection with *Mycobacterium tuberculosis*. J Immunol 2002;  
10 169:3480–4.
- 11
- 12 198. REQUEJO HI. Worldwide molecular epidemiology of HIV. Rev Saúde  
13 Pública 2006; 40(2):331–45.
- 14
- 15 199. RICH EA, TORRES M, SADA E, FINEGAN CK, HAMILTON BD, TOOSI  
16 Z. *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)-stimulated production of nitric oxide  
17 by human alveolar macrophages and relationship of nitric oxide production  
18 to growth inhibition of MTB. Tuber Lung Dis 1997; 78 247–55.
- 19
- 20 200. RHODES DI, ASHTON L, SOLOMON A, CARR, A, COOPER, D,  
21 KALDOR J, et al. Characterization of three nef-defective human  
22 immunodeficiency virus type 1 strains associated with long-term  
23 nonprogression. Australian Long-Term Nonprogressor Study Group. J Virol  
24 2000; 74(22):10581–8.
- 25
- 26 201. ROCK FL, HARDIMAN G, TIMANS JC, KASTELEIN RA, BAZAN JF. A  
27 family of human receptors structurally related to *Drosophila* Toll. Proc Natl  
28 Acad Sci U S A 1998; 95(2):588–93
- 29
- 30 202. ROSAS-TARACO AG, ARCE-MENDOZA AY, CABALLERO-OLIN G,  
31 SALINAS-CARMONA MC. *Mycobacterium tuberculosis* upregulates  
32 coreceptors CCR5 and CXCR4 while HIV modulates CD14 favoring  
33 concurrent infection. AIDS Res Hum Retroviruses 2006; 22:45–51.
- 34

- 1 203. ROSENZWEIG DY, STEAD WW. The role of tuberculosis and other forms  
2 of bronchopulmonary necrosis in the pathogenesis of bronchiectasis. *Am*  
3 *Rev Respir Dis* 1966; 93(5):769–85.  
4
- 5 204. ROSMAN MD, ONER-EYUBOGLU, LU AF. Clinical presentation and  
6 treatment of tuberculosis. In: Fishman AP, ed. *Fishman's Pulmonary*  
7 *Diseases and Disorders*. 3 ed. New York, NY, USA: McGraw-Hill, 1998.  
8
- 9 205. RUSSELL D. Who put the tubercle in tuberculosis?. *Nat Rev Microbiol*  
10 2007; 5(1):39–47.  
11
- 12 206. SAKURAI A, SASAKI T, KATO S, HAYASHI M, TSUZUKI S, ISHIHARA  
13 T, et al. Natural History of Asymptomatic SARS-CoV-2 Infection. *N Engl J*  
14 *Med* 2020; 383(9):885–6.  
15
- 16 207. SAMSON M, LIBERT F, DORANZ BJ, RUCKER J, LIESNARD C,  
17 FARBER CM, et al. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals  
18 bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature*  
19 1996; 382(6593):722–5.  
20
- 21 208. SAUCE D, ELBIM C, APPAY V. Monitoring cellular immune markers in  
22 HIV infection: From activation to exhaustion. *Curr Opin HIVAIDS* 2013;  
23 8:125–31.  
24
- 25 209. SELWYN PA, HARTEL D, LEWIS VA, SCHOENBAUM EE, VERMUND  
26 SH, KLEIN RS, et al. A prospective study of the risk of tuberculosis among  
27 intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection. *N*  
28 *Engl J Med* 1989; 320: 545–50.  
29
- 30 210. SHAFER RW, KIM DS, WEISS JP, QUALE JM. Extrapulmonary  
31 tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection.  
32 *Medicine (Baltimore)*. 1991; 70:384–97.  
33

- 1 211. SHARMA SK, MOHAN A, KADHIRAVAN T. HIV-TB co-infection:  
2 epidemiology, diagnosis & management. *Indian J Med Res* 2005; 121:550–  
3 67.
- 4
- 5 212. SHARP PM, HAHN BH. Origins of HIV and the AIDS pandemic. *Cold  
6 Spring Harb Perspect Med* 2011; 1:006841.
- 7
- 8 213. SHAW DM, MERIEN F, BRAAKHUIS A, DULSON D. T-cells and their  
9 cytokine production: The anti-inflammatory and immunosuppressive effects  
10 of strenuous exercise. *Cytokine* 2018; 104(September 2017):136-42.
- 11
- 12 214. SHAW GM, HUNTER E. HIV transmission. *Cold Spring Harb Perspect  
13 Med* 2012; 2(11):a006965.
- 14
- 15 215. SHEN H, CHEN ZW. The crucial roles of Th17-related cytokines/signal  
16 pathways in M.Tuberculosis infection. *Cell Mol Immunol* 2018; 15(3):216–  
17 25.
- 18
- 19 216. SHU CC, WU HD, YU MC, WANG JT, LEE CH, WANG HC, et al. Use of  
20 high-dose inhaled corticosteroids is associated with pulmonary tuberculosis  
21 in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Medicine (Baltimore)*  
22 2010; 89(1):53–61.
- 23
- 24 217. SIERRA-MADERO JG, TOOSI Z, HOM DL, FINEGAN CK, HOENIG E,  
25 RICH EA. Relationship between load of virus in alveolar macrophages from  
26 human immunodeficiency virus type 1-infected persons, production of  
27 cytokines, and clinical status. *J Infect Dis* 1994; 169:18–27.
- 28
- 29 218. SIRONI M, BIASIN M, CAGLIANI R, FORNI D, DE LUCA M, SAULLE I, et  
30 al. A common polymorphism in TLR3 confers natural resistance to HIV-1  
31 infection. *J Immunol* 2012; 188(2):818–23.
- 32

- 1 219. SKEVAKI C, PARARAS M, KOSTELIDOU K, TSAKRIS A, ROUTSIAS JG.  
2 Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to  
3 infectious diseases. *Clin Exp Immunol* 2015; 180(2):165–77.  
4
- 5 220. SMALL PM, HOPEWELL PC, SINGH SP, PAZ A, PARSONNET J,  
6 RUSTON DC, et al. The epidemiology of tuberculosis in San Francisco. A  
7 population-based study using conventional and molecular methods. *N Engl*  
8 *J Med* 1994; 330:1703–9.  
9
- 10 221. SONNENBERG P, GLYNN JR, FIELDING K, MURRAY J, GODFREY-  
11 FAUSSETT P, SHEARER S. How soon after infection with HIV does the risk  
12 of tuberculosis start to increase? A retrospective cohort study in South  
13 African gold miners. *J Infect Dis* 2005; 191: 150–8.  
14
- 15 222. SOTGIU G, CENTIS R, D'AMBROSIO L, MIGLIORI GB. Tuberculosis  
16 treatment and drug regimens. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015;  
17 5(5):a017822.  
18
- 19 223. SPEAR GT, KESSLER HA, ROTHBERG L, PHAIR J, LANDAY AL.  
20 Decreased oxidative burst activity of monocytes from asymptomatic HIV-  
21 infected individuals. *Clin Immunol Immunopathol* 1990; 54:184–91.  
22
- 23 224. STOCHINO C, VILLA S, ZUCCHI P, PARRAVICINI P, GORI A,  
24 RAVIGLIONE MC. Clinical characteristics of COVID-19 and active  
25 tuberculosis co-infection in an Italian reference hospital. *Eur Respir J* 2020;  
26 56(1).  
27
- 28 225. SUNDEERS BM, BRITTON WJ. Life and death in the granuloma:  
29 immunopathology of tuberculosis. *Immunol Cell Biol* 2007; 85(2):103–11.  
30
- 31 226. TADOLINI M, CODECASA LR, GARCÍA-GARCÍA JM, BLANC FX,  
32 BORISOV S, ALFFENAAR JW, et al. Active tuberculosis, sequelae and  
33 COVID-19 co-infection: first cohort of 49 cases. *Eur Respir J* 2020; 56(1).  
34

- 1 227. TAKEDA K, AKIRA S. Toll-like receptors. *Curr Protoc Immunol* 2007;  
2 (14):14–12.  
3
- 4 228. TAKEUCHI O, HOSHINO K, KAWAI T, SANJO H, TAKADA H, OGAWA  
5 T, et al. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of Gram-negative  
6 and Gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity* 1999;  
7 11(4):443–51.  
8
- 9 229. TAKEUCHI O, KAWAI T, MÜHLRADT PF, MORR M, RADOLF JD,  
10 ZYCHLINSKY A, et al. Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like  
11 receptor 6. *Int Immunol* 2001; 13(7):933–40.  
12
- 13 230. TAXEREAU J, CHICHE JD, TAYLOR W, CHOUKROUN G, COMBA B,  
14 MIRA JP. The importance of toll-like receptor 2 polymorphisms in severe  
15 infections. *Clin Infect Dis* 2005; 41(7):408–15.  
16
- 17 231. TAY MZ, POH CM, RÉNIA L, MACARY PA, NG LFP. The trinity of COVID-  
18 19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol* 2020;  
19 20(6):363–74.  
20
- 21 232. THIGPEN MC, KEBAABETSWE PM, PAXTON LA, SMITH DK, ROSE CE,  
22 SEGOLODI TM, et al. Antiretroviral preexposure prophylaxis for  
23 heterosexual HIV transmission in Botswana. *N Engl J Med* 2012; 367:423–  
24 34.  
25
- 26 233. TIAN S, HU W, NIU L, LIU H, XU H, XIAO SY. Pulmonary Pathology of  
27 Early-Phase 2019 Novel Coronavirus (COVID-19) Pneumonia in Two  
28 Patients With Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 2020; 15(5):700–4.  
29
- 30 234. TIAN T, JIN S, DONG J, LI G. Lack of association between Toll-like  
31 receptor 4 gene Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms and tuberculosis  
32 susceptibility: a meta-analysis. *Infect Genet Evol* 2013; 14:156–60.  
33
- 34 235. TOOSSI Z, NICOLACAKIS K, XIA L, FERRARI NA, RICH EA. Activation

- 1 of latent HIV-1 by Mycobacterium tuberculosis and its purified protein  
2 derivative in alveolar macrophages from HIV-infected individuals in vitro. J  
3 Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol 1997; 15:325–31.  
4
- 5 236. TOOSI Z. The inflammatory response in Mycobacterium tuberculosis  
6 infection. Arch Immunol Ther Exp (Warsz) 2000; 48(6):512–19.  
7
- 8 237. TOOSI Z, JOHNSON JL, KANOST RA, WU M, LUZZE H, PETERS P, et  
9 al. Increased replication of HIV-1 at sites of Mycobacterium tuberculosis  
10 infection: Potential mechanisms of viral activation. J Acquir Immune Defic  
11 Syndr 2001; 28:1–8.  
12
- 13 238. TRAJMAN A, STEFFEN RE, MENZIES D. Interferon-gamma release  
14 assays versus tuberculin skin testing for the diagnosis of latent tuberculosis  
15 infection: an overview of the evidence. Pulm Med 2013; 2013:601737.  
16
- 17 239. TUFAN A, AVANOĞLU GÜLER A, MATUCCI-CERINIC M. Covid-19,  
18 immune system response, hyperinflammation and repurposing antirheumatic  
19 drugs. Turkish J Med Sci 2020; 50(SI-1):620–32.  
20
- 21 240. UNAIDS – 2020 Global AIDS Update — Seizing the moment — Tackling  
22 entrenched inequalities to end epidemics. [Citado em 25 de janeiro de  
23 2021]. Disponível em:  
24 <https://www.unaids.org/en/resources/documents/2020/global-aids-report>.  
25
- 26 241. UNDERHILL DM, OZINSKY A, SMITH KD, ADEREM A. Toll-like receptor-  
27 2 mediates mycobacteria-induced proinflammatory signaling in  
28 macrophages. Proc Natl Acad Sci U S A 1999; 96(25):14459–63.  
29
- 30 242. VABRET N, BRITTON GJ, GRUBER C, HEGDE S, KIM J, KUKSIN M, et  
31 al. Immunology of COVID-19: Current State of the Science. Immunity 2020;  
32 52(6):910–41.  
33
- 34 243. VELEZ DR, WEJSE C, STRYJEWSKI ME, ABBATE E, HULME WF,

- 1 MYERS JL, et al. Variants in toll-like receptors 2 and 9 influence  
2 susceptibility to pulmonary tuberculosis in Caucasians, African-Americans,  
3 and West Africans Hum Genet 2010; 127:65–73.  
4
- 5 244. VERGNE I, CHUA J, SINGH SB, DERETIC V. Cell biology of  
6 Mycobacterium tuberculosis phagosome. Annu Rev Cell Dev Biol 2004;  
7 20:367–394.  
8
- 9 245. VERNAZZA PL, GILLIAM B, DYER JR, FISCUS SA, ERON JJ, FRANK  
10 AC, et al. Quantification of HIV in semen: Correlation with antiviral treatment  
11 and immune status. AIDS 1997; 11:987–9.  
12
- 13 246. VIDYANT S, CHATTERJEE A, AGARWAL V, DHOLE TN. Susceptibility  
14 do HIV-1 infection is influenced by toll like receptor 2 (-196 to -174)  
15 polymorphsm in a north Indian population. J gene Med 2017; 19:8.  
16
- 17 247. VIDYANT S, CHATTERJEE A, DHOLE TN. A single-nucleotide  
18 polymorphism in TLR4 is linked with the risk of HIV-1 infection. Br J Biomed  
19 Sci 2018; 20:1–5.  
20
- 21 248. WAHL SM, ALLEN JB, GARTNER S, ORENSTEIN JM, POPOVIC M,  
22 CHENOWETH DE, et al. HIV-1 and its envelope glycoprotein down-regulate  
23 chemotactic ligand receptors and chemotactic function of peripheral blood  
24 monocytes. J Immunol 1989; 142:3553–9.  
25
- 26 249. WALTER ND, DE JONG BC, GARCIA BJ, DOLGANOV GM, WORODRIA  
27 W, BYANYIMA P. Adaptation of Mycobacterium tuberculosis to impaired  
28 host immunity in HIV-infected patients. J Infect Dis 2016; 214:1205–11.  
29
- 30 250. WANG CH, ENG HL, LIN KH, LIU HC, CHANG CH, LIN TM. Functional  
31 polymorphisms of TLR8 are associated with hepatitis C virus infection.  
32 Immunology 2014; 141(4):540–8.  
33
- 34 251. WANG W, YE L, YE L, LI B, GAO B, ZENG Y, et al. Up-regulation of IL-6

- 1 and TNF- $\alpha$  induced by SARS-coronavirus spike protein in murine  
2 macrophages via NF- $\kappa$ B pathway. *Virus Res* 2007; 128(1–2):1–8.  
3
- 4 252. WHALEN CC, HORSBURGH CR, HOM D, LAHART C, SIMBERKOFF M,  
5 ELLNER J. Accelerated course of human immunodeficiency virus infection  
6 after tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151:129–35.  
7
- 8 253. WHALEN CC, NSUBUGA P, OKWERA A, JOHNSON JL, HOM DL,  
9 MICHAEL NL, et al. Impact of pulmonary tuberculosis on survival of HIV-  
10 infected adults: a prospective epidemiologic study in Uganda. *AIDS* 2000;  
11 14:1219–28.  
12
- 13 254. WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Tuberculosis Report  
14 2020. Geneva: World Health Organization; 2020. [Citado em 05 de janeiro  
15 de 2021]. Disponível em: “[https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-  
16 programme/tb-reports](https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports)”.
- 17
- 18 255. WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Coronavirus Disease  
19 (COVID-19) Dashboard; 2021. [Acessado em 19 de fevereiro de 2021].  
20 Disponível em: “<https://covid19.who.int/>”.
- 21
- 22 256. WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. Monograph on integrated  
23 monitoring of TB/HIV—a case study in Malawi; Geneva: World Health  
24 Organization; 2009. [Citado em 05 de janeiro de 2019]. Disponível em:  
25 <https://www.who.int/tb/publications/tb-and-hiv/en/>  
26
- 27 257. WIRTH T, HILDEBRAND F, ALLIX-BÉGUEC C, WÖLBELING F, KUBICA  
28 T, KREMER K, et al. Origin, spread and demography of the *Mycobacterium*  
29 tuberculosis complex. *PLoS Pathogens* 2008; 4 (9): e1000160.  
30
- 31 258. WONG EB, AKILIMALI NA, GOVENDER P, SULLIVAN ZA, COSGROVE  
32 C, PILLAY M, et al. Low levels of peripheral CD161<sup>++</sup>CD8<sup>+</sup> mucosal  
33 associated invariant T (MAIT) cells are found in HIV and HIV/TB coinfection.  
34 *PLoS One* 2013; 8:e83474.

- 1 259. XU H, ZHONG L, DENG J, PENG J, DAN H, ZENG X, et al. High  
2 expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral  
3 mucosa. *Int J Oral Sci* 2020; 12(1):1–5.  
4
- 5 260. YANG M. Cell Pyroptosis, a Potential Pathogenic Mechanism of 2019-  
6 nCoV Infection. *SSRN Electron J* 2020;  
7
- 8 261. YANG RB, MARK MR, GRAY A, HUANG A, XIE MH, ZHANG M, et al.  
9 Toll-like receptor-2 mediates lipopolysaccharide-induced cellular signaling.  
10 *Nature* 1998; 395(6699):284–8.  
11
- 12 262. YAO J, MACKMAN N, EDINGTON TS, FAN ST. Lipopolysaccharide  
13 induction of the tumor necrosis factor- $\alpha$  promoter in human monocytic cells.  
14 Regulation by Egr-1, c-Jun, and NF- $\kappa$ B transcription factors. *J Biol Chem*  
15 1997; 272:17795–801.  
16
- 17 263. YEE D, VALIQUETTE C, PELLETIER M, PARISIEN I, ROCHER I,  
18 MENZIES D. Incidence of serious side effects from first-line antituberculosis  
19 drugs among patients treated for active tuberculosis. *Am J Respir Crit Care*  
20 *Med* 2003; 167(11):1472–7.  
21
- 22 264. ZENARO E, DONINI M, DUSI S. Induction of Th1/Th17 immune response  
23 by *Mycobacterium tuberculosis*: role of dectin-1, mannose receptor, and  
24 DC-SIGN. *J Leukoc Biol* 2009; 86(6):1393–401.  
25
- 26 265. ZHANG W, ZHAO Y, ZHANG F, WANG Q, LI T, LIU Z, et al. The use of  
27 anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus  
28 disease 2019 (COVID-19): The experience of clinical immunologists from  
29 China. *Clin Immunol* 2020; 214(March):108393.  
30
- 31 266. ZHENG HY, ZHANG M, YANG CX, ZHANG N, WANG XC, YANG XP, et  
32 al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in  
33 peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell*  
34 *Mol Immunol* 2020a; 17(5):541–3.  
35

- 1 267. ZHENG M, GAO Y, WANG G, SONG G, LIU S, SUN D, et al. Functional  
2 exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol*  
3 2020b; 17(5):533–5.
- 4  
5 268. ZHOU F, YU T, DU R, FAN G, LIU Y, LIU Z, et al. Clinical course and risk  
6 factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a  
7 retrospective cohort study. *Lancet* 2020; 395(10229):1054–62.
- 8  
9 269. ZHOU Y, FU B, ZHENG X, WANG D, ZHAO C, QI Y, et al. Pathogenic T-  
10 cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storms in severe  
11 COVID-19 patients. *Natl Sci Rev* 2020; 7(6):998–1002.
- 12  
13 270. ZHU J, YAMANE H, PAUL WE. Differentiation of effector CD4 T cell  
14 populations. *Annu Rev Immunol* 2010; 28:445–89.

1 **7. ANEXOS**

2

3 **7.1 Parecer consubstanciado do CEP – “Avaliação da variabilidade**  
4 **genética de receptores toll-like e sua relação com a sindemia HIV-**  
5 **1/tuberculose” na Plataforma Brasil - Comitê de Ética em Pesquisa da**  
6 **UFCSPA.**

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Avaliação da variabilidade genética de receptores toll-like e sua relação com a síndrome HIV-1/tuberculose.

**Pesquisador:** Marilu Fiegenbaum

**Área Temática:** Genética Humana:

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

**Versão:** 1

**CAAE:** 10379019.7.0000.5345

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 3.265.993

**Apresentação do Projeto:**

A tuberculose (TB) e a síndrome da imunodeficiência adquirida (aids) se impõem como enormes desafios para as organizações de saúde devido, principalmente, às dificuldades inerentes ao seu diagnóstico e terapêutica. O *Mycobacterium tuberculosis* e o vírus da imunodeficiência humana (HIV) são patógenos versáteis; ambos apresentam uma grande habilidade de evadir as respostas imunológicas do hospedeiro, tal como de se adaptar diante da pressão seletiva frente aos antibióticos e a terapia antirretroviral (TARV). A aids é o principal fator de risco para a predisposição à infecção pelo *M. tuberculosis*, associada à progressão da infecção latente para a TB ativa. Em contrapartida, o *M. tuberculosis* atua como agente catalisador na progressão da infecção pelo HIV para a aids, acentuando o decaimento das contagens de linfócitos T CD4+. Logo, indivíduos coinfetados HIV/TB apresentam um grave quadro clínico, resultante da relação sinérgica entre os patógenos; consequentemente, a TB é a principal causa de morte dentre indivíduos HIV soropositivos. Os receptores tipo Toll (TLRs) compõem a linha de frente na defesa do organismo contra diferentes microrganismos, identificando padrões

**Endereço:** Rua Sarmento Leite ,245

**Bairro:** Sarmento

**CEP:** 90.050-170

**UF:** RS

**Município:** PORTO ALEGRE

**Telefone:** (51)3303-8804

**E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

Continuação do Parecer: 3.265.993

moleculares associados à patógenos (PAMPs), como lipoproteínas do *M. tuberculosis* ou ácidos nucleicos do HIV. Após reconhecerem um patógeno, os TLRs orquestram a resposta imune inata para combatê-lo e recrutam células da resposta adaptativa até o sítio da infecção. Estudos identificaram a associação de alguns polimorfismos nos genes TLR2 (rs111200466), TLR4 (rs4986790 / rs4986791) e TLR8 (rs3764880) com a suscetibilidade à TB e ao HIV, separadamente; contudo, a imunogenética da infecção HIV/TB permanece como um tema ainda inexplorado. O projeto em questão se propõe a realizar uma análise detalhada de tais polimorfismos, buscando associações entre as variantes genéticas dos TLR com a suscetibilidade, ou resistência, ao HIV, à TB e à coinfeção HIV/TB na população do Rio Grande do Sul (RS). Os resultados, além de contribuir para a caracterização do perfil imunogenético dos gaúchos, também podem fornecer dados importantes para o desenvolvimento de novas estratégias para a prevenção e tratamento da aids e da TB.

#### JUSTIFICATIVA

Os TLRs fazem parte da linha de frente na defesa do organismo, reconhecendo PAMPs pertencentes ao HIV e ao *M. tuberculosis* (Hoshino et al., 1999; Hill et al., 2001; Sironi et al., 2012;). Ao identificarem algum patógeno em potencial, os TLRs orquestram a imunidade inata para combatê-lo e também recrutam células da imunidade adaptativa até o sítio da infecção (Akira et al., 2001). Devido ao protagonismo dos TLR na vigilância imunológica, diversos estudos imunogenéticos já foram conduzidos visando avaliar possíveis relações entre a variabilidade genética dos receptores e a predisposição a infecções (Hill et al., 2001; Abel et al., 2002; Reiling et al., 2002). Polimorfismos presentes nos genes codificantes dos receptores TLR2, TLR4 e TLR8 aparentam estar associadas com a suscetibilidade tanto à TB quanto ao HIV em diferentes populações; contudo, os efeitos da variabilidade genética dos TLRs sobre a coinfeção HIV/TB permanece como um tema ainda inexplorado, assim como o perfil imunogenético da população brasileira. O Brasil figura na lista dos 20 países de maior prevalência da coinfeção HIV/TB; a situação é especialmente grave no RS e em Porto Alegre, que apresentam os piores indicadores epidemiológicos nacionais para a sindemia

**Endereço:** Rua Sarmento Leite ,245

**Bairro:** Sarmento

**CEP:** 90.050-170

**UF:** RS

**Município:** PORTO ALEGRE

**Telefone:** (51)3303-8804

**E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

Continuação do Parecer: 3.265.993

(BRASIL, 2018; WHO, 2018). Apesar dos dados apontarem para uma importante responsabilidade do Estado nas epidemias gaúchas de TB e aids, a contribuição de fatores genéticos do hospedeiro não pode ser descartada, pois ambas são doenças complexas. Tendo em vista a carência de dados referentes ao perfil imunogenético da população gaúcha, o atual contexto da sindemia HIV/TB no RS e o “desconhecido” que ainda permeia a atuação dos TLRs diante da coinfeção, a avaliação da influência de polimorfismos em TLRs na imunidade ao HIV e ao M. tuberculosis se apresenta como um tópico pertinente de estudo. A descoberta de possíveis relações entre variantes genéticas de TLRs com a suscetibilidade, ou resistência, ao HIV e à TB pode oferecer informações importantes sobre como opera a imunidade em indivíduos coinfectados. Por sua vez, uma melhor compreensão do papel dos TLRs e de suas interações nas respostas imunológicas durante a sindemia HIV/TB, podem ser a chave para novas estratégias tanto na prevenção quanto na terapêutica contra o M. tuberculosis e o HIV (Equils et al., 2004; Anandaiah et al., 2013).

**Objetivo da Pesquisa:**

O projeto em questão se propõe a realizar uma análise detalhada de tais polimorfismos, buscando associações entre as variantes genéticas dos TLR com a suscetibilidade, ou resistência, ao HIV, à TB e à coinfeção HIV/TB na população do Rio Grande do Sul (RS).

**Objetivo Primário:**

Avaliar se os diferentes genótipos, definidos pelos polimorfismos dos genes TLR2 (rs111200466), TLR4 (rs4986790/rs4986791) e TLR8 (rs3764880), apresentam relação com a suscetibilidade, ou resistência, ao desenvolvimento de TB ativa, à infecção pelo HIV ou à coinfeção HIV/TB.

**Objetivo Secundário:**

- I. Estimar as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos dos genes TLR2 (rs111200466), TLR4 (rs4986790 / rs4986791) e TLR8 (rs3764880), na população gaúcha;
- II. Comparar as diferenças nas frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos estudados entre os diferentes grupos amostrais, verificando

**Endereço:** Rua Sarmento Leite ,245

**Bairro:** Sarmento

**CEP:** 90.050-170

**UF:** RS

**Município:** PORTO ALEGRE

**Telefone:** (51)3303-8804

**E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

Continuação do Parecer: 3.265.993

possíveis relações de proteção ou suscetibilidade à TB, ao HIV e à coinfeção HIV/TB;

III. Avaliar as variações nas frequências alélicas e genotípicas observadas internamente dentre os grupos TB, HIV e HIV/TB, tal como sua relação

com o prognóstico das infecções;

IV. Avaliar possíveis variáveis epidemiológicas que podem interferir na suscetibilidade e prognóstico das infecções.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

No projeto serão utilizados espécimes de bancos amostrais já coletados em estudos prévios.

Benefícios:

O presente estudo visa a estabelecer uma análise do perfil imunogenético de receptores toll-like. Busca elucidar as relações entre diferentes genótipos com a suscetibilidade, ou resistência, às infecções por HIV-1, M. tuberculosis e na coinfeção HIV-1/M. tuberculosis; os resultados podem fornecer dados importantes para o desenvolvimento de novas estratégias para a prevenção e tratamento da aids e da tuberculose.

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

No estudo, serão utilizadas amostras de DNA pertencentes ao banco amostral do estudo "Investigação de aspectos imunogenéticos envolvidos na suscetibilidade à tuberculose: Uma visão do bacilo de do hospedeiro", coletadas e processadas entre os anos de 2012 e 2013 (CEP/FEPPS-RS N°: 09/2011).

#### **Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

- Os pesquisadores informam que a pesquisa não oferece riscos. Contudo, deve-se considerar que não existe pesquisa sem risco mínimo.

#### **Recomendações:**

- Considerar que não existe pesquisa sem risco.

#### **Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Pesquisa de relevância e adequação científica

#### **Considerações Finais a critério do CEP:**

De acordo com o parecer do Relator.

O nome do pesquisador responsável deve constar no TCLE. Acrescentar essa informação e apresentar o TCLE corrigido no CEP para ser assinado.

**Endereço:** Rua Sarmento Leite ,245

**Bairro:** Sarmento

**CEP:** 90.050-170

**UF:** RS

**Município:** PORTO ALEGRE

**Telefone:** (51)3303-8804

**E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 3.265.993

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1315750.pdf	21/03/2019 15:30:57		Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto.pdf	21/03/2019 15:30:32	Marilu Fiegenbaum	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termo_local.pdf	20/03/2019 16:27:05	Marilu Fiegenbaum	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.pdf	20/03/2019 16:02:49	Marilu Fiegenbaum	Aceito
Outros	termo_relatorio.pdf	20/03/2019 16:00:46	Marilu Fiegenbaum	Aceito
Parecer Anterior	CEP_FEPPS_2011.pdf	20/03/2019 16:00:03	Marilu Fiegenbaum	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_FEPPS_IMUNOTB.pdf	19/03/2019 02:37:00	Gabriel Tassi Mousquer	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

PORTO ALEGRE, 15 de Abril de 2019

---

**Assinado por:**  
**Luciane Dalcanale Moussalle**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Rua Sarmento Leite ,245

**Bairro:** Sarmento

**CEP:** 90.050-170

**UF:** RS

**Município:** PORTO ALEGRE

**Telefone:** (51)3303-8804

**E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

1 **8. CURRÍCULO LATTES**



## Gabriel Tassi Mousquer

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/8963505993337349>

Última atualização do currículo em 14/02/2021

### Resumo informado pelo autor

Biomédico graduado pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), habilitado nas áreas de Patologia Clínica (Análises Clínicas), Reprodução Humana e Biologia Molecular. Assistente de Pesquisa Clínica no Latin American Cooperative Oncology Group (LACOG). Atualmente desenvolve o projeto de mestrado intitulado "Avaliação da variabilidade genética de receptores toll-like e sua relação com a síndrome HIV-1/tuberculose" pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UFCSPA, sob orientação da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marilu Fiegenbaum. Possui experiência em genética e biologia molecular como bolsista de iniciação científica no Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT) da Secretaria Estadual da Saúde do Rio Grande do Sul (SES/RS), onde atuou em projetos envolvendo aprimoramento de técnicas de extração de ácidos nucleicos, tal como na investigação de aspectos imunogenéticos envolvidos na suscetibilidade humana ao bacilo *Mycobacterium tuberculosis* e ao vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1).

(Texto informado pelo autor)

### Nome civil

**Nome** Gabriel Tassi Mousquer

### Dados pessoais

**Filiação** Cláudio Luiz Mousquer e Ceres Regina Tassi Mousquer


**Nascimento** 02/08/1994 - Porto Alegre/RS - Brasil

**Carteira de Identidade** 1078151601 SSP - RS - 18/03/2009

**CPF** 026.612.380-50

**Passaporte** CY741327

### Formação acadêmica/titulação

- 2018** Mestrado em BIOCÊNCIAS.  
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil  
Título: Avaliação da variabilidade genética de receptores toll-like e sua relação com a síndrome HIV-1/tuberculose na população gaúcha
- Orientador: Marilu Fiegenbaum   
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- 2013 - 2018** Graduação em Biomedicina.  
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil  
Título: Avaliação da influência do polimorfismo deleção/inserção -196 a -174 do gene TLR2 humano nas infecções por *Mycobacterium tuberculosis*, por HIV e na coinfeção *M. tuberculosis*/HIV na população gaúcha.  
Orientador: Marilu Fiegenbaum

### Formação complementar

- 2020 - 2020** Curso de curta duração em Clinical Trial Monitoring. (Carga horária: 4h).  
University of Southern California, USC, Los Angeles, Estados Unidos
- 2020 - 2020** Curso de curta duração em Good Clinical Practices (Investigator Version) V.2.1. (Carga horária: 4h).  
Genentech - South San Francisco, GENE, South San Francisco, Estados Unidos
- 2019 - 2019** Curso de curta duração em Sequenciamento de Nova Geração. (Carga horária: 3h).  
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
- 2017 - 2017** Curso de curta duração em Neurociências Evolucionista. (Carga horária: 30h).  
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
- 2015 - 2015** Curso de curta duração em Construção e Análise de Bases de Dados. (Carga horária: 24h).  
Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde, FEPPS, Porto Alegre, Brasil
- 2012 - 2012** Curso de curta duração em Aplicações Clínicas da Bioquímica - 4ª Edição. (Carga horária: 16h).  
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil

### Atuação profissional

1. LATIN AMERICAN COOPERATIVE ONCOLOGY GROUP - LACOG

**Vínculo institucional**

**2020 - Atual** Vínculo: Celetista , Enquadramento funcional: Clinical Reserach Associate , Carga horária: 40, Regime: Integral  
 Outras informações:  
 Assistente de projetos de pesquisa clínica, com enfoque em estudos acadêmicos e epidemiológicos, atuando na área regulatória e na elaboração e implementação de projetos.

## 2. Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA

**Vínculo institucional**

**2018 - Atual** Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Mestrado , Carga horária: 30, Regime: Dedicção exclusiva  
 Outras informações:  
 Bolsista institucional de mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Biociências, desenvolvendo o projeto intitulado "Avaliação da variabilidade genética de receptores toll-like e sua relação com a sindemia HIV-1/tuberculose", orientado pela Prof.ª Drª. Marilu Fiegenbaum no Laboratório de Biologia Molecular da UFCSPA.

**2016 - 2017** Vínculo: Voluntário , Enquadramento funcional: Iniciação Científica , Carga horária: 20, Regime: Parcial  
 Outras informações:  
 Laboratório de Imunologia Viral

**Atividades**

**10/2018 - Atual** Pesquisa e Desenvolvimento, Departamento de Ensino e Pesquisa, Programa de Pós-Graduação em Biociências

*Linhas de pesquisa:*

*Imunogenética das infecções pelo vírus da imunodeficiência humana e pelo bacilo Mycobacterium tuberculosis*

**05/2016 - 02/2017** Pesquisa e Desenvolvimento, Departamento de Ensino e Pesquisa

*Linhas de pesquisa:*

*Avaliação de atividade antirretroviral de compostos sintéticos derivados de Zidovudina frente aos lentivírus de pequenos ruminantes como modelos experimentais para o HIV*

## 3. Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde - FEPPS

**Vínculo institucional**

**2013 - 2018** Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Iniciação Científica / Estagiário , Carga horária: 30, Regime: Parcial  
 Outras informações:  
 Bolsista de Iniciação Científica no projeto intitulado "Perfil da expressão gênica envolvida na resposta a infecção pelo M. tuberculosis: busca por novos biomarcadores de progressão da tuberculose" no Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

**Atividades**

**01/2013 - 08/2018** Pesquisa e Desenvolvimento, Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT)

*Linhas de pesquisa:*

*Perfil da expressão gênica envolvida na resposta a infecção pelo M. tuberculosis: busca por novos biomarcadores de progressão da tuberculose*

## 4. Fertilitat - Centro de Medicina Reprodutiva - FERTILITAT

**Vínculo institucional**

**2018 - 2018** Vínculo: Estágio Curricular , Enquadramento funcional: Estagiário , Carga horária: 30, Regime: Parcial

## 5. Unilab Laboratórios Unidos de Pesquisas Clínicas - UNILAB

**Vínculo institucional**

**2017 - 2017** Vínculo: Estágio Curricular , Enquadramento funcional: Estagiário , Carga horária: 30, Regime: Parcial

**Linhas de pesquisa**

1. Perfil da expressão gênica envolvida na resposta a infecção pelo M. tuberculosis: busca por novos biomarcadores de progressão da tuberculose
2. Avaliação de atividade antirretroviral de compostos sintéticos derivados de Zidovudina frente aos lentivírus de pequenos ruminantes como modelos experimentais para o HIV
3. Imunogenética das infecções pelo vírus da imunodeficiência humana e pelo bacilo Mycobacterium tuberculosis

**Idiomas**





**Inglês** Compreende Bem , Fala Bem , Escreve Bem , Lê Bem

**Espanhol** Compreende Bem , Fala Bem , Escreve Bem , Lê Bem


**Produção**

## Produção bibliográfica

## Artigos completos publicados em periódicos

1.  [doi](#) MACHADO, FELIPE DOMINGUEZ; GEHLEN, MIRELA; CARON, VITÓRIA SCHMIDT; **MOUSQUER, GABRIEL TASSI**; BELLO, GRAZIELE LIMA; ANTON, CAMILA; BERNARDI, RAFAELA MANZONI; FREITAS, ALANA AMBOS; UNIS, GISELA; COSTA, ELIS REGINA DALLA; ROSSETTI, MARIA LUCIA ROSA; SILVA, DENISE ROSSATO  
Macrophage migration inhibitory factor -794 CATT5-8 microsatellite polymorphism and susceptibility of tuberculosis. *INFECTION*. [JCR](#), v.2021, p.10.1007/s15010- - , 2021.
2.  [doi](#) **MOUSQUER, GABRIEL TASSI**; PERES, ALESSANDRA; FIEGENBAUM, MARILU  
Pathology of TB/COVID-19 Co-infection: The phantom menace. *TUBERCULOSIS*. [JCR](#), v.126, p.102020 - , 2020.
3.  [doi](#) **MOUSQUER, GABRIEL TASSI**; MACIEL, LILA PARTICHELLI; POMPEU SARAIVA, ANA CAROLINA; DALLA COSTA, ELIS REGINA; ROSA ROSSETTI, MARIA LUCIA  
Validation of a quick and low-cost DNA extraction protocol applicable to long-stored blood samples. *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY*. [JCR](#), v.561-62, p.47 - 51, 2018.
4.  [doi](#) MILANO, MARIANA; MORAES, MILTON OZÓRIO; RODENBUSCH, RODRIGO; CARVALHO, CAROLINE XAVIER; DELCROIX, MELAINE; **MOUSQUER, GABRIEL**; LAUX DA COSTA, LUCAS; UNIS, GISELA; DALLA COSTA, ELIS REGINA; ROSSETTI, MARIA LUCIA ROSA  
Single Nucleotide Polymorphisms in IL17A and IL6 Are Associated with Decreased Risk for Pulmonary Tuberculosis in Southern Brazilian Population. *Plos One*. [JCR](#), v.11, p.e0147814 - , 2016.

## Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. **MOUSQUER, G. T.**; FIEGENBAUM, M.; MILANO, M.; DORR, B; POMPEU SARAIVA, ANA CAROLINA; ALMEIDA, S. E. M.; SILVA, E. C.; UNIS, G.; COSTA, E. R. D.; ROSSETTI, M. L. R.  
A TLR2 POLYMORPHISM (-196 to -174) IS ASSOCIATED WITH ACTIVE TUBERCULOSIS DEVELOPMENT IN HIV-1 INFECTED INDIVIDUALS FROM A SOUTHERN BRAZILIAN POPULATION In: ALAM 2018 - XXIV Congresso Latinoamericano de Microbiologia, 2018, Santiago.  
**Libro de Resúmenes**. Asociación Latinoamericana de Microbiología (ALAM), 2018. p.2 - 1504
2. **MOUSQUER, G. T.**; MILANO, M.; FIEGENBAUM, M.; UNIS, G.; COSTA, E. R. D.; ROSSETTI, M. L. R.  
ANÁLISE PRELIMINAR SOBRE A INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO DELEÇÃO/INSERÇÃO -196 A -174 DO RECEPTOR CELULAR HUMANO TOLL-LIKE 2 NA INFECÇÃO POR TUBERCULOSE E NA COINFECÇÃO POR TUBERCULOSE E HIV NA POPULAÇÃO DO SUL DO BRASIL In: XV Congresso Brasileiro de Biomedicina e o III Congresso Internacional de Biomedicina, 2016, Bento Gonçalves - RS.  
**ANAIS DO XV CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMEDICINA & III CONGRESSO INTERNACIONAL DE BIOMEDICINA**. APTOR SOFTWARE, 2016. p.15 - 636
3.  [doi](#) **MOUSQUER, G. T.**; MILANO, M.; UNIS, G.; ROSSETTI, M. L. R.; COSTA, E. R. D.  
AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE À TUBERCULOSE RELACIONADA COM O POLIMORFISMO DELEÇÃO/INSERÇÃO -196 A -174 DO RECEPTOR CELULAR HUMANO TOLL-LIKE 2 In: VII Meeting of the SLAMTB & IV National Workshop of Brazilian Tuberculosis Research Network, 2014, Canela - RS.  
**Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**. Santa Cruz do Sul - RS: Núcleo de Epidemiologia do Hospital Santa Cruz, 2014. v.4. p.36 - 121

## Apresentação de trabalho e palestra

1. **MOUSQUER, G. T.**  
Influência de fatores imunogenéticos na suscetibilidade ao HIV e ao *Mycobacterium tuberculosis*, 2019. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
2. **MOUSQUER, G. T.**  
Avaliação da influência do polimorfismo deleção/inserção -196 a -174 do gene TLR2 humano nas coinfecções por *Mycobacterium tuberculosis*, por HIV-1 e na coinfecção *M. tuberculosis*/HIV-1 na população gaúcha, 2018. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
3. POMPEU SARAIVA, ANA CAROLINA; **MOUSQUER, G. T.**; MILANO, M.; POSSUELO, L. G.; DALLA COSTA, ELIS REGINA; ROSSETTI, M. L. R.  
Polimorfismo -159C/T do CD14 ea suscetibilidade ao desenvolvimento de tuberculose ativa na população do Rio Grande do Sul, Brasil., 2018. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
4. **MOUSQUER, G. T.**; MILANO, M.; FIEGENBAUM, M.; UNIS, G.; DALLA COSTA, ELIS REGINA; ROSSETTI, M. L. R.  
Análise preliminar sobre a influência do polimorfismo deleção/inserção -196 a -174 do receptor celular humano toll-like 2 na infecção por tuberculose e na coinfecção por tuberculose e HIV na população do sul do Brasil, 2016. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
5. **MOUSQUER, G. T.**; DALLA COSTA, ELIS REGINA  
Influência do polimorfismo inserção/deleção -196 a -174 do receptor celular humano toll-like 2 na infecção por tuberculose e na coinfecção por tuberculose/HIV na população do sul de Brasil, 2016. (Outra, Apresentação de Trabalho)
6. **MOUSQUER, G. T.**; MILANO, M.; UNIS, G.; DALLA COSTA, ELIS REGINA; ROSSETTI, M. L. R.  
Avaliação da suscetibilidade à tuberculose pulmonar relacionada com o polimorfismo deleção/inserção -196 a -174 do receptor celular humano toll-like 2 na população do sul do Brasil, 2015. (Outra, Apresentação de Trabalho)
7. **MOUSQUER, G. T.**; MILANO, M.; UNIS, G.; ROSSETTI, M. L. R.; DALLA COSTA, ELIS REGINA  
Avaliação da suscetibilidade à tuberculose relacionada com o polimorfismo deleção/inserção -196 a -174 do receptor celular humano toll-like 2, 2014. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

## Eventos

## Eventos

## Participação em eventos

1. 1º Simpósio Internacional de Pesquisa e Prática em Educação em Saúde, 2019. (Simpósio)
2. IV Encontro do PPG Biociências, 2019. (Encontro)  
Avaliação da influência do polimorfismo deleção/inserção -196 a -174 do gene TLR2 humano nas infecções por *Mycobacterium tuberculosis*, por HIV-1 e na coinfecção *M. tuberculosis*/HIV-1 na população gaúcha..
3. Apresentação (Outras Formas) no(a) UNLEASH Innovation Lab, 2019. (Olimpíada)  
SDG 3: Good Health and Well-being.
4. Apresentação de Poster / Painel no(a) 54º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical - MEDTROP, 2018. (Congresso)

Polimorfismo -159C/T do CD14 e a suscetibilidade ao desenvolvimento de tuberculose ativa na população do Rio Grande do Sul, Brasil..

5. Apresentação de Poster / Painel no(a) **II Mostra Estadual de Atenção à Saúde Prisional e IV Encontro Regional de Tuberculose**, 2018. (Encontro)  
Suscetibilidade ao desenvolvimento de tuberculose ativa e o polimorfismo -159C/T do CD14.
6. Apresentação de Poster / Painel no(a) **III Encontro do PPG Biociências da UFCSPA e encontro de pesquisa e biologia celular**, 2018. (Encontro)  
Avaliação da influência do polimorfismo deleção/inserção -196 a -174 do gene TLR2 humano nas coinfeções por *Mycobacterium tuberculosis*, por HIV-1 e na coinfeção *M. tuberculosis*/HIV-1 na população gaúcha.
7. **Seminars in Biomedical Sciences**, 2018. (Seminário)
8. **IV Jornada do Serviço de Genética Clínica da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre**, 2017. (Outra)
9. **I Jornada da Liga do Sangue**, 2016. (Outra)
10. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XV Congresso Brasileiro de Biomedicina e o III Congresso Internacional de Biomedicina**, 2016. (Congresso)  
Análise preliminar sobre a influência do polimorfismo deleção/inserção -196 a -174 do receptor celular humano toll-like 2 na infecção por tuberculose e na coinfeção por tuberculose e hiv na população do sul do Brasil.
11. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XXVIII Salão de Iniciação Científica da UFRGS**, 2016. (Exposição)  
Influência do polimorfismo inserção/deleção -196 a -174 do receptor celular humano toll-like 2 na infecção por tuberculose e na coinfeção tuberculose/HIV na população do sul do Brasil.
12. **5º Seminário de Pesquisas, Estudos e Inovações do IGP/RS - 18 Anos**, 2015. (Seminário)
13. **I Jornada Acadêmica do curso de Toxicologia Analítica da UFCSPA**, 2015. (Outra)
14. **I Mostra de Trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre**, 2015. (Outra)  
"AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE À TUBERCULOSE PULMONAR RELACIONADA COM O POLIMORFISMO DELEÇÃO/INSERÇÃO -196 A -174 DO RECEPTOR CELULAR HUMANO TOLL-LIKE 2 NA POPULAÇÃO DO SUL DO BRASIL.
15. **I Simpósio de Genética, Psiquiatria e Saúde Mental da LIPSAM**, 2015. (Simpósio)
16. **III Semana Acadêmica da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre**, 2014. (Encontro)  
AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE À TUBERCULOSE RELACIONADA COM O POLIMORFISMO -196 A -174 DO RECEPTOR CELULAR HUMANO TOLL-LIKE 2.
17. Apresentação de Poster / Painel no(a) **VII Meeting of the SLAMTB & IV National Workshop of Brazilian Tuberculosis Research Network**, 2014. (Congresso)  
AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE À TUBERCULOSE RELACIONADA COM O POLIMORFISMO DELEÇÃO/INSERÇÃO -196 A -174 DO RECEPTOR CELULAR HUMANO TOLL-LIKE 2.
18. **2º Encontro Internacional em Engenharia de Tecidos e Medicina Regenerativa**, 2013. (Encontro)
19. **II Semana Acadêmica da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre**, 2013. (Encontro)
20. **V Semana Acadêmica do Curso de Biomedicina – Centro Universitário Metodista IPA**, 2012. (Simpósio)
21. **VI Semana Acadêmica Biomedicina UFRGS**, 2012. (Outra)
22. **VII Jornada Acadêmica de Biomedicina UFCSPA e III Simpósio Habilitações da Biomedicina– Universidade Federal de Ciências da Saúde do Rio Grande do Sul (UFCSPA)**, 2011. (Simpósio)

#### Organização de evento

1. BRAGANHOL, E.; GUEDES, R. P.; FURTADO FILHO, O. V.; RUBENICH, D. S.; NUNES, W. S.; MOURA, A. C.; ROSSATTO, F. C. P.; GHISIO, E. C.; ARANTES, P. R.; SCHUCK, B.; MOUSQUER, G. T.  
**IV Encontro do PPG Biociências**, 2019. (Outro, Organização de evento)

Página gerada pelo sistema Currículo Lattes em 14/02/2021 às 15:40:31.