

Vânia Nieto Brito de Souza¹
Ana Carla Pereira²

GENÉTICA HUMANA NA SUSCEPTIBILIDADE À HANSENÍASE

Human genetic in leprosy susceptibility

RESUMO

Dados de investigações familiares, de estudos com gêmeos e da genômica do *Mycobacterium leprae*, bem como observações sobre a epidemiologia da hanseníase, têm apontado a importância da genética humana como determinante do curso da doença desde a resistência à dicotomia imunológica que definem os pólos tuberculóide e virchowiano. Nesse contexto, estudos de varredura genômica e de associação têm apontado algumas regiões genômicas cujas variações são candidatas a fatores de risco para a doença. Entretanto, as associações já descritas são discretas e não se replicam em todos os estudos, o que evidencia a distinção entre os fatores de risco para diferentes populações, além de divergências nos desenhos destes estudos, como causadores destas controvérsias. Assim, esta revisão tem o propósito de compilação dos dados já descritos para as diversas regiões genômicas humanas que devem participar do controle genético da hanseníase.

Palavras chave: hanseníase; polimorfismo de um único nucleotídeo; susceptibilidade genética.

ABSTRACT

Data from familiar investigations, studies involving twins and from *Mycobacterium leprae* genomic, as well epidemiological observations of leprosy have shown the importance of the human genetic as determinant of the disease's course, from the resistance, to the immunological dichotomy which defines tuberculoid and

Souza VNB, Pereira AC. Genética humana na susceptibilidade à hanseníase. *Hansen Int.* 2007;32(1): 81-93.

lepromatous poles. Thus, studies using genome-wide scan and association methods have shown some genomic regions whose alterations are candidates to risk factors for leprosy. However, these associations are weak and are not repeated in all different studies, which put in evidence the divergence in risk factors for different populations as well in design studies as causatives of this controversial data. In this manner, this review has as purpose the data collection which have already been described about human genomic regions that must participate in the genetic control of leprosy.

Key words: leprosy; single nucleotide polymorphism; genetic susceptibility.

INTRODUÇÃO

Até a descoberta do agente causador da hanseníase, em 1874 por Armauer Hansen, acreditava-se que esta doença era de caráter hereditário¹. Posteriormente, dados de estudos com famílias e com gêmeos, aliados aos fatos de que somente uma pequena parcela de

Recebido em 18/09/2006.

Última correção em 28/01/2007.

Aceito em 30/01/2007.

1 Doutor em Biologia Molecular. Pesquisador Científico do Instituto Lauro de Souza Lima. vanianbrito@yahoo.com.br

2 Doutor em Ciências Farmacêuticas. Pesquisador Científico do Instituto Lauro de Souza Lima. anacarlap@gmail.com
Rodovia Cmte. João Ribeiro de Barros, Km 225/226. Caixa Postal 3021. Bauru-SP. CEP 17034-971.

indivíduos infectados adoece e que a prevalência é dependente da etnia, reforçaram novamente a teoria de susceptibilidade genética para a doença². Estudos sobre os mecanismos imunológicos envolvidos na hanseníase revelam uma dicotomia na resposta que dirige para os padrões T *helper* 1 (Th1) e T *helper* 2 (Th2), os quais se refletem nas diferentes formas clínicas da doença^{3,4,5,6}. Adicionalmente, a anergia ao *Mycobacterium leprae* observada em pacientes é específica^{7,8,9}. Nesse contexto, pode-se concluir que, além dos fatores ambientais que determinam a doença, fatores genéticos - humanos e micobacterianos - são importantes na interação patógeno-hospedeiro. Por fim, ao contrário de doenças monogênicas, e assim como outras doenças infecciosas, a hanseníase é uma doença de trato complexo com a interação de diversos fatores genéticos e adquiridos definindo sua ocorrência.

A totalização do seqüenciamento do genoma do *M. leprae* mostrou que este foi submetido a uma redução considerável, com perda de aproximadamente metade dos genes presentes nas micobactérias mais próximas, bem como de vias metabólicas inteiras¹⁰. Isto o revela como um patógeno altamente especializado e adaptado, de forma que pequenas mudanças na interação parasita/hospedeiro podem acarretar resistência à doença por perda de condições ideais para multiplicação bacilar. Estudos recentes demonstraram também que este apresenta baixa diversidade genética¹¹. Em conjunto, estes dados atribuem maior participação da genética humana na variabilidade inter-individual observada no curso da hanseníase que abrange desde a resistência e cura espontânea até o pólo multibacilar.

Dentro do cenário supra-exposto, a investigação do *background* genético dos indivíduos acometidos torna-se uma importante ferramenta para a elucidação dos marcadores genéticos de susceptibilidade bem como das bases fisiopatológicas da hanseníase.

As investigações genéticas para mapeamento de *loci* associados com doenças podem ser feitas por meio de estudos de ligação ou de associação. O primeiro tipo de estudo é familiar e permite o rastreamento de regiões cromossômicas associadas à doença de forma que um "zoom" molecular é feito para o mapeamento dos marcadores genéticos. Estes permitem a identificação da associação de regiões genômicas que não estão classicamente envolvidas com a fisiopatologia da doença levando até mesmo a descoberta de novas vias bioquímicas, imunológicas ou fisiológicas. Já os estudos de associação são baseados em medidas de frequências de alelos em populações ou em famílias. Os estudos populacionais podem ser do tipo caso-controle ou coorte e se baseiam nas comparações entre as frequências dos alelos nos grupos de indivíduos doentes e não doentes. Já os estudos familiares se baseiam no perfil de transmissão de alelos de pais para filhos afetados. Nestes es-

tudos de associação, a seleção dos marcadores a serem investigados é feita a partir de dados de rastreamento genômico ou de hipóteses biologicamente plausíveis que fornecem genes candidatos, ou seja, àqueles cujo produto deve de alguma forma participar do processo de interação patógeno-hospedeiro, como exemplo clássico, os genes de citocinas.

Os principais resultados de estudos sobre o papel da genética humana em hanseníase estão discutidos a seguir.

COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE (HLA)

A região 6p21 do cromossomo 6 humano, que abrange os genes do Complexo Principal de Histo-compatibilidade de classe I e II (HLA) e o do fator de necrose tumoral (TNF) e linfotóxina- α (LTA), tem sido associada com a ocorrência de hanseníase em diversos estudos, uma vez que a segregação dos haplótipos de HLA parentais não se dá de modo aleatório entre filhos saudáveis e àqueles acometidos pelas formas tuberculóide e virchowiana¹².

Estudos familiares têm apontado para a associação das regiões gênicas do HLA com a hanseníase *per se*^{12,13,14}. O refinamento destes estudos levou a associação dos *loci* HLA-DQB1, HLA-DQA1 e HLA-DRB1 com a doença¹⁵, assim como forte ligação da região 6p21.32/HLA-DQ3 foi identificada¹⁶.

Todd *et al.*¹⁷ e Hegazy *et al.*¹⁸ associaram HLA-DR2 e HLA-DQw1 com a ocorrência de hanseníase *per se*. Semelhante associação de HLA-DR2 foi previamente observada no Japão¹⁹. Na população chinesa por outro lado, não houve associação de HLA-DR2 com a doença²⁰.

Com relação às formas clínicas HLA-DR2, HLA-DR3 e HLA-DQw1, já foram relacionados com a hanseníase tuberculóide^{19,21,22,23,24}. Enquanto DR2, DRw8, DQw1 foram associados com a forma virchowiana^{19,21,22,25,26}.

O advento de técnicas de biologia molecular permitiu a análise detalhada do envolvimento de alelos do HLA com a hanseníase. Assim, Shaw *et al.*¹⁵ associaram os alelos HLA-DQB1*0201, HLA-DQA1*0201 e HLA-DRB1*7 com proteção e HLADQB1*0501, HLA-DQA1*0101 e HLA-DR1*1 com susceptibilidade à hanseníase. Vanderborgh *et al.*²⁷ avaliaram especificamente a contribuição do *locus* HLA-DRB1 em estudo caso-controle com a população brasileira e familiar com vietnamitas. Foram encontradas associações dos alelos HLA-DRB1*10 e HLA-DRB1*04 com susceptibilidade e proteção à hanseníase, respectivamente, em ambas as populações estudadas. Entretanto, nenhuma associação significativa com a forma clínica da moléstia foi descrita neste estudo. Na população da Argentina, por outro lado, Motta *et al.*²⁸ atribuíram papel protetor ao alelo HLA-DRB1*04

frente à hanseníase paucibacilar, enquanto os alelos HLA-DQB1*0201/0202/023 estiveram relacionados com proteção contra a forma multibacilar.

Paralelamente, Souza *et al.*²⁹ encontraram associação entre a presença do alelo HLA-DQ1 e a ausência de resposta ao antígeno Mitsuda.

A contribuição de moléculas de classe I do HLA para o desenvolvimento da hanseníase também tem sido avaliada. Na população japonesa foi encontrada forte associação de HLA-B8 com a doença *per se*³⁰ enquanto na coreana a associação foi verificada com HLA-A11 e Aw33³¹. Em estudo mexicano, por outro lado, não foi observada nenhuma associação de HLA de classe I com a hanseníase⁸. Greiner *et al.*³², empreendendo estudos na Tailândia, associaram HLA-A2 e HLA-Bw17, respectivamente, com proteção e susceptibilidade à forma tuberculóide e HLA-B7 com susceptibilidade ao pólo virchowiano. Na Índia, a frequência de HLA-A2, HLA-A11, HLA-B40 e HLA-Cw7 mostraram-se aumentadas entre os pacientes hansenianos, enquanto as de HLA-A28, HLA-B12, HLA-B15 e HLA-Cw3 estiveram diminuídas; já as frequências dos haplótipos A*1102-B*4006-Cw*1502; A*0203-B*4016-Cw*0703; A*11-B*40 estiveram aumentadas nos pacientes multibacilares em comparação com os controles³³.

Os genes altamente variáveis relacionados à cadeia MHC de classe I A (MICA) e B (MICB) também têm sido associados à hanseníase. Essas proteínas são expressas durante a apresentação de antígenos e funcionam como co-estimulatórias para a ativação de linfócitos T γ , linfócitos T CD8+ e células NK³⁴. Entre os chineses HLA-B46 e MICA-A5 estiveram relacionados com proteção contra a forma multibacilar da hanseníase²⁰; enquanto na Índia, Tosh *et al.*³⁵ relataram associação de HLA-DRB1 e MICA*5A5.1 com a doença *per se*.

O gene TAP2, também localizado na região 6p21, codifica a cadeia 2 da proteína transportadora associada ao processamento antigênico (TAP) que atua na translocação de peptídeos do citosol para o retículo endoplasmático e na ligação de peptídeos ao MHC de classe I. São relatados vários polimorfismos deste gene que em combinação originam diferentes alelos (A-H) os quais podem diferir quanto à capacidade de apresentar antígenos via MHC de classe I. Rajalingam *et al.*³⁶ estudaram a implicação destes SNPs na hanseníase e observaram que a frequência do alelo TAP2-B estava significativamente aumentada na hanseníase tuberculóide e especialmente entre os pacientes com HLA-DR15. Contudo, devido à estreita proximidade do gene TAP2 com a região do HLA, esses resultados devem ser observados com cautela, uma vez que podem decorrer de desequilíbrio de ligação com alelos HLA.

Esses dados em conjunto indicam que a região do genoma humano codificadora das moléculas do HLA está fortemente associada à ocorrência da hanseníase,

entretanto, o alelo associado varia de acordo com cada população em função da distinção do *background* genético.

FATOR DE NECROSE TUMORAL (TNF) E LINFOTOXINA- α (LTA)

A proximidade com a região gênica do HLA, classicamente envolvida com a hanseníase, e a relevância do TNF em doenças infecciosas tem levado a um grande interesse sobre o papel de alterações do gene do TNF na etiopatogenia das infecções^{37,38}. Na hanseníase, o TNF atua na ativação de macrófagos estimulando a atividade micobactericida destes e a apresentação de antígenos via MHC de classe II, mas também contribui para a ocorrência de danos neurais. A regulação da produção desta citocina parece ter forte influência genética, o que pode determinar a susceptibilidade a doenças³⁹. Nesse contexto, Sarno *et al.*⁴⁰ sugerem que polimorfismos no gene TNF devem estar associados com dano neural causado pela resposta inflamatória na hanseníase. Assim, polimorfismos de base única (*Single Nucleotide Polymorphisms* – SNPs) na região promotora do gene do TNF, com potencial para alteração desta proteína, têm sido de interesse na investigação dos determinantes da susceptibilidade genética para hanseníase.

Um polimorfismo na posição -308 da região promotora do gene TNF apresentou significativa associação com a hanseníase *per se*^{12,13}. Também foi encontrada associação entre o alelo TNF2 deste SNP (-308A) e hanseníase multibacilar em estudos indiano⁴¹ e tailandês⁴². Contrariamente, em estudos brasileiros este alelo foi associado com resistência a esta forma clínica de hanseníase^{15,43,44}. Já Levée *et al.*⁴⁵ não encontraram associação de SNPs no gene TNF com a hanseníase estudando famílias multiplex na Polinésia Francesa.

A implicação funcional deste polimorfismo ainda é controversa; alguns estudos indicam que a presença do alelo A resulta em maior produção desta citocina^{46,47} enquanto outros não indicam relevância funcional do mesmo^{48,49}.

Em amplo estudo de genes candidatos de susceptibilidade à hanseníase, Fitness *et al.*⁵⁰ não encontraram associação de 4 polimorfismos (-238A/G, -308G/A, -376G/A e -863C/A) na região promotora do gene TNF.

Ainda nesta região, localiza-se o gene LTA, que codifica uma quimiocina com múltiplos efeitos na regulação do sistema imune. Shaw *et al.*¹⁵ estudando famílias brasileiras não verificaram correlação do SNP LTA+252A/G isolado com hanseníase. Entretanto, em análise estendida, encontraram associação com hanseníase deste SNP em haplótipos formados com TNF-308, o que foi replicado em estudo com a população brasileira⁵¹.

O aprofundamento de estudos da região do cromossomo 6 levou a descoberta de marcadores de

susceptibilidade dentro do gene LTA⁵². Este estudo de ligação identificou um haplótipo estendido (*bin*), composto por sete SNPs, associado com Hanseníase *per se*. Dentre estes, o polimorfismo LTA+80 foi definido como representativo da associação ("SNP etiqueta"), também devido à prévia hipótese acerca do efeito funcional desta variante (Knight 2004). Esta associação do alelo de LTA+80 pôde ser observada em dois painéis de famílias do Vietnã e na população da Índia, mas não foi replicada em *design* caso-controle do Brasil⁵². Os autores explicam tal disparidade pela associação deste SNP com a doença ser dependente da idade de manifestação da doença, sendo que na população brasileira a manifestação foi mais tardia. Com efeito, análises estratificadas ratificaram a associação deste SNP com a ocorrência da Hanseníase em indivíduos jovens. Funcionalmente, este alelo parece estar relacionado com menores níveis de produção da linfotóxina, o que prejudicaria a resposta protetora com o *M. leprae*, permitindo a instalação precoce da doença, devido ao menor recrutamento de linfócitos para o sítio da infecção.

Um alelo polimórfico contendo 105 cópias do microssatélite AC/GT na região 5' UTR do gene LTA foi associado com a ocorrência de Hanseníase na população de Malauí por Fitness *et al.*⁵⁰, mas os autores reconhecem que este efeito pode decorrer de desequilíbrio de ligação com outros genes na região do HLA ou dentro do próprio gene LTA.

PARKINA E PACRG

O mesmo estudo que apontou a ligação da região 6p21 com Hanseníase, associou também a região 6q25 com susceptibilidade à Hanseníase *per se* em famílias vietnamitas¹⁴. Estudos aprofundados sobre a região concluíram que dois alelos eram informativos acerca desta associação, o alelo C do SNP rs1040079 e o alelo T na posição -2599, na região compartilhada pelos genes PARK2 e PACRG. Tal achado foi descrito em famílias vietnamitas e confirmado em estudo caso-controle com a população brasileira⁵³. Entretanto, a replicação destes dados não foi alcançada em estudo com a população indiana⁵⁴ e em estudo com a população brasileira que usou contatos sadios como controles⁵¹.

Provavelmente, a diversidade da etnia das populações estudadas, bem como na seleção dos grupos estudados, podem explicar estas controvérsias.

Classicamente, a parkina é uma E3-ubiquitina ligase que participa da via de destruição de proteínas dependente de ubiquitinação. Entretanto, recentes estudos demonstram a multi-funcionalidade desta, interagindo com proteínas do sistema imune como, as vias de sinalização de *toll like receptors* (TLRs) e interferindo na produção de reativos intermediários de oxigênio⁵⁵. Quanto ao gene PACRG, pouco se sabe acerca da sua função.

INTERLEUCINA 10 (IL-10)

A interleucina 10 (IL-10) tem atividade anti-inflamatória e imuno-reguladora sobre a resposta Th1 pela supressão de IFN- γ , TNF e GM-CSF. Na Hanseníase, esta citocina está envolvida com a evolução da doença, já que uma alta razão TNF/IL-10 está associada a um melhor prognóstico em contatos sadios⁵⁶. Adicionalmente, a IL-10 está aumentada na forma multibacilar da doença⁵⁷.

Alguns estudos têm sugerido que 75% da variação na produção de IL-10 seja geneticamente determinada e que este controle ocorre em nível transcricional^{39,58}. A região promotora deste gene é polimórfica contendo regiões de microssatélite e SNPs nas posições -592, -819, -1082 na sua porção proximal e nas posições -2763, -2849 e -3575 na porção distal^{59,60,61,62}.

Com relação aos efeitos funcionais destes SNPs, o haplótipo proximal -1082A/-819T/-592A foi associado à mais baixa atividade transcricional do que o haplótipo -1082G/-819C/-592C, enquanto o genótipo ATA/ATA foi associado com mais baixa produção da citocina em cultura de PBMC estimulada com LPS⁶³. Adicionalmente, Turner *et al.*⁶⁰ encontraram que o alelo -1082G é associado à alta produção desta citocina *in vivo* e *in vitro*.

Em Hanseníase, estudos com três populações revelaram que haplótipos formados por SNPs proximais e distais na região promotora do gene IL10 possuem papel na susceptibilidade à doença. Moraes *et al.*⁶⁴ demonstraram que o haplótipo formado pelos SNPs distais -3575A/ -2849G/ -2763C confere resistência, enquanto o haplótipo -3575T/ -2849A/ -2763C confere susceptibilidade à Hanseníase, sem apresentar correlação significativa com a forma clínica. Na população indiana, Malhotra *et al.*⁶⁵ descreveram o haplótipo estendido -3575T/-2849G/-2763C/-1082A/-819C/-592C conferindo resistência à Hanseníase *per se* e à forma multibacilar da doença, enquanto o haplótipo -3575T/-2849G/-2763C/-1082A/-819T/-592A esteve associado à ocorrência da forma multibacilar.

Isoladamente, os SNPs nas posições -592 e -819 também se mostraram associados com a doença na população indiana⁶⁵. Santos *et al.*⁴⁴ encontraram susceptibilidade para Hanseníase associada ao alelo -819T na população do Rio de Janeiro. Entretanto, com a população de Malauí, Fitness *et al.*⁵⁰ não encontraram associação de nenhum destes SNPs da porção proximal com Hanseníase. Estas diferenças nos resultados, provavelmente, advém da diversidade da constituição genética destas populações.

EIXO IL-12/IL-23/IFN- Γ

A identificação de mutações nos genes que codificam citocinas tipo-1 em pacientes acometidos por infecções por micobactérias não patogênicas e espé-

cies de salmonelas tem apontado para a importância destas moléculas como mediadores da resistência a patógenos intracelulares. Um achado comum nestes pacientes é a ineficiência celular de produção ou resposta ao IFN- γ , in vivo e in vitro, ocasionada por defeitos genéticos na produção destas citocinas e/ou de seus receptores⁶⁶. Nesse contexto, tem especial importância o eixo IL-12/IL-23/IFN- γ que dirige o perfil de resposta para Th1. Mutações que acarretam perda de função no eixo de ativação IL-12/IL-23/IFNG são raras e não devem ser responsáveis por doenças comuns. Entretanto, SNPs nas regiões promotoras e codificadoras dos genes envolvidos neste eixo, como IL12B, IL12RB1, IL12RB2, IFNG, IFNGR1 e IFNGR2, podem influenciar a ocorrência de doenças infecciosas.

A IL-12 e a IL-23 são produzidas por macrófagos e células dendríticas após o reconhecimento de patógenos e estimulam a produção de IFN- γ em linfócitos TCD4+ e células natural killers, dirigindo a resposta imune para um padrão Th1. Ambas são heterodímeros e compartilham a subunidade p40, codificada pelo gene IL12B. A ação destas citocinas se dá por meio do reconhecimento desta subunidade pela cadeia β 1 (IL-12R β 1), presente nos complexos receptores de IL-12 e IL-23 e codificada pelo gene IL12RB1⁶⁷.

Huang et al.⁶⁸ definiram polimorfismos do gene IL12B que parecem ter efeito sutil no fenótipo, apontando para a importância dos haplótipos do gene IL12B. Um polimorfismo na posição 16974 da região 3' UTR, que cria um sítio de reconhecimento para a enzima TaqI, foi associado com produção aumentada de IL-12 pós-estímulo com LPS e PPD⁶⁹. Este SNP foi associado com a ocorrência de Hanseníase e tuberculose entre os indianos⁷⁰.

Quanto ao gene IL12RB1, dois polimorfismos no exon 7 (641A/G e 684C/T) e dois no exon 10 (1094T/C e 1132G/C) estão em desequilíbrio de ligação, sendo que o haplótipo 641G-1094C-1132C foi associado à ocorrência de tuberculose⁷¹. No entanto, Lee et al.⁷² não encontraram esta mesma correlação estudando a Hanseníase virchowiana na população coreana.

No tocante ao gene IL12RB2, Ohyama et al.⁷³ estudaram a associação dos polimorfismos -1035A/G, -1023A/G, -650delG, e -465A/G na região 5' com a ocorrência de Hanseníase na população japonesa. Esses autores relataram que a frequência do haplótipo -1035A/-1023A/-650G/-464A foi alta na população em geral e nos pacientes com a forma tuberculóide da doença, mas não nos portadores da forma virchowiana. Análises funcionais demonstraram que os outros haplótipos estavam associados a menor capacidade transcricional⁷³.

O IFN- γ é o principal produto das respostas Th1. Assim, deficiências na sua produção ou sinalização, via receptores IFNGR1 ou IFNGR2, são causas de infecções por patógenos intracelulares⁷⁴. Reynard et al.⁷⁵ relataram

maior frequência dos alelos 5, 6 e 7 do polimorfismo de microssatélite CA do intron 1 do gene IFNG entre os pacientes brasileiros com Hanseníase, sugerindo a participação destes nos mecanismos de susceptibilidade à patologia. O alelo T do polimorfismo +874T/A, também no intron 1, tem sido correlacionado com alta produção de IFN- γ e resistência à tuberculose^{76,77,78}. Contudo, este efeito protetor não foi observado para Hanseníase na população de Malauí, o que pode estar relacionado à baixa frequência do alelo T nesta população⁵⁰.

A deficiência de receptor de IFN- γ foi a primeira doença descrita na via das citocinas tipo-1 que predis põe a infecções por micobactérias não patogênicas^{79,80}. Contudo, Lee et al.⁷² não encontraram correlação entre os polimorfismos 83G/A e 1443 T/C no gene IFNGR1 e a ocorrência de Hanseníase na população coreana.

RECEPTOR DE VITAMINA D (VDR)

A forma ativa da vitamina D (1,25 dihidroxivitamina D₃) é um hormônio que, além de regular o metabolismo do cálcio e osso, exerce um papel imunomodulador por meio da ligação ao seu receptor nuclear, VDR, em monócitos, macrófagos e linfócitos ativados⁸¹. Esta interação leva a supressão da transcrição de vários genes nestas células, como IL12, GM-CSF e IFNG, bem como a expressão de HLA-DR. Assim, este hormônio, por meio da interação com seu receptor, possui um efeito imunomodulador inibindo a produção de citocinas e imunoglobulinas e a proliferação linfocitária. Adicionalmente, alguns autores têm atribuído ao VDR um papel regulador no equilíbrio Th1-Th2, o que poderia influenciar o desfecho da forma clínica de Hanseníase.

O gene VDR está localizado no cromossomo 12 e quatro polimorfismos foram descritos neste gene de acordo perfis de restrição que estes criam. Dois deles estão localizados no exon 8 e criam sítios para as enzimas *Apa*I e *Bsm*I. O terceiro trata-se de uma substituição silenciosa de T para C no códon 352 no exon 9 que cria um sítio para a enzima *Taq*I. O quarto SNP é uma substituição T para C no primeiro códon do VDR que abole um sítio de restrição para a enzima *Fok*I e desloca o início da tradução para três codons *downstream* resultando em uma proteína de 424 ao invés de 427 aminoácidos. Em princípio, estes alelos eram designados como A/a, B/b, T/t e F/f, onde a letra maiúscula se referia à ausência do sítio de restrição e a minúscula à presença deste. Os efeitos funcionais dos três primeiros SNPs ainda não são muito claros, entretanto, o haplótipo BA_t parece estar relacionado a maior atividade do receptor do que ba_T⁸². Em indivíduos normais, o genótipo estendido BBAAt esteve associado ao aumento da fagocitose por macrófagos e à diminuição da proliferação linfocitária em culturas estimuladas com antígenos de *M. tuberculosis* na presença de vitamina D3. Entretanto, isto não foi ob-

servado em indivíduos com tuberculose, o que denota alguma diferença na resposta celular à vitamina D na doença⁸³. Já o produto do alelo F está associado com aumento da transcrição do gene VDR⁸⁴.

Em hanseníase, o polimorfismo *TaqI* no gene VDR tem sido alvo de investigações. Em um estudo indiano o genótipo TT foi associado com a forma virchowiana da hanseníase enquanto CC (tt) foi associado à forma tuberculóide⁸⁵. Na população de Malauí, o genótipo CC (tt) foi associado à susceptibilidade para hanseníase *per se*, entretanto, a composição do grupo de casos estudado é predominantemente paucibacilar o que pode explicar esta controvérsia⁵⁰. A resistência à hanseníase foi associada ao genótipo heterozigoto (Tt) na população indiana⁸⁵. Estes dados permitem a especulação de que a heterozigotidade para este polimorfismo estaria associada ao melhor equilíbrio entre as respostas Th1-Th2. Paralelamente, os dados acerca da associação de polimorfismos de VDR com tuberculose foram considerados inconclusivos em recente meta-análise⁸⁶.

TOLL LIKE RECEPTORS (TLRS)

Os receptores do tipo *Toll* (TLRs) formam uma família de receptores que são estimulados por diferentes antígenos e levam ao aumento da expressão de genes de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias por meio da ativação de fatores de transcrição. Cada membro desta família é ativado por antígenos específicos que levam a diferentes perfis de ativação de transcrição iniciando a resposta imune adequada ao patógeno⁸⁷.

O TLR2 está envolvido na resposta imune inata à antígenos da parede do *M. leprae*, ativando macrófagos e induzindo a produção inicial de IL-12 e o estabelecimento de respostas do tipo Th1⁸⁸. Este receptor necessita do TLR1 ou TLR6 como co-receptores para que haja especificidade para o ligante⁸⁹. Assim, o heterodímero TLR1/TLR2 também pode ativar a resposta imune frente aos antígenos micobacterianos⁹⁰. A expressão de TLR1 e TLR2 tem sido demonstrada nas lesões de pele em hanseníase⁹⁰. Adicionalmente, a ativação do TLR2 pode induzir a apoptose de células de Schwann contribuindo para a lesão neural associada à doença⁹¹.

Vários estudos têm correlacionado a presença de SNPs em genes TLR com a susceptibilidade para doenças infecciosas, o que evidencia a importância destas moléculas.

Em 2001, Kang & Chae⁹² descreveram, na população coreana, uma substituição C para T do nucleotídeo 2029 do gene TLR2 e observaram forte associação entre este polimorfismo e a ocorrência de hanseníase multibacilar. Em estudos posteriores, esta alteração genética não foi detectada em caucasianos⁹³ e vietnamitas⁹⁴. Em 2005, Malhotra *et al.*⁹⁵ contestaram o achado na população coreana e atribuíram este equívoco à existência de uma

região homóloga ao exon3 do gene TLR2 (pseudogene), também amplificada pelos primers empregados por Kang & Chae⁹², que carregaria 3 variações não observadas no exon 3 do gene TLR2⁹⁵.

Recentemente, Bochud *et al.*⁹⁶ descreveram a associação do polimorfismo 597C/T e de uma região de microssatélite do gene TLR2 com aumento e diminuição do risco de reação reversa, respectivamente.

Johnson *et al.*⁹⁷ descreveram a associação de um polimorfismo no gene TLR1 com resistência à hanseníase em um estudo caso-controle com a população da Turquia. Este trata de uma substituição T para G no nucleotídeo 1805, que leva a troca de isoleucina para serina no resíduo 602. Funcionalmente, a resistência à hanseníase conferida pelo alelo 602S pôde ser explicada pela menor expressão do receptor na superfície celular bem como pela responsividade diminuída a diversos antígenos associada a esta variante, o que pode sugerir que o sistema TLR seja parte dos mecanismos de escape do *M. leprae*⁹⁷. A não replicação deste resultado em outra população bem como o reduzido tamanho amostral denotam a necessidade de cautela na interpretação deste dado.

Um outro polimorfismo, 2251G/A, que resulta numa troca de aminoácido Arg753Gln na região C-terminal da proteína e suprime a função do TLR-2, foi descrito como fator de risco para tuberculose⁹⁸, mas ainda não foi investigado em hanseníase.

De qualquer maneira, os dados supracitados apontam os genes TLR1 e TLR2 como importantes candidatos à associação com hanseníase e merecedores de investigações mais aprofundadas.

SLC11A1 (NRAMP)

O gene SLC11A1 (*solute carrier family 11 member 1*), anteriormente chamado NRAMP1 e localizado na região genômica 2q35, foi apontado como o gene responsável pela resistência de camundongos a patógenos intracelulares⁹⁹. Este gene é expresso em macrófagos e codifica uma proteína presente nas membranas lisossomais; no processo de fagocitose esta é recrutada para as membranas de fagossomos contendo patógenos viáveis, onde atua como um transportador de ferro e outros íons divalentes (revisto na ref.¹⁰⁰). O sentido deste transporte de íons pelo NRAMP1 e, conseqüentemente, seu mecanismo de ação na imunidade contra patógenos intracelulares, são objetos de controvérsia na literatura: alguns estudos afirmam que o NRAMP1 promove o efluxo do ferro, privando os microorganismos deste nutriente; outros afirmam que o bombeamento é feito para o interior do fagossomo provendo o ferro necessário para a produção de reativos intermediários do oxigênio (revisto na ref.¹⁰⁰).

Estudos familiares demonstraram associação deste

gene com a ocorrência de hanseníase^{13,101,102}. Um estudo caso-controle na população africana revelou associação do genótipo heterozigoto de uma inserção/deleção de 4pb na região 3' UTR com a forma multibacilar da hanseníase, enquanto a homozigose para deleção foi associada com a forma paucibacilar da doença¹⁰³. Por outro lado, na população de Malauí não foi observada correlação entre 4 polimorfismos deste gene e hanseníase⁵⁰. Na população da Polinésia Francesa um estudo abrangendo 9 *loci* polimórficos e 3 microssatélites também não encontrou qualquer associação com a hanseníase¹⁰⁴. Aliado a isso, um recente estudo tailandês, também não verificou associação entre 3 polimorfismos neste gene e a ocorrência ou forma clínica da hanseníase⁴².

Alguns estudos associaram polimorfismos neste gene com a capacidade de responder aos antígenos do *M. leprae* e afirmaram ser este o mecanismo envolvido na proteção conferida pelo gene^{105,106}. Estes resultados, contudo, não foram confirmados em limitado estudo familiar no Brasil¹⁰⁷. Ranque *et al.*¹⁰⁸ associaram o *locus* do SLC11A1 ao controle genético da reação de Mitsuda.

MBL (MANNOSE BINDING LECTIN)

A lectina ligante de manose (MBL) liga-se a resíduos de manose e N-acetilglicosamina presentes na superfície de bactérias e fungos, o que resulta em ativação do Sistema Complemento, opsonização e fagocitose. Entretanto, alelos relacionados com baixa produção desta molécula possuem elevada frequência em diversas populações sugerindo uma vantagem evolutiva destes¹⁰⁹. No caso da hanseníase, cujo agente etiológico é um parasita intracelular obrigatório que depende da fagocitose para penetrar nas células do hospedeiro a redução nos níveis de MBL poderia conferir proteção contra a doença¹⁰⁹. De fato, Dornelles *et al.*¹¹⁰ relataram que baixos níveis de MBL conferem proteção contra a hanseníase virchowiana, mas não tuberculóide.

Fitness *et al.*⁵⁰ compararam a frequência do polimorfismo 239G/A (G57E) no exon 1 do gene MBL2 entre pacientes com hanseníase e controles e não encontraram associação alguma. Cabe ressaltar que este SNP não leva a diminuição na expressão da proteína. Messias-Reason *et al.*¹¹¹, por sua vez, verificaram diferenças na frequência de polimorfismos no exon 1 do gene MBL2 entre pacientes e controles, além disso, uma menor frequência de genótipos/haplótipos relacionados com baixa produção de MBL foi encontrada nos pacientes virchowianos em comparação com tuberculóides. Esses dados sugerem que SNPs capazes de influenciar os níveis de expressão de MBL tem papel relevante na ocorrência e forma clínica da doença.

OUTRAS REGIÕES GENÔMICAS

A região do cromossomo 17, que inclui genes envolvidos na resposta imune como NOS2A, quimiocinas da família CC (CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CCL4/MIP-1 β , CCL5/RANTES) e ativadores de transcrição como STAT3, STAT5A e STAT5B foi alvo de estudos de varredura em famílias com múltiplos casos de hanseníase e tuberculose^{13,112} com base em trabalhos sobre genética da resistência a doenças infecciosas obtidos em modelos murinos. Jamieson *et al.*¹¹² empregando análise não paramétrica multipontual encontraram 2 picos de associação no cromossomo 17 com a hanseníase, sendo um deles (D17S250) ligado a hanseníase tuberculóide e outro (D17S1975) relacionado com a hanseníase virchowiana; entretanto nenhum destes picos de associação parece estar ligado com o gene NOS2A. Fitness *et al.*⁵⁰ avaliaram polimorfismos de microssatélites na região promotora do gene CCL3 (MIP-1 α) mas não observaram qualquer associação com a hanseníase. Também não existem na literatura relatos de associação direta de outros polimorfismos desta região com a hanseníase. Ranque *et al.*¹⁰⁸ atribuíram à região cromossômica 17q21-25 participação no controle genético da reação de Mitsuda.

A ninjurina é uma proteína expressa em diversos tecidos embrionários e adultos, entre eles os nervos periféricos onde promove a adesão entre células de Schwann. Esta molécula é codificada pelo gene NINJ1 o qual tem expressão aumentada nas células de Schwann após a ocorrência de dano neural, sugerindo um papel desta molécula na regeneração do tecido nervoso¹¹³. Em um estudo recente, Cardoso *et al.*¹¹⁴ associaram a presença do alelo ala110 do polimorfismo asp110ala no gene NINJ1 com níveis menores de mRNA para ninjurina e ocorrência de dano neural na hanseníase, sendo a *odds ratio* indicativa de risco para dano neural dependente do número de alelos presentes no indivíduo.

Os genes COL3A e CTLA-4, localizados próximos ao gene SLC11A1 (NRAMP) na região 2q31-33, numa região classicamente associada com susceptibilidade a doenças infecciosas, foram associados com a forma clínica e a resposta imune celular na hanseníase em um pequeno estudo realizado na Índia¹¹⁵. O gene COL3A codifica o pró-colágeno III α 1 e pode apresentar um número variável de seqüências repetidas em *tandem*; na população indiana o estado homozigoto do alelo contendo 250pb foi associado com a hanseníase multibacilar, enquanto a heterozigose para o alelo de 312pb mostrou correlação com a condição não responsiva frente aos antígenos de *M. leprae*, tanto em pacientes quanto em controles. No tocante ao gene CTLA4 (*cytotoxic T associated antigen 4*), cujo produto inibe a ativação de linfócitos T, os polimorfismos avaliados se referem ao número de repetições do microssatélite AT na região 3' UTR, sendo que o alelo contendo 104pb não foi encontrado em pacientes com

hanseníase, o que sugeriu um papel protetor deste; não foram observadas correlações de alelos do gene CTLA-4 com a resposta imune celular frente aos antígenos de *M. leprae*. Entretanto, mais tarde este alelo foi demonstrado estar em desequilíbrio de ligação com um polimorfismo funcional no exon 1¹¹⁶.

Um locus na região cromossômica 10p13 foi associado com hanseníase paucibacilar em um estudo de ligação na população indiana¹¹⁷, o que foi confirmado na população vietnamita¹⁴. Posteriormente, este mesmo grupo mapeou uma região do cromossomo 20 (20p12) associada com resistência à hanseníase¹¹⁸, a qual já havia sido relacionada com dermatite atópica e psoríase. Assim, podemos especular que esta região genômica esteja associada à doenças dermatológicas relacionadas com resposta imune inapropriada^{119,120,121}.

A presença do alelo HSP70-1A da proteína de choque térmico 70-1 (HSP70-1) também foi associado com a ocorrência de hanseníase tuberculóide na Índia¹²².

REFERÊNCIAS

- 1 Pallamary P. Translation of Gerhard Armauer Hansen. Spedalskshedens Aarsager [causes of leprosy]. Int J Lepr 1955; 23: 307-309.
- 2 Beiguelman, B. Some remarks on the genetics of leprosy resistance. Acta Genet Med Gemellol 1968;17: 584-594.
- 3 Ávila JL, Convit J. Studies on cellular immunity in leprosy. I Lysosomal enzymes. Int J Leprosy 1970;38(4): 359-64.
- 4 Modlin RL. Th1-Th2 paradigm: Insights from Leprosy. J Invest Dermatol 1994; 102(6): 828-32.
- 5 Foss NT. Aspectos Imunológicos da hanseníase. In: Simpósio: Hanseníase. Medicina Ribeirão Preto 1997; 30: 335-9.
- 6 Goulart IMB, Penha GO, Cunha G. Imunopatologia da hanseníase: a complexidade dos mecanismos da resposta imune do hospedeiro ao Mycobacterium leprae. Rev Soc Bras Méd Trop 2002; 35(4): 365-375.
- 7 Convit J, Pinardi ME, Rojas FA. Some considerations regarding the immunology of leprosy. Int J Leprosy 1971; 39(2):556-64.
- 8 Rea TH, Quismorio FP, Harding B et al. Immunologic responses in patients with lepromatous leprosy. Arch Dermatol 1976; 112(6): 791-800.
- 9 Nogueira MES, Vilani-Moreno FR, Silva EA et al. Imunologia. In: Noções de Hansenologia. 2ed. Bauru, 2000.
- 10 Cole ST, Eiglmeier K, Parkhill J et al. Massive gene decay in the leprosy bacillus. Nature 2001; 409(6823): 1007-11.
- 11 Monot M, Honore N, Garnier T et al. On the origin of leprosy. Science 2005; 308(5724): 1040-2.
- 12 Blackwell JM, Black GF, Peacock CS et al. Immunogenetics of leishmanial and mycobacterial infections: the Belem Family Study. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 1997; 352(1359): 1331-45.
- 13 Blackwell JM. Genetics of host resistance and susceptibility to intramacrophage pathogens: a study of multicase families of tuberculosis, leprosy and leishmaniasis in north-eastern Brazil. Int J Parasitol 1998; 28(1): 21-8.
- 14 Mira MT, Alcais A, Van Thuc N et al. Chromosome 6q25 is linked to susceptibility to leprosy in a Vietnamese population. Nat Genet 2003; 33(3): 412-5.
- 15 Shaw MA, Donaldson IJ, Collins A et al. Association and linkage of leprosy phenotypes with HLA class II and tumour necrosis factor genes. Genes Immun 2001; 2(4): 196-204.
- 16 Miller EN, Jamieson SE, Joberty C et al. Genome-wide scans for leprosy and tuberculosis susceptibility genes in Brazilians. Genes Immun 2004; 5(1):63-7.

CONCLUSÃO

Assim como outras doenças infecciosas, a hanseníase possui caráter complexo e poligênico, ou seja, a associação de alterações em diversas regiões genômicas deve compor um perfil de susceptibilidade. Nesse contexto, os dados ora disponíveis acerca das variações genéticas que devem contribuir para a susceptibilidade à doença revelam que, isoladamente, estas associações são discretas. Adicionalmente, nem todas estas associações são replicadas em diferentes populações o que sugere que cada uma destas deve possuir um perfil genético de susceptibilidade distinto e, ainda, aponta para possíveis equívocos associados aos desenhos dos estudos, como, por exemplo, na seleção de controles.

Finalmente, a persistente prevalência dessa doença no Brasil permite a especulação que a miscigenação de raças ocorrida no país possa ter gerado um perfil genético que contribui para a ocorrência de hanseníase, o que torna os estudos epidemiológicos de foco genético para a população brasileira extremamente relevantes.

- 17 Todd JR, West BC, McDonald JC. Human leukocyte antigen and leprosy: study in northern Louisiana and review. *Rev Infect Dis* 1990; 12(1): 63-74.
- 18 Hegazy AA, Abdel-Hamid IA, Ahmed SF et al. Leprosy in a high-prevalence Egyptian village: epidemiology and risk factors. *Int J Dermatol* 2002; 41(10): 681-686.
- 19 Izumi S, Sugiyama K, Matsumoto Y et al. Analysis of the immunogenetic background of Japanese leprosy patients by the HLA system. *Vox Sang* 1982; 42(5): 243-7.
- 20 Wang LM, Kimura A, Satoh M et al. HLA linked with leprosy in southern China: HLA-linked resistance alleles to leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1999; 67(4): 403-8.
- 21 van Eden W, de Vries RR, Mehra NK et al. HLA segregation of tuberculoid leprosy: confirmation of the DR2 marker. *J Infect Dis* 1980; 141(6): 693-701.
- 22 van Eden W, Gonzalez NM, Vries RR et al. HLA-linked control of predisposition to lepromatous leprosy. *J Infect Dis* 1985; 151(1): 9-14.
- 23 Schauf V, Ryan S, Scollard D et al. Leprosy associated with HLA-DR2 and DQw1 in the population of northern Thailand. *Tissue Antigens* 1985; 26(4): 243-7.
- 24 Visentainer JE, Tsuneto LT, Serra MF et al. Association of leprosy with HLA-DR2 in a Southern Brazilian population. *Braz J Med Biol Res* 1997; 30(1): 51-9.
- 25 Rani R, Zaheer SA, Mukherjee R. Do human leukocyte antigens have a role to play in differential manifestation of multibacillary leprosy: a study on multibacillary leprosy patients from north India. *Tissue Antigens* 1992; 40(3): 124-127.
- 26 Singh M, Balamurugan A, Katoch K et al. Immunogenetics of mycobacterial infections in the North Indian population. *Tissue Antigens* 2007; 69 Suppl 1: 228-30.
- 27 Vanderborgh PR, Pacheco AG, Moraes ME et al. HLA-DRB1*04 and DRB1*10 are associated with resistance and susceptibility, respectively, in Brazilian and Vietnamese leprosy patients. *Genes Immun* 2007; 8(4): 320-4.
- 28 Motta PM, Cech N, Fontan C et al. Role of HLA-DR and HLA-DQ alleles in multibacillary leprosy and paucibacillary leprosy in the province of Chaco (Argentina). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007; 25(10): 627-31.
- 29 Souza FC, Marcos EV, Ura S et al. Comparative study between the Mitsuda test and the human leukocyte antigens in leprosy patients. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007; 40(2): 188-91.
- 30 Takata H, Sada M, Ozawa S et al. HLA and mycobacterial infection: increased frequency of B8 in Japanese leprosy. *Tissue Antigens* 1978; 11(1): 61-4.
- 31 Kim SJ, Choi IH, Dahlberg S. HLA and leprosy in Koreans. *Tissue Antigens* 1987; 29(3): 146-53.
- 32 Greiner J, Schleiermacher E, Smith T. The HLA system and leprosy in Thailand. *Hum Genet* 1978; 42(2): 201-13.
- 33 Shankarkumar, U. HLA associations in leprosy patients from Mumbai, India. *Lepr Rev* 2004; 75(1): 79-85.
- 34 Steinle A, Li P, Morris DL et al. Interactions of human NKG2D with its ligands MICA, MICB, and homologs of the mouse RAE-1 protein family. *Immunogenetics* 2001; 53: 279-287.
- 35 Tosh K, Ravikumar M, Bell JT et al. Variation in MICA and MICB genes and enhanced susceptibility to paucibacillary leprosy in South India. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 2880-2887.
- 36 Rajalingam R, Singal DP, Mehra NK. Transporter associated with antigen-processing (TAP) genes and susceptibility to tuberculoid leprosy and pulmonary tuberculosis. *Tissue Antigens* 1997; 49(2): 168-72.
- 37 Rothe J, Lesslauer W, Lotscher H et al. Mice lacking the tumour necrosis factor receptor 1 are resistant to TNF-mediated toxicity but highly susceptible to infection by *Listeria monocytogenes*. *Nature* 1993; 364(6440): 798-802.
- 38 Beutler, BA. The role of tumor necrosis factor in health and disease. *J Rheumatol Suppl* 1999; 57: 16-21.
- 39 Westendorp RG, Langermans JA, Huizinga TW et al. Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease. *Lancet* 1997; 349:170-3.
- 40 Sarno EN, Santos AR, Jardim MR et al. Pathogenesis of nerve damage in leprosy: genetic polymorphism regulates the production of TNF alpha. *Lepr Rev* 2000; 71 Suppl: S154-8; discussion S158-60.
- 41 Roy S, McGuire W, Mascie-Taylor CG et al. Tumor necrosis factor promoter polymorphism and susceptibility to lepromatous leprosy. *J Infect Dis* 1997; 176(2): 530-2.
- 42 Vejbaesya S, Mahaisavariya P, Luangtrakool P et al. TNF alpha and NRAMP1 polymorphisms in leprosy. *J Med Assoc Thai* 2007; 90(6): 1188-92.
- 43 Santos AR, Almeida AS, Suffys PN et al. Tumor Necrosis Factor Promoter Polymorphism (TNF2) Seemed to Protect Against Development of severe forms of leprosy In a Pilot Study in Brazilian Patients. *Int J Leprosy* 2000; 68(3): 325-327.

- 44 Santos AR, Suffys PN, Vanderborght PR et al. Role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 promoter gene polymorphisms in leprosy. *J Infect Dis* 2002; 186(11): 1687-91.
- 45 Levée G, Schurr E, Pandey JP. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1-beta and immunoglobulin (GM and KM) polymorphisms in leprosy. A linkage study. *Exp Clin Immunogenet* 1997; 14(2): 160-5.
- 46 Wilson AG, Symons JA, McDowell TL et al. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor α promoter on transcriptional activation. *PNAS* 1997; 94: 3195-3199.
- 47 Louis E, Franchimont D, Piron A et al. Tumour necrosis factor (TNF) gene polymorphism influences TNF-alpha production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated whole blood cell culture in healthy humans. *Clin Exp Immunol* 1998; 113(3): 401-6.
- 48 Brinkman BM, Zuijdeest D, Kaijzel EL et al. Relevance of the tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) -308 promoter polymorphism in TNF alpha gene regulation. *J Inflamm* 1995; 46(1): 32-41.
- 49 Somoskovi A, Zissel G, Seitzer U et al. Polymorphisms at position -308 in the promoter region of the TNF-alpha and in the first intron of the TNF-beta genes and spontaneous and lipopolysaccharide-induced TNF-alpha release in sarcoidosis. *Cytokine* 1999; 11(11): 882-7.
- 50 Fitness J, Floyd S, Warndorff DK, et al. Large-scale candidate gene study of leprosy susceptibility in the karonga district of northern Malawi. *Am J Trop Hyg* 2004; 71(3): 330-340.
- 51 Cardoso CC. Caracterização de polimorfismos de base única em genes candidatos na Hanseníase. [Dissertação]. Rio de Janeiro (RJ): Fundação Oswaldo Cruz; 2006.
- 52 Alcais A, Alter A, Antoni G et al. Stepwise replication identifies a low-producing lymphotoxin-alpha allele as a major risk factor for early-onset leprosy. *Nat Genet* 2007; 39(4): 517-22.
- 53 Mira MT, Alcais A, Nguyen VT et al. Susceptibility to leprosy is associated with PARK2 and PACRG. *Nature* 2004; 427(6975): 636-40.
- 54 Malhotra D, Darvishi K, Lohra M et al. Association study of major risk single nucleotide polymorphisms in the common regulatory region of PARK2 and PACRG genes with leprosy in an Indian population. *Eur J Hum Genet* 2006; 14(4): 438-42.
- 55 Schurr E, Alcais A, de Léséleuc L et al. Genetic predisposition to leprosy: A major gene reveals novel pathways of immunity to *Mycobacterium leprae*. *Semin Immunol* 2006; 18(6): 404-410.
- 56 Lima MC, Pereira GM, Rumjanek FD et al. Immunological cytokine correlates of protective immunity and pathogenesis in leprosy. *Scand J Immunol* 2000; 51(4): 419-28.
- 57 Misra N, Murtaza A, Walker B et al. Cytokine profile of circulating T cells of leprosy patients reflects both indiscriminate and polarized T-helper subsets: T-helper phenotype is stable and uninfluenced by related antigens of *Mycobacterium leprae*. *Immunol* 1995; 86(1): 97-
- 58 Bienvenu J, Doche C, Gutowski MC et al. Production of proinflammatory cytokines and cytokines involved in the TH1/TH2 balance is modulated by pentoxifylline. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 25 Suppl 2: S80-4.
- 59 Lazarus M, Hajeer AH, Turner D et al. Genetic variation in the interleukin 10 gene promoter and systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1997; 24: 2314-7.
- 60 Turner DM, Williams DM, Sankaran D et al. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 1997; 24(1): 1-8.
- 61 Eskdale J, Keijsers V, Huizinga T, et al. Microsatellite alleles and single nucleotide polymorphisms (SNP) combine to form four major haplotype families at the human interleukin-10 (IL-10) locus. *Genes Immun* 1999; 1(2): 151-5.
- 62 Gibson AW, Edberg JC, Wu J, et al. Novel single nucleotide polymorphisms in the distal IL-10 promoter affect IL-10 production and enhance the risk of systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2001; 166(6): 3915-22.
- 63 Crawley E, Kay R, Sillibourne S et al. Polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region determine variable interleukin-10 transcription and are associated with particular phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42(6): 1101-1108.
- 64 Moraes MO, Pacheco AG, Schonkeren JJM et al. Interleukin-10 promoter single-nucleotide polymorphisms as markers for disease susceptibility and disease severity in leprosy. *Genes Immun* 2004; 5(7): 592-5.
- 65 Malhotra D, Darvishi K, Sood S et al. IL-10 promoter single nucleotide polymorphisms are significantly associated with resistance to leprosy. *Hum Genet* 2005; 118(2): 295-300.
- 66 Ottenhoff THM, Verreck FAW, Lichtenauer-Kaligis EGR et al. Genetics, cytokines and human infectious disease: lessons from weakly pathogenic mycobacteria and salmonella. *Nat Genet* 2002; 32: 97-105.

- 67 Langrish CL, McKenzie BS, Wilson NJ, et al. IL-12 and IL-23: master regulators of innate and adaptive immunity. *Immunol Rev* 2004; 202: 96-105.
- 68 Huang D, Cancilla MR, Morahan G. Complete primary structure, chromosomal localisation, and definition of polymorphisms of the gene encoding the human interleukin-12 p40 subunit. *Genes Immun* 2000; 1(8): 515-20.
- 69 Yilmaz V, Yentur SP, Saruhan-Direskeneli G. IL-12 and IL-10 polymorphisms and their effects on cytokine production. *Cytokine* 2005; 30(4): 188-94.
- 70 Morahan G, Kaur G, Singh M et al. Association of variants in the IL12B gene with leprosy and tuberculosis. *Tissue Antigens* 2007; 69 Suppl 1: 234-6.
- 71 Akahoshi M, Nakashima H, Miyake K et al. Influence of interleukin-12 receptor B1 polymorphisms on tuberculosis. *Hum Genet* 2003; 112:237-243.
- 72 Lee SB, Kim BC, Jin SH et al. Chae Missense mutations of the interleukin-12 receptor beta 1(IL12RB1) and interferon-gamma receptor 1 (IFNGR1) genes are not associated with susceptibility to lepromatous leprosy in Korea. *Immunogenetics* 2003; 55(3): 177-81.
- 73 Ohyama H, Ogata K, Takeuchi K et al. Polymorphism of the 5' flanking region of the IL-12 receptor β 2 gene partially determines the clinical types of leprosy through impaired transcriptional activity. *J Clin Pathol* 2005; 58: 740-743.
- 74 Doffinger R, Altare F, Casanova JL. Genetic heterogeneity of Mendelian susceptibility to mycobacterial infection. *Microbes Infect* 2000; 2(13):1553-7.
- 75 Reynard MP, Turner D, Junqueira-Kipnis AP et al. Allele frequencies for an interferon-gamma microsatellite in a population of Brazilian leprosy patients. *Eur J Immunogenet* 2003; 30(2): 149-51.
- 76 Lio D, Marino V, Serauto A, et al. Genotype frequencies of the +874T>A single nucleotide polymorphism in the first intron of the interferon-gamma gene in a sample of Sicilian patients affected by tuberculosis. *Eur J Immunogenet* 2002; 29(5): 371-4.
- 77 Maderuelo DL, Arnalich F, Serantes R, et al. Interferon- γ and Interleukin-10 Gene Polymorphisms in Pulmonary Tuberculosis. *Am J Respi Crit Care Med* 2003; 167: 970-5.
- 78 Rossouw M, Nel HJK, Cooke GS et al. Association between tuberculosis and a polymorphic NFkappaB binding site in the interferon gamma gene. *Lancet* 2003; 361(9372): 1871-2.
- 79 Jouanguy E, Altare F, Lamhamedi S et al. Interferon- γ Receptor Deficiency in an Infant with Fatal Bacille Calmette Guérin Infection. *N Engl J Med* 1996; 335: 1956 - 1962.
- 80 Newport MJ, Huxley CM, Huston S et al. A Mutation in the Interferon- γ -Receptor Gene and Susceptibility to Mycobacterial Infection. *N Engl J Med* 1996; 335: 1941 - 1949.
- 81 Rigby, WF. The immunobiology of vitamin D. *Immunol Today*, Feb 1988; 9(2): 54-8.
- 82 Morrison NA, Qi JC, Tokita A et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 1994; 367(6460): 284-7.
- 83 Selvaraj P, Chandra G, Jawahar MS et al. Regulatory role of vitamin D receptor gene variants of Bsm I, Apa I, Taq I, and Fok I polymorphisms on macrophage phagocytosis and lymphoproliferative response to mycobacterium tuberculosis antigen in pulmonary tuberculosis. *J Clin Immunol* 2004; 24(5): 523-32.
- 84 Jurutka PW, Remus LS, Whitfield GK et al. The Polymorphic N Terminus in Human Vitamin D Receptor Isoforms Influences Transcriptional Activity by Modulating Interaction with Transcription Factor IIB. *Mol Endocrinol* 2000; 14: 401.
- 85 Roy S, Frodsham A, Saha B et al. Association of vitamin D receptor genotype with Leprosy type. *J Infec Dis* 1999; 179: 187-191.
- 86 Lewis SJ, Baker I, Davey Smith G. Meta-analysis of vitamin D receptor polymorphisms and pulmonary tuberculosis risk. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2005;9(10):1174-7.
- 87 Takeda KT, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol* 2003; 21: 335-376.
- 88 Underhill DM, Ozinsky A, Smith KD et al. Toll-like receptor-2 mediates mycobacteria-induced proinflammatory signaling in macrophages. *PNAS* 1999; 96: 14459-63.
- 89 Ozinsky A, Underhill DM, Fontenot JD et al. The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between toll-like receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000 ; 97(25): 13766-71.
- 90 Krutzik SR, Ochoa MT, Sieling PA et al. Activation and regulation of Toll-like receptors 2 and 1 in human leprosy. *Nat Med*. 2003; 9(5): 525-32.
- 91 Oliveira RB, Ochoa MT, Sieling PA et al. Expression of Toll-like receptor 2 on human Schwann cells: a mechanism of nerve damage in leprosy. *Infect Immun* 2003; 71(3): 1427-33.

- 92 Kang TJ, Chae GT. Detection of Toll-like receptor 2 (TLR2) mutation in the lepromatous leprosy patients. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2001; 31(1): 53-8.
- 93 Schröder NW, Hermann C, Hamann L et al. High frequency of polymorphism Arg753Gln of the Toll-like receptor-2 gene detected by a novel allele-specific PCR. *J Mol Med* 2003; 81(6): 368-72.
- 94 Alcais A, Mira JL, Casanova JL, et al. Genetic dissection of immunity in leprosy. *Curr Opin Immunol* 2005;17(1): 44-8.
- 95 Malhotra D, Relhan V, Reddy BS et al. TLR2 Arg677Trp polymorphism in leprosy: revisited. *Hum Genet* 2005; 116(5): 413-5.
- 96 Bochud PY, Hawn TR, Siddiqui MR et al. Toll-Like Receptor 2 (TLR2) Polymorphisms Are Associated with Reversal Reaction in Leprosy. *J Infect Dis* 2008; 197(2): 253-261.
- 97 Johnson CM, Lyle EA, Omueti KO et al. Cutting Edge: A Common Polymorphism Impairs Cell Surface Trafficking and Functional Responses of TLR1 but Protects against Leprosy. *J Immunol* 2007; 178: 7520 - 7524.
- 98 Ogus AC, Yoldas B, Ozdemir T et al. The Arg753Gln polymorphism of the human Toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. *Eur Respir J* 2004; 23: 219-23.
- 99 Skamene E, Gros P, Forget A et al. Genetic regulation of resistance to intracellular pathogens. *Nature* 1982; 297(5866): 506-9.
- 100 Fortier A, Min-Oo G, Forbes J et al. Single gene effects in mouse models of host: pathogen interactions. *J Leukoc Biol* 2005; 77: 868-877.
- 101 Abel L, Sanchez F, Thuc NV et al. Linkage of leprosy to the human NRAMP1 gene in Vietnamese families. *Braz J Genet* 1996; 19: 113.
- 102 Abel L, Sanchez FO, Oberti J et al. Susceptibility to leprosy is linked to the human NRAMP1 gene. *J Infect Dis* 1998; 177(1): 133-45.
- 103 Meisner SJ, Mucklow S, Warner G et al. Association of NRAMP1 polymorphism with leprosy type but not susceptibility to leprosy per se in west Africans. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65: 733-735.
- 104 Roger M, Levee G, Chanteau S et al. No evidence for linkage between leprosy susceptibility and the human natural resistance-associated macrophage protein 1 (NRAMP1) gene in French Polynesia. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1997; 65(2): 197-202.
- 105 Alcais A, Sanchez FO, Thuc NV et al. Granulomatous reaction to intradermal injection of lepromin (Mitsuda reaction) is linked to the human NRAMP1 gene in Vietnamese leprosy sibships. *J Infect Dis* 2000; 181(1): 302-8.
- 106 Ferreira FR, Goulart LR, Silva HD et al. Susceptibility to leprosy may be conditioned by an interaction between the NRAMP1 promoter polymorphisms and the lepromin response. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 2004; 72(4): 457-67.
- 107 Hatagima A, Opromolla DV, Ura S et al. No evidence of linkage between Mitsuda reaction and the NRAMP1 locus. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 2001; 69(2): 99-103.
- 108 Ranque B, Alter A, Mira M Et al. Genomewide linkage analysis of the granulomatous mitsuda reaction implicates chromosomal regions 2q35 and 17q21. *J Infect Dis* 2007; 196(8): 1248-1252.
- 109 Garred P, Harboe M, Oettinger T et al. Dual role of mannan-binding protein in infections: another case of heterosis? *Eur J Immunogenet*, April 1, 1994; 21(2): 125-31.
- 110 Dornelles LN, Pereira-Ferrari L, Messias-Reason I. Mannan-binding lectin plasma levels in leprosy: deficiency confers protection against the lepromatous but not the tuberculoid forms. *Clin Exp Immunol* 2006; 145(3): 463-8.
- 111 Messias-Reason IJ, Boldt AB, Moraes Braga AC et al. The association between mannan-binding lectin gene polymorphism and clinical leprosy: new insight into an old paradigm. *J Infect Dis* 2007; 196(9): 1379-85.
- 112 Jamieson SE, Miller EN, Black GF et al. Evidence for a cluster of genes on chromosome 17q11-q21 controlling susceptibility to tuberculosis and leprosy in Brazilians. *Genes Immun* 2004; 5(1): 46-57.
- 113 Araki T, Milbrandt J. Ninjurin a novel adhesion molecule, is induced by nerve injury and promotes axonal growth. *Neuron* 1996; 17(2): 353-61.
- 114 Cardoso CC, Martinez AN, Guimaraes PE et al. Ninjurin 1 asp110ala single nucleotide polymorphism is associated with protection in leprosy nerve damage. *J Neuroimmunol* 2007; 190(1-2): 131-8.
- 115 Kaur G, Sachdeva G, Bhutani LK et al. Association of polymorphism at COL3A and CTLA4 loci on chromosome 2q31-33 with the clinical phenotype and in-vitro CMI status in healthy and leprosy subjects: a preliminary study. *Hum Genet* 1997; 100(1): 43-50.

- 116 Holopainen PM, Partanen JA. Technical Note: Linkage Disequilibrium and Disease-Associated CTLA4 Gene Polymorphisms. *J Immunol* 2001; 167: 2457-2458.
- 117 Siddiqui MR, Meisner S, Tosh K et al. A major susceptibility locus for leprosy in India maps to chromosome 10p13. *Nature genet* 2001; 27: 439-41.
- 118 Tosh K, Meisner S, Siddiqui MR et al. A Region of Chromosome 20 Is Linked to Leprosy Susceptibility in a South Indian Population. *J Infect Dis* 2002; 186:1190-3.
- 119 Nair RP, Henseler T, Jenisch S, et al. Evidence for two psoriasis susceptibility loci (HLA and 17q) and two novel candidate regions (16q and 20p) by genome-wide scan. *Hum Mol Genet* 1997; 6:1349-56.
- 120 Trembath RC, Clough RL, Rosbotham JL, et al. Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis. *Hum Mol Genet* 1997; 6:813-20.
- 121 Cookson WO, Ubhi B, Lawrence R, et al. Genetic linkage of childhood atopic dermatitis to psoriasis susceptibility loci. *Nat Genet* 2001; 27:372-3.
- 122 Rajalingam R, Mehra NK, Singal DP. Polymorphism in heat-shock protein 70-1 (HSP70-1) gene promoter region and susceptibility to tuberculoid leprosy and pulmonary tuberculosis in Asian Indians. *Indian J Exp Biol* 2000; 38(7): 658-662.

