



## 6. | Imunologia da Hanseníase

Vânia Nieto Brito de Souza

Os primórdios da Imunologia datam do século XVIII quando foram feitas as primeiras observações sobre a imunização conferida pelo contato com a varíola desenvolvida pelas vacas frente à varíola humana, culminando com o desenvolvimento de uma vacina antivariola por Edward Jenner em 1796. Posteriormente, novos avanços foram experimentados a partir da segunda metade do século XIX e início do século XX com o surgimento das teorias sobre origem microbiana das doenças, descobrimento dos anticorpos, do sistema complemento e do processo de fagocitose.

A partir da metade do século XX, a identificação de linfócitos T e B, a descoberta de diferentes populações efetoras e reguladoras de linfócitos T, bem como de receptores de superfície que permitem o reconhecimento de diferentes classes de patógenos, além de citocinas que atuam de modo pleiotrópico iniciando, coordenando e regulando as respostas imunes embasaram os conceitos atuais da Imunologia.

Contemporaneamente, a atuação do sistema imunológico tem sido dividida em resposta imune inata e resposta imune adquirida ou adaptativa. A imunidade inata inclui as primeiras linhas de defesa contra patógenos compostas por barreiras mecânicas e químicas, bem como células e receptores de reconhecimento padrão (PRR) que reconhecem padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), os quais são evolutivamente conservados e largamente distribuídos entre as diferentes classes de patógenos. A imunidade adquirida é específica para um determinado patógeno e se desenvolve após o contato com o referido agente, tendo como mediadores linfócitos T CD4+ antígeno-específicos que coordenam a resposta imune e podem ativar células efetoras como macrófagos e linfócitos T citotóxicos, resultando em respostas imunes celulares, bem como linfócitos B que produzem anticorpos e originam respostas imunes humorais.

As diferentes manifestações clínicas da hanseníase estão diretamente correlacionadas com o perfil de resposta imune do hospedeiro frente ao *Mycobacterium leprae*, que, por se tratar de um patógeno intracelular, suscita o desenvolvimento de uma resposta imune celular como meio eficiente para sua eliminação. A importância da resposta imunológica na hanseníase já foi destacada por Ridley & Jopling<sup>1</sup>, que enfatizaram a caracterização de células do sistema imune, como, linfócitos, histiócitos e células gigantes e a resposta ao teste intradérmico frente a antígenos do *M. leprae* para determinação da forma clínica da doença.

## Imunidade Inata na Hanseníase

A imunidade inata ou natural é inespecífica e atua imediatamente após o contato com o patógeno. Na hanseníase, este braço da resposta imunológica pode ser responsável pela resistência da maioria dos indivíduos ao desenvolvimento da doença. Entretanto, a interação inicial do *M. leprae* com o hospedeiro ainda é pouco entendida à luz dos novos conhecimentos sobre o papel de receptores e fagócitos no reconhecimento de patógenos e ativação da resposta imune adquirida.

## Macrófagos

Os macrófagos se originam a partir dos monócitos e se diferenciam nos tecidos periféricos, onde permanecem por longos períodos e atuam na eliminação de patógenos e regeneração tecidual. São as principais células fagocíticas do sistema imune englobando partículas e micro-organismos em fagossomos, os quais sofrem maturação e fusão com lisossomos para lise dos patógenos<sup>2</sup>. De acordo com a função exercida, podem ser agrupados em (i) macrófagos classicamente ativados por interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) e fator de necrose tumoral (TNF), envolvidos nos mecanismos de defesa contra agentes infecciosos; (ii) macrófagos que atuam na reparação tecidual sob a influência da interleucina-4 (IL-4) e secretam componentes da matriz extracelular; e (iii) macrófagos regulatórios que participam no controle da resposta imune e secretam interleucina-10 (IL-10)<sup>3</sup>. *In vivo*, essas subpopulações podem apresentar fenótipos intermediários com características mistas de duas subpopulações de acordo com o meio<sup>3</sup>. Na imunidade contra o *M. leprae*, os macrófagos atuam tanto na fase aferente da resposta imunológica, processando e apresentando antígenos bacilares além de produzir citocinas, quanto no braço eferente promovendo a destruição bacilar em resposta à ativação mediada por linfócitos T CD4+.

O *M. leprae* é rapidamente fagocitado por macrófagos, possivelmente por meio de receptores do tipo lectina-C como CD209 e receptor de manose, bem como receptores do sistema complemento<sup>4</sup>. Entretanto, o bacilo é capaz de impedir a fusão entre fagossomos e lisossomos<sup>5,6</sup> e se evadir dos fagossomos<sup>7,8</sup>, o que possibilita sua sobrevivência no interior desta célula protegido de mecanismos microbicidas, como anticorpos e sistema complemento. Além disso, o *M. leprae* parece induzir níveis maiores de citocinas inibitórias como proteína quimioatraente de monócitos (MCP-1), atualmente conhecida como CCL-2, e antagonista do receptor da interleucina-1 (IL-1Ra), aliados a baixos níveis de citocinas pro-inflamatórias e supressão da produção de interleucina-6 (IL-6) em monócitos de indivíduos, o que não ocorre frente ao estímulo por BCG<sup>9</sup>.

Os macrófagos produzem reativos intermediários de oxigênio e nitrogênio que são eficientes para eliminação de patógenos, num processo conhecido como *burst oxidativo*. Contudo, a fagocitose do *M. leprae* não leva a um intenso *burst oxidativo*<sup>10</sup>, possivelmente pela remoção de ânions superóxido pelo glicolípido fenólico I (PGL-I)<sup>11</sup>, ou ação da enzima superóxido dismutase, cujo gene foi descrito no bacilo<sup>12</sup>. A produção de óxido nítrico (NO) parece ser efetiva para inibição do metabolismo do bacilo em macrófagos murinos<sup>13</sup>.

Em lesões de pacientes hansenianos, a expressão da enzima iNOS (óxido nítrico sintase induzível) responsável pela síntese de NO é mais intensa na forma tuberculóide em comparação à forma virchowiana<sup>14,15</sup>, sugerindo sua efetividade no controle da multiplicação bacilar.

Nos pacientes tuberculóides, os macrófagos sofrem transformação completa em células epitelióides e são capazes de eliminar o *M. leprae*. O mesmo não ocorre nos pacientes virchowianos<sup>16</sup>, nos quais os macrófagos comportam um grande número de bacilos viáveis ou mortos, o que sugere que seus mecanismos de eliminação são ineficientes contra o *M. leprae*<sup>17</sup>. Esse padrão de resposta é mantido em testes intradérmicos mesmo após o tratamento e negatificação da baciloscopia dos pacientes virchowianos, sugerindo que, nestes indivíduos, os macrófagos possuem um defeito intrínseco para eliminação do *M. leprae*<sup>16</sup>. No entanto, Drutz et al.<sup>18</sup> relataram que macrófagos diferenciados *in vitro* a partir de pacientes virchowianos não diferem daqueles oriundos de pacientes tuberculóides ou indivíduos saudáveis na capacidade de digestão do *M. leprae* morto pelo calor nem de outros patógenos, como *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. As diferenças funcionais observadas entre macrófagos com formas polares da hanseníase podem ser consequência da expressão diferencial do fator de crescimento e transformação beta (TGF- $\beta$ ), o qual é mais abundante na forma virchowiana e influi diretamente na fisiologia destas células<sup>19</sup>.

Montoya et al.<sup>20</sup> descreveram um modelo de ativação macrofágica no qual a presença de Interleucina-10 (IL-10) induz a diferenciação de macrófagos com alta capacidade fagocítica e expressão de receptores do tipo *scavenger* e CD209, o qual resulta em maior fagocitose de micobactérias e lipídeos endógenos. Por outro lado, a Interleucina-15 (IL-15) leva à ativação da via antimicrobiana dependente da vitamina D com produção de catalepsina e maior poder microbicida, a despeito de uma menor capacidade de fagocitose. Esses padrões foram reconhecidos nas lesões hansenianas, sendo o programa fagocítico verificado na hanseníase virchowiana e a via microbicida dependente de vitamina D encontrada nas lesões de pacientes tuberculóides, sugerindo que as citocinas produzidas na fase inata da imunidade determinam o padrão de resposta macrofágica, que influencia na patogênese da hanseníase. Um estudo recente do mesmo grupo demonstrou ainda a produção de Interferon-beta (IFN- $\beta$ ) e IL-10 *in vitro* por monócitos de pacientes virchowianos, bem como nas lesões destes pacientes. Estas duas citocinas inibiram a resposta microbicida dependente de IFN- $\gamma$  e vitamina D, a qual foi detectada nos pacientes tuberculóides tanto *in vitro* quanto *in situ*<sup>21</sup>.

Os macrófagos de pacientes virchowianos também diminuem expressão de receptores para a porção Fc de anticorpos (CD16) após a fagocitose do *M. leprae in vitro*<sup>22</sup>. Além disso, apresentam baixa interação com os linfócitos T na presença do bacilo, sendo que o mesmo não ocorre frente a outros antígenos<sup>22</sup>. A produção de Interleucina 1 (IL-1), uma citocina pro-inflamatória que atua na fase inicial da interação com o patógeno, também é menor em monócitos isolados de pacientes com hanseníase virchowiana e estimulados com *M. leprae*<sup>23</sup>, o que demonstra a baixa capacidade destas células em induzir uma resposta eficiente contra o *M. leprae*.

As lesões de pacientes virchowianos são caracterizadas pelo acúmulo de lipídeos no interior de macrófagos, fato já descrito por Rudolf Virchow (1821-1902) e que posteriormente foi observado também em células de Schwann<sup>24</sup>. Inicialmente, acreditava-se que estes lipídeos eram derivados do bacilo, mas vários estudos têm demonstrado que tais lipídeos são oriundos, pelo menos em parte, do hospedeiro, o que deve estar relacionado com a maior capacidade fagocítica dessas células<sup>20</sup>. Esses lipídeos se agregam formando corpos lipídicos que são organelas dinâmicas cuja formação é induzida pela infecção com o *M. leprae* de modo tempo e dose dependente. Os corpos lipídicos contribuem para a evasão do bacilo dos mecanismos de defesa do hospedeiro e funcionam como uma fonte de nutrientes possibilitando a persistência bacilar, além disso, estão relacionados com maior produção de mediadores inflamatórios derivados do ácido aracdônico com efeitos imunossupressores com a prostaglandina-E2, que direciona a resposta imune para um perfil T helper 2 (Th2) compatível com o observado em pacientes virchowianos<sup>24</sup>.

Os macrófagos presentes em lesões virchowianas expressam ainda a enzima indoleamina 2, 3-dioxigenase (IDO) que participa da degradação do triptofano, cujos derivados possuem atividade imunossupressora e pró-apoptótica, especialmente para linfócitos Th1, o que sugere um papel desta enzima no quadro de anergia antígeno-específica verificada na hanseníase virchowiana<sup>25</sup>.

## Neutrófilos

Os neutrófilos são leucócitos polimorfonucleares que atuam nas fase precoce da interação patógeno-hospedeiro efetuando fagocitose e liberando mediadores pró-inflamatórios<sup>26</sup>. Embora os neutrófilos sejam hábeis em fagocitar o *M. leprae* e produzir uma fraca resposta oxidativa *in vitro*<sup>27</sup>, seu papel *in vivo* na interação com o bacilo é pouco entendido, pela falta de modelos experimentais fiéis à doença e longo tempo de incubação em seres humanos, o que dificulta a avaliação dos estágios iniciais da doença. As lesões crônicas da hanseníase são desprovidas de neutrófilos, independente da forma clínica; contudo, essas células tomam parte nos episódios de eritema nodoso hansênico (ENH).

## Outros granulócitos

Os mastócitos estão envolvidos em processos alérgicos e mais recentemente têm sido apontados como sentinelas em sítios de entrada de antígenos<sup>28</sup>. A participação dos mastócitos na hanseníase não está clara, uma vez que não existem estudos funcionais sobre a interação entre mastócitos e o *M. leprae* e não há consenso sobre a presença de mastócitos nas lesões. A maioria dos relatos sugere maior densidade de mastócitos nas lesões virchowianas<sup>29-33</sup>, enquanto outros afirmam não haver diferenças ao longo do espectro clínico da doença<sup>34, 35</sup> ou haver menor densidade nas lesões virchowianas em comparação com dimorfos ou tuberculoides<sup>36</sup>. Nos episódios reacionais, parece haver redução do número de mastócitos, independente do tipo de reação<sup>37</sup> enquanto, no fenômeno de Lúcio, os mastócitos parecem abundantes<sup>38</sup>.

Os basófilos possuem capacidade de apresentar antígenos aos linfócitos T induzindo diferenciação em T helper 2<sup>39</sup>. Na hanseníase, são encontrados em lesões de pacientes LL, mas não BL, BT ou TT (siglas identificadas)<sup>40</sup>. O número de eosinófilos, frequentemente associados a episódios alérgicos, por outro lado, parece estar aumentado no ENH<sup>41</sup>.

## Células Natural killer

As células natural killer (NK) são linfócitos que atuam na imunidade inata frente a células infectadas por patógenos ou que sofrem transformação maligna promovendo lise e apoptose<sup>42</sup>. O papel das células NK na hanseníase é pouco entendido e os estudos disponíveis na literatura apresentam resultados controversos relatando níveis normais<sup>43</sup> ou diminuídos<sup>44</sup> em pacientes virchowianos e níveis diminuídos em todas as formas clínicas<sup>45</sup>. Quanto aos episódios reacionais, a atividade parece estar diminuída no ENH<sup>43</sup> e normal na reação reversa (RR)<sup>45</sup>.

*In vitro*, a incubação de monócitos e células de Schwann com *M. leprae* viável tornou estas células resistentes à lise por células NK<sup>46</sup>, sugerindo que o bacilo possa ativamente interferir na susceptibilidade da resposta mediada por células NK. A presença de células NKT foi verificada em granulomas de pacientes com hanseníase tuberculoide e pacientes com RR, mas não em pacientes virchowianos<sup>47</sup>.

## Receptores de Reconhecimento Padrão (PRRs)

Os PRRs compreendem receptores expressos em células do sistema imune que atuam como sentinelas e reconhecem padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) que são altamente conservados e não existem em organismos multicelulares complexos, o que permite a diferenciação entre o que é próprio e não-próprio<sup>48</sup>. Dentre esses receptores, estão (i) receptores do tipo Toll (TLRs), homólogos ao receptor Toll descoberto em drosófilas, cuja ativação induz produção de citocinas inflamatórias e expressão de moléculas coestimulatórias; (ii) receptores do tipo NOD (NLRs) que incluem NOD1, NOD e NALP3, os quais fazem o reconhecimento intracelular de produtos bacterianos e respondem levando à produção de citocinas pró-inflamatórias; (iii) receptores do tipo lectina C como DC-SIGN e Dectina 1 que reconhecem carboidratos e induzem produção de citocinas; e (iv) receptores do tipo RIG (RLRs) que detectam RNA viral no citoplasma e coordenam a indução de resposta inata contra vírus<sup>48</sup>.

Os receptores TLR1, TLR2 e TLR6 reconhecem componentes micobacterianos, incluindo o *M. leprae* e, em geral, sofrem ativação produzindo as citocinas TNF e Interleucina 12 (IL-12). Os receptores TLR1 e TLR2 são mais expressos em lesões de pacientes com hanseníase tuberculoide do que naqueles que apresentam a forma virchowiana da doença e participam da ativação celular mediada pelo *M. leprae*<sup>49</sup>. Curiosamente, polimorfismos genéticos que comprometem a expressão de TLR1 têm sido associados com resistência à hanseníase, o que sugere que o *M. leprae* desenvolveu estratégias evolutivas para burlar a

ativação via TLR. Nesse sentido, tem sido demonstrado que a ativação dos receptores TLR por componentes micobacterianos torna os macrófagos refratários aos efeitos ativadores do IFN- $\gamma$ , além de induzir a expressão da arginase-1, que promove a destruição da arginina que atua como substrato para a produção de reativos intermediários de oxigênio<sup>50</sup>.

O DC-SIGN, um receptor do tipo lectina C, também reconhece o *M. leprae*<sup>51</sup>. Segundo Geijtenbeek et al.<sup>52</sup>, a ativação do receptor DC-SIGN induz a produção de IL-10 que possui potentes efeitos imunossupressores. Este receptor foi identificado em macrófagos de lesões virchowianas, mas não nas lesões tuberculoides<sup>53</sup>. Krutzik et al.<sup>54</sup> relatam que após estímulo de TLR-2/1 com lipopeptídeo de 19kDa derivado do *M. leprae*, monócitos de indivíduos saudáveis ou pacientes com hanseníase tuberculoides diferenciavam-se tanto em macrófagos DC-SIGN+ quanto em células dendríticas (DCs) CD1b+; na hanseníase virchowiana, contudo, tal ativação promove o desenvolvimento quase que exclusivo de macrófagos DC-SIGN+. Um padrão semelhante de distribuição de células apresentadoras de antígenos foi encontrado também *in situ*.

Os receptores NOD1 e NOD2 foram recentemente apontados como ativadores de NF $\kappa$ B e mediadores da produção de citocinas TNF e IL-1beta (IL-1 $\beta$ ) frente ao *M. leprae* em macrófagos de linhagem transfectados<sup>55</sup>. Kang et al.<sup>56</sup> previamente relataram que macrófagos de camundongos A/J, os quais apresentam uma variação de um aminoácido no receptor NAIP5, também pertencente à família dos receptores do tipo NOD, apresentam diminuição na produção de IL-1 $\beta$  em comparação com macrófagos provenientes de camundongos C57BL/6 que não apresentam tal variação. Schenk et al.<sup>57</sup> relataram que o receptor NOD2 é expresso com maior abundância nas lesões de pacientes tuberculoides e parece ativar a diferenciação de monócitos em DCs expressando CD1b por meio da produção de IL-32, sendo que o mesmo não ocorre na hanseníase virchowiana, na qual a IL-10 parece bloquear os efeitos da ativação de NOD2.

Um estudo sobre o perfil genético nas diferentes formas da hanseníase revelou que os receptores LIR (*Leukocyte Ig-like receptors*) estavam mais expressos nas lesões de pacientes com hanseníase virchowiana<sup>58</sup>. Esses receptores parecem estar envolvidos na supressão de mecanismos da imunidade inata, uma vez que atuam levando à produção de IL-10 em lugar da IL-12, além de bloquear a atividade microbicida desencadeada pela ativação dos TLRs, a diferenciação de DCs a partir de precursores mielóides e a apresentação de antígenos aos linfócitos T<sup>58,59</sup>.

## Sistema Complemento

O sistema complemento compreende um conjunto de proteínas séricas que são ativadas em cascata e atuam na inflamação, opsonização e lise de patógenos. Enquanto alguns estudos demonstram valores similares do componente C3, essencial para ativação do sistema complemento, entre pacientes hansenianos e controles<sup>60-62</sup>, outro estudo sugere diminuição dos níveis de C3 nos pacientes em paralelo com níveis normais do componente C4<sup>63</sup>. Gomes et al.<sup>61</sup>, no entanto, relataram diminuição nos níveis séricos de C4 nos pacientes virchowianos, assim como redução na lise mediada pela via clássica do complemento.

Os produtos de degradação do complemento mostram-se aumentados na hanseníase virchowiana e ENH<sup>62</sup>, o que é compatível com a deposição do complemento verificada nas lesões cutâneas<sup>64</sup>.

A capacidade de solubilização de imunocomplexos mediada pelo complemento, por outro lado, mostrou-se normal em pacientes hansenianos não reacionais independente da forma clínica e diminuída em episódios de RR e ENH<sup>65</sup> e persistiu diminuída após a remissão dos episódios reacionais<sup>66</sup>. Entretanto, cabe ressaltar que drogas utilizadas na terapêutica contra a hanseníase podem diminuir a capacidade de solubilização de imunocomplexos<sup>67</sup>.

Na patogênese da hanseníase, o sistema complemento, que não é eficiente para lisar micobactérias<sup>68</sup>, poderia mediar a entrada do *M. leprae* em macrófagos sem, contudo, ativar essas células, o que contribuiria para a persistência do bacilo que possui modo de vida intracelular<sup>69</sup>.

## MicroRNAs

Os MicroRNAs (miRNAs) são RNAs de fitas simples com aproximadamente 22 nucleotídeos de comprimento, altamente conservados nos organismos eucariontes e que exercem importante papel como reguladores da expressão gênica no desenvolvimento de órgãos, diferenciação celular e progressão tumoral, bem como no sistema imune no qual atuam na diferenciação celular, desenvolvimento das respostas imunes e desenvolvimento de doenças imunológicas<sup>70</sup>. Na hanseníase, foi verificada elevada expressão do miRNA hsa-mir-21 em lesões de pacientes virchowianos, assim como em monócitos infectados pelo *M. leprae*, o que levou a inibição da produção de peptídeos antimicrobianos dependentes da vitamina D<sup>71</sup>.

## Imunidade Adquirida

A imunidade adquirida mediada por linfócitos T é essencial para conter a multiplicação do *M. leprae*, o que pode ser confirmado pela susceptibilidade ao bacilo apresentada por camundongos congenitamente atímicos que são deficientes de linfócitos T<sup>72</sup>. Entretanto, a interação parasita-hospedeiro na hanseníase gera respostas imunes celular e humoral, que variam em intensidade ao longo do espectro clínico da hanseníase. A resposta imune humoral é pouco eficiente na eliminação do bacilo, enquanto a resposta imune celular habilita o hospedeiro a controlar a proliferação do *M. leprae*.

## Desenvolvimento da Imunidade Adquirida

As DCs são as principais células apresentadoras de antígenos capazes de ativar linfócitos T virgens e assim constituem uma ponte entre a imunidade inata e a imunidade adquirida. Embora tenham sido morfológicamente descritas em 1868 por Paul Lan-

gerhans, a função das DCs foi reportada apenas em 1973 por Ralph Steinman<sup>73</sup>. As DCs originam-se na medula óssea e se distribuem em diversos tecidos como pele, fígado e intestino, onde fixam residência e exercem um papel de vigilância capturando antígenos. Após a fagocitose dos antígenos, as DCs migram até os linfonodos regionais onde fazem a apresentação de antígenos ligados a moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), denominado HLA (*Human leucocyte antigen*) nos humanos. Durante o processo de migração, as DCs digerem o antígeno e sofrem um processo de maturação, tornando-se capazes de ativar eficientemente os linfócitos T CD4+ virgens<sup>74</sup>.

De acordo com a produção de citocinas e expressão de moléculas co-estimulatórias, as DCs podem estimular a diferenciação dos linfócitos CD4+ conhecidos como T *helpers* ou T auxiliares nas subpopulações T *helper* 1 (Th1) ou T *helper* 2 (Th2), as quais geram perfis opostos de resposta imune. A produção de interleucina-12 (IL-12) pelas DCs é crucial para o desenvolvimento da resposta imune do tipo Th1, que resulta em produção de Interleucina-2 (IL-2) e Interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) e culmina na ativação de macrófagos. Na ausência de IL-12 ou presença de IL-4, ocorre a diferenciação dos linfócitos na subpopulação Th2 com produção das citocinas Interleucina-10 (IL-10) e Interleucina-4 (IL-4), as quais estimulam a produção de anticorpos e inibem a ativação macrofágica, diminuindo seu poder microbicida<sup>75</sup>.

Na hanseníase, vários estudos têm apontado maior abundância de DCs em lesões de pacientes com a forma tuberculoide do que naqueles pertencentes ao polo virchowiano da doença<sup>76-78</sup>. Tal diferença no número de DCs entre os grupos parece refletir uma consequência da polarização da doença, uma vez que a distribuição das DCs é semelhante nas amostras de tecido normal dos dois grupos de pacientes, assim como a diferenciação *in vitro* de DCs a partir de monócitos apresenta rendimento semelhante, embora seja ligeiramente menor do que o observado em indivíduos saudáveis<sup>76</sup>, o que também tem sido observado por nosso grupo de pesquisas. Além disso, a injeção intradérmica de IL-2<sup>79</sup> ou GM-CSF<sup>80</sup> em lesões de pacientes virchowianos leva ao recrutamento de células de Langerhans.

A produção de IL-12 pelas células apresentadoras de antígenos é dependente da interação entre a molécula CD40 presente na células apresentadoras de antígenos e seu ligante (CD40L), encontrado na superfície de linfócitos T. A expressão dessas moléculas é mais abundante em lesões tuberculoides comparadas com virchowianas. Além disso, a IL-10 abundante nas lesões de pacientes virchowianos impede a expressão de CD40 induzida por IFN- $\gamma$  em monócitos<sup>81</sup>.

Nas lesões hanseníacas, a IL-12 é mais abundante na forma tuberculoide onde promove a expansão de linfócitos com perfil Th1 de resposta em comparação com a forma virchowiana<sup>82</sup>. A ativação dos linfócitos pela IL-12 ocorre através do receptor IL-12R, constituído pelas cadeias IL-12R $\beta$ 1 presente em linfócitos Th1 e Th2 e IL-12R $\beta$ 2 mais abundante na subpopulação Th1<sup>83</sup>. A cadeia IL-12R $\beta$ 2 é mais expressa nos pacientes tuberculoides que apresentaram maior produção de IFN- $\gamma$ , enquanto a cadeia IL-12R $\beta$ 1 é expressa nas duas formas polares, tanto em lesões quanto em PBMCs estimulados com



antígenos do *M. leprae*<sup>84</sup>. A administração de IL-12 e IL-18 exógenas, contudo, é capaz de recuperar *in vitro* a produção de IFN- $\gamma$ , ícone da resposta imune com perfil Th1, por PB-MCs de pacientes virchowianos estimulados com antígenos do *M. leprae*<sup>85</sup>. Uma possível explicação é que a IL-12 induz aumento na expressão do receptor para IL-18 (IL-18R), que também é indutora da produção de IFN- $\gamma$ <sup>86</sup>.

As citocinas do perfil Th1 (IFN- $\gamma$ , TNF, IL-2) são mais abundantes em lesões de pacientes tuberculoides, enquanto nos pacientes virchowianos, verifica-se predominância do perfil Th2 (IL-4, IL-5 e IL-10)<sup>82,87-89</sup>. O IFN- $\gamma$  presente nas lesões tuberculoides contribui para a resistência ao bacilo, uma vez que aumenta a produção de reativos intermediários de oxigênio e nitrogênio por macrófagos, potencializando assim a morte ou restringindo o crescimento de micobactérias, além de aumentar a expressão de moléculas de MHC II, o que favorece a apresentação de antígenos<sup>90</sup>. O TNF aumenta o potencial microbicida dos macrófagos e atua na formação do granuloma<sup>91</sup>, enquanto a IL-2 estimula a proliferação e expansão clonal de linfócitos T ativados e aumenta a produção de IFN- $\gamma$ . A IL-4, abundante nas lesões virchowianas, leva ao aumento na produção de anticorpos, proliferação de linfócitos Th2, além de inibir a proliferação de linfócitos Th1 e ativação de macrófagos<sup>90</sup>.

O modelo dicotômico Th1/Th2, entretanto, apresenta inconsistências na hanseníase. Considerando-se o perfil de citocinas de PBMCs, embora ocorra a predominância de citocinas Th1 entre os pacientes tuberculoides e perfil Th2 nos virchowianos, independente da forma clínica, alguns pacientes apresentam perfil Th0, caracterizado por uma mistura de citocinas Th1 e Th2<sup>92</sup>. De modo semelhante, Fink et al.<sup>93</sup> não observaram uma clara associação da forma clínica com os perfis Th1 e Th2. Aliado a isso, Nath et al.<sup>94</sup> relataram que PBMCs de pacientes virchowianos após estímulo *in vitro* com antígenos derivados do *M. leprae* produziam um combinação de IL-4 e IFN- $\gamma$ , a qual poderia refletir um perfil Th0 ou a combinação de clones Th1 e Th2.

De fato, Mutis et al.<sup>95</sup>, estudando a produção de citocinas por clones de linfócitos T isolados de sangue em resposta ao *M. leprae*, relatam alta produção de IFN- $\gamma$  e TNF e baixa produção de IL-4 e IL-6 em pacientes tuberculoides e controles saudáveis. Pacientes virchowianos, por outro lado, tiveram baixa resposta proliferativa frente ao *M. leprae* e, embora algumas vezes produzissem níveis significantes de IFN- $\gamma$ , não houve produção de IL-4 ou IL-6<sup>95</sup>, sugerindo que os perfis Th1 e Th2 de ativação de linfócitos não estão perfeitamente representados na hanseníase. De modo semelhante, Howe et al.<sup>96</sup>, avaliando clones de linfócitos T isolados de lesões de pele e do sangue de pacientes, verificaram heterogeneidade na produção de citocinas, sem correlação direta com as formas clínicas da doença. Verhagen et al.<sup>97</sup>, por outro lado, trabalhando com clones de linfócitos T isolados de lesões de pacientes dimorfos, observaram predominância de clones tipo 1, produtores de IFN- $\gamma$ /TNF em pacientes dimorfo tuberculoides em paralelo com prevalência de clones tipo 2, caracterizados pela produção de IL-4/IL-5 e IL-13 em paciente dimorfo virchowiano, embora ambas as formas tenham apresentado clones tipo 0, os quais expressavam um perfil misto com produção de IFN- $\gamma$  e IL-4.

A produção de IFN- $\gamma$  e IL-2 por linfócitos frente a estímulos policlonais assim como a linfoproliferação frente a antígenos do *M. leprae* estão diminuídas em pacientes virchowianos, mas retornam aos padrões normais após a cura, confirmando a imunocompetência desses indivíduos<sup>98</sup>. Esses achados podem ser decorrentes da ação de citocinas imunorreguladoras produzidas em resposta aos antígenos bacilares. A produção de IL-10 e prostaglandina E2 por monócitos de pacientes virchowianos infectados com *M. leprae* inibiu a linfoproliferação e a produção de IL-2 *in vitro*<sup>99</sup>.

Além de fatores intrínsecos ao hospedeiro, infecções helmínticas podem ter um papel na ocorrência de hanseníase. A infestação por helmintos induz a um quadro sistêmico de resposta Th2, normalmente seguido por redução na imunidade do tipo Th1, o que poderia facilitar a proliferação do *M. leprae* no hospedeiro. De fato, tem sido observada menor produção de IFN- $\gamma$  e maiores níveis de IL-4 e IL-10 em pacientes hanseníacos parasitados por helmintos em comparação com pacientes livres de helmintos<sup>100</sup> e uma correlação positiva entre a presença de helmintos e ocorrência de hanseníase virchowiana tem sido relatada<sup>101, 102</sup>.

## Subpopulações de Linfócitos T na hanseníase

Os linfócitos T CD4+ são mais abundantes nas lesões tuberculoides enquanto os linfócitos T CD8+, que podem apresentar fenótipo supressor, predominam nas lesões virchowianas<sup>103, 104</sup>. Nas lesões tuberculoides, a distribuição dos linfócitos é mais ordenada, com linfócitos T CD4+ no centro das lesões e linfócitos T CD8+ com função supressora nas margens, contendo a resposta imune<sup>105</sup>. Ademais, os linfócitos oriundos de pacientes tuberculoides proliferam em resposta a antígenos do *M. leprae*, enquanto aqueles derivados de pacientes virchowianos não apresentam resposta proliferativa frente a esses estímulos<sup>106</sup>.

Zea et al.<sup>107</sup> relatam que pacientes virchowianos apresentavam diminuição na expressão da cadeia zeta do receptor de linfócitos T (TCR) e da cadeia p65 do fator de transcrição NF $\kappa$ B, além de perda no padrão de ligação Th1 em ensaio de retardo de mobilidade eletroforética. Por outro lado, pacientes com hanseníase tuberculoides apresentaram aumento no número de linfócitos T de memória com fenótipo M1 supostamente comprometidos com a produção de IFN- $\gamma$  e diminuição naqueles com fenótipo M2 que possivelmente irão produzir IL-4<sup>108</sup>.

Com relação aos linfócitos T regulatórios, uma população heterogênea que modula as respostas imunes promovendo a tolerância periférica contra antígenos próprios e evitando a exacerbação de respostas contra patógenos, mas pode suprimir respostas efetivas contra agentes infecciosos, facilitando sua permanência no hospedeiro, existem poucos estudos na hanseníase, os quais apresentam resultados controversos. A ocorrência de células supressoras antígeno específicas na hanseníase é descrita há muito tempo (109), entretanto, pouco é sabido sobre os mecanismos envolvidos nessa supressão.

Massone et al.<sup>110</sup> observaram a ocorrência indistinta de linfócitos T regulatórios (Treg) CD4+ CD25+ FoxP3+ em lesões hanseníacas de pacientes tuberculoides e vircho-

wianos, enquanto Attia et al.<sup>111</sup> relatam níveis mais elevados de linfócitos Treg CD4+ CD25 high FoxP3+ circulantes em pacientes tuberculoides. Palermo *et al.*<sup>112</sup>, por outro lado, relatam maior ocorrência de linfócitos Treg CD4+ CD25+ FoxP3+ em lesões de pacientes virchowianos, assim como em PBMCs desses indivíduos estimulados com antígenos bacilares, sugerindo um papel modulador destas células que favoreceria a persistência bacilar.

A expressão de moléculas com atividade anti-inflamatória como IL-10 e CTLA-4 também foi maior na forma virchowiana em comparação com a hanseníase tuberculoides<sup>112</sup>, enquanto o inverso foi verificado para as moléculas coestimulatórias CD80 (B7.1), CD86 (B7.2) e CD28<sup>113,114</sup>.

Kumar *et al.* (2011)<sup>115</sup>, por sua vez, apontam a produção de TGF- $\beta$  como responsável pela persistência bacilar na hanseníase, sugerindo a participação de linfócitos Th3, que também atuam como regulatórios, na hanseníase virchowiana.

Com relação aos linfócitos citotóxicos, Kaleab *et al.*<sup>116</sup> relataram que a citotoxicidade contra monócitos pulsados com *M. leprae* foi proporcional ao grau de imunidade de cada indivíduo, sendo que os pacientes virchowianos apresentaram menor responsividade. A expressão de granulísina foi maior em lesões de pacientes com hanseníase tuberculoides, enquanto a expressão de perforina foi similar ao longo do espectro da hanseníase<sup>117</sup>. *In vitro*, tanto pacientes virchowianos quanto tuberculoides foram hábeis em gerar linfócitos T citotóxicos CD4 e CD8 capazes de lisar macrófagos pulsados com *M. leprae* e PPD, embora, nos pacientes tuberculoides, a capacidade de lise tenha sido maior e semelhante ao observado em controles saudáveis<sup>118</sup>.

Com respeito aos linfócitos T  $\gamma\delta$ , uma subpopulação capaz de reconhecer antígenos, especialmente lipídicos, de modo independente do MHC, González-Amaro *et al.*<sup>119</sup> relataram maior ocorrência no sangue de pacientes com a forma tuberculoides da hanseníase com predomínio de linfócitos V $\delta$ 2 e estes apresentaram maior reatividade frente aos antígenos do *M. leprae* em comparação com os pacientes virchowianos. Contrariamente, um estudo mais recente relatou que pacientes virchowianos apresentavam níveis maiores de expressão de TCR  $\gamma\delta$  em comparação com os tuberculoides<sup>120</sup>.

## Papel de Linfócitos B e Anticorpos

Existe uma clara correlação inversa entre a produção de anticorpos e a resposta imune celular<sup>105</sup>. A resposta imune humoral não tem papel efetivo na hanseníase dado o caráter intracelular do bacilo, entretanto, a intensa produção de anticorpos está envolvida na origem da reação de ENH<sup>121</sup>. Linfócitos B produzindo anticorpos específicos contra antígenos bacilares têm sido observados tanto em lesões tuberculoides quanto virchowianas, embora sejam consideravelmente mais abundantes nessas últimas<sup>122</sup>. Os anticorpos que não tenham papel deletério contra o *M. leprae* podem atuar facilitando a fagocitose por macrófagos e assim contribuir para a patogênese da doença<sup>123</sup>.

Um estudo recente mostrou que diferentes vias envolvidas na biologia dos linfócitos B estão mais expressas em lesões de pacientes virchowianos em comparação com

tuberculoides; em especial, a expressão de interleucina-5 (IL-5) nas lesões virchowianas parece contribuir para a produção local de anticorpos<sup>124</sup>.

## Quimiocinas

As quimiocinas constituem uma família de proteínas diversas que coordenam a migração de leucócitos em condições fisiológicas e inflamatórias<sup>125</sup>.

Com relação ao papel das quimiocinas na hanseníase, Mendonça *et al.*<sup>126</sup> relataram aumento nos níveis séricos de CCL3 (MIP-1 $\alpha$ ), que recruta e ativa macrófagos e linfócitos T e B e pode estar envolvida na formação de granulomas, independente da forma multi ou paucibacilar; assim como aumento de CCL11 (eotaxina), que atrai eosinófilos e ativa linfócitos Th2 e mastócitos, em especial nos pacientes multibacilares. A porcentagem de linfócitos T CD4+ expressando o receptor CCR4, comum em linfócitos T virgens ou Th2, é menor em pacientes com hanseníase tuberculoide do que naqueles com a forma virchowiana ou controles saudáveis<sup>127</sup>, confirmando o perfil predominantemente Th1 expresso nesses pacientes.

Aliado a isso, a quimiocina CCL-2 (MCP-1), envolvida na migração de leucócitos, especialmente macrófagos, e que também contribui para o desenvolvimento de respostas do tipo Th2 por estimular a secreção de IL-4<sup>128</sup>, apresenta níveis séricos elevados na hanseníase virchowiana<sup>129</sup>. O próprio *M. leprae* é capaz de induzir a síntese de CCL2 em monócitos de indivíduos saudáveis<sup>9</sup>, manipulando o sistema imune a favor de sua persistência.

Na RR, CXCL10 (IP-10) está aumentada, embora sua dosagem não tenha valor preditivo para ocorrência da reação<sup>130</sup>.

## Estados Reacionais

Os episódios reacionais representam complicações agudas da hanseníase mediadas imunologicamente que podem ocorrer antes, durante e depois do tratamento e afetam entre 30 e 50% de todos os pacientes podendo acarretar danos neurais<sup>135</sup>. Os mecanismos responsáveis pelo desencadeamento das reações são ainda pouco compreendidos.

A RR ou reação tipo 1 deriva de um aumento abrupto e espontâneo da imunidade celular e hipersensibilidade aos antígenos do *M. leprae*. Ocorre aumento da resposta proliferativa de linfócitos a antígenos bacilares<sup>136</sup>, assim como no número e porcentagem de linfócitos T CD4+ nas lesões<sup>106</sup>. As citocinas pro-inflamatórias IL-1, IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$  e TNF também estão aumentadas na reação tipo 1, enquanto citocinas de padrão Th2 como IL-4, IL-5 e IL-10 estão diminuídas<sup>137</sup>. Contudo, a administração intradérmica de rIL-2<sup>138</sup> e IFN- $\gamma$ <sup>139</sup> em pacientes com hanseníase dimorfa e virchowiana não levou à ocorrência de reação reversa.

O ENL ou reação tipo 2 ocorre em pacientes que apresentam fraca imunidade celular, altos títulos de anticorpos contra antígenos do *M. leprae* e elevada carga bacilar,

possivelmente devido à deposição de imunocomplexos e fixação do complemento<sup>140, 141</sup>. Paralelamente, ocorre aumento na resposta imune celular marcada por níveis séricos aumentados das citocinas tipo 1 IFN- $\gamma$ , TNF e IL-12<sup>137</sup>, assim como expressão elevada destas e de IL-6 nas lesões<sup>142</sup>. Mais recentemente foi proposta a participação de citocinas do perfil Th17 na patogênese do ENH<sup>143</sup>.

Fatores não ligados diretamente à infecção pelo *M. leprae* podem levar ao surgimento do ENH, entre eles, outras infecções, doenças virais, febre, vacinas e estresse, enquanto a gravidez parece inibir a ocorrência de ENH. A infiltração das lesões por neutrófilos caracteriza o ENH. Lee *et al.*<sup>144</sup> relatam que, na vigência do ENL, ocorre o aumento da expressão de moléculas de adesão, em especial, a E-selectina, que é estimulada por IFN- $\gamma$  e IL-1 $\beta$  produzida em resposta à ativação via TLR2 ou receptor da porção Fc de anticorpos.

### Imunorregulação pelo *M. leprae*

O *M. leprae* apresenta mecanismos ativos de manipulação do sistema imune, incluindo seu modo de vida intracelular que o protege de diversos artifícios antimicrobianos do sistema imune, tais como: anticorpos, sistema complemento, entre outros.

O PGL-I, componente da parede celular do *M. leprae*, facilita a fagocitose por macrófagos e DCs, entretanto, leva à menor produção de citocinas pro-inflamatórias e expressão de marcadores de maturação em DCs<sup>131</sup>. Após a fagocitose, o bacilo ativamente impede a fusão do fagossomo com lisossomos<sup>5,6</sup>, além disso, é capaz de deixar o fagossomo passando a viver livremente no citosol<sup>7,8</sup>.

Alternativamente, o PGL-I pode ser expresso na membrana das DCs infectadas onde ativa o sistema complemento promovendo a deposição do componente C3, o qual pode ser reconhecido pelo receptor CD46 presente em linfócitos que estimula a diferenciação de linfócitos secretores de IL-10 com função regulatória.

O bacilo também estimula a liberação de citocinas com propriedades anti-inflamatórias como a proteína quimioatraente de monócitos (MCP-1/CCL-2), o antagonista do receptor da interleucina-1 (IL-1Ra)<sup>9</sup> e o TGF- $\beta$ <sup>19</sup>, que favorecerem o desenvolvimento de respostas com perfil Th2, as quais inibem os mecanismos microbicidas dos macrófagos. Além disso, a lipoarabinomanana e o PGL-I derivados do *M. leprae* interferem com a sinalização intracelular de linfócitos T via TCR e CD28, resultando em diminuição da secreção de IL-2 e proliferação celular<sup>132</sup>. A lipoarabinomanana também tem sido apontada como inibidora de funções microbicidas induzidas por IFN- $\gamma$  em macrófagos<sup>133</sup>.

A expressão do ligante de FAS em macrófagos infectados pelo *M. leprae* pode levar à apoptose linfócitos que expressam o receptor FAS e assim constituir mais um mecanismo de evasão do bacilo contra a resposta imune do hospedeiro<sup>134</sup>.

## Avanços e Desafios

Os principais desafios a serem vencidos na imunologia da hanseníase incluem o entendimento da polarização da resposta imune que, além de auxiliar na compreensão de outras doenças, poderá levar ao desenvolvimento de vacinas eficientes capazes de impedir a ocorrência da doença. Atualmente, é possível distinguir claramente o cenário das lesões virchowianas que incluem macrófagos pobremente ativados com perfil predominantemente anti-inflamatório daquele encontrado em pacientes tuberculoides onde estas células encontram-se plenamente ativadas e são capazes de conter a multiplicação bacilar, embora esses indivíduos não sejam naturalmente resistentes à doença, como a maioria da população. Entretanto, o ponto em que ocorre a dicotomização da resposta, bem como o mecanismo envolvido permanecem obscuros e suscitam maiores investigações, especialmente no que diz respeito à interação inicial entre o *M. leprae* e o sistema imune, possivelmente na figura das células dendríticas.

Além disso, um desafio constante é o desenvolvimento de testes capazes de possibilitar o diagnóstico da doença, o que é dificultado pela ampla gama de formas clínicas com características peculiares de resposta e longo tempo de incubação. Essas características sugerem a necessidade de estratégias combinadas capazes de identificar tanto a resposta imune celular, quanto humoral para diagnóstico correto da doença antes mesmo das manifestações clínicas, o que seria ideal, pois poderia prevenir a ocorrência de sequelas.

Finalmente, a busca de marcadores preditivos das reações hansênicas é outro foco de pesquisa na área imunológica, uma vez que tal descoberta poderá auxiliar na prevenção e controle de danos neurais que ocorrem nos episódios reacionais.

O avanço nas pesquisas em hanseníase é dificultado pela inexistência de um modelo experimental capaz de reproduzir a hanseníase, o que impossibilita diversas abordagens *in vivo* como nocauteamento e expressão dirigida de genes envolvidos na resposta imune, por exemplo. Ademais, o longo período de incubação dificulta a avaliação dos estágios iniciais da doença nos quais ocorre a ativação da resposta imunológica. Por fim, a impossibilidade de cultivo *in vitro* do bacilo limita a disponibilidade de grandes quantidades de *M. leprae* viável para avaliação da interação deste com células do hospedeiro *in vivo* e *in vitro*.

## Referências

- 1 - Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1966 Jul-Sep; 34(3):255-73.
- 2 - Montoya D, Modlin RL. Learning from leprosy: insight into the human innate immune response. *Adv Immunol*. 2010; 105:1-24.
- 3 - Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol*. 2008 Dec; 8(12):958-69.
- 4 - Schlesinger LS. Macrophage phagocytosis of virulent but not attenuated strains of *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by mannose receptors in addition to complement receptors. *J Immunol*. 1993 Apr 1; 150(7):2920-30.
- 5 - Frehel C, Rastogi N. *Mycobacterium leprae* surface components intervene in the early phagosome-lysosome fusion inhibition event. *Infect Immun*. 1987 Dec; 55(12):2916-21.
- 6 - Sibley LD, Franzblau SG, Krahenbuhl JL. Intracellular fate of *Mycobacterium leprae* in normal and activated mouse macrophages. *Infect Immun*. 1987 Mar; 55(3):680-5.
- 7 - Levy L, Ng H, Evans MJ, Krahenbuhl JL. Susceptibility of thymectomized and irradiated mice to challenge with several organisms and the effect of dapsone on infection with *Mycobacterium leprae*. *Infect Immun*. 1975 May; 11(5):1122-32.
- 8 - van der Wel N, Hava D, Houben D, Fluitsma D, van Zon M, Pierson J. M. tuberculosis and M. leprae translocate from the phagolysosome to the cytosol in myeloid cells. *Cell*. 2007 Jun 29; 129(7):1287-98.
- 9 - Sinsimer D, Fallows D, Peixoto B, Krahenbuhl J, Kaplan G, Manca C. *Mycobacterium leprae* actively modulates the cytokine response in naive human monocytes. *Infect Immun*. 2010 Jan; 78(1):293-300.
- 10 - Holzer TJ, Nelson KE, Crispin RG, Andersen BR. *Mycobacterium leprae* fails to stimulate phagocytic cell superoxide anion generation. *Infect Immun*. 1986 Feb; 51(2):514-20.
- 11 - Chan J, Fujiwara T, Brennan P, McNeil M, Turco SJ, Sibille JC. Microbial glycolipids: possible virulence factors that scavenge oxygen radicals. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989 Apr; 86(7):2453-7.
- 12 - Thangaraj HS, Lamb FI, Davis EO, Jenner PJ, Jeyakumar LH, Colston MJ. Identification, sequencing, and expression of *Mycobacterium leprae* superoxide dismutase, a major antigen. *Infect Immun*. 1990 Jun; 58(6):1937-42.
- 13 - Adams LB, Franzblau SG, Vavrin Z, Hibbs JB, Jr., Krahenbuhl JL. L-arginine-dependent macrophage effector functions inhibit metabolic activity of *Mycobacterium leprae*. *J Immunol*. 1991 Sep 1; 147(5):1642-6.

- 14 - Lockwood DN, Suneetha L, Sagili KD, Chaduvula MV, Mohammed I, van Brakel W. Cytokine and protein markers of leprosy reactions in skin and nerves: baseline results for the North Indian INFIR cohort. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011 Dec; 5(12):e1327.
- 15 - Khanolkar-Young S, Snowdon D, Lockwood DN. Immunocytochemical localization of inducible nitric oxide synthase and transforming growth factor-beta (TGF-beta) in leprosy lesions. *Clin Exp Immunol*. 1998 Sep; 113(3):438-42.
- 16 - Convit J, Avila JL, Goihman M, Pinaridi ME. A test for the determination of competency in clearing bacilli in leprosy patients. *Bull World Health Organ*. 1972; 46(6):821-6.
- 17 - Kaplan G, Cohn ZA. Regulation of cell-mediated immunity in lepromatous leprosy. *Lepr Rev*. 1986 Dec; 57 Suppl 2:199-202.
- 18 - Drutz DJ, Cline MJ, Levy L. Leukocyte antimicrobial function in patients with leprosy. *J Clin Invest*. 1974 Feb; 53(2):380-6.
- 19 - Goulart IM, Figueiredo F, Coimbra T, Foss NT. Detection of transforming growth factor-beta 1 in dermal lesions of different clinical forms of leprosy. *Am J Pathol*. 1996 Mar; 148(3):911-7.
- 20 - Montoya D, Cruz D, Teles RM, Lee DJ, Ochoa MT, Krutzik SR. Divergence of macrophage phagocytic and antimicrobial programs in leprosy. *Cell Host Microbe*. 2009 Oct 22; 6(4):343-53.
- 21 - Teles RM, Graeber TG, Krutzik SR, Montoya D, Schenk M, Lee DJ. Type I interferon suppresses type II interferon-triggered human anti-mycobacterial responses. *Science*. 2013 Mar 22; 339(6126):1448-53.
- 22 - Birdi TJ, Salgame PR, Mahadevan PR, Antia NH. Role of macrophages in defective cell mediated immunity in lepromatous leprosy. II. Macrophage and lymphocyte interaction. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1980 Jun; 48(2):178-82.
- 23 - Ridet PR, Jamet P, Robin Y, Bach MA. Interleukin-1 released by blood-monocyte-derived macrophages from patients with leprosy. *Infect Immun*. 1986 Apr; 52(1):303-8.
- 24 - de Mattos KA, Sarno EN, Pessolani MC, Bozza PT. Deciphering the contribution of lipid droplets in leprosy: multifunctional organelles with roles in *Mycobacterium leprae* pathogenesis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2012 Dec; 107 Suppl 1:156-66.
- 25 - de Souza Sales J, Lara FA, Amadeu TP, de Oliveira Fulco T, da Costa Nery JA, Sampaio EP. The role of indoleamine 2, 3-dioxygenase in lepromatous leprosy immunosuppression. *Clin Exp Immunol*. 2011 Aug; 165(2):251-63.
- 26 - Cruvinel WMMJ D, Araújo JAP, Catelan TTT, Souza AWS, Silva NP, Andrade LEC. Sistema Imunitário – Parte I Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. *Rev Bras Reumatol*. 2010; 50(4):27.



- 27 - Holzer TJ, Kizlaitis L, Vachula M, Weaver CW, Andersen BR. Human phagocytic cell responses to *Mycobacterium leprae* and *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guerin. An in vitro comparison of leprosy vaccine components. *J Immunol*. 1988 Sep 1; 141(5):1701-8.
- 28 - Christy AL, Brown MA. The multitasking mast cell: positive and negative roles in the progression of autoimmunity. *J Immunol* 2007 Sep 1;179(5):2673-9.
- 29 - Rav SD, Pratap VK, Sharma NK, Dayal SS. Mast cell in leprosy. *Indian J Lepr*. 1990 Oct-Dec; 62(4):467-72.
- 30 - Ortega VV, Martinez Diaz F, Ortuno Pacheco G, Calderon Rubiales F. Ultrastructural study across the leprosy spectrum. *Ultrastruct Pathol*. 1994 Jul-Aug; 18(4):423-32.
- 31 - Mysorekar VV, Dandekar CP, Rao SG. Mast cells in leprosy skin lesions. *Lepr Rev*. 2001 Mar; 72(1):29-34.
- 32 - Naik R, Pai MR, Bantwal PB, Shankarnarayana, Nayak KS, Gandhi A. Study of mast cells in non-neoplastic skin lesions. *Indian J Pathol Microbiol*. 2003 Apr; 46(2):173-5.
- 33 - Bagwan IN, Khandekar MM, Kadam P, Jadhav MV, Deshmukh SD. A study of mast cells in granulomatous lesions of skin, with special emphasis on leprosy. *Indian J Lepr*. 2004 Jan-Mar;76(1):31-7.
- 34 - Cree IA, Coghil G, Swanson Beck J. Mast cells in leprosy skin lesions. *J Clin Pathol*. 1990 Mar; 43(3):196-200.
- 35 - Chatura KR, Sangeetha S. Utility of Fite-Faraco stain for both mast cell count and bacillary index in skin biopsies of leprosy patients. *Indian J Lepr*. 2012 Jul-Sep; 84(3):209-15.
- 36 - Magalhaes Gde O, Valentim Vda C, Pereira MJ, Nery JA, Illarramendi X, Antunes SL. A quantitative and morphometric study of tryptase-positive mast cells in cutaneous leprosy lesions. *Acta Trop*. 2008 Jan; 105(1):62-6.
- 37 - Mahaisavariya P, Jiamton S, Manonukul J, Khemngern S. Mast cells in leprosy and leprosy reaction. *Int J Dermatol*. 2000 Apr;39(4):274-7.
- 38 - van Hale HM, Turkel SB, Rea TH. Dermal ultrastructure in leprosy. *Arch Pathol Lab Med*.1984 May; 108(5):383-6.
- 39 - Sokol CL, Chu NQ, Yu S, Nish SA, Laufer TM, Medzhitov R. Basophils function as antigen-presenting cells for an allergen-induced T helper type 2 response. *Nat Immunol*. 2009 Jul; 10(7):713-20.
- 40 - Otsuka A, Ozaki M, Horiguchi Y, Murata Y, Kumano K, Nogami R. Basophils infiltrate the skin lesions in lepromatous leprosy. *Acta Derm Venereol*. 2013 Jan;93(1):88-9.
- 41 - Elangeswaran N, Kalyanasundaram K, Bhatia VN. Raised eosinophil counts in E.N.L. reactions. *Indian J Lepr*. 1988 Apr; 60(2):336.

- 42 - Walzer T, Dalod M, Robbins SH, Zitvogel L, Vivier E. Natural-killer cells and dendritic cells: "l'union fait la force". *Blood*. 2005 Oct 1; 106(7):2252-8.
- 43 - Humphres RC, Gelber RH, Krahenbuhl JL. Suppressed natural killer cell activity during episodes of erythema nodosum leprosum in lepromatous leprosy. *Clin Exp Immunol*. 1982 Sep; 49(3):500-8.
- 44 - Chiplunkar SV, Deshmukh MV, Samson PD, Butlin R, Bhatki WS, Chulawalla RG. Natural killer-cell-mediated and antibody-dependent cellular cytotoxicity in leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1990 Jun; 58(2):334-41.
- 45 - Converse PJ, Bjune G. Natural killer (NK) cell activity and reversal reaction in leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1986 Dec; 54(4):503-9.
- 46 - Steinhoff U, Wand-Wurttenberger A, Bremerich A, Kaufmann SH. *Mycobacterium leprae* renders Schwann cells and mononuclear phagocytes susceptible or resistant to killer cells. *Infect Immun*. 1991 Feb; 59(2):684-8.
- 47 - Mempel M, Flageul B, Suarez F, Ronet C, Dubertret L, Kourilsky P. Comparison of the T cell patterns in leprous and cutaneous sarcoid granulomas. Presence of Valpha24-invariant natural killer T cells in T-cell-reactive leprosy together with a highly biased T cell receptor Valpha repertoire. *Am J Pathol*. 2000 Aug; 157(2):509-23.
- 48 - Kawai T, Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *Int Immunol*. 2009 Apr; 21(4):317-37.
- 49 - Krutzik SR, Ochoa MT, Sieling PA, Uematsu S, Ng YW, Legaspi A. Activation and regulation of Toll-like receptors 2 and 1 in human leprosy. *Nat Med*. 2003 May; 9(5):525-32.
- 50 - Hart BE, Tapping RI. Genetic Diversity of Toll-Like Receptors and Immunity to *M. leprae* Infection. *J Trop Med*. 2012; 2012:415057.
- 51 - Barreiro LB, Quach H, Krahenbuhl J, Khaliq S, Mohyuddin A, Mehdi SQ. DC-SIGN interacts with *Mycobacterium leprae* but sequence variation in this lectin is not associated with leprosy in the Pakistani population. *Hum Immunol*. 2006 Jan-Feb; 67(1-2):102-7.
- 52 - Geijtenbeek TB, van Vliet SJ, Koppel EA, Sanchez-Hernandez M, Vandenbroucke-Grauls CM, Appelmek B. Mycobacteria target DC-SIGN to suppress dendritic cell function. *J Exp Med*. 2003 Jan 6; 197(1):7-17.
- 53 - Soilleux EJ, Sarno EN, Hernandez MO, Moseley E, Horsley J, Lopes UG. DC-SIGN association with the Th2 environment of lepromatous lesions: cause or effect? *J Pathol*. 2006 Jun; 209(2):182-9.
- 54 - Krutzik SR, Tan B, Li H, Ochoa MT, Liu PT, Sharfstein SE. TLR activation triggers the rapid differentiation of monocytes into macrophages and dendritic cells. *Nat Med*. 2005 Jun; 11(6):653-60.

- 55 - Kang TJ, Chae GT. The Role of Intracellular Receptor NODs for Cytokine Production by Macrophages Infected with *Mycobacterium leprae*. *Immune Netw.* 2011 Dec; 11(6):424-7.
- 56 - Kang TJ, Lee GS, Kim SK, Jin SH, Chae GT. Comparison of two mice strains, A/J and C57BL/6, in caspase-1 activity and IL-1beta secretion of macrophage to *Mycobacterium leprae* infection. *Mediators Inflamm.* 2010; 2010:708713.
- 57 - Schenk M, Krutzik SR, Sieling PA, Lee DJ, Teles RM, Ochoa MT. NOD2 triggers an interleukin-32-dependent human dendritic cell program in leprosy. *Nat Med.* 2012 Apr; 18(4):555-63.
- 58 - Bleharski JR, Li H, Meinken C, Graeber TG, Ochoa MT, Yamamura M. Use of genetic profiling in leprosy to discriminate clinical forms of the disease. *Science.* 2003 Sep 12; 301(5639):1527-30.
- 59 - Lee DJ, Sieling PA, Ochoa MT, Krutzik SR, Guo B, Hernandez M. LILRA2 activation inhibits dendritic cell differentiation and antigen presentation to T cells. *J Immunol.* 2007 Dec 15; 179(12):8128-36.
- 60 - Iliadi-Alexandrou ME, Patramani I, Venetsanos P, Parissis N, Pavlatou M. CH50 and C3 component of complement in Hansen's disease. *Int J Dermatol.* 1982 Nov; 21(9):515-20.
- 61 - Gomes GI, Nahn EP, Jr., Santos RK, Da Silva WD, Kipnis TL. The functional state of the complement system in leprosy. *Am J Trop Med Hyg.* 2008 Apr; 78(4):605-10.
- 62 - Kliemann TA, Martinez EL, Irulegui I, de Souza ZW, Cavalcanti ZM. Conversion of the C3 component of complement in sera of hanseniasis patients. *Hansenol Int.* 1983 Jun; 8(1):5-8.
- 63 - Srivastava LM, Agarwal DP, Goedde HW, Rohde R. Biochemical, immunological and genetic studies in leprosy. II. Profile of immunoglobulins, complement components and C-reactive protein in sera of leprosy patients and healthy controls. *Tropenmed Parasitol.* 1975 Jun; 26(2):212-8.
- 64 - Rojas RE, Demichelis SO, Sarno EN, Segal-Eiras A. IgM anti-phenolic glycolipid I and IgG anti-10-kDa heat shock protein antibodies in sera and immune complexes isolated from leprosy patients with or without erythema nodosum leprosum and contacts. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1997 Sep; 19(1):65-74.
- 65 - Ramanathan VD, Sharma P, Ramu G, Sengupta U. Reduced complement-mediated immune complex solubilization in leprosy patients. *Clin Exp Immunol.* 1985 Jun; 60(3):553-8.
- 66 - Ramanathan VD, Tyagi P, Ramanathan U, Katoch K, Sengupta U, Ramu G. Persistent reduced solubilization of immune complexes in lepromatous leprosy patients with reactions. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1991 Mar; 59(1):5-11.

- 67 - Kashyap A, Sehgal VN, Sahu A, Saha K. Anti-leprosy drugs inhibit the complement-mediated solubilization of pre-formed immune complexes in vitro. *Int J Immunopharmacol.* 1992 Feb; 14(2):269-73.
- 68 - Parkash O, Ramanathan VD, Mukherjee A, Sengupta U. A study on viability of mycobacteria after treating them with complement system. *Acta Leprol.* 1992; 8(1):29-33.
- 69 - Parkash O, Sengupta U. Survival of *Mycobacterium leprae* in mononuclear phagocytes: a possible role of complement system. *Acta Leprol.* 1991; 7(5):375-7.
- 70 - Li Y, Shi X. MicroRNAs in the regulation of TLR and RIG-I pathways. *Cell Mol Immunol.* 2013 Jan; 10(1):65-71.
- 71 - Liu PT, Wheelwright M, Teles R, Komisopoulou E, Edfeldt K, Ferguson B. MicroRNA-21 targets the vitamin D-dependent antimicrobial pathway in leprosy. *Nat Med.* 2012 Feb; 18(2):267-73.
- 72 - Lancaster RD, Hilson GR, McDougall AC, Colston MJ. *Mycobacterium leprae* infection in nude mice: bacteriological and histological responses to primary infection and large inocula. *Infect Immun.* 1983 Feb;39(2):865-72.
- 73 - Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature.* 1998 Mar 19; 392(6673):245-52.
- 74 - Merad M, Manz MG. Dendritic cell homeostasis. *Blood.* 2009 Apr 9; 113(15):3418-27.
- 75 - Lipscomb MF, Masten BJ. Dendritic cells: immune regulators in health and disease. *Physiol Rev.* 2002 Jan; 82(1):97-130.
- 76 - Sieling PA, Jullien D, Dahlem M, Tedder TF, Rea TH, Modlin RL. CD1 expression by dendritic cells in human leprosy lesions: correlation with effective host immunity. *J Immunol.* 1999 Feb 1; 162(3):1851-8.
- 77 - Miranda A, Amadeu TP, Schueler G, Alvarenga FB, Duppre N, Ferreira H. Increased Langerhans cell accumulation after mycobacterial stimuli. *Histopathology.* 2007 Nov; 51(5):649-56.
- 78 - Simoes Quaresma JA, de Oliveira MF, Ribeiro Guimaraes AC, de Brito EB, de Brito RB, Pagliari C. CD1a and factor XIIIa immunohistochemistry in leprosy: a possible role of dendritic cells in the pathogenesis of *Mycobacterium leprae* infection. *Am J Dermatopathol.* 2009 Aug; 31(6):527-31.
- 79 - Kaplan G, Kiessling R, Teklemariam S, Hancock G, Sheftel G, Job CK. The reconstitution of cell-mediated immunity in the cutaneous lesions of lepromatous leprosy by recombinant interleukin 2. *J Exp Med.* 1989 Mar 1; 169(3):893-907.
- 80 - Kaplan G, Walsh G, Guido LS, Meyn P, Burkhardt RA, Abalos RM. Novel responses of human skin to intradermal recombinant granulocyte/macrophage-colony-stimulating

- factor: Langerhans cell recruitment, keratinocyte growth, and enhanced wound healing. *J Exp Med.* 1992 Jun 1; 175(6):1717-28.
- 81 - Yamauchi PS, Bleharski JR, Uyemura K, Kim J, Sieling PA, Miller A. A role for CD40-CD40 ligand interactions in the generation of type 1 cytokine responses in human leprosy. *J Immunol.* 2000 Aug 1; 165(3):1506-12.
- 82 - Sieling PA, Modlin RL. Cytokine patterns at the site of mycobacterial infection. *Immunobiology.* 1994 Oct; 191(4-5):378-87.
- 83 - Wu C, Warriar RR, Wang X, Presky DH, Gately MK. Regulation of interleukin-12 receptor beta1 chain expression and interleukin-12 binding by human peripheral blood mononuclear cells. *Eur J Immunol.* 1997 Jan; 27(1):147-54.
- 84 - Kim J, Uyemura K, Van Dyke MK, Legaspi AJ, Rea TH, Shuai K. A role for IL-12 receptor expression and signal transduction in host defense in leprosy. *J Immunol.* 2001 Jul 15; 167(2):779-86.
- 85 - Lopez Roa RI, Guerrero Velasquez C, Alvarado Navarro A, Montoya Buelna M, Garcia Niebla C, Fafutis Morris M. Recovery of IFN-gamma levels in PBMCs from lepromatous leprosy patients through the synergistic actions of the cytokines IL-12 and IL-18. *Int Immunopharmacol.* 2008 Dec 20; 8(13-14):1715-20.
- 86 - Tominaga K, Yoshimoto T, Torigoe K, Kurimoto M, Matsui K, Hada T. IL-12 synergizes with IL-18 or IL-1beta for IFN-gamma production from human T cells. *Int Immunol.* 2000 Feb; 12(2):151-60.
- 87 - Arnoldi J, Gerdes J, Flad HD. Immunohistologic assessment of cytokine production of infiltrating cells in various forms of leprosy. *Am J Pathol.* 1990 Oct; 137(4):749-53.
- 88 - Yamamura M, Uyemura K, Deans RJ, Weinberg K, Rea TH, Bloom BR. Defining protective responses to pathogens: cytokine profiles in leprosy lesions. *Science.* 1991 Oct 11; 254(5029):277-9.
- 89 - Moura DF, Teles RM, Ribeiro-Carvalho MM, Teles RB, Santos IM, Ferreira H. Long-term culture of multibacillary leprosy macrophages isolated from skin lesions: a new model to study *Mycobacterium leprae*-human cell interaction. *Br J Dermatol.* 2007 Aug; 157(2):273-83.
- 90 - Modlin RL. Th1-Th2 paradigm: insights from leprosy. *J Invest Dermatol* 1994 Jun; 102(6):828-32.
- 91 - Kindler V, Sappino AP, Grau GE, Piguet PF, Vassalli P. The inducing role of tumor necrosis factor in the development of bactericidal granulomas during BCG infection. *Cell.* 1989 Mar 10; 56(5):731-40.
- 92 - Misra N, Murtaza A, Walker B, Narayan NP, Misra RS, Ramesh V. 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*. *Immunology*. 1995 Sep; 86(1):97-103.
- 93 - Fink S, Finiasz MR, Valdez R, de la Barrera S, Sasiain MC. [Evaluation of cytokine production in leprosy patients]. *Medicina (B Aires)*. 1996; 56(6):705-8.
- 94 - Nath I, Vemuri N, Reddi AL, Jain S, Brooks P, Colston MJ. The effect of antigen presenting cells on the cytokine profiles of stable and reactional lepromatous leprosy patients. *Immunol Lett*. 2000 Dec 1; 75(1):69-76.
- 95 - Mutis T, Kraakman EM, Cornelisse YE, Haanen JB, Spits H, De Vries RR. Analysis of cytokine production by *Mycobacterium*-reactive T cells. Failure to explain *Mycobacterium leprae*-specific nonresponsiveness of peripheral blood T cells from lepromatous leprosy patients. *J Immunol*. 1993 May 15; 150(10):4641-51.
- 96 - Howe RC, Wondimu A, Demissew A, Frommel D. Functional heterogeneity among CD4+ T-cell clones from blood and skin lesions of leprosy patients. Identification of T-cell clones distinct from Th0, Th1 and Th2. *Immunology*. 1995 Apr; 84(4):585-94.
- 97 - Verhagen CE, van der Pouw Kraan TC, Buffing AA, Chand MA, Faber WR, Aarden LA. Type 1- and type 2-like lesional skin-derived *Mycobacterium leprae*-responsive T cell clones are characterized by coexpression of IFN-gamma/TNF-alpha and IL-4/IL-5/IL-13, respectively. *J Immunol*. 1998 Mar 1; 160(5):2380-7.
- 98 - Mitra DK, Joshi B, Dinda AK, Rai AK, Girdhar BK, Katoch K. Induction of lepromin reactivity in cured lepromatous leprosy patients: impaired chemokine response dissociates protective immunity from delayed type hypersensitivity. *Microbes Infect*. 2009 Dec; 11(14-15):1122-30.
- 99 - Misra N, Selvakumar M, Singh S, Bharadwaj M, Ramesh V, Misra RS. Monocyte derived IL 10 and PGE2 are associated with the absence of Th 1 cells and in vitro T cell suppression in lepromatous leprosy. *Immunol Lett*. 1995 Dec; 48(2):123-28.
- 100 - Gulia A, Fried I, Massone C. New insights in the pathogenesis and genetics of leprosy. *F1000 Med Rep*. 2010; 2.
- 101 - Diniz LM, Zandonade E, Dietze R, Pereira FE, Ribeiro-Rodrigues R. Short report: do intestinal nematodes increase the risk for multibacillary leprosy? *Am J Trop Med Hyg*. 2001 Dec; 65(6):852-4.
- 102 - Diniz LM, Magalhaes EF, Pereira FE, Dietze R, Ribeiro-Rodrigues R. Presence of intestinal helminths decreases T helper type 1 responses in tuberculoid leprosy patients and may increase the risk for multi-bacillary leprosy. *Clin Exp Immunol*. 2010 Jul 1; 161(1):142-50.
- 103 - Van Voorhis WC, Kaplan G, Sarno EN, Horwitz MA, Steinman RM, Levis WR. The cutaneous infiltrates of leprosy: cellular characteristics and the predominant T-cell phenotypes. *N Engl J Med*. 1982 Dec 23; 307(26):1593-7.

- 104 - Narayanan RB, Bhutani LK, Sharma AK, Nath I. T cell subsets in leprosy lesions: in situ characterization using monoclonal antibodies. *Clin Exp Immunol.* 1983 Mar; 51(3):421-9.
- 105 - Hastings RC, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Franzblau SG. Leprosy. *Clin Microbiol Rev.* 1988 Jul; 1(3):330-48.
- 106 - Modlin RL, Melancon-Kaplan J, Young SM, Pirmez C, Kino H, Convit J. Learning from lesions: patterns of tissue inflammation in leprosy. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988 Feb; 85(4):1213-7.
- 107 - Zea AH, Ochoa MT, Ghosh P, Longo DL, Alvord WG, Valderrama L. Changes in expression of signal transduction proteins in T lymphocytes of patients with leprosy. *Infect Immun.* 1998 Feb; 66(2):499-504.
- 108 - Mitra DK, De Rosa SC, Luke A, Balamurugan A, Khaitan BK, Tung J. Differential representations of memory T cell subsets are characteristic of polarized immunity in leprosy and atopic diseases. *Int Immunol.* 1999 Nov; 11(11):1801-10.
- 109 - Stoner GL, Atlaw T, Touw J, Belehu A. Antigen-specific suppressor cells in subclinical leprosy infection. *Lancet.* 1981 Dec 19-26; 2(8260-61):1372-7.
- 110 - Massone C, Nunzi E, Ribeiro-Rodrigues R, Talhari C, Talhari S, Schettini AP. T regulatory cells and plasmacytoid dendritic cells in hansen disease: a new insight into pathogenesis? *Am J Dermatopathol.* 2010 May; 32(3):251-6.
- 111 - Attia EA, Abdallah M, Saad AA, Afifi A, El Tabbakh A, El-Shennawy D. Circulating CD4+ CD25 high FoxP3+ T cells vary in different clinical forms of leprosy. *Int J Dermatol.* 2010 Oct; 49(10):1152-8.
- 112 - Palermo ML, Pagliari C, Trindade MA, Yamashitafuji TM, Duarte AJ, Cacere CR. Increased expression of regulatory T cells and down-regulatory molecules in lepromatous leprosy. *Am J Trop Med Hyg.* 2012 May; 86(5):878-83.
- 113 - Schlienger K, Uyemura K, Jullien D, Sieling PA, Rea TH, Linsley PS. B7-1, but not CD28, is crucial for the maintenance of the CD4+ T cell responses in human leprosy. *J Immunol.* 1998 Sep 1; 161(5):2407-13.
- 114 - Palermo Mde L, Trindade MA, Duarte AJ, Cacere CR, Benard G. Differential expression of the costimulatory molecules CD86, CD28, CD152 and PD-1 correlates with the host-parasite outcome in leprosy. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012 Dec; 107 Suppl 1:167-73.
- 115 - Kumar S, Naqvi RA, Khanna N, Pathak P, Rao DN. Th3 immune responses in the progression of leprosy via molecular cross-talks of TGF-beta, CTLA-4 and Cbl-b. *Clin Immunol.* 2011 Nov; 141(2):133-42.
- 116 - Kaleab B, Ottenoff T, Converse P, Halapi E, Tadesse G, Rottenberg M. Mycobacterial-induced cytotoxic T cells as well as nonspecific killer cells derived from healthy individuals and leprosy patients. *Eur J Immunol.* 1990 Dec; 20(12): 2651-9.

- 117 - Ochoa MT, Stenger S, Sieling PA, Thoma-Uszynski S, Sabet S, Cho S. T-cell release of granulysin contributes to host defense in leprosy. *Nat Med*. 2001 Feb;7(2): 174-9.
- 118 - Sasiain MC, de la Barrera S, Minnucci F, Valdez R, de Elizalde de Bracco MM, Balina LM. T-cell-mediated cytotoxicity against Mycobacterium antigen-pulsed autologous macrophages in leprosy patients. *Infect Immun*. 1992 Aug; 60(8):3389-95.
- 119 - Gonzalez-Amaro R, Portales-Perez DP, Baranda L, Moncada B, Toro C, Lopez-Briones S. Co-stimulatory signals increase the reactivity of gammadelta T cells towards mycobacterial antigens. *Clin Exp Immunol*. 2000 Jun; 120(3):468-75.
- 120 - Sridevi K, Neena K, Chitralkha KT, Arif AK, Tomar D, Rao DN. Expression of costimulatory molecules (CD80, CD86, CD28, CD152), accessory molecules (TCR alpha, TCR gammadelta) and T cell lineage molecules (CD4+, CD8+) in PBMC of leprosy patients using Mycobacterium leprae antigen (MLCWA) with murabutide and T cell peptide of Trt protein. *Int Immunopharmacol*. 2004 Jan; 4(1):1-14.
- 121 - Bjorvatn B, Barnetson RS, Kronvall G, Zubler RH, Lambert PH. Immune complexes and complement hypercatabolism in patients with leprosy. *Clin Exp Immunol*. 1976 Dec; 26(3):388-96.
- 122 - Iyer AM, Mohanty KK, van Egmond D, Katoch K, Faber WR, Das PK. Leprosy-specific B-cells within cellular infiltrates in active leprosy lesions. *Hum Pathol*. 2007 Jul; 38(7):1065-73.
- 123 - Schlesinger LS, Horwitz MA. A role for natural antibody in the pathogenesis of leprosy: antibody in nonimmune serum mediates C3 fixation to the *Mycobacterium leprae* surface and hence phagocytosis by human mononuclear phagocytes. *Infect Immun*. 1994 Jan; 62(1):280-9.
- 124 - Ochoa MT, Teles R, Haas BE, Zaghi D, Li H, Sarno EN, et al. A role for interleukin-5 in promoting increased immunoglobulin M at the site of disease in leprosy. *Immunology*. 2010 Nov; 131(3):405-14.
- 125 - Kunkel EJ, Butcher EC. Chemokines and the tissue-specific migration of lymphocytes. *Immunity*. 2002 Jan; 16(1):1-4.
- 126 - Mendonca VA, Malaquias LC, Brito-Melo GE, Castelo-Branco A, Antunes CM, Ribeiro AL. Differentiation of patients with leprosy from non-infected individuals by the chemokine eotaxin/CCL11. *Am J Trop Med Hyg*. 2007 Sep; 77(3):547-50.
- 127 - Mendonca VA, Alvim de Melo GE, Araujo MG, Borges VO, Costa RD, Martins-Filho OA. Expression of the chemokine receptor CXCR4 on lymphocytes of leprosy patients. *Braz J Med Biol Res*. 2011 Dec; 44(12):1256-60.
- 128 - Deshmane SL, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *J Interferon Cytokine Res*. 2009 Jun; 29(6):313-26.



- 129 - Hasan Z, Jamil B, Zaidi I, Zafar S, Khan AA, Hussain R. Elevated serum CCL2 concomitant with a reduced mycobacterium-induced response leads to disease dissemination in leprosy. *Scand J Immunol.* 2006 Mar; 63(3):241-7.
- 130 - Scollard DM, Chaduvula MV, Martinez A, Fowlkes N, Nath I, Stryjewska BM. Increased CXC ligand 10 levels and gene expression in type 1 leprosy reactions. *Clin Vaccine Immunol.* 2011 Jun; 18(6):947-53.
- 131 - Tabouret G, Astarie-Dequeker C, Demangel C, Malaga W, Constant P, Ray A. Mycobacterium leprae phenolglycolipid-1 expressed by engineered M. bovis BCG modulates early interaction with human phagocytes. *PLoS Pathog* 2010; 6(10):e1001159.
- 132 - Dagur PK, Sharma B, Upadhyay R, Dua B, Rizvi A, Khan NA. Phenolic-glycolipid-1 and lipoarabinomannan preferentially modulate TCR- and CD28-triggered proximal biochemical events, leading to T-cell unresponsiveness in mycobacterial diseases. *Lipids Health Dis.* 2012; 11:119.
- 133 - Sibley LD, Hunter SW, Brennan PJ, Krahenbuhl JL. Mycobacterial lipoarabinomannan inhibits gamma interferon-mediated activation of macrophages. *Infect Immun.* 1988 May; 56(5):1232-6.
- 134 - Mustafa T, Bjune TG, Jonsson R, Pando RH, Nilsen R. Increased expression of fas ligand in human tuberculosis and leprosy lesions: a potential novel mechanism of immune evasion in mycobacterial infection. *Scand J Immunol.* 2001 Dec; 54(6): 630-9.
- 135 - Scollard DM, Adams LB, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Truman RW, Williams DL. The continuing challenges of leprosy. *Clin Microbiol Rev.* 2006 Apr; 19(2):338-81.
- 136 - Barnetson RS, Bjune G, Pearson JM, Kronvall G. Cell mediated and humoral immunity in "reversal reactions". *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1976 Jan-Jun; 44(1-2):267-74.
- 137 - Yamamura M, Wang XH, Ohmen JD, Uyemura K, Rea TH, Bloom BR. Cytokine patterns of immunologically mediated tissue damage. *J Immunol.* 1992 Aug 15; 149(4):1470-5.
- 138 - Kaplan G, Britton WJ, Hancock GE, Theuvsenet WJ, Smith KA, Job CK. The systemic influence of recombinant interleukin 2 on the manifestations of lepromatous leprosy. *J Exp Med.* 1991 Apr 1; 173(4):993-1006.
- 139 - Sampaio EP, Moreira AL, Sarno EN, Malta AM, Kaplan G. Prolonged treatment with recombinant interferon gamma induces erythema nodosum leprosum in lepromatous leprosy patients. *J Exp Med.* 1992 Jun 1; 175(6):1729-37.
- 140 - Wemambu SN, Turk JL, Waters MF, Rees RJ. Erythema nodosum leprosum: a clinical manifestation of the arthus phenomenon. *Lancet.* 1969 Nov 1; 2(7627):933-5.

- 141 - Ridley MJ, Ridley DS. The immunopathology of erythema nodosum leprosum: the role of extravascular complexes. *Lepr Rev.* 1983 Jun; 54(2):95-107.
- 142 - Moraes MO, Sarno EN, Almeida AS, Saraiva BC, Nery JA, Martins RC. Cytokine mRNA expression in leprosy: a possible role for interferon-gamma and interleukin-12 in reactions (RR and ENL). *Scand J Immunol.* 1999 Nov; 50(5):541-9.
- 143 - Martiniuk F, Giovinazzo J, Tan AU, Shahidullah R, Haslett P, Kaplan G. Lessons of leprosy: the emergence of TH17 cytokines during type II reactions (ENL) is teaching us about T-cell plasticity. *J Drugs Dermatol.* 2012 May; 11(5):626-30.
- 144 - Lee DJ, Li H, Ochoa MT, Tanaka M, Carbone RJ, Damoiseaux R. Integrated pathways for neutrophil recruitment and inflammation in leprosy. *J Infect Dis.* 2010 Feb 15; 201(4):558-69.