

Muñoz Molina Liliana*
Constanza Corrales Lucía*
Hernández Barbosa Rubinste**
Navarrete Jeannette*

La lepra: patología con conciencia histórica

Leprosy: pathology awareness based
on historic consciousness

Fecha de aceptación: septiembre 2012

Resumen

La lepra es una enfermedad infecciosa crónica causada por el *Mycobacterium leprae*. Afecta la piel, la mucosa de las vías respiratorias altas, los ojos y los nervios periféricos. El período de incubación de la enfermedad es, en promedio, de cinco años. Los síntomas pueden tardar hasta veinte años en aparecer. Es una enfermedad muy antigua, la conocieron las antiguas civilizaciones de China, Egipto e India, aproximadamente hacia el año 600 a. C. Actualmente existen zonas con alta incidencia en África, Asia y América Latina. En el presente artículo se describen aspectos de tipo biológico, inmunológico, clínico y de diagnóstico sobre el *Mycobacterium leprae*, con el fin de generar mayor interés y conciencia social frente a esta problemática epidemiológica.

Palabras clave: *lepra, Mycobacterium leprae, multibacilar, paucibacilar, respuesta inmune.*

Summary

Leprosy is a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium leprae*. It affects the skin, mucosa of upper respiratory tracts, eyes and peripheral nerves. The incubation period of the disease is on average five years. Symptoms may take up to 20 years to appear. It is a very old disease, was recognized in the ancient civilizations of China, Egypt and India, around the year 600 BC. Currently there are areas with high incidence in Africa, Asia and Latin America. This article describes aspects of biological, immunological, and clinical diagnosis of *Mycobacterium leprae*, in order to generate greater interest and awareness against this social epidemiological problem.

Keywords: *Leprosy, Mycobacterium leprae, multibacillary, paucibacillary, immune response.*

Introducción

Desde los papiros egipcios, escritos 4000 años antes de Cristo, se ha referido la lepra como una enfermedad que se manifiesta con nódulos en la piel y auto-amputación, a consecuencia de la pérdida sensorial neuropática. Por el aumento de volumen y rugosidad de la piel, los griegos la relacionaron con elefantasis, mientras los árabes la denominaron "juzam" que significa edema o hinchazón.¹ Por afectar a integrantes de la misma familia, desde esa época se consideró una enfermedad hereditaria, y quienes la padecían eran apartados de la sociedad. Gerhard Armauer Hansen en 1874, en su primera publicación científica producto de un trabajo de observación detallado, describió la patología de los nódulos linfoideos y de la piel y estableció la etiología de la infección.

Desde entonces ha sido llamada la enfermedad de Hansen. Posteriormente Albert Neisser observó las características tinteriales del *Mycobacterium leprae*.²

A pesar de ser curable, esta enfermedad causa severas malformaciones y/o amputaciones, y quienes la padecen soportan un estigma que conlleva a la marginación social, razón por la cual quienes la padecen prefieren ocultarla, enmascarándola y encubriéndola, hasta llegar al aislamiento. Esta situación genera desconfianza, depresión, hostilidad y ansiedad, entre otros comportamientos.³ La lepra afecta primordialmente a humanos. Sin embargo, en 1975, en Louisiana Texas, se demostró que los armadillos (*Dasyurus novemcinctus*) la desarrollan de manera natural.⁴

*Laboratorio de Biotecnología. Facultad de Ciencias de la Salud. Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia.

**Facultad de Educación. Programa de Licenciatura en Química. Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia.

Correspondencia: Dra. Liliana Muñoz Molina
Calle 28 Núm. 5B-02. Bogotá, Colombia. Barrio San Diego,
CP 1100 1000.

Teléfono: (57) 311 52 10 570

Dirección electrónica: lilimunozm@gmail.com

La relación entre la lepra en los armadillos y la enfermedad humana no es clara, según lo han señalado algunos estudios epidemiológicos.^{5,6} Casos espontáneos de lepra también se han descrito en simios⁷ y, experimentalmente, la enfermedad ha sido trasmitida al *Macacus Rhesus*.⁸

Contrario a lo que muchos consideran, la lepra no ha sido erradicada. En 2009, según el informe presentado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la enfermedad persiste en 121 países. A saber: 31 en África, 25 en América, 10 en Asia Sudoriental, 22 en la región del Mediterráneo Oriental, y 3 países en la región del Pacífico Occidental, con una prevalencia de 213,036 casos nuevos detectados. En el año 2008 se presentaron 249,007 casos nuevos; el Sureste de Asia presenta el mayor número, seguido de África y América. La India ocupa el primer lugar, seguido de Brasil.⁹

En Colombia, según el informe de la OMS, en 2008 y 2009 por cada 10,000 habitantes se reportaron 445 y 680 casos respectivamente.³ Del total de personas afectadas, 85% viven en Agua de Dios, municipio ubicado a 114 Km de Bogotá D.C. Conocedores de estas cifras y de las consecuencias nefastas para quienes sufren esta enfermedad, la ONG CORSOHANSEN, que se estableció en 2002 en Colombia, tiene como objetivo central: "Reducir la carga de la lepra y brindar acceso a servicios de promoción de la salud, prevención de la enfermedad, diagnóstico, tratamiento, prevención y rehabilitación de discapacidades con oportunidad y alta calidad a toda la población, conforme a los principios de equidad y justicia social".¹⁰

Dado el incremento de la enfermedad en los últimos años en muchos países del mundo, incluida Colombia, y teniendo en cuenta las consecuencias negativas que conlleva para el ser humano, el presente artículo describe aspectos de tipo biológico, inmunológico, clínico, y de diagnóstico

sobre el *Mycobacterium leprae*, con el fin de generar mayor interés y conciencia social frente a esta problemática epidemiológica.

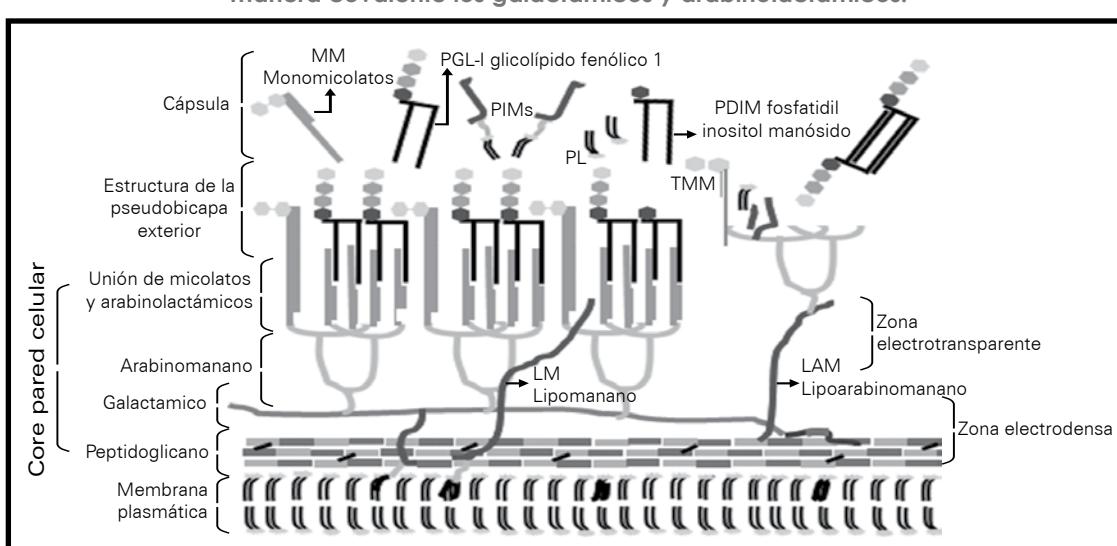
Morfología y genómica del *Mycobacterium leprae*

Es un parásito intracelular obligado Gram positivo, no móvil, no esporulado, mide 0.3-0.5x4.0-7 μ m y se multiplica muy lentamente, con un tiempo de generación de 12 a 14 días. La pared celular es compleja, está constituida por una capa interna densa de peptidoglicanos (PG) que compone la envoltura celular y mantiene la forma y el tamaño del bacilo. La pared difiere de las otras mycobacterias, ya que la D-alanina es reemplazada por el aminoácido glicina con una membrana plasmática rígida, moderadamente densa, lo que la hace altamente patógena y le permite sobrevivir intracelularmente.^{11,12}

El PG se encuentra constituido por uniones repetidas de GlcNac-(β 1-4)-N-ácido Glicolimurámico, el carbono 6 de algunos de los residuos del ácido murámico se une covalentemente al arabinogalactálmico (AG),¹³ constituido a su vez por azúcares de furanosa. La capa intermedia transparente está formada por micolatos, que proveen la unión a través de la esterificación de los residuos terminales de arabinosa a los ácidos micólicos, siendo éstos los mayores componentes de la pared celular.¹⁴ La capa externa o cápsula está compuesta, en un lado, por el glicolípido fenólico 1 (PGL-1), único en *M. leprae*,¹⁵ el cual puede funcionar como un factor de virulencia y provee una importante interface entre el microorganismo y el huésped; el otro lado está compuesto de polisacáridos libres, glicolípidos y fosfolípidos, que conforman el complejo micoarabinolactámico y peptidoglicano (MAPc).¹⁶ En la gráfica 1 se muestra los componentes de la pared celular del *M. leprae*.

Gráfica 1

Estructura de la membrana plasmática y la pared celular constituida por peptidoglicano, a la cual se unen de manera covalente los galactálmicos y arabinolactámicos.



Tres cadenas de arabinolactámicos, a su vez, se encuentran unidas al galactán. Los ácidos micólicos se hallan unidos a las cadenas terminales de arabinolactámicos. La parte externa está unida por ácidos micólicos de trehalosa monomicolatos (TMM) y ácidos micocerósicos de ftiocerol dímicoceratos (PDIM). La cápsula presumiblemente está compuesta de PGLs y otras moléculas, como PDIM.

El análisis del genoma sugiere que la bacteria probablemente se originó en África y luego se propagó a Asia y Sur América.¹⁷ El microorganismo ha desarrollado la capacidad de sintetizar purinas o adquirirlas del ambiente a través de la hidrólisis de los nucleósidos, moléculas esenciales en la síntesis y metabolismo energético. La síntesis de las pirimidinas se presenta de manera fragmentada.^{18,19} El tamaño del genoma requerido para su transmisión, establecimiento y supervivencia en el huésped es de 3,268 208 pb, con un contenido de guaninas y citocinas de 58%; y con 1,605 marcos de lectura abiertos (ORF), los cuales pueden, o no, codificar proteínas funcionales. La mitad de los genes codifica para 1,604 proteínas y contiene 1,116 pseudogenes, encontrados más frecuentemente en vías degradativas y genes no codificantes. Lo anterior sugiere que, en el proceso evolutivo, el microorganismo ha disminuido el contenido del genoma para su supervivencia.²⁰⁻²³

Los genes responsables de la síntesis de aminoácidos, ácidos grasos, purinas, pirimidinas y macromoléculas como ARN, ribosomas y proteínas se encuentran razonablemente intactos. Los que se han modificado son muy pocos y afectan las secuencias de inserción y a las proteínas ricas en ácido glutámico-prolinas y ácido glutámico-prolina-prolina que pueden conferir variación antigenica. Esta conformación molecular se puede explicar por el estilo de vida parásita que lleva el microorganismo, aspecto que sigue siendo objeto de investigación.²⁴

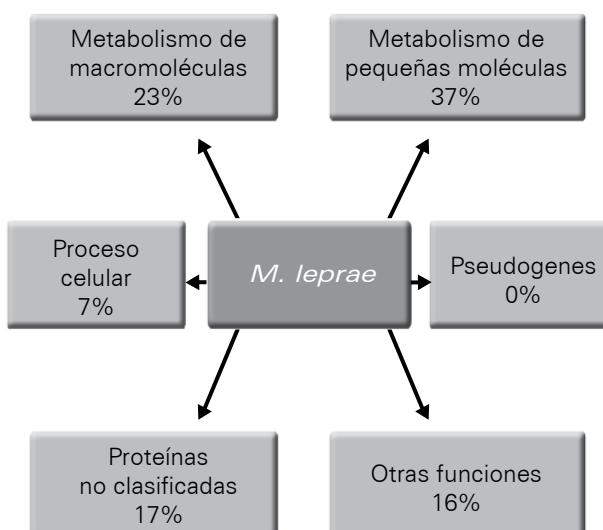
El *M. leprae* no crece en medios de cultivo artificiales, posiblemente por los efectos combinados de la reducción y/o mutación de genes que regulan la detoxificación, la reparación del DNA y la alteración del transporte de metabolitos. Los pseudogenes han sido mantenidos en cultivos axénicos por pocas semanas, donde permanecen metabólicamente activos.²⁵ Esto ha llevado a establecer modelos experimentales de crecimiento del microorganismo usando animales como el armadillo y los ratones knockout, lográndose su crecimiento en patas de ratón entre los 11-13 días post inoculación. Este procedimiento fue estandarizado a temperaturas óptimas de crecimiento entre 27-30°C, y dado a conocer por primera vez por Sheperad en 1960, y luego por otros investigadores.^{26,27}

Metabolismo del *M. leprae*

Marcando macromoléculas –como la PGL-I, proteínas, ácidos nucléicos y lípidos con precursores radioactivos en medios bacteriológicos o en macrófagos infectados– se ha podido establecer la actividad metabólica del Mycobacterium,²⁸ y con la secuenciación completa del genoma ha sido posible conocer algunos de los procesos metabólicos como: a) capacidad de generar energía por la vía de Embden-Meyerhof-Parnas, donde la acetil CoA entra al ciclo de Krebs produciendo energía en forma de ATP, lo que sugiere que este microorganismo degrada los lípidos; b) contiene los genes completos para la β-oxidación, pero muy pocos de éstos son capaces de llevar a cabo el proceso de lipólisis; c) realiza el metabolismo de pequeñas moléculas para su degradación y transformación energética usadas en la biosíntesis de aminoácidos, purinas, pirimidinas, síntesis de polipéptidos y péptidos no ribosomales.^{29,30}

El metabolismo macromolecular involucra la formación y degradación de la envoltura de la célula, su síntesis y modificación celular.³¹ En estos procesos son determinantes la formación de proteínas de unión, transporte, shock térmico, división celular, detoxificación, y adaptaciones a condiciones atípicas. En el cuadro 1 se muestran los porcentajes de las diferentes funciones celulares del *M. leprae*. Otras funciones metabólicas corresponden a: factores de virulencia, secuencias repetitivas, elementos de inserción, bacteriocinas, resistencia a antibióticos, síntesis de enzimas como citocromo P450, fosfatases, lipasas, e hidrolasas.³²

Cuadro 1
Funciones celulares de *M. leprae*.



Características clínicas del *M. leprae*

A diferencia de otras enfermedades infecciosas, para las que se ha establecido el modo de transmisión, este aspecto sigue siendo controvertido en la lepra. Es de notar que en pacientes con lepra-lepromatosa la mayor diseminación del bacilo al ambiente se realiza a través de la descarga nasal, el estornudo y la tos. Esto lo demostraron Roess y colaboradores, en 1977, quienes plantean que la principal ruta de infección es la vía aérea, particularmente el tracto respiratorio superior.³³ Visschedijk J. y su equipo demostraron, en 2000, que la infección puede ser causada por la entrada y salida del *M. leprae* a través del sistema respiratorio, en especial por la nariz, y que la diseminación a través de la piel es menos importante. Esta explicación fue confirmada recientemente por otros investigadores, utilizando técnicas moleculares en pacientes multibacilares no tratados.^{34,35}

Otros estudios sugieren que el *M. leprae* ingresa, probablemente, por las fosas nasales, y luego se extiende a la piel y a los nervios por medio de la circulación.³⁶ No obstante, existen controversias en torno a si la infección entra por el sistema respiratorio o lo hace a través de otras vías. Argaw y colaboradores demostraron que la infección

se puede trasmisir por contaminación ambiental o por un vector a partir de pacientes infectados.³⁷ Naafs propone que la piel puede ser el área del cuerpo más importante para la entrada del *M. leprae*, lo cual ha sido también sugerido por otros científicos.³⁸⁻⁴⁰

El sistema de invasión y desplazamiento de este agente en el organismo también es motivo de discusión. En 1964, V. R. Khanolkar planteó que se efectúa hacia los nervios, de manera semejante en la que los peces se desplazan corriente arriba.⁴¹ La bacteria no tiene actividad locomotora y su movimiento es el producto de diferentes mecanismos. Estudios realizados en armadillos demostraron que, inicialmente, la infección ocurre como una agregación de la bacteria en los vasos sanguíneos y linfáticos epineuriales, para luego entrar al compartimiento endoneurial.⁴² A pesar del gran número de investigaciones realizadas, no se ha llegado a un consenso respecto de la forma de transmisión e invasión del microorganismo. No obstante, estos estudios han posibilitado avances significativos en otros campos, especialmente los clínicos.

La infección tiene un periodo de incubación de dos a cuatro años, o más. Es una enfermedad granulomatosa multisistémica crónica, que afecta hígado, nódulos linfoides, adrenales, médula ósea, testículos; causa disfunción sexual y atrofia, debido a un exudado inflamatorio agudo y al granuloma leproso.^{43,44} En los órganos sexuales femeninos se han reportado hallazgos de células infectadas en el endometrio, en trompas de Falopio, y en capilares de la mucosa vaginal, pero no se ha demostrado que pueda causar esterilidad.⁴⁵

Las manifestaciones clínicas en la piel pueden aparecer en forma de maculas, pápulas, nódulos, placas o infiltraciones, afectando especialmente macrófagos. La hipopigmentación o eritema de la piel con déficit sensorial es uno de los signos clínicos más importantes en el diagnóstico.⁴⁶ Se observan particularmente en la palma de la mano, o bien en la planta del pie, y los origina una invasión de la bacteria en las fibras nerviosas, entre 20%-30%.^{47,48}

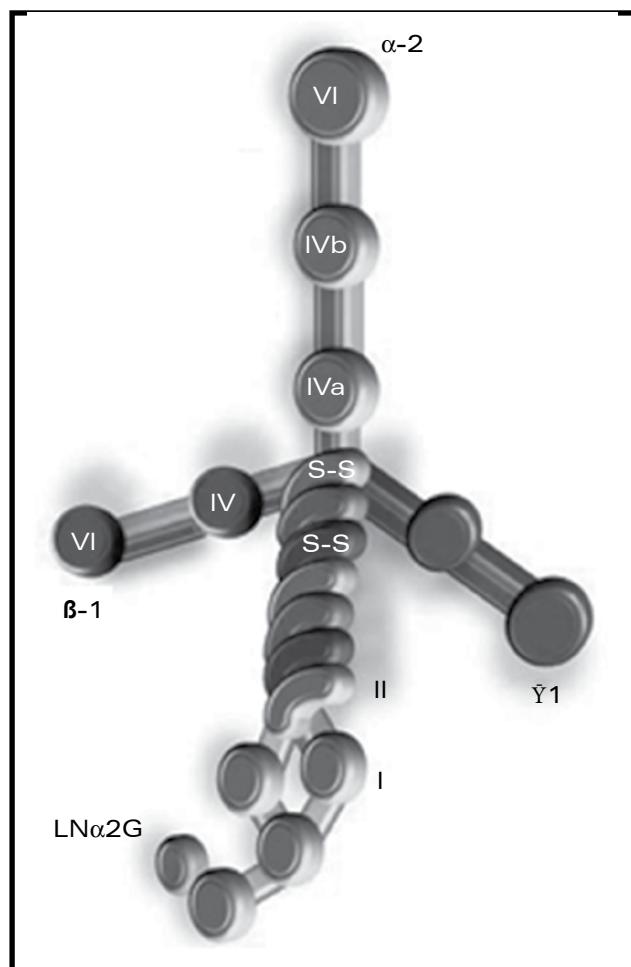
El daño en el sistema nervioso es una característica de la infección causada por el *M. leprae* que, a pesar de no tener la habilidad locomotora, puede moverse en el endotelio a través del tejido conectivo y alcanzar las células de Schwann (CS), las cuales se derivan del desarrollo embrionario desde la cresta neural y después del nacimiento pueden encontrarse mielinizadas, o no. Éstas son diferentes a las neuronas, pues no tienen capacidad para transmitir mensajes sinápticos; pueden dividirse indefinidamente a lo largo de la vida; constituyen el principal soporte celular en el sistema nervioso periférico, y son esenciales para la supervivencia y la función de las neuronas. Aunque las CS no fagocitan y no destruyen patógenos, eliminan los restos celulares.⁴⁹

En la superficie de las CS se encuentra una laminina, constituida por glicoproteínas de la matriz extracelular, la cual promueve el crecimiento, la adhesión, la motilidad, y la diferenciación celular. Está compuesta por tres brazos cortos denominados α , β y γ , los cuales presentan una simetría en forma de cruz y están unidos por puentes disulfuros. También tiene un brazo largo que le da flexibilidad a la molécula. Basadas en la presencia de cinco diferentes

cadenas α , se han identificado 15 isoformas de lamininas, distribuidas en diferentes tejidos.⁵⁰ En las CS, la laminina basal es de tipo 2, conocida como meroisin, compuesta por dos cadenas α y una cadena β y γ , y se expresa en células musculares, músculo estriado y placenta (gráfica 2). Se ha demostrado que el *M. leprae* se adhiere al grupo carboxilo terminal de la cadena $\alpha 2$ en secuencias poco homologas, denominada región G ($L\alpha 2G$), que consiste en 5 subunidades llamadas G1 a G5, donde las G3 a G5 pueden constituir el sitio de unión de la bacteria a las CS.⁵¹

Gráfica 2

Representación de la laminina tipo 2, compuesta por una cadena larga denominada α -2 con tres regiones globulares y dos cadenas cortas denominadas β -1 y γ -1 con dos regiones globulares. Los números romanos designan los dominios de las tres cadenas. El *M. leprae* se une al dominio G en el extremo final del carboxilo terminal de la cadena α -2 ($L\alpha 2G$).



El *M. leprae* tiene múltiples moléculas de unión a la región $L\alpha 2G$ de la laminina tipo 2. Su interacción con las CS en esta zona parece ser la primera fuente de infección y la responsable de la diseminación bacteriana dentro de la circulación sanguínea, el sistema nervioso periférico y otros órganos

del cuerpo. Lo anterior le permite alargar su supervivencia y, eventualmente, causar una respuesta irreversible mediada por el sistema inmune para producir daño en el tejido periférico y en el nervio, aspecto relacionado con la deformidad en las personas que padecen la enfermedad.^{52,53}

Clasificación de la enfermedad

La lepra es una enfermedad infecciosa polimórfica determinada por el sistema inmune del hospedero, aspecto que ha sido fundamental en el momento de establecer los criterios de clasificación. En 1931, la comisión para la lepra en Manila la catalogó como cutánea, neural y mixta.⁵⁴ Una nueva categorización surgió en el Congreso Internacional del Cairo, en 1938, estableciéndose el tipo lepromatoso I, II y III, y de tipo neural o anestésica, neurítica, macular simple y macular tuberculoide. A pesar de estas y otras clasificaciones dadas en congresos –como el americano, en 1939, y el de la Habana, en 1948–, en 1962 Ridley y Jopling clasificaron la lepra en cinco clases de acuerdo con las características inmunológicas, histopatológicas y microbiológicas.⁵⁵⁻⁵⁷

La primera clase se denomina lepra tuberculoide (TT). Se caracteriza por la aparición de 1 a 3 lesiones en la piel, de borde elevado, bien definidas, hipopigmentadas o eritematosas, que suelen ser anestésicas y alopécicas.⁵⁸ Debido a la alta respuesta inmune celular se forma un granuloma, que se caracteriza por la presencia del interferón γ y la secreción de linfocitos T CD4+. En la biopsia se observan células epiteliales multinucleares alrededor de los nervios dermales y pocos bacilos del *M. leprae*.⁵⁹

La segunda, tercera y cuarta clases corresponden a formas intermedias inestables. La segunda, denominada

Tuberculoide borderline o dimorfa tuberculoide (BT), presenta numerosas lesiones en forma de máculas o pápulas asimétricas de borde grueso, ancho e irregular, con la presencia de altas concentraciones de interferón γ, IL-10, TGF-beta1 y TNF-α, especialmente en las biopsias de piel.⁶⁰ La tercera forma llamada Lepromatosa borderline o dimorfa lepromatosa (BL), presenta un gran número de lesiones que pueden ser simétricas o asimétricas, hipopigmentadas o eritematosas, anestésicas o hipoestéticas, con bordes irregulares y nódulos con infiltraciones difusas.^{61,62} La cuarta forma, Media borderline (BB) o lepra dimorfa, se caracteriza por una reducción progresiva de la forma BT a BL, especialmente dada por la disminución en la respuesta celular, la cual está asociada con un incremento bacilar, sobre todo en piel, y con la presencia de lesiones nerviosas que sin tratamiento pueden llegar a progresar a lepra lepromatosa. Las formas borderline son clínicamente inestables.⁶³

La quinta forma se denomina lepra lepromatosa (LL). Se caracteriza por la ausencia de inmunidad celular específica, incremento de la respuesta inmune humoral inespecífica, con un aumento en la proliferación del bacilo leproso presente en las lesiones con nódulos múltiples e infiltrados de la piel y tejido nervioso que progresan a necrosis y ulceración. Este tipo de lesión afecta especialmente los labios, las encías, el dorso de la lengua y el paladar duro. La dermis contiene macrófagos espumosos con muchas bacterias y pocos CD4+ y CD8+, y con altos títulos de anticuerpos anti PGL-I.^{64,65} En el cuadro 2 se hace una síntesis de estos aspectos.

Cuadro 2
Clasificación de la lepra.

| Características | Lepromatosa | Borderline lepromatosa | Borderline borderline | Borderline tuberculoide | Tuberculoide | Indeterminada |
|---------------------------------|---|---|--|--|---|----------------------|
| Tipo de lesión | Máculas, pápulas, nódulos, infiltración difusa | Máculas, placas, pápulas, infiltración | Placas y lesiones en forma de cúpula y sacabocados | Placas de infiltrados | Placas de infiltrados | Máculas |
| Número de lesiones | Numerosas | Muchas | Muchas | Única, usualmente con lesiones satélites o más de 5 lesiones | Una o pocas (menos de 5) | Una o pocas |
| Distribución de las lesiones | Simétricas | Con tendencia a la simetría | Evidentemente asimétricas | No difusas y asimétricas | Localizadas asimétricamente | Variable |
| Definición de las lesiones | Imprecisas, difícil de definir la enfermedad y la afectación de la piel | Imprecisas, delimitadas por los bordes externos | Imprecisas, delimitadas por los bordes externos | Bien definidas, bordes bien delimitados | Bien definidas, bordes bien delimitados | No siempre definidas |
| Sensibilidad | No afectada | Disminuida | Disminuida | Ausente | Ausente | Afectada |
| Bacilos en las lesiones de piel | Muchas globias | Muchos | Muchos | Negativa o positiva (+) | Negativa | Usualmente negativa |

En 1998, la OMS, además de estipular la necesidad de una adecuada terapia para el tratamiento de los pacientes, introdujo cambios en la clasificación de la enfermedad y las agrupó en dos grupos: multibacilares, aquellas con más de 5 lesiones de piel; y paucibacilares, con menos de 5 lesiones. Esta nueva clasificación tuvo en cuenta lo estipulado por Ridley y Jopling, así como el estudio bacteriológico.⁶⁶

Las reacciones leprosas son producidas por diversos mecanismos inmunológicos que alteran el tejido, produciendo cambios espontáneos en el paciente. Se dividen en dos variantes: la de tipo I, denominada reacción reversa o sobrereacción, ocurre en estados de borderline con respuesta inmune celular, que se caracteriza por el desarrollo de nuevas lesiones o exacerbación de lesiones viejas. El cambio hacia el polo tuberculoide ocurre durante los primeros seis meses de tratamiento y también se presenta en pacientes no tratados. Está asociada con el estrés, las infecciones intercurrentes, o con el embarazo, y se caracteriza por la presencia de edema, eritema exuberante, ulceraciones en lesiones de piel, o síntomas de neuritis.⁶⁷

La de tipo II se divide, a su vez, en reacción leprosa y eritema polimorfo. La primera se caracteriza por depósitos de anticuerpos y complemento en las paredes de los vasos sanguíneos. Esta clase de reacción parece estar mediada por la respuesta inmune celular, con un incremento de los linfocitos T ayudadores (LTa2), que estimulan la producción de inmunoglobulinas, y con una reducción de las células T supresoras y el desarrollo del eritema nodoso leproso (ENL).^{68,69}

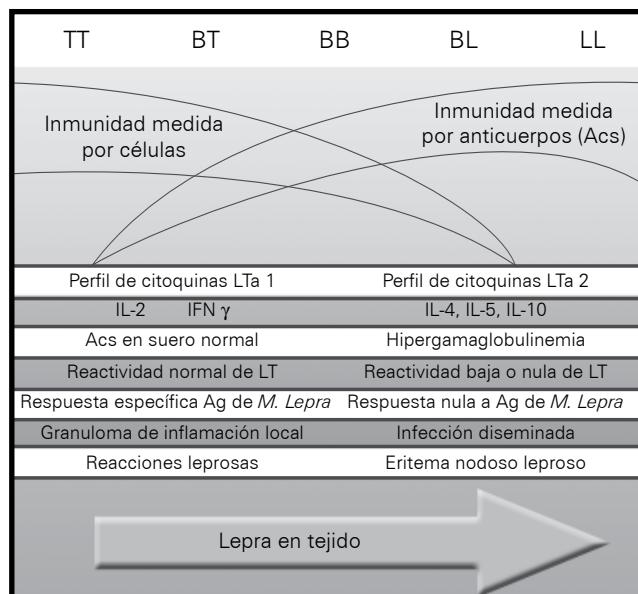
El ENL se genera como una respuesta inflamatoria sistémica, formando complejos inmunes extravasculares con infiltración de neutrófilos, activación del complemento y la presencia en circulación de altas concentraciones de TNF α . Este cuadro clínico causa inflamación aguda en algunos órganos o tejidos, y edema en las mucosas.⁷⁰ El ENL es una complicación de la LL y BL, sus manifestaciones clínicas se pueden presentar antes, o durante, pero particularmente después de dos a tres años de haberse iniciado el tratamiento.^{71,72} Los síntomas más relevantes son: dolor, fiebre con presencia de nódulos, vasculitis, malasia e inflamación, que puede producir iritis, artritis, neuritis, síndrome nefrótico, y linfadenitis. Debido a la variación genética, se presenta en diferentes grupos étnicos, especialmente en el suroeste de Asia y Brasil.⁷³

La segunda reacción tipo II, denominada eritema polimorfo –también conocida como eritema multiforme, debido a que sus lesiones son polimórficas, aunque menos nodulares que las ENL–, se caracteriza por vasculitis de los vasos sanguíneos pequeños, daño endotelial, depósito de fibrina, y liberación de glóbulos rojos.⁷⁴ En este grupo se encuentra el denominado fenómeno de Lucio, descrito por Rafael Lucio e Ignacio Alvarado en México, en 1852.⁷⁵ Es una forma difusa de la LL, y se encuentra en México y Costa Rica, pero rara vez en el resto del mundo. Causa necrosis en el tejido subyacente de la epidermis, sobre todo en los plexos subpapilares, con una fuerte infiltración de neutrófilos; la cara aparece sin arrugas, con pérdida de las cejas y perforación del tabique nasal. Las lesiones isquémicas se inician como máculas que rápidamente forman úlceras de bordes irregulares.⁷⁶

Respuesta inmune en la lepra

Los mecanismos de interacción entre las células del huésped y los microorganismos patógenos son los que intervienen en la iniciación de la respuesta inmune o en la patogénesis de la enfermedad. Los macrófagos son células que contribuyen a la inmunidad innata y participan en las primeras respuestas de defensa contra agentes agresores. Los monocitos, precursores de macrófagos, células dendríticas, y macrófagos tisulares son poblaciones heterogéneas que actúan de acuerdo con el patógeno que está causando la infección. La heterogeneidad está basada en una respuesta polarizada que depende de la acción de los linfocitos T ayudadores 1 y 2 (LTa1 y LTa2). La respuesta bidireccional macrófago-linfocitos Ta influye directamente en la polarización de la respuesta del macrófago. Las células Ta1 dirigen la polarización Macrófago 1 (M1) gracias a la producción de IFN- γ , y los Ta2 dirigen a Macrófago 2 (M2) por acción de la Interleucina (IL) 4 y de la IL13.⁷⁷ (Cuadro 3).

Cuadro 3. Clasificación inmunológica de la lepra.



El macrófago, como célula presentadora de antígeno al LT, por medio del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (en el humano denominado HLA), induce en el LT un proceso de expansión clonal y síntesis de citocinas, como la Interleucina 2 (IL2) y el interferón gamma (IFN- γ), que amplifican la respuesta inmune, conduciendo a la muerte del microorganismo, cerrando así el ciclo protector en su forma más sencilla.⁷⁸ La capacidad de los macrófagos para detener la multiplicación de las Mycobacterias varía, pero no se conoce de manera precisa la función del gen que expresa y determina la capacidad bacteriostática. Los sistemas HLA que controlan la inmunidad mediada por células hacen probable que las diferencias en los haplotipos HLA contribuyan al amplio espectro de respuesta inmune observada en la lepra. Las moléculas de clase HLA II intervienen en la respuesta específica a la infección y en la evolución de la respuesta inmune secundaria a los antígenos de *M. leprae*.⁷⁹

Debido a la complejidad de los factores de riesgo intrínsecos de la susceptibilidad o resistencia a la lepra no se han descrito de manera precisa los determinantes genéticos que pueden contribuir a la transmisión del *M. leprae*. Sin embargo, se ha visto susceptibilidad relacionada con las moléculas HLA-DR como respuesta protectora; mientras que las HLA-DQ están asociadas con las formas multibacilares de la lepra lepromatosa.^{80,81} El estudio de los genes HLA revela predominio de las moléculas clase II, como el HLA-DR3 en lepra tuberculoide, el HLA-DR 2 en enfermedad tuberculoide polar; mientras que las HLA-MT 1 y HLA-DQ1 están asociadas a la enfermedad lepromatosa polar. En algunos pacientes con reacción tipo 2 o ENL y tipo 3, denominado fenómeno Lucio, y vasculitis leucocitoclástica, se encontró relación con moléculas clase III (C4, Factor B, C2).⁸²

Ahora bien, la acción de los linfocitos Ta con sus citocinas permiten una amplificación de la respuesta inmune, lo que contribuye a la eliminación del germen. El perfil de citocinas LTa1, donde se producen principalmente IL-2 e IFN-γ, interviene especialmente contra virus y bacterias intracelulares; mientras que los linfocitos Ta2 sintetizan principalmente IL-4, IL-5 e IL-10, que estimulan principalmente a los linfocitos B para la síntesis de anticuerpos.^{83,84}

En el caso específico de la lepra, hay una polarización de los Ta1 vs Ta2. Los altos niveles de Interleucina IL-10 y una disminución de la relación FNT/IL-10 asociado a la anergia de los linfocitos T, contribuyen en gran medida al crecimiento bacteriano. La sobreexpresión de IL-10 en las lesiones de la lepra corresponden a un perfil de M2 en el que se observa una expresión fenotípica de receptores, como CD36 y CD163.⁸⁵ El perfil de citocinas LTa1 predomina en lesiones de pacientes con LT y LL; se observan reacciones inmunológicas del tipo II con la presencia de altos títulos de anticuerpos tipo IgG.⁸⁶⁻⁸⁸ Por otra parte, en las lesiones de la LL se han observado macrófagos saturados de bacterias, pero pocos linfocitos T, y no hay granulomas organizados. Esto sugiere que el *M. leprae* evade la respuesta inmune del huésped.⁸⁹

Otras células que intervienen en la respuesta contra el *M. leprae* son las CS y las células del sistema retículoendotelial, donde vive y prolifera el microorganismo. El mecanismo de infección de CS incluye la interacción entre PGL-1 del *M. leprae* y la laminina 2 y el receptor ERBB2 de las células Schwann. La infección de CS contribuye al proceso de inflamación, involucra la presentación de antígenos y la producción de citocinas por acción de los receptores Toll (TLR).⁹⁰

El PGL-1 se ha encontrado unido al componente C3 del complemento, lo que hace que el estallido respiratorio del fagocito sea deficiente y que el microorganismo evada la muerte intracelular. Se ha observado que el PGL-1 modula la producción de citocinas por parte de los monocitos, induce una pobre activación y maduración de células dendríticas, y dificulta la presentación de antígenos a los LT, sobre todo mediante células dendríticas infectadas.⁹¹ La presencia de anticuerpos tipo IgM contra PGL-1 en suero tiene una buena correlación en pacientes BL/LL, ya que la determinación de sus niveles han ayudado en la clasificación de pacientes para la selección de varios regímenes de tratamiento. La determinación positiva de IgM en sueros

de pacientes BL/LL indican que existe un predominio de la respuesta Ta2; mientras que la mayoría de pacientes TT/BT son seronegativos.⁹²

Las superficies de la mucosa nasal constituyen la entrada principal para el *M. leprae*. Por lo tanto, la carga antigenica induce en este tejido una respuesta humoral con la producción local de IgM e IgA antes de que estos cuerpos se encuentren en suero, fenómeno que explica la presencia de anticuerpos anti PGL-I en saliva. En la respuesta inmune secretora, un aspecto relevante es la avidez que tienen los anticuerpos, parámetro de laboratorio de gran importancia en la detección de la infección primaria. Además, la avidez del anticuerpo se asocia al índice de baciloscopía y a los niveles de IgG anti-PGL I, lo que podría usarse para indicar una exposición reciente, o una nueva exposición al *M. leprae*.⁹³

La gran cantidad de bacilos en la lepra multibacilar estimula una respuesta humoral vigorosa. Estos anticuerpos intervienen en algunas manifestaciones patológicas de la enfermedad, como es el caso de la forma reactiva ENL, que acarrea manifestaciones cutáneas y sistémicas.⁹⁴⁻⁹⁶ Igualmente, las inmunoglobulinas que forman complejos antígeno-anticuerpo pueden facilitar la entrada de bacilos en las células macrofágicas mediante los receptores Fcμ y Fcγ para la IgM y la IgG respectivamente; o bien receptores CR1 y CR3 para componentes del sistema de complemento.⁹⁷ Se considera que el nivel de anticuerpos no se relaciona directamente con la resistencia, sino que refleja la carga bacilar. En 90% de LL se observa la presencia de anticuerpos anti PGL1; mientras que en la LT se observa en 50%.⁹⁸

Inmunógenos del *M. leprae*

Los antígenos del *M. leprae* son reconocidos por anticuerpos en pacientes con LL; otros generan una respuesta inmune celular en pacientes con LT. El antígeno mejor reconocido por los linfocitos T CD4+, que reaccionan con perfiles de citocinas y funciones efectoras de inmunidad protectora, es la HSP 60 kDa, la cual podría inducir condiciones de autoinmunidad relacionada con la susceptibilidad genética al poseer HLA-DR4.⁹⁹ Se han reconocido cinco epítopes de HSP 60 kDa en el contexto del HLA-DR4, los cuales son reactivos a clones de linfocitos LTa CD4+ de personas inmunizadas con *M. leprae*.^{100,101}

En un estudio se reportó que 69% de pacientes con LT sin tratamiento son positivos a antígenos de 35 kDa; 45% de estos pacientes muestran producción de anticuerpos contra el epítope de 35 kDa. En pacientes con LL se observa alta tasa de positividad a los antígenos de 35, 12, 30 y 40 kDa, comparado con pacientes con LT. Como el antígeno está presente, presumiblemente, en exceso antes de que se formen los anticuerpos, este enfoque experimental para detectar antígenos podría ser útil para el diagnóstico de la lepra.¹⁰²

Diagnóstico

La lepra se puede diagnosticar teniendo en cuenta una variedad de síntomas clínicos. Entre ellos destacan la presencia de lesiones en piel y alteraciones nerviosas. Éstas

pueden generar fluctuaciones espontáneas, conocidas como reacciones leprosas, o estar asociadas a otras enfermedades. Las pruebas inmunológicas son muy limitadas, presentan mayor sensibilidad cuando los pacientes son MB, y para todas las formas de lepra se requieren pruebas antigenicas que determinen tanto los anticuerpos como la cuantificación de la respuesta inmune celular.^{103,104} A pesar de contar con varios métodos de diagnóstico, no existe un examen confirmatorio. A lo anterior se suma la poca cantidad de clínicos expertos en la identificación de la enfermedad, cuyos síntomas pueden ser confusos.¹⁰⁵

Entre las pruebas inmunológicas para el diagnóstico del *M. Leprae* se encuentra la detección de anticuerpos anti-PGL-I, donde se presentan grandes cantidades de IgM en respuesta a este antígeno en los pacientes con LL y reacción tipo I.¹⁰⁶ Con la determinación de este anticuerpo se contribuye a la disminución del daño causado en el nervio. Es de notar que en la LT la concentración de IgM es baja.¹⁰⁷

Para la determinación de esta inmunoglobulina existen diferentes técnicas.

- a. ELISA: su sensibilidad y especificidad es baja, debido a que se pueden presentar uniones no específicas a otras proteínas, o encontrar biomoléculas en la muestra.¹⁰⁸
- b. Inmuno Cromatografía ML Dipstick®: compuesta de antígenos PGL-I en la fase sólida de nitrocelulosa adheridas a un soporte plástico. No requiere refrigeración ni equipos especializados. Es una técnica sencilla, de gran utilidad cuando se requiere realizar estudios epidemiológicos, pues se pueden evaluar muchos antígenos en un mismo ensayo. Sin embargo, no se encuentra disponible comercialmente.^{108,109}
- c. Inmuno Cromatografía lateral flow (ML Flor®): se usa IgM marcada con oro coloidal. Entre las ventajas de esta prueba está que requiere muy poca cantidad de muestra (sangre total o suero), y el resultado se obtiene en 5-10 minutos.^{108,110}
- d. Hemoaglutinación pasiva: sirve para determinar la reacción tipo I o II durante el tratamiento. No es muy eficiente, porque se pueden encontrar resultados similares entre la población sana.¹¹¹
- e. Anticuerpos fluorescentes antilepra (FLA-abs): la cual es sensible en las formas tempranas de la enfermedad.¹¹²

Aunque las pruebas serológicas no son de diagnóstico ni son suficientemente específicas, se pueden usar si están asociadas a la clínica del paciente. También pueden contribuir al seguimiento del tratamiento, o bien emplearse para identificar contactos y transmisión en la comunidad.¹¹³ Se han utilizado proteínas recombinantes para valorar la respuesta inmune celular y humoral teniendo en cuenta la homología con otras Mycobacterias que potencialmente infectan a humanos. Dentro de éstas se encuentran las proteínas ML0405, ML2055 y ML2331, reconocidas específicamente en pacientes que padecen de lepra y sus contactos.¹¹⁴

Otra manera de valorar la respuesta inmune celular del paciente es mediante la prueba intradérmica de Mitsuda, que no se usa para el diagnóstico de la enfermedad, sino para clasificar las diversas formas de la lepra. Consiste en una inyección intradérmica de 0.1 mL de lepronina (4×10^6 bacilos/mL). La reacción positiva se manifiesta después de la primera semana post-inyección, pero su lectura se realiza de 21 a 28 días después. Ésta es positiva en 80% de la población mayor de 19 años en áreas endémicas y, para ayudar al diagnóstico, se requiere realizar biopsia de piel o del nervio afectado.^{115,116} El diagnóstico histopatológico es obligatorio para el pronóstico de la enfermedad y de esta manera favorecer el tratamiento.¹¹⁷

Las formas PB no son fácilmente detectadas; mientras que en las MB, como LL y BL, se observan infiltrados en la dermis, hipodermis y órganos internos tales como células de Virchow, que son macrófagos con muchos bacilos y gotas de lípidos en su citoplasma con apariencia de espuma cuando son coloreados con hematoxilina-eosina.^{118,119} Las coloraciones de Sudan III y Scarlet R tiñen la grasa que se encuentra en las células de Virchow, mostrando una banda de aspecto normal llamada banda Uann, zona Grenz o "retención de la pared", que separa la epidermis de los infiltrados compuestos de linfocitos y plasmocitos; los nervios cutáneos muestran laminación de la perineurina, produciendo una apariencia de rodajas de cebolla.¹¹⁹

En las secreciones nasales y cutáneas el hallazgo del bacilo aislado en forma de globia puede ser detectado con coloración de Ziehl Neelsen o coloración de Wade, positiva en 100% de pacientes con LL, en 75% con BL, y rara vez en pacientes con LT. Otra forma de evaluación clínica son las pruebas de sensibilidad táctil, térmica y al dolor; y también las pruebas como histamina y pilocarpina relacionadas con la función del nervio periférico.¹¹²

Realizar el diagnóstico a través de los métodos histopatológicos e inmunológicos en la identificación del bacilo ácido alcohol resistente en los estadios tempranos de la enfermedad resulta difícil. Las técnicas de PCR son mucho más rápidas; detectan y cuantifican pequeñas cantidades de bacilos en especímenes como sangre, piel, tejido nervioso, mucosa nasal, entre otros, tanto en los pacientes como en sus contactos, resultando esta técnica de gran importancia para el diagnóstico de la infección. Sin embargo, con esta metodología hay que tener en cuenta el número de bases y la región que se desea amplificar para poder ofrecer un diagnóstico que pueda tener grandes implicaciones en la epidemiología y el control de la enfermedad, así como en el impacto ético y social.¹²⁰⁻¹²³

En cuanto a las imágenes diagnósticas, permiten la observación de lesiones óseas causadas por el bacilo, como la osteomielitis aguda y crónica. La ultrasonografía y la resonancia magnética aportan en la evaluación de las lesiones en los nervios periféricos, y el Doppler a color mejora la capacidad de detectar las anomalías en los tejidos sensibles.^{124,126} Es importante anotar que un diagnóstico a tiempo, independientemente de la técnica que se utilice, puede reducir el impacto del daño causado por el *M. leprae* en el paciente, así como las consecuencias sociales, culturales y económicas que relacionadas con quienes la padecen.

Tratamiento

Los esfuerzos globales para controlar la lepra mediante la quimioterapia han permitido disminuir significativamente el número de pacientes infectados. Sin embargo, la detección de nuevos casos y las estrategias de control no han logrado la eficacia esperada, principalmente porque no hay un programa de prevención primaria, no existe una vacuna específica, y porque las pruebas de diagnóstico y pronóstico no son fáciles de realizar. La terapia de la lepra inició con el uso de aceite de semillas de la planta Chaulmoogra en India, mismo que presentaba una eficacia parcial. En 1941, Faget y colaboradores demostraron la actividad de las sulfonas sobre el *M. Leprae*.¹²⁷

En 1981, la OMS recomendó la poliquimioterapia durante 6 a 12 meses, dada la emergencia de la resistencia presentada por el microorganismo, y para disminuir la prevalencia de la enfermedad. Esta combinación de rifampicina, clofazimina y dapsona, denominadas drogas de primera línea, debe ser administrada a pacientes multibacilares, o bien hasta que se observe negativización en las baciloskopías; para los pausibacilares, rifampicina y dapsona durante 6 meses. En caso de que la clofazimina produzca alteraciones en la piel de los pacientes se recomienda reemplazarla por etionamida-prontionamida, con el riesgo de causar efectos adversos en el hígado.^{128,129}

Referencias

1. Hansen GA. "On the etiology of leprosy". *Br Foreign Med-Chir Rev* 1875; 55: 459-489.
2. Hansen GHA. «Undersøgelser Angående Spedalskhdens Årsager (Investigaciones acerca de la etiología de la lepra)» en Noruega. *Norsk Mag. Laegervidenskaben* 1874; 4: 1-88.
3. Corporación Social para la rehabilitación del enfermo. *Informativo CORSOHANSEN* 2010; 19: 1-4.
4. Walsh GP, Storrs E, Burchfield H. "Leprosy-like disease occurring naturally in armadillos". *RES J Reticuloendothel Soc* 1975; 18: 347-351.
5. Hamilton HK, Levis WR, Martiniuk F, Cabrera A, Wolf J. "The role of the armadillo and sooty mangabey monkey in human leprosy". *Int J Dermatol* 2008; 47: 545-550.
6. Pedrini SC, Rosa PS, Medri IM, Mourão G, Bagagli E, Lopes CA. "Search for *Mycobacterium leprae* in wild mammals". *Braz J Infect Dis* 2010; 14: 47-53.
7. Gormus BJ, Wolf RH, Baskin GB, Ohkawa S, Gerone PJ, Walsh GP, et al. "A second sooty mangabey monkey with naturally acquired leprosy: first reported possible monkey-to-monkey transmission". *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1988; 56: 61-65.
8. Gormus BJ, Xu K, Baskin GB, Martin LN, Bohm RP Jr, Blanchard JL, et al. "Experimental leprosy in rhesus monkeys: transmission, susceptibility, clinical and immunological findings". *Lepr Rev* 1998; 69: 235-245.
9. World Health Organization. *Weekly epidemiological record*. 2009; 84: 333-340.
10. Corporación Social para la rehabilitación del enfermo. *Informativo CORSOHANSEN* 2009; 16: 1-4.
11. Draper P, Kandler O, Darbre A. "Peptidoglycan and arabinogalactan of *Mycobacterium leprae*". *J Gen Microbiol* 1987; 133: 1187-1194.
12. Mahapatra S, Crick DC, McNeil MR, Brennan PJ. "Unique structural features of the peptidoglycan of *Mycobacterium leprae*". *J Bacteriol* 2008; 190: 655-661.
13. McNeil M, Daffe M, Brennan PJ. "Evidence for the nature of the link between the arabinogalactan and peptidoglycan of mycobacterial cell walls". *J Biol Chem* 1990; 265: 18200-18206.
14. Lee RE, Li W, Chatterjee D, Lee RE. "Rapid structural characterization of the arabinogalactan and lipoarabinomannan in live mycobacterial cells using 2D and 3D HR-MAS NMR: structural changes in the arabinan due to ethambutol treatment and gene mutation are observed". *Glycobiology* 2005; 15: 139-151.
15. Melancon-Kaplan J, Hunter SW, McNeil M, Stewart C, Modlin RL, Rea TH, et al. "Immunological significance of *Mycobacterium leprae* cell walls". *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 1917-1921.
16. Crick DC, Mahapatra S, Brennan PJ. "Biosynthesis of the arabinogalactan-peptidoglycan complex of *Mycobacterium tuberculosis*". *Glycobiology* 2001; 11: 107R-118R.
17. Monot M, Honoré N, Garnier T, Zidane N, Sherifi D, Paniz-Mondolfi A, et al. "Comparative genomic and phylogeographic analysis of *Mycobacterium leprae*". *Nat Genet* 2009; 41: 1282-89.
18. Wheeler PR. "Biosynthesis and Scavenging of Purines by Pathogenic Mycobacteria Including *Mycobacterium leprae*". *J Gen Microbiol* 1987; 133: 2999-3011.
19. Dawes SS, Mizrahi V. "DNA metabolism in *Mycobacterium leprae*". *Lepr Rev* 2001; 72: 408-414.
20. Honore N. "The *Mycobacterium leprae* genome: from sequence analysis to therapeutic implications". *Med Trop (Mars)*. 2002; 62: 473-479.
21. Cole ST, Eiglmeier K, Parkhill J, James KD, Thomson NR, Wheeler PR, et al. "Massive gene decay in the leprosy bacillus". *Nature* 2001; 409: 1007-1011.
22. Brosch R, Grodon SV, Eiglmeier K, Garnier T, Cole ST. "Comparative genomics of the leprosy and tubercule bacilli". *Res Microbiol* 2000; 151: 135-142.
23. Eiglmeier K, Parkhill J, Honore N, Garnier T, Tekaia F, Tellenti A, et al. "The decaying genome of *Mycobacterium leprae*". *Lepr Rev* 2001; 72: 387-398.
24. Vissa VD, Brennan PJ. "The genome of *Mycobacterium leprae*: a minimal mycobacterial gene set". *Genome Biol* 2001; 2: 2-8.
25. Truman RW, Krahenbuhl JL. "Viable *M. leprae* as a research reagent". *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 2001; 69: 1-12.
26. Shepard CC. "The experimental disease that follows the injection of human leprosy bacilli into foot-pads of mice". *J Exp Med* 1960; 112: 445-454.
27. Krahenbuhl J, Adams LB. "Exploitation of gene knockout mice models to study the pathogenesis of leprosy". *Lepr Rev* 2000; 71Suppl: S170-175.
28. Hastings RC, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Franzblau SG. "Leprosy". *Clin Microbiol Rev* 1988; 1: 330-348.

29. Eiglmeier K, Simon S, Garnier T, Cole ST. "The integrated genome map of *Mycobacterium leprae*". *Lepr Rev* 2001; 72: 462-469.
30. Wheeler PR. "The microbial physiologist's guide to the leprosy genome". *Lepr Rev* 2001; 72: 399-407.
31. Cole ST. "The *Mycobacterium leprae* genome Project". *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1998; 66: 589-591.
32. The Institute for Genomic Research [http://www.tigr.org]
33. Rees RJW, McDougall AC. "Airborne infection with *Mycobacterium leprae* in mice". *J Med Microbiol* 1977; 10: 63-68.
34. Visschedijk J, van de Broek J, Eggens H, Lever P, van Beers S, Klatsser P. "Mycobacterium leprae-millennium resistant! Leprosy control on the threshold of a new era". *Trop Med Int Health* 2000; 5: 388-399.
35. Job CK, Jayakumar J, Kearney M, Gillis TP. "Transmission of leprosy: a study of skin and nasal secretions of household contacts of leprosy patients using PCR". *Am J Trop Med Hyg* 2008; 78: 518-521.
36. Walker SL, Lockwood DNJ. "The clinical and immunological features of leprosy". *Br Med Bull*, 2006; 77-78: 103-121.
37. Argaw AT, Shannon EJ, Assefa A, et al. "A geospatial risk assessment model for leprosy in Ethiopia based on environmental thermal-hydrological regime analysis". *Geospatial Health*, 2006; 1: 105-113.
38. Naafs B, Silva E, Vilani-Moreno F, Marcos EC, et al. "Factors influencing the development of leprosy: an overview". *Int J Lepr* 2001; 69: 27-33.
39. Ghorpade A. "Inoculation (tattoo) leprosy: a report of 31 cases". *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002; 16: 494-496.
40. Brandsma JW, Yoder LJ, Macdonald M. "Leprosy acquired by inoculation from a knee injury". *Lepr Rev*, 2005; 76: 175-178.
41. Khanolkar VR. "Pathology of leprosy". En: Cochrane RG, Davey TF (Eds). *Leprosy in theory and practice*, 2^a Ed. John Wright and Sons Ltd, Bristol, UK, 1964: 125-151.
42. Scollard DM. "Endothelial cells and the pathogenesis of lepromatous neuritis: insights from the armadillo model". *Microbes Infect* 2000; 2: 1835-1843.
43. Matsumoto K, Yajima M, Asano G. "Pathological findings of the liver in Hansen's disease". *Nihon Hansen-byo Gakkai Zasshi* 1997; 66: 97-102.
44. Bernard JC, Vazquez CA. "Visceral lesions in lepromatous leprosy. Study of sixty necropsies." *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1973; 41: 94-101.
45. Neena K, Ammini AC, Singh M, Pandhi RK. "Ovarian function in female patients with multibacillary leprosy". *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 2003; 71: 101-105.
46. Murthy PK. "Clinical manifestations, diagnosis and classification of leprosy". *J Indian Med Assoc* 2004; 102: 678-679.
47. Merzenich MM, Jenkins WM. "Reorganization of cortical representations of the hand following alterations of skin inputs induced by nerve injury, skin island transfers, and experience". *J Hand Ther* 1993; 6: 89-104.
48. Malaviya GN. "Sensory perception in leprosy-neurophysiological correlates". *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 2003; 71: 119-124.
49. Bhatheja K, Field J. "Schwann cells: origins and role in axonal maintenance and regeneration". *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38: 1995-1999.
50. Berti C, Nodari A, Wrabetz L, Feltri ML. "Role of Integrins in Peripheral Nerves and Hereditary neuropathies". *Neuromolecular Med* 2006; 8: 191-204.
51. Ng V, Zanazzi G, Timpl R, Talts JF, Salzer JL, Brennan PJ, et al. "Role of the cell wall phenolic glycolipid-1 in the peripheral nerve predilection of *Mycobacterium leprae*". *Cell* 2000; 103: 511-524.
52. Tapinos N, Rambukkana A. "Insights into regulation of human Schwann cell proliferation by Erk1/2 via a MEK-independent and p56Lck-dependent pathway from leprosy bacilli". *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 9188-9193.
53. Mukherjee R. "Antia NH Host-parasite interrelationship between *M. leprae* and Schwann cells *in vitro*". *Int J Leprosy* 1986; 54: 632-638.
54. Pautas aprobadas en Manila publicadas como: "Epidemiología e la lepra" *Revista de Higiene* 1932; 13: 13-19.
55. Ridley DS, Jopling WH. "A classification of leprosy for research purposes". *Lepr Rev* 1962; 33: 119-128.
56. Ridley DS, Jopling WH. "Classification of leprosy according to immunity. A five-group system." *Int J Leprosy* 1966; 34: 255-273.
57. 83. Ridley DS, Jopling WH. "Classification of leprosy according to immunity: a five-group system". *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1966; 34: 255-273.
58. Yamamura M, Wang XH, Ohmen JD, Uyemura K, Rea TH, Bloom BR, et al. "Cytokine patterns of immunologically mediated tissue damage". *J Immunol* 1992; 149: 1470-1475.
59. Cardoso CC, Pereira AC, Brito-de-Souza VN, Dias-Baptista IM, Maniero VC, Venturini J, et al. "IFNG +874 T>A single nucleotide polymorphism is associated with leprosy among Brazilians". *Hum Genet* 2010; 128: 481-490.
60. Venturini J, Soares CT, Belone Ade F, Barreto JA, Ura S, Lauris JR, et al. "In vitro and skin lesion cytokine profile in Brazilian patients with borderline tuberculoid and borderline lepromatous leprosy". *Lepr Rev* 2011; 82: 25-35.
61. Matsuo C, Talhari C, Nogueira L, Rabelo RF, Santos MN, Talhari S. "Borderline lepromatous leprosy". *An Bras Dermatol* 2010; 85: 921-922.
62. Foss NT. "Hansenise: aspectos clínicos, imunológicos e terapêuticos". *An Bras Dermatol* 1999; 74: 113-119.
63. Britton WJ, Lockwood DN. "Leprosy". *Lancet*. 2004; 363: 1209-1219.
64. Cho SN, Cellona RV, Villahermosa LG, Fajardo TT Jr, Balagon MV, Abalos RM, et al. "Detection of phenolic glycolipid I of *Mycobacterium leprae* in sera from leprosy patients before and after start of multidrug therapy". *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8: 138-142.
65. Chimenos Küstner E, Pascual Cruz M, Pinol Dansis C, Vinals Iglesias H, Rodríguez de Rivera Campillo ME, López López J. "Lepromatous leprosy: a review and case report". *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; 11: E474-479.
66. WHO expert committee on leprosy, seventh report, WHO technical report series. WHO: Geneva; 1998; 1-43.
67. Rea TH, Modlin RL. "Immunopathology of leprosy skin lesions". *Semin Dermatol* 1991; 10: 188-193.
68. Kahawita IP, Lockwood DNJ. "Towards understanding the pathology of erythema nodosum leprosum". *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008; 102: 329-337.
69. Ramesh V, Pahwa M. "Some unusual type 2 reactions in leprosy". *Int J Dermatol* 2010; 49: 172-175.

70. Jacob JT, Kozarsky P, Dismukes R, Bynoe V, Margoles L, Leonard M, et al. "Five-year experience with type 1 and type 2 reactions in Hansen disease at a US travel clinic". *Am J Trop Med Hyg* 2008; 79: 452-454.
71. Vieira LM, Sampaio EP, Nery JA, et al. "Immunological status of ENL (erythema nodosum leprosum) patients: Its relationship to bacterial load and levels of circulating IL-2R". *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1996; 38: 103-111.
72. Kumar B, Dogra S, Kaur I. "Epidemiological characteristics of leprosy reactions: 15 years experience from north India". *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 2004; 72: 125-133.
73. Kahawita IP, Lockwood DN. "Towards understanding the pathology of erythema nodosum leprosum". *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008; 102: 329-337.
74. Cuevas J, Rodríguez-Peralto JL, Carrillo R, Contreras F. "Erythema nodosum leprosum: reactional leprosy". *Semin Cutan Med Surg* 2007; 26: 126-130.
75. Lucio R, Alvarado I. "Opúsculo sobre el mal de San Lázaro o Elefantiasis de los Greigos". M. Murguía y cía., México 1852: citado por Latapí y Chevez Zamoro.
76. Benard G, Sakai-Valeente NY, Bianconcini Trindade MA. "Concomitant lucio phenomenon and erythema nodosum in a leprosy patient: clues for their distinct pathogeneses". *Am J Dermatopathol* 2009; 31: 288-292.
77. Mège JL, Mehraj V, Capo C. "Macrophage polarization and bacterial infections". *Curr Opin Infect Dis* 2011; 24: 230-234.
78. Medzhitov R, Shevach EM, Trinchieri G, Mellor AL, Munn DH, Gordon S, et al. "Highlights of 10 years of immunology". *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 693-702.
79. Bjorkman PL. "Structure of the human class I histocompatibility antigens". *Nature* 1987; 329: 506-512.
80. Cardoso CC, Pereira AC, de Sales Marques C, Moraes MO. "Leprosy susceptibility: genetic variations regulate innate and adaptive immunity, and disease outcome". *Future Microbiol* 2011; 6: 533-549.
81. Lagrange PH, Abel L. "The genetic susceptibility to leprosy in humans" [artículo en francés]. *Acta Leprol* 1996; 10: 11-27.
82. Kumar S, Naqvi RA, Khanna N, Rao DN. "Disruption of HLA-DR raft, deregulations of Lck-ZAP-70-Cbl-b cross-talk and miR181a towards T cell hyporesponsiveness in leprosy". *Mol Immunol* 2011; 48: 1178-1190.
83. Mosmann TR, Coffman RL. "Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties". *Ann Rev Immunol* 1989; 7: 145-174.
84. Bloom BR, Salgame P, Diamond B. "Revisiting and revising suppressor T cells". *Immunol Today* 1992; 13: 131-136.
85. Salgame P, Abrams JS, Clayberger C, Goldstein H, Convit J, Modlin RL, et al. "Differing lymphokine profiles of functional subsets of human CD4 and CD8 T-cell clones". *Science* 1991; 254: 279-282.
86. Yamamura M, Uyemura K, Deans RJ, Weinberg K, Rea TH, Bloom BR, et al. "Defining protective responses to pathogens: cytokine profiles in leprosy lesions". *Science* 1991; 254: 277-279.
87. Mutis T, Kraakma EM, Comelisse YE, Haanen JBAG, Spits H, De Vries RRP, et al. "Analysis of cytokine production by *Mycobacterium*-reactive T cells. Failure to explain *Mycobacterium leprae*-specific non responsiveness of peripheral blood T cells from lepromatous leprosy patients". *J Immunol* 1993; 150: 4641-4651.
88. Tabouret G, Astarie-Dequeker C, Demangel C, Malaga W, Constant P, Ray A, et al. "Mycobacterium leprae phenolglycolipid-1 expressed by engineered *M. bovis* BCG modulates early interaction with human phagocytes". *Cell Host Microbe* 2009; 6: 343-353.
89. Teles RMB, Krutzik SR, Ochoa MT, Oliveira RB, et al. "Modlin Interleukin-4 Regulates the Expression of CD209 and Subsequent Uptake of *Mycobacterium leprae* by Schwann Cells in Human Leprosy". *Infect Immun* 2010; 78: 4634-4643.
90. Mahon AC, Nurlign A, Kebede B, Beex-Bleumink M, Lefford MJ. "Urinary phenolic glycolipid 1 in the diagnosis and management of leprosy". *J Infect Dis* 1991; 163: 653-656.
91. Spencer JS, Kim HJ, Wheat WH, Chatterjee D, Balagon MV, Cellona V, et al. "Analysis of antibody responses to *Mycobacterium leprae* phenolic glycolipid I, lipoarabinomannan, and recombinant proteins to define disease subtype-specific antigenic profiles in leprosy". *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18: 260-267.
92. Nagao-Dias A, Almeida L, Oliveira M, Santos R, Lima A, Brasil M. "Salivary anti-PGL IgM and IgA titers and serum antibody IgG titers and avidities in leprosy patients and their correlation with time of infection and antigen exposure". *Braz J Infect Dis* 2007; 11: 215-219.
93. Convit J, Ulrich M. "Leprosy: Bacterial, pathological, immunological and immuno-pathological aspects". En: *Mycobacterial Skin Diseases*, Ed. M. Harahap, Kluwer Academic Publishers, Lancashire, 1989: 33-78.
94. McDougall AC, Ulrich M. "Mycobacterial Disease: Leprosy." En: *Dermatology in General Medicine*, 4^a Ed., TB Fitzpatrick, et al (Eds.), Nueva York, McGraw-Hil, 1993: 2395-2410.
95. Clark-Curtiss JE, Walsh GP. "Conservation of genomic sequences among isolates of *Mycobacterium leprae*". *J Bacteriol* 1989; 171: 4844-4851.
96. Schlesinger LS, Horwitz MA. "Phenolic glycolipid 1 of *Mycobacterium leprae* binds complement component C3 in serum and mediates phagocytosis by human monocytes". *J Exp Med* 1991; 174: 1031-1038.
97. Jadhav R, Suneetha L, Kamble R, Shinde V, Devi K, Vani M, et al. "Analysis of Antibody and Cytokine Markers for Leprosy Nerve Damage and Reactions in the INFIR Cohort in India". *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5: e977.
98. Sampaio LH, Stefani M, Oliveira R, Sousa A, Ireton G, Reed S, et al. "Immunologically reactive *M. leprae* antigens with relevance to diagnosis and vaccine development". *BMC Infect Dis* 2011; 11: 26-36.
99. Mustafa AS, Lundin KE, Meloen RH, Shinnick TM, Coulson AF. "Oftung FHLA-DR4-restricted T-cell epitopes from the mycobacterial 60 000 MW heat shock protein (hsp 60) do not map to the sequence homology regions with the human hsp 60". *Immunology* 1996; 87: 421-427.
100. Patil SA, Girdhar BK, Singh KP, Sengupta U. "Detection of *mycobacterium leprae* antigens in the sera of leprosy patients by sandwich immunoradiometric assay using monoclonal antibodies". *J Clin Microbiol* 1990; 28: 2792-2796.
101. Lockwood DN, Colston MJ, Khanolkar-Young SR. "The detection of *Mycobacterium leprae* protein and carbohydrate antigens in skin and nerve from leprosy patients with type 1 (reversal) reactions". *Am J Trop Med Hyg* 2002; 66: 409-415.
102. Buhrer-Sekula S, Smits HL, Gussenoven GC, van Leeuwen J, Amador S, Fujiwara T, et al. "Simple and fast lateral flow test for classification of leprosy patients and

- identification of contacts with high risk of developing leprosy". *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1991-1995.
103. Nicholls PG, Ross L, Smith WC. "Promoting early detection in leprosy—a literature review to identify proven and potential interventions addressing patient-related delay". *Lepr Rev* 2006; 77: 298-310.
104. Lockwood DN, Suneetha S. "Leprosy: too complex a disease for a simple elimination paradigm". *Bull World Health Organ* 2005; 83: 230-235.
105. Moura RS, Calado KL, Oliveira ML, Bührer-Sékula S. "Leprosy serology using PGL-I: a systematic review". *Rev Soc Bras Med Trop* 2008; 41 Suppl 2: 11-18.
106. Roche PW, Thevenet WJ, Britton WJ. "Risk factors for type-1 reactions in borderline leprosy patients". *Lancet* 1991; 338: 654-657.
107. Bührer-Sékula S. "PGL-I leprosy serology". *Rev Soc Bras Med Trop* 2008; 41 Suppl 2: 3-5.
108. Bührer SS, Smits HL, Gussenhoven GC, van Ingen CW, Klatser PR. "A simple dipstick assay for the detection of antibodies to phenolic glycolipid-I of *Mycobacterium leprae*". *Am J Trop Med Hyg* 1998; 58: 133-136.
109. Bührer-Sékula S, Smits HL, Gussenhoven GC, van Leeuwen J, Amador S, Fujiwara T, et al. "Simple and fast lateral flow test for classification of leprosy patients and identification of contacts with high risk of developing leprosy". *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1991-1995.
110. Stefani MM, Martelli CM, Moraes-Neto OL, Martelli P, Costa MB, de Andrade AL. "Assessment of anti-PGL-I as a prognostic marker of leprosy reaction". *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1998; 66: 356-364.
111. Mshana RN, Belehu A, Stoner GL, et al. "Demonstration of mycobacterial antigens in leprosy tissues". *Int J Lepr* 1982; 50: 1-9.
112. Rodrigues LC, Lockwood DN. "Leprosy now: epidemiology, progress, challenges, and research gaps". *Lancet Infect Dis* 2011; 11: 464-470.
113. Sampaio LH, Stefani MM, Oliveira RM, Sousa AL, Ireton GC, Reed SG, et al. "Immunologically reactive *M. leprae* antigens with relevance to diagnosis and vaccine development". *BMC Infect Dis* 2011; 11: 26.
114. Maeda SM, Rotta O, Michalany NS, Camargo ZP, Sunderkötter C, Tomimori-Yamashita J. "Comparison between anti-PGL-I serology and Mitsuda reaction: clinical reading, microscopic findings and immunohistochemical analysis". *Lepr Rev* 2003; 74: 263-274.
115. Azulay RD, Azulay DR. *Dermatología*. 2^a Ed. Río de Janeiro, Guanabara Koogan, 1997: 174-189.
116. Goulart IM, Goulart LR. "Leprosy: diagnostic and control challenges for a worldwide disease". *Arch Dermatol Res* 2008; 300: 269-290.
117. Bhatia A, Katoch K, Narayanan R, et al. "Clinical and histopathological correlation in the classification of leprosy". *Int J Lepr* 1993; 61: 433-438.
118. Ramos-e-Silva M, Rebello PF. "Leprosy. Recognition and treatment". *Am J Clin Dermatol* 2001; 2: 203-211.
119. Teixeira AC, Cruvinel DL, Roma FR, Luppino LF, Reisende LHP, Sousa T, et al. "Avaliação da concordância entre exames clínicos e laboratoriais no diagnóstico da hanseníase". *Hansenol Int* 2005; 30: 89.
120. Shi L, Yajima M, Kawatsu K, Matsuoka M, Kashiwabara Y. "Comparison of polymerase chain reaction, immunohistochemistry and conventional histopathology in the diagnosis of early leprosy in Sichuan Province of China". *Jpn J Lepr* 2000; 69: 147-155.
121. Williams DL, Scollard DM, Gillis TP. "PCR-based diagnosis of leprosy in the United States". *Clin Microbiol Newslett* 2003; 25: 57-61.
122. Phetsuksiri B, Ruddeeaneeksin J, Supapkul P, Wachapong S, Mahotarn K, Brennan PJ. "A simplified reverse transcriptase PCR for rapid detection of *Mycobacterium leprae* in skin specimens". *FEMS Immunol Med Microbiol* 2006; 48: 319-328.
123. Pereira HLA, Ribeiro SLE, Ciconelli RM, Fernandes ARC. "Imaging methods evaluation in osteoarticular and peripheral nerves involvement in leprosy". *Rev Bras Reumatol* 2006; 46 Suppl 1: 30-35.
124. Martinoli C, Bianchi S, Dahmane M, Pugliese F, Bianchi-Zamorani M, Valle M. "Ultrasound of tendons and nerves". *Eur Radiol* 2004; 12: 44-55.
125. Hari S, Subramanian S, Sharma R. "Magnetic resonance imaging of ulnar nerve abscess in leprosy: a case report". *Lepr Rev* 2007; 78: 155-159.
126. Faget GH, Johansen FA, Ross H. "Sulfanilamide in the treatment of leprosy". *Public Health Rep* 1942; 57: 1892-1899.
127. World Health Organization. "Chemotherapy of leprosy for control programmes". *WHO Tech Rep Ser* 1982; 675.
128. Terencio de las Aguas J. "Estado actual de la terapéutica de la lepra". *DCMQ* 2008; 6: 118-125.