

DÉRTIA VILLALBA FREIRE-MAIA

Departamento de Genética

Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu

ERRATA
2000
2000
2000

ANÁLISE FAMILIAL DO COMPORTAMENTO
IN VITRO DOS MACRÓFAGOS HUMANOS
FRENTE AO *Mycobacterium leprae*

Tese apresentada ao Departamento de
Genética Médica da Universidade Esta-
dual de Campinas, para obtenção do
grau de Doutor em Ciências.

— 1972 —

UNIVERSIDADE DE CAMPINAS

Biblioteca Central

"A lepra é, antes de tudo, um problema de estudo e indagação científica, tantas as incógnitas etiopatogênicas, tantos os aspectos epidemiológicos obscuros que restringem ou impossibilitam o êxito das providências sanitárias".

Carlos Chagas (1936).

Ao Ademar e aos nossos filhos

Silvia Regina

Ademar Filho

Belini Augusto

Saudades de minha mãe

A meu pai

A meu irmão

A Newton Freire-Maia

Saudades de Flávia

ÍNDICE

=====

I. AGRADECIMENTOS	7
II. INTRODUÇÃO	12
II.1 - Fatores que Podem Afetar a Prevalência da Lepra	13
II.2 - Reação Tardia à Lepromina (Mitsuda)	15
II.3 - Genética e Lepra	18
II.4 - Objetivos do Presente Trabalho	26
III. MATERIAL E MÉTODOS	29
III.1 - As Famílias	29
III.2 - Lavagem e Esterilização do Material para Co leta de Sangue	33
III.3 - Preparo do Material para Cultura	33
III.4 - Coleta e Tipagem de Sangue	35
III.5 - Reações Intradérmicas (Tuberculina e Le - promina)	36
III.6 - Cultura de Macrófagos	38
III.7 - Leitura das Lâminas e Classificação das Rea ções dos Macrófagos	41
III.8 - Teste da Hipótese Genética	49
IV. RESULTADOS	52
IV.1 - Grupos Sanguíneos e Exclusão de Paternidade...	54
IV.2 - Reação de Mantoux	55

IV.3 - Reação de Mitsuda	55
IV.4 - Prova Tuberculínica Padrão e Reação Tardia à Lepromina	57
IV.5 - Comportamento dos Macrófagos	61
IV.6 - Comportamento dos Macrófagos e Reação de Man- toux	73
IV.7 - Comportamento dos Macrófagos e Reação de Mitsuda	77
IV.8 - Análise Familiar da Reação de Mitsuda	78
IV.9 - Análise Genética do Comportamento dos Ma- crófagos	84
V. DISCUSSÃO	88
V.1 - Ilegitimidade	88
V.2 - Reação de Mitsuda e Reação de Mantoux(PPD) ..	89
V.3 - Comportamento dos Macrófagos frente ao <u>M. le-</u> <u>prae</u>	91
V.4 - Comportamento dos Macrófagos, Reação de Man- toux e Reação de Mitsuda	96
V.5 - Análise Familiar da Reação de Mitsuda	97
V.6 - Análise Genética do Comportamento dos Macró- fagos	99
VI. RESUMO E CONCLUSÕES	103
VII. BIBLIOGRAFIA	107
VIII. APÊNDICE: HEREDOGRAMAS	119

I. AGRADECIMENTOS

= =====

Este trabalho pôde ser realizado graças a Deus e à colaboração desinteressada de muitas pessoas. Seria realmente impossível agradecer nominalmente a todos quantos colaboraram. No entanto, estendo os agradecimentos a todos os que, de uma forma ou de outra, me auxiliaram para a realização desta tese.

Aos doentes e seus parentes, meus sinceros agradecimentos, pois sem eles teria sido impossível realizar este trabalho.

Um agradecimento carinhoso e profundo ao esposo, chefe, amigo e colega, Ademar, que sempre soube me compreender, auxiliar, e incentivar nas dificuldades encontradas durante o desenvolvimento do trabalho. Pelas horas e dias que tive de deixar nos nosso filhos e nosso lar para dedicar-me ao trabalho. Pelo seu exemplo de pesquisador honesto, de chefe imparcial, de mestre cõnscio do seu dever, de esposo e pai dedicado, de irmão devotado e de amigo leal, muito obrigada.

Aos meus filhos, Silvia Regina, Ademar e Belini Augusto, muito obrigada pelas alegrias que me têm dado e pela compreensão das horas que tive de roubar-lhes para poder trabalhar.

Agradeço cordialmente ao Prof. Dr. Bernardo Beiguelman, Orientador desta tese, pesquisador exemplar, Professor

..... Titular e Chefe do Departamento de Genética Médica da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Agradeço-lhe a orientação, atenção, estímulo e condições que me ofereceu para realização deste trabalho. A ele ainda, a par de meu agradecimento muito sincero, a homenagem pelo alto nível de seus trabalhos científicos, particularmente na área ligada à análise genética da suscetibilidade à lepra, campo em que é autoridade mundialmente reconhecida.

Estendo os agradecimentos ainda a todas as pessoas que colaboraram mais diretamente para a realização desta tese:

Ao Prof. Dr. Luiz Marino Bechelli, Prof. Catêdrá tico de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, pelas sugestões apresentadas em relação ao plano de pesquisa e pelo interesse demonstrado no projeto.

Aos Drs. John H. Hanks, Diretor do "Leprosy Research Laboratory" (Baltimore), e Milan Tuma, do Instituto de Leprologia do Serviço Nacional de Lepra, pelo envio da lepromina pa drão, utilizada no presente trabalho.

Ao Dr. Diltor Vladmir Araujo Opromolla, Diretor Clínico do Sanatório Aimorés (Bauru, SP), pelos lepromas enviados.

Ao Dr. Shigueo Nakamura, Prof. Assistente do Deptº de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, pela realização de parte dos testes de Mitsuda e pelo treinamento dado ao nosso técnico.

Ao Dr. Hélio de Mello Malheiros, Médico-Chefe do Distrito Sanitário de Botucatu, e Sra. Neide Sanches, Visitadora San nitária do Centro de Saúde Integrado de Botucatu, pelo fornecimento do PPD.

Ao Dr. Manoel de Abreu, ex-Chefe do Dispensário de Dermatologia Sanitária de Campinas, Dr. O. Morales Moreno e Dr. Benedito O.A. Costa, Médicos do Dispensário Dermatológico de Botucatu, pela colaboração prestada.

Aos Profs. Drs. William Saad Hossne, Prof. Titular e Chefe do Deptº de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu; Mario Rubens G. Montenegro, Prof. Titular do Deptº Patologia (FCMBB); e C.D. Stamopoulos, ex-Prof. Titular do Deptº de Física da FCMBB, pelas sugestões e colaboração prestadas.

Quero agradecer particularmente à Drª Regina Pisani-Bicudo, Profª Assistente do Deptº de Genética Médica da UNICAMP, pelo interesse, coleguismo, atenção e amizade que sempre demonstrou durante a realização deste trabalho e pelas horas que passamos discutindo e estudando juntas; e ao Dr. Walter Pinto Junior, Prof. Assistente do mesmo Deptº, pela valiosa colaboração, atenção, interesse e sugestões que sempre me dedicou durante o trabalho.

Aos demais colegas e funcionários do Deptº de Genética Médica da Universidade Estadual de Campinas, que sempre souberam colaborar e incentivar.

Aos colegas do Deptº de Genética da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, que me apoiaram com sua amizade e compreensão.

Ao Sr. Pedro Gervásio Faulin, Técnico do Deptº de Genética da FCMBB, que prestou inestimável colaboração durante todo o projeto, auxiliando-me na realização das provas intradérmicas, nas culturas, e nas leituras das preparações, sempre com de-

dicação, interesse e atenção.

À Sra. Cleusa Maria Jacoia Faulin, e aos Srs. Antonio Garcia Monteiro, Hermínio Seraphim e Hélió João Listoni, Funcionários do Deptº de Genética da FCMBB, pela preparação do material de laboratório. Particularmente agradeço às Srtas. Angelina de Jesus Spernega e Carmem Helena Mamede, Escriturárias do mesmo Departamento, por terem datilografado este trabalho com grande boa vontade, eficiência e interesse.

Ao Sr. José Carlos C. Carreira, Encarregado, e aos demais funcionários da Oficina Gráfica da FCMBB, que imprimiu este trabalho. Ao Sr. Ronald Prates, Encarregado, e Motoristas da Secção de Comunicações e Transportes da FCMBB.

Aos Srs. Aristides Taglietta, Guerino Massucatto, Vitalino Taglietta, Ângelo Chiminazzo e Sras. Iurdes de Oliveira e Jacira Nascimento, Funcionários do Dispensário de Dermatologia Sanitária de Campinas, pela colaboração prestada na seleção e convocação das famílias.

Aos funcionários dos Dispensários de Dermatologia Sanitária de Campinas, Botucatu, Americana e Capivari.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e seus eminentes Diretores Científicos, Dr. William Saad Hossne e Dr. Oscar Sala, pela concessão dos auxílios que tornaram possível a realização do projeto (Processos Médicas -69/932 e Biológicas-69/931).

Aos Profs. Drs. Crodowaldo Pavan, Professor Cate^{dr}ático do Deptº de Biologia Geral da Universidade de São Paulo;

Oswaldo Frota Pessoa, Professor Adjunto e Chefe do Laboratório de Genética Humana do mesmo Departamento; e Newton E. Morton, Diretor do Laboratório de Genética de Populações da Universidade do Hawaii (USA), ilustres mestres que me iniciaram na pesquisa científica.

Aos meus pais, pela orientação recebida e pelo apoio sempre dado.

Aos amigos, que sempre souberam dar o seu incentivo, muito obrigada.

II - INTRODUÇÃO

== =====

A lepra é uma doença infecto-contagiosa de grande importância mundial, tanto sob o ponto de vista epidemiológico quanto sob o aspecto individual e humano.

De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde (1970), existiam no mundo, em 1965, mais de 10 milhões de casos de lepra, com a seguinte distribuição: 6.475.000 na Ásia, 3.868.000 na África, 358.000 na América, 52.000 na Europa, e 33.000 na Oceânia. Considerando o número estimado de pacientes em 1965, a estimativa de casos nos cinco anos subsequentes, e ainda as mortes e as altas, Bechelli (1971) e Bechelli e Martinez Domingues (1971) admitiram que o número de casos, em 1970, não seria muito diferente da estimativa de 1965.

A lepra ocorre em todo o território nacional, variando sua prevalência segundo a região geo-econômica ou a Unidade da Federação (Silveira, 1969). O número de doentes registrados, no país, em 1967, chegava a 110.000, com uma taxa de 1,3 por mil habitantes, o que colocava o Brasil entre as regiões de alta endemicidade (1:1000 habitantes). Cerca de 5.500 casos novos eram registrados por ano. Considerando-se uma média de 4 comunicantes domiciliares por doente, estimou-se em cerca de 550.000 o número de pessoas em contacto direto com doentes de lepra.

No Estado de São Paulo existiam, em 1967, cerca de 38.000 doentes (prevalência de 1,9 por 1.000), tendo sido a taxa mediana de prevalência estimada como sendo da ordem de 17,5 por 100.000 habitantes, o que colocou nosso Estado em 5º lugar dentre as Unidades da Federação (Silveira, 1969).

Talvez pelo tabu existente durante séculos, desde os tempos bíblicos, o doente de lepra sempre foi um indivíduo marcado. Sua família sofria e sofre ainda as consequências desse tabu. Há angústia dos membros da família e do paciente. A sociedade, de modo geral, os rejeita, e essa situação se reflete na vida social e profissional de todos os implicados. Embora atualmente as campanhas educativas venham sendo realizadas com maior intensidade, sente-se que o problema ainda é muito vasto. Basta dizer que, durante a fase de coleta de dados do presente trabalho, sempre se sentiu o constrangimento das famílias em relação aos seus vizinhos, pelo simples fato de um carro parar à sua porta ou alguém estranho ir visitá-los. Apesar disso, a colaboração sempre foi dada com a maior boa vontade, principalmente pelos doentes lepromatosos.

II.1 - Fatores que podem Afetar a Prevalência da Lepra

A lepra ocorre em Brancos, Negros e Amarelos, mas não existem estatísticas sobre a prevalência em diferentes grupos raciais que vivam sob condições semelhantes, não sendo válidas, consequentemente, as conclusões que possam ser tiradas em re

lação a diferenças raciais (Doull, 1962). Segundo Beiguelman (1969, 1972), apesar de existirem vários estudos a respeito da prevalência da lepra em populações, nenhum deles serve para fornecer informações de ordem genética, a não ser a indicação de que a taxa de lepromatosos tende a valores quase estáveis, mesmo em regiões nas quais ocorre alta prevalência de lepra. Isso poderia ser sugestivo de que a suscetibilidade à lepra lepromatosa fosse geneticamente determinada em uma fração da população (Beiguelman, 1972).

Alguns autores (Doull e cols., 1942; Beiguelman e cols., 1968b), usando metodologia apropriada, confirmaram que a prevalência da lepra é maior entre os homens do que entre as mulheres. Para explicarem essa diferença, várias hipóteses foram aventadas, tais como diferenças hormonais entre os sexos, maior mobilidade social ou maior probabilidade de averiguação dos homens (discussão em Beiguelman, 1969). Na realidade, não há ainda uma explicação geralmente aceita para o excesso de lepromatosos no sexo masculino, bem como para o declínio do aparecimento da doença depois da adolescência, ou o desenvolvimento da forma lepromatosa ao invés da tuberculoide (Guinto, 1965).

A doença se manifesta em qualquer idade, mas muitos trabalhos mostram que a maior suscetibilidade ocorre na faixa dos 2-10 anos e nos jovens e adultos de 15 a 30 anos (referências em Sato, 1967). Atualmente, com o emprego da sulfona no tratamento da lepra, está havendo um aumento gradual do número de afetados em idades mais avançadas (Sato, 1967).

Lowe (1937) demonstrou que os costumes (indus) de vida familiar em comum favorecem o contágio, o que poderia ser explicado, pelo menos em parte, pela pobreza e condições higiêni-

cas desfavoráveis, as quais favorecem a infecção, conforme mostra do inicialmente pelo próprio Hansen.

O clima também foi considerado como fator que poderia alterar a prevalência da lepra, mas, segundo Binford (1966), o fato de a lepra apresentar maior prevalência nos climas quentes (tropical e sub-tropical) está mais relacionado às condições de vida do que ao clima propriamente dito.

II.2 - Reação Tardia à Lepromina (Mitsuda)

A suspensão esterilizada de lepromas triturados, rica em bacilos de M. leprae mortos pelo calor, é chamada de lepromina integral, a qual é preparada pela técnica de Mitsuda, com alterações introduzidas por Hayashi (cf. Tuma, 1969). A Organização Mundial da Saúde tem se preocupado com a padronização da lepromina (ver Bechelli, 1965a), pois sabe-se que os lepromas podem variar muito quanto à quantidade de bacilos, chegando alguns a apresentarem até 10 vezes mais bacilos que outros (Hanks, 1945, 1959). Assim sendo, Hanks (1959) sugeriu: "the pooling of lepromas must be continued in order to obtain reasonable uniformity in the quality of the bacilli and the concentration of autoclaved human tissue components".

Os dados obtidos por Lechat e Hanks (1963), referentes a 16 amostras de lepromina procedentes de 10 laboratórios diferentes, mostraram uma concentração de bacilos 760 vezes maior nas leprominas mais ricas (em relação às mais pobres) e uma dife-

rença de 100 a 200 vezes o conteúdo bacilar em dois lotes da mesma origem. Esses autores propuzeram então a padronização da lepromina ("an international standard containing 3-5 per cent tissue and 160×10^6 bacilli per cc. should be attainable by proper care in pooling of lepromas").

No entanto, Hanks e cols. (1970) mostraram que a lepromina diluída possui algumas vantagens, tais como o decréscimo de falsas reações positivas, menos reações locais severas, melhor distinção entre reatores e não-reatores à lepromina, e, finalmente, economia de lepromina. Considerando a ~~aparição~~ ^{aparência} de um nódulo de 3mm de diâmetro como critério de positividade, os resultados parecem indicar que uma preparação contendo 4×10^6 de bacilos por ml é válida para se efetuar a reação de Mitsuda nos doentes, nos comunicantes e nos não-comunicantes. Aqui é importante acentuar que Hanks e cols. (1964) e Hanks (1968) publicaram uma técnica ("the pinhead method") para contagem de bacilos.

Quanto à leitura da reação tardia à lepromina, Bechelli e cols. (1963) demonstraram, em não-comunicantes, que a leitura com 35 dias permitia a observação de maior número de reações positivas e que, em caso de dúvida, ou em trabalhos de pesquisa, dever-se-ia ler também com 49 dias.

Alguns fatores podem influenciar as reações à lepromina, podendo, entre eles, serem citadas a repetição de inoculações e a sensibilização cruzada entre o M. leprae e o M. tuberculosis. Muitos estudos foram feitos a respeito deste último fator, quer em doentes tuberculosos, quer em indivíduos vacinados com BCG, ou ainda através da associação entre as provas de Mantoux, Fernandez e Mitsuda em doentes de lepra e em comunicantes. Bei -

guelman (1969), em sua revisão e discussão do assunto, concluiu: "Os resultados contraditórios observados quando se estuda a associação entre as reações à lepromina e à tuberculina devem decorrer, muito provavelmente, também da própria técnica e do material empregados pelos diferentes investigadores". Assim, por exemplo, esse autor comentou que alguns investigadores usaram o teste de Von Pirquet, enquanto outros usaram tuberculina OT, e outros ainda usaram PPD, em concentrações variadas. Vale a pena lembrar, como já foi visto, que a lepromina também sofre muita variação em sua composição.

A reação de Mitsuda, através da qual se observa a reação tardia do organismo humano a uma injeção intradérmica de lepromina, apresenta certas características interessantes. Por exemplo, é o teste intradérmico cuja leitura se faz com o mais longo prazo conhecido, não está relacionado com a presença e a quantidade de anticorpos circulantes, e a frequência de positividade aumenta com a idade dos indivíduos (Tuma, 1969).

A reação de Mitsuda é usada para fins de diagnóstico e de prognóstico porque ela é quase sempre negativa entre os lepromatosos e predominantemente positiva entre os tuberculoides, além do que aceita-se, na prática, que, em pessoas saudáveis, pelo menos as respostas positivas mais intensas (++, +++) indicam que, em caso de contágio, elas estarão livres da forma lepromatosa. Por outro lado, repetidas reações negativas em comunicantes indicam maior probabilidade de desenvolvimento dessa forma polar da doença.

Vários autores estudaram a reação tardia à lepromina histologicamente (revisão em Beiguelman 1969, 1971, 1972).

Os trabalhos de Bechelli e cols. (1959), Azulay e cols. (1960) e Andrade (1962) demonstraram que, em doentes, de modo geral, há correspondência entre o aspecto histológico e a leitura clínica da reação de Mitsuda (positiva e negativa). As reações duvidosas apresentam, de modo geral, aspecto histológico negativo. No entanto, nos sadios comunicantes essa correspondência não é tão evidente. Há geralmente correspondência clínica e histológica entre as reações positivas, mas entre as reações duvidosas e negativas o mesmo não ocorre. Bechelli e cols. (1959) consideraram três classes de reações histológicas (negativa, falando a favor de reação positiva, e positiva). Já os outros autores não discriminam a classe que fala a favor da positividade, considerando-a como reação positiva (Azulay e cols., 1960; Andrade, 1962).

II.3 - Genética e Lepra

A hipótese de que a lepra fosse hereditária foi defendida por Danielssen e Boeck (1848), através da análise de 213 pacientes e suas famílias, estudadas através de quatro gerações. Entretanto, com a descoberta do bacilo da lepra, em 1874, por Armauer Hansen, a teoria de que a lepra fosse hereditária caiu por terra. Não havia dúvida de que a lepra era uma doença infecciosa. Porém, August Hirsch, em seu livro "Handbook of geographical and historical pathology" (cf. Doull, 1962) considerou provável que a predisposição à lepra fosse hereditária, embora a doença em si não

o fosse.

Vários marcadores genéticos, especialmente grupos sanguíneos, foram estudados em relação à lepra. Assim, desde 1927/28, algumas dezenas de trabalhos procuraram encontrar alguma associação entre lepra e os diferentes tipos do sistema ABO (revisões em Salzano, 1967, e Vogel e cols., 1971). Dentre esses inúmeros trabalhos, alguns se referem a populações brasileiras (Beiguelman, 1963, 1964a; Salzano e cols., 1967).

Vogel e cols. (1971), em recente revisão sobre 41 séries de dados da literatura a respeito da associação entre grupos sanguíneos ABO e lepra, e perfazendo um total de aproximadamente 16.000 doentes e 400.000 indivíduos como controle, encontraram um pequeno, mas significativo, excesso na frequência dos grupos A e AB quando comparados com B e O nos pacientes com lepra. Os grupos A, B e AB mostraram-se também ligeiramente mais frequentes nos lepromatosos quando comparados com os não-lepromatosos. Deve-se notar que muitas séries de dados, analisados individualmente, não mostraram diferenças significativas (posteriormente à revisão de Vogel e cols., Saha e cols., 1971, em chineses, também não encontraram associação entre ABO e lepra).

Comentando as diferenças de resultados obtidos por alguns autores, Beiguelman (1967) sugeriu a possibilidade de erros técnicos ou de amostragem. Assim, por exemplo, para serem comparados aos dados de lepromatosos, os resultados referentes ao grupo usado como controle devem provir de amostras que se assemelhem ao grupo de doentes na proporção de testes lepromínicos positivos e negativos, nos grupos raciais e nas distribuições de sexo e idade. Deve-se levar em conta ainda se a lepra foi diagnosticada por exame clínico ou por exame superficial, e, relativamente aos gru-

pos sanguíneos, como os indivíduos foram testados, se com hemácias lavadas ou não, e se foram pesquisadas aglutininas do soro.

Em relação ao sistema Rh, excetuando-se Lessa (1954), não foi encontrada nenhuma associação entre o fenótipo Rh-(dd) e lepra (Beiguelman, 1963; Yankah, 1965; Salzano e cols., 1967; Lechat e cols., 1968a). Uma possível deficiência dos genótipos cc e EE nos doentes foi encontrada por Lechat e cols. (1968a), mas não por Salzano e cols. (1967).

O sistema MNSs foi pouco estudado. Salzano e cols. (1967) não encontraram nenhuma associação com a lepra, mas Lechat e cols. (1968a), encontraram um excesso de M e deficiência de Ss entre os doentes lepromatosos.

A sensibilidade gustativa à fenil-tio-uréia (PTC) também foi investigada (Beiguelman, 1962a, 1964b, c, Beiguelman e Marques, 1964), indicando associação entre a sensibilidade à PTC e lepra. Assim, a frequência de insensíveis entre os doentes mostrou-se significativamente menor que a observada entre sadios (Beiguelman, 1969).

Outros marcadores genéticos foram investigados com relação à lepra (revisão em Beiguelman, 1967, 1969, 1972). Relativamente às proteínas séricas, Lechat e cols. (1968b) foram os únicos autores a mostrarem uma possível diferença (excesso do alelo H_p^1 nos doentes), diferença essa que não havia sido encontrada anteriormente (Schwantes e cols., 1967). Beiguelman e cols. (1966, 1968c), Lechat e cols. (1968b) e Saha e cols. (1971) não encontraram associação entre deficiência de G6PD e lepra lepromatosa. Também não foi demonstrada associação entre lepra e hemoglobinas anormais (Wood, 1956; Saha e cols., 1971).

Além da procura de eventuais efeitos pleiotrópicos dos marcadores genéticos, também foram feitos estudos sobre as taxas de concordância da lepra em gêmeos (Keil, 1939; Kinnear-Brown e Stone, 1958; Spickett, 1962b; Mohamed Ali, 1965; Mohamed Ali e Ramanujam, 1966). Segundo Doull (1962), desde que Hirsch levantou a hipótese de que a predisposição à lepra era hereditária, até aquele momento, havia muito poucas evidências de que ela o fosse. Em alguns casos de infecção, havia concordância do tipo e curso clínico da doença em gêmeos supostamente idênticos.

Reunindo dados da literatura sobre lepra e gêmeos, Spickett (1962b) observou 6 pares MZ similares quanto à forma da doença, e 4 pares similares e 3 dissimilares entre os DZ, tendo concluído ser o grau de concordância "highly suggestive of a genetic influence on the form of the disease". Beiguelman (1969, 1971) criticou essa conclusão, uma vez que não foi investigada a zigosidade, além do que foram considerados como concordantes dois pares de gêmeos que não manifestaram a doença.

Embora haja uma discrepância de resultados concernentes aos gêmeos dizigóticos, entre o primeiro e o segundo trabalhos, Mohamed Ali (1965) e Mohamed Ali e Ramanujam (1966) realizaram investigações satisfatórias, embora não ideais, a respeito da zigosidade dos gêmeos estudados. No entanto, não apresentaram definição dos quadros clínicos dos pacientes classificados como não-lepromatosos (cf. Beiguelman, 1969). No trabalho ampliado (Mohamed Ali e Ramanujam, 1966), foram descritos 5 pares DZ discordantes, e 23 pares MZ, dos quais 17 mostraram concordância quanto ao tipo de lepra. Além de se referir às deficiências acima apontadas, Beiguelman (1969, 1972) comentou que esses dados, embora

não estejam em oposição à hipótese de um componente genético na suscetibilidade à lepra, não servem para provar a participação genética nesse sentido.

Além das pesquisas sobre eventuais efeitos pleiotrópicos dos marcadores genéticos em relação à lepra, e dos estudos sobre gêmeos, também foram feitas análises familiares, tanto considerando-se os tipos de lepra envolvidos (Beiguelman e cols., 1968; Beiguelman, 1969) quanto o comportamento dos indivíduos doentes (Beiguelman, 1965a) e sadios em relação à lepromino-reação (Beiguelman, 1962b, 1969, 1971; Beiguelman e Quagliato, 1965).

Fazendo uma revisão dos trabalhos existentes sobre a incidência de lepra em diferentes regiões, Spickett (1962a,b) sugeriu que a variação encontrada seria, em parte, devida a diferenças genéticas ("The evidence suggests that populations vary in their susceptibility to the disease and that this variation is in part due to genetic differences, expressed as differences in gene frequency and manifestation"). Reanalizando a lepra familiar em duas grandes genealogias, concluiu: "The evidence suggests that susceptibility of the body to invasion by M. leprae is controlled by a single irregularly dominant gene, and in one population this gene has a penetrance of 83,3%".

Beiguelman (1967, 1969, 1971) criticou o método de análise genealógica das formas polares de lepra, através de genealogias publicadas na literatura, pois elas podem ter sido selecionadas por causa de certas situações clínicas. Além disso, o método não é indicado para doenças que têm, como a lepra, uma alta prevalência populacional e um longo período de incubação.

Beiguelman e cols. (1968a) concluíram ser a

lepra uma doença familiar, uma vez que não se mostrou casual a concentração de doentes nas irmandades. Aplicando o método de análise de pares de irmãos, confirmaram que a distribuição das formas polares de lepra era um caráter familiar, não se podendo excluir a intervenção de um componente genético na sua manifestação. Mas, a hipótese monogênica (Miguez-Alonso, 1966), segundo a qual as formas polares de lepra ocorrem em indivíduos homozigotos e os dimorfos são heterozigotos, não pode ser aceita (Beiguelman, 1969, 1971).

A hipótese de que a suscetibilidade à lepra fosse devida a um gene ligado ao sexo foi discutida por Beiguelman (1969), o qual concluiu pela não aceitação da hipótese, apesar de a doença incidir mais frequentemente em indivíduos do sexo masculino. Essa diferença sexual talvez pudesse ser explicada por diferenças hormonais ou maior exposição, e, portanto, maior probabilidade de contágio dos homens, ou ainda maior probabilidade de averiguação dos homens afetados (Beiguelman e cols., 1968b).

Poucos autores estudaram a suscetibilidade genética à lepra através da análise familiar do teste lepromínico (Beiguelman, 1962b, 1965a; 1971; Beiguelman e Quagliato, 1965). Através da análise de 320 famílias não-comunicantes, com 1.204 filhos, ficou demonstrada uma associação familiar para a reação de Mitsuda. Tendo em vista que tais dados tornavam atraente supor uma hipótese monogênica, segundo o qual a reação negativa à lepromina seria devida à homozigose de um alelo recessivo com penetrância incompleta, Beiguelman (1965a) testou essa hipótese em 130 casais com pelo menos um cônjuge doente de lepra. Nesse trabalho ficou demonstrado que, nas famílias em que apenas um dos cônjuges era doente (tuberculoide ou lepromatoso), a hipótese monogênica podia ser aceita. No entanto, nas famílias em que ambos os cônjuges eram le

promatosos, 31% dos filhos eram Mitsuda positivos (++, +++), o que contrariava a hipótese, pois seria de se esperar que todos os filhos fossem Mitsuda negativo.

Beiguelman (1967, 1968a) apresentou algumas crí-ticas à hipótese monogênica, a principal das quais é que não se havia ainda demonstrado sequer a herdabilidade do caráter. A de-monstração de que a reação de Mitsuda apresenta um padrão familiar (Beiguelman, 1962b; Beiguelman e Quagliato, 1965) é uma condição necessária, mas não suficiente, como prova da existência de um componente genético (Beiguelman, 1967; ver também Beiguelman, 1969, 1971). O método de análise de gêmeos parecia pois ser indicado para o estudo de um eventual fator genético na reação de Mitsuda.

Beiguelman (1969, 1971) realizou um estudo em uma amostra constituída por 128 pares de gêmeos, sendo 20 : pares MZ masc., 18 MZ fem., 28 DZ masc., 24 DZ fem. e 38 DZ de sexos dife-rentes. Nesse estudo, foram feitos testes de Mitsuda, de Fernandez e de Mantoux. A análise dos dados mostrou não haver diferença sig-nificativa entre os pares MZ e DZ, relativamente às variâncias totais, variâncias dentro dos pares e coeficientes de correlação intra-classes (Beiguelman, 1969, 1971). Segundo esse autor, as rea-ções de Mitsuda, de Fernandez e de Mantoux dependem principalmen-te da influência do meio ambiente "devendo, por isso, a reação de Mitsuda ser considerada como um caráter não-genético" (Beiguelman, 1969). Segundo êle, porém, essa conclusão estaria em contradição com os resultados que mostraram maior taxa de concordância da forma clínica de lepra em MZ quando comparados com DZ (Mohamed Ali, 1965; Mohamed Ali e Ramanujam, 1966), resultados êsses que suge -

riam ter o caráter uma base genética. Embora paradoxal, essa situação poderia ser apenas aparente, e decorrer da dificuldade existente em se distinguir, na reação de Mitsuda, entre o que é alérgico e o que não é (Beiguelman, 1969).

Benewolenskaja (1932) parece ter sido quem, pela primeira vez, descreveu a capacidade fagocítica de macrófagos humanos in vitro frente ao M. leprae. Mais tarde, Hanks (1947a, b, c) trabalhou com culturas de tecidos de lepromatosos e de tuberculoides, mostrando que, nesses casos, ocorria degeneração dos macrófagos, e os bacilos se acumulavam nas massas necróticas.

Beiguelman (1966, 1968a) observou que in vitro os macrófagos dos doentes de lepra fagocitavam os bacilos do M. leprae. Após a fagocitose, esses macrófagos se comportavam de modo diferente conforme proviessem de indivíduos com lepra lepromatosa ou tuberculoide. Nos lepromatosos, os bacilos se mantinham aparentemente intactos mesmo após três semanas de incubação, enquanto nos tuberculoides encontrava-se lise bacilar, revelada pela presença de bacilos fragmentados, restos bacilares e coloração tênue.

Considerando-se os indivíduos que não lisam o M. leprae como não-lisadores e os que lisam como lisadores (Beiguelman, 1965a, b; Beiguelman e Quagliato, 1965), tanto os lisadores quanto os não-lisadores incluiriam indivíduos com diferentes graus de capacidade de lise do M. leprae ("teoria do limiar de lise", de Beiguelman, 1969, 1971).

Delville (1971), estudando o comportamento dos macrófagos humanos in vitro, frente ao M. leprae, em não-comunicantes, observou que em todas as culturas havia sinais de digestão ba

cilar, mas que havia marcantes diferenças quantitativas, bem como diferenças no tempo gasto para a digestão. Comentou ainda: "It seems as though the enzymatic digestive mechanism in the cell is released by a threshold phenomenon".

Beiguelman (1969, 1971) admitiu a possibilidade de ser a capacidade lisogênica dos macrófagos um caráter genético que, em geral, só se expressa clinicamente sob a ação de fatores do meio ambiente. Em resumo, a capacidade lisogênica seria hereditária, mas a reação de Mitsuda, não.

II.4 - Objetivos do Presente Trabalho

Conforme foi visto, a lepra é uma doença de grande importância em saúde pública, tanto sob o ponto de vista populacional, quanto familiar e individual. Embora se manifeste em decorrência de uma infecção pelo M. leprae, alguns fatos e evidências parecem falar a favor de uma diferença individual em relação ao grau de manifestação da doença. Na rápida revisão do assunto, aqui apresentada, foram citados muitos trabalhos realizados com a finalidade de desvendar o mecanismo que controla a suscetibilidade dos indivíduos a desenvolverem a lepra. Algumas conclusões de ordem geral podem ser tiradas da revisão apresentada:

1) Os indivíduos que se contagiam com o M. leprae apresentam diferentes formas clínicas classificadas em dois tipos polares (lepromatoso e tuberculoide) e em dois grupos interpolares (indetermina

do e dimorfo).

- 2) Existe associação familiar dos tipos polares de lepra.
- 3) Os tipos polares de lepra dão reações específicas e opostas ao teste de Mitsuda.
- 4) Foi encontrada pouca ou nenhuma associação entre marcadores ge néticos e lepra.
- 5) As respostas ao teste de Mitsuda mostram uma associação fami -
lial.
- 6) Nos tipos polares da doença, o comportamento dos macrófagos in
vitro frente ao M. leprae é diferente.
- 7) Entre os comunicantes sadios de doentes de lepra, encontram-se
pessoas que, apesar de terem estado em contacto com o M. leprae
ou com o M. tuberculosis, não dão jamais reações positivas ao tes
te de Mitsuda.
- 8) A capacidade de lise, inata ou adquirida, seria variável de um
indivíduo para outro.
- 9) É possível que a capacidade de lise ou a predisposição a ela
seja um carácter determinado geneticamente.

Considerando-se principalmente a possibilidade de ser o comportamento dos macrófagos humanos um carácter genético (Beiguelman, 1969, 1971), a autora se propôs a estudar, no presente trabalho, o comportamento dos macrófagos frente ao M. leprae em famílias de doentes de lepra. Com isso, procurou testar a hipótese de ser o comportamento dos macrófagos um carácter familiar, e, em caso afirmativo, analisar também se a capacidade lítica poderia ser explicada por uma hipótese genética simples (monogênica).

A par disso, e aproveitando as sub-amostras de

lepromatosos, tuberculoides e comunicantes, foram analisadas as reações de Mitsuda e de Mantoux, o padrão familiar da reação de Mitsuda, e as eventuais associações entre prova tuberculínica padrão e reação tardia à lepromina, comportamento dos macrófagos e reação de Mitsuda, e comportamento dos macrófagos e reação de Mantoux.

III. MATERIAL E MÉTODOS

== ===== = =====

III.1 - As Famílias

A seleção das famílias para coleta de sangue e inoculação de lepromina e de tuberculina (PPD) foi feita a partir dos arquivos dos Dispensários de Dermatologia Sanitária de Botucatu e de Campinas, nos quais constava a forma clínica dos doentes de lepra. Após a seleção, foram feitas visitas domiciliares, tanto para a coleta de sangue, quanto para a inoculação de antígenos.

Os critérios estabelecidos para a seleção das famílias foram os seguintes:

1) utilização de casais em que pelo menos um dos cônjuges apresentava um dos tipos polares de lepra, a fim de que as reações de Mitsuda negativas e positivas dos troncos familiares ficassem plenamente estabelecidas.

2) utilização preferencial de casais com filhos maiores de 12 anos, visto que a partir dessa idade a probabilidade de a reação de Mitsuda se expressar positivamente é maior (Favero, 1948; Guinto e cols., 1955; Beiguelman, 1962b; Beiguelman e Quagliato, 1965).

3) inclusão apenas de casais caucasoides, a fim

de homogeneizar a amostra. Isto não impediu, contudo, que fossem incluídos dois brancos segregantes, ou seja, com ancestrais ne - groides (0,8%).

A Tab. III.1 fornece dados para a melhor caracte_rização da amostra estudada, que consistiu de 35 famílias, assim distribuídas: 11 (31,4%) em que ambos os cônjuges apresentavam lepra lepromatosa (L x L), 14 (40,0%) em que um tinha lepra lepromatosa e o outro era sadio (L x S), 5 (14,3%) em que um apresentava lepra lepromatosa e o outro lepra tuberculoide (L x T), 5 (14,3%) em que um tinha lepra tuberculoide e o outro era sadio (T x S). De acordo com a Tab. III.1, verifica-se que a maioria das famílias procedeu de Campinas (31,4%) e de Americana (25,7%).

Quanto à profissão do marido, havia 1 comerciante, 3 pequenos industriais, 12 lavradores, 6 pedreiros, e 13 com profissões variadas, do tipo motorista, ambulante, tratorista, etc.

Quanto ao grau de instrução dos cônjuges, verificou-se que 22 eram analfabetos, 25 liam sofrivelmente e que 21 haviam feito apenas curso primário completo. Não houve informação a respeito de 2 cônjuges.

A Tab. III.2 mostra a distribuição da nacionalidade dos avós paternos e maternos dos cônjuges, onde se vê que 54,1% dos ancestrais dos cônjuges são italianos, 28,2% são brasileiros, 9,8% são portugueses e 10,6% são de outras origens (espanhola, alemã, australiana e africana).

TABELA III.1 - DISTRIBUIÇÃO DAS FAMÍLIAS DE ACÓRDO COM O TIPO DE CASAL E O LOCAL DE RESIDÊNCIA (L = lepromatoso; T = tuberculóide; S = sadio).

Residência	C a s a l i s				Total
	TxS	LxS	LxT	LxL	
Americana	2	1	3	3	9
Botucatu	-	7	-	-	7
Campinas	2	5	1	3	11
Capivari	1	1	1	-	3
Cosmópolis	-	-	-	2	2
Sumaré	-	-	-	1	1
Valinhos	-	-	-	2	2
Total	5	14	5	11	35

TABELA III.2 - NACIONALIDADE DOS AVÓS DOS 35 CÔNJUGES.

País	Marido			Mulher			Casais
	Paternos	Maternos	Total	Paternos	Maternos	Total	
Brasil	19	24	43	15	16	31	74
Itália	40	36	76	32	30	62	138
Portugal	6	2	8	9	8	17	25
Espanha	1	2	3	2	2	4	7
Alemanha	2	2	4	2	3	5	9
Austria	-	-	-	2	-	2	2
Não inf.	2	4	6	8	11	19	25

III.2 - Lavagem e Esterilização do Material para Coleta de Sangue

O material para coleta de sangue foi lavado com detergente e passado sucessivamente em água corrente, água destilada, solução tampão de Sørensen (tampão de fosfato, M/15, pH 7), água destilada e água desionizada. Depois de seco, o material foi embrulhado em papel tipo Kraft e colocado em forno Pasteur a 180°C por 2 horas a fim de ser esterilizado. No caso de se tratar de vidros novos, tomou-se o cuidado de os colocar em solução sulfo-crômica por 12 horas, antes da lavagem.

III.3 - Preparo do Material para Cultura

- a) Lamínulas - As lamínulas usadas para introdução nos tubos de Leighton, medindo 12 x 32mm, foram lavadas com água comum e solução de álcool-éter a 50%, enxugadas com gaze estéril e colocadas em estufa de secagem.
- b) Tubos de Leighton - Os tubos de Leighton novos foram tratados com solução sulfonítrica, fervidos com detergente, lavados 3 vezes com água destilada e outras tantas com água desionizada, vedados e autoclavados a seco, durante 15 minutos, a 1,5 atmosfera. A seguir, foram colocados 2,5 ml de solução fisiológica de Hanks e sôro bovino na proporção de 3:1 e foram mantidos em estufa (37°C) por uma semana, trocando-se o meio 2 a 3 vezes. Após essa fase,

foram lavados como tubos usados, isto é, foram fervidos com detergente por 30 minutos, passando 2 a 3 vezes consecutivas em água corrente, e em seguida, em solução tampão de Sørensen, água desionizada e solução de silicone a 2% em toluol. Foram postos a secar em estufa por 12 horas, no mínimo. Depois de as lamínulas serem introduzidas, os tubos foram embrulhados em papel tipo Kraft e colocados em forno Pasteur a 180°C, por 2 horas.

c) Rolhas de borracha - As rolhas de borracha novas foram mergulhadas sucessivamente em NaOH N/2 por 15 minutos, água de torneira 2 a 3 vezes, e solução tampão de fosfato de Sørensen (M/15, pH 7). A seguir foram fervidas em solução de HCl N/2 durante 10 a 15 minutos e lavadas, sucessivamente, em água destilada, tampão de Sørensen, água destilada e água desionizada. Depois de secas, foram acondicionadas em placas de Petri envolvidas com papel tipo Kraft e esterilizadas em autoclave. As rolhas usadas foram colocadas em água de torneira por 12 horas, fervidas por 10 a 15 minutos em água destilada, passadas em solução tampão de Sørensen, água destilada e água desionizada.

d) Pipetas Pasteur - Os tubos de vidro destinados à preparação de pipetas tipo Pasteur foram colocados em solução sulfo-crômica por 12 horas, lavados em água corrente e passados por solução tampão de Sørensen, água destilada, e água desionizada. Depois de secos, foram estirados, e as pipetas foram tratadas com solução de silicone a 2% em toluol, postas em estufa durante um mínimo de 12 horas, acondicionadas em papel tipo Kraft, após vedação das aberturas com algodão e papel de alumínio, e esterilizadas em forno Pasteur a 180°C por 2 horas.

III.4 - Coleta e Tipagem de Sangue

Foram coletados, de cada indivíduo, 15 ml de sangue venoso, 10 dos quais foram transferidos para um tubo estéril, vedado com papel de alumínio, contendo 1 ml de citrato de sódio a 4%.

Os 5 ml restantes foram divididos, em partes iguais, em 2 frascos, um contendo 0,3 ml de uma solução de oxalato de potássio a 4% e o outro contendo 0,3 ml de EDTA a 2,72%. O sangue do primeiro frasco foi utilizado para tipagem sanguínea, sendo que o do segundo foi tratado com uma solução de citrato-glicérol-fosfato para manutenção a menos 15°C, segundo as técnicas usuais (Stratton e Renton, 1958), para eventuais repetições de tipagens.

A determinação dos grupos sanguíneos do sistema ABO foi feita com o auxílio de 3 soros (anti-A, anti-B, anti-AB); a do sistema MNSS, com o emprego de 2 soros (anti-M e anti-N) e a do sistema Rh, com o auxílio de 4 soros (anti-D, anti-C, anti-E, anti-c), empregando-se anti-CD e anti-CDE como soros auxiliares.

Em casos em que os resultados das determinações levaram à suspeita de ilegitimidade, os grupos sanguíneos foram reverificados com o auxílio de provas inversas, no caso do sistema ABO, e do teste indireto de Coombs, no caso do sistema Rh.

III.5 - Reações Intradérmicas (Tuberculina e Lepromina)

A tuberculina utilizada no presente trabalho, para execução da prova tuberculínica padronizada, foi do tipo PPD, tendo sido usada a partida Rt 23 2UT - Tween 80, que é a partida atualmente usada em todo o mundo (Comissão Técnica da Campanha Nacional contra a Tuberculose, 1968; Motta, 1970; Miranda, 1971). A lepromina procedeu do Instituto de Leprologia do Serviço Nacional de Lepra (Guanabara), constando que a mesma tinha uma concentração de 4×10^6 bacilos por ml. A lepromina utilizada durante todo o trabalho procedeu de uma mesma partida (72).

A inoculação intradérmica de 0,1 ml de PPD foi feita sempre na região anterior do antebraço esquerdo e as leituras clínicas das reações intradérmicas foram feitas com 72 horas, de acordo com recomendação da Comissão Técnica da Campanha Nacional contra a Tuberculose (1968). As leituras foram sempre feitas por um técnico (Sr. Pedro Gervásio Faulin), especialmente treinado para essa finalidade.

A classificação da prova tuberculínica padrão (Tab. III.3) obedeceu à segunda recomendação apresentada pela Comissão Técnica da Campanha Nacional contra a Tuberculose (1968).

A região anterior do braço direito foi sempre usada para a inoculação intradérmica de 0,1 ml de lepromina, e as leituras das respostas foram efetuadas 21, 35, e 49 dias após a inoculação, segundo recomendação do Prof. Dr. Luiz Marino Bechelli, Chefe da Unidade de Leprologia da Organização Mundial de Saúde (cf.

TABELA III.3 - CRITÉRIOS DE INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DA PROVA TUBERCULÍNICA PADRONIZADA COM PPD.*

Classe	Reação Tuberculínica Padronizada
Não Reatores (nr)	0-4 mm: indivíduos não infectados pelo <u>M. tuberculosis</u> (reações inespecíficas)
Reatores fracos (r)	5-9 mm: indivíduos já infectados pelo <u>M. tuberculosis</u> (reações específicas)
Reatores fortes (R)	10 mm: indivíduos infectados pelo <u>M. tuberculosis</u> em condições naturais (reações praticamente sempre específicas)

(*) Segundo a 2ª Recomendação da Comissão Técnica da Campanha Nacional Contra a Tuberculose (1968).

Organização Mundial da Saúde, 1970), e do Dr. Shigueo Nakamura, do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP. Essas leituras clínicas foram efetuadas por técnicos do nosso Departamento e pelo Dr. Shigueo Nakamura ou por um técnico do Dispensário de Dermatologia Sanitária de Campinas. Em todas as situações, as medidas foram tomadas em milímetros, registrando-se sempre o maior diâmetro observado.

A classificação utilizada (Tab. III.4) foi a recomendada pelo Congresso Internacional de Leprologia de 1953 (Madrid).

III.6 - Cultura de Macrófagos

Todas as culturas foram iniciadas após um intervalo de cerca de 24 horas e, durante o tempo transcorrido entre a coleta do material e o início da cultura, o sangue foi mantido em geladeira.

Após centrifugação do sangue por 20 minutos a 1500 rpm, a fim de que se obtivesse uma camada de leucócitos sobre as hemácias, retirou-se o plasma e colocaram-se 2 gotas de cloreto de cálcio a , deixando-se em repouso por 15 minutos, até se formar um coágulo, o qual foi retirado com o auxílio de uma pipeta em alça e colocado em uma placa de Petri com solução fisiológica de Hanks preparada da maneira usual. O coágulo foi lavado com solução fisiológica de Hanks até se retirar o excesso de hemácias, e, em seguida, foi cortado em pequenos fragmentos, os quais fo-

TABELA III.4 - CLASSIFICAÇÃO DAS REAÇÕES TARDIAS A LEPROMINA*.

Classe	Reação Tardia (Mitsuda)
-	ausência de reação;
$\pm$	infiltração discreta com menos de 3 mm de diâmetro;
+	infiltração franca, pápula ou nódulo, com 3 a 5 mm de diâmetro;
++	infiltração nodular com mais de 5mm de diâmetro;
+++	infiltração ulcerada;

(*) Segundo a recomendação do Congresso Internacional de Leprologia de 1953 (Madrid).

ram lavados, novamente, com solução fisiológica de Hanks e transferidos para os tubos de Leighton estéreis, contendo uma lamínula no seu interior. De modo geral, a cada pessoa examinada corresponderam 5 tubos. Em cada tubo foram adicionados 1,5 ml de meio de cultura, contendo 40% de sôro de vitelo inativado a 56°C e esterilizado em filtro Seitz, e 60% de solução fisiológica de Hanks, acrescentando-se penicilina e estreptomicina na quantidade de 100 U.I./ml e 100 µg/ml, respectivamente. Após 5 dias, procedeu-se à inoculação de 0,05 ml de uma suspensão de bacilos, diluída 4 vezes a partir de uma suspensão-mãe contendo aproximadamente 35×10^6 bacilos por ml, preparada a partir de lepromas obtidos no Sanatório Aimorés, por gentileza do Dr. Diltor Vladmir Araujo Oppromella. A contagem de bacilos foi feita pela técnica descrita por Hanks e cols. (1964), e Hanks (1968). Os lepromas foram autoclavados por 30 minutos a 1,5 atmosfera, triturados num graal com solução fisiológica de Hanks, filtrados em gaze e conservados em geladeira até o momento de inoculação.

O meio de cultura foi trocado cada 4 dias até o final da cultura. Com 5, 10, 15, 20 e 30 dias após a inoculação, uma lamínula com o material de cada cultura foi fixada em metanol, por 5 minutos, procedendo-se à coloração dos bacilos pela fucsina fenicada e de fundo pelo azul de metileno de Kühne.

III.7 - Leitura das Lâminas e Classificação das Reações dos Macrófagos

As leituras das lâminas foram feitas procurando-se observar as características abaixo discriminadas, cada uma das quais foi classificada segundo tres alternativas, ou seja: ausentes, raros e numerosos, com exceção da vacuolação do citoplasma, em que as alternativas eram ausentes, discretas, moderada e intensa (ver Figs. III-1 a III-6):

1. Macrófagos aglomerados;
2. Macrófagos em sincício;
3. Gigantócitos;
4. Células "epitelioides";
5. Macrófagos em degeneração
6. Núcleos picnóticos isolados;
7. Vacuolação do citoplasma;
8. Bacilos íntegros intracelulares;
9. Fragmentos bacilares;
10. Imagem negativa de bacilos;
11. Bacilos e/ou fragmentos em massas necróticas.

As lâminas foram lidas e classificadas em teste cego pela autora e por um técnico, adotando-se os seguintes critérios para a classificação das reações dos macrófagos em presença do M. leprae:

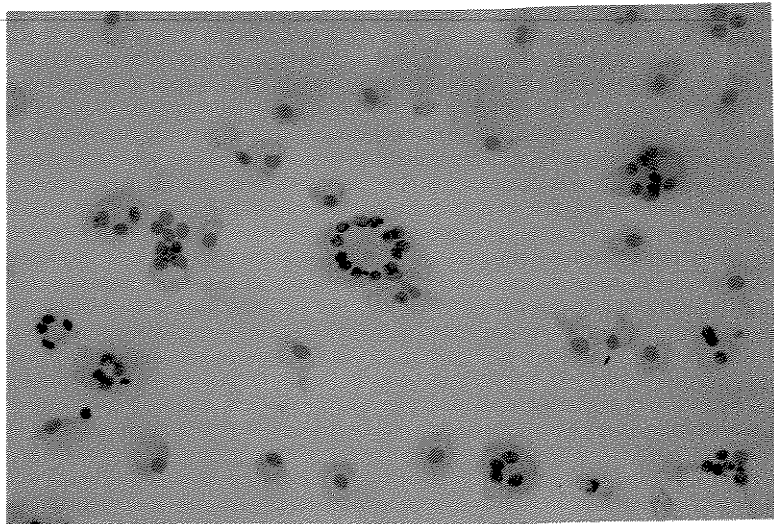


FIGURA III-1

Aspecto geral de uma preparação de um lisador, com 5 dias de inoculação do M. leprae, observando-se células multinucleadas (tipo corpo estranho e tipo Langhans) e células isoladas. Foto obtida com ocular 12,5 e objetiva 16, usando-se filme Agfacolor CNS 35 mm, ampliada para 7 x 10 cm.

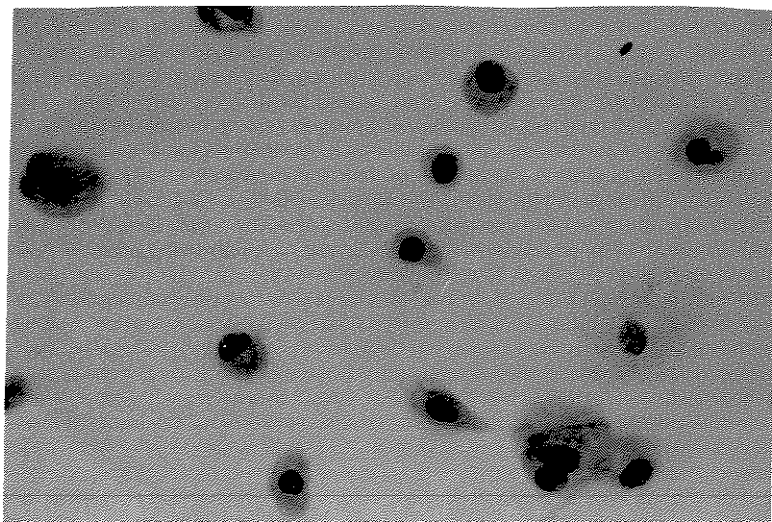


FIGURA III-2

Aspecto geral encontrado numa cultura de um lisador, com 30 dias de inoculação do M. leprae, vendo-se gigantócitos, macrófagos e células "epitelioides". Foto obtida com ocular 12,5 e objetiva 40, usando-se filme Agfacolor CNS 35 mm, ampliada para 7 x 10 cm.

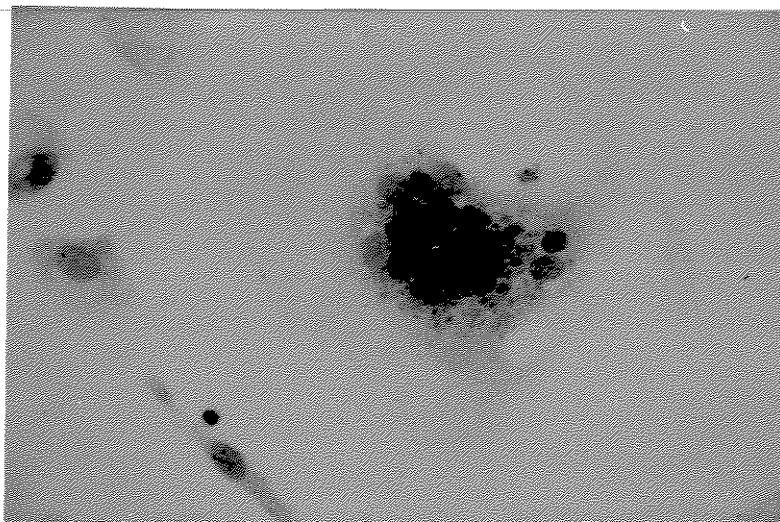


FIGURA III-3

Gigantócito de uma cultura de lisador, com 5 dias após a inoculação do M. leprae, vendo-se numerosos bacilos íntegros intracelulares. Foto obtida com ocular 12,5 e objetiva 40, usando-se filme Agfacolor CNS 35 mm, ampliada para 7 x 10 cm.

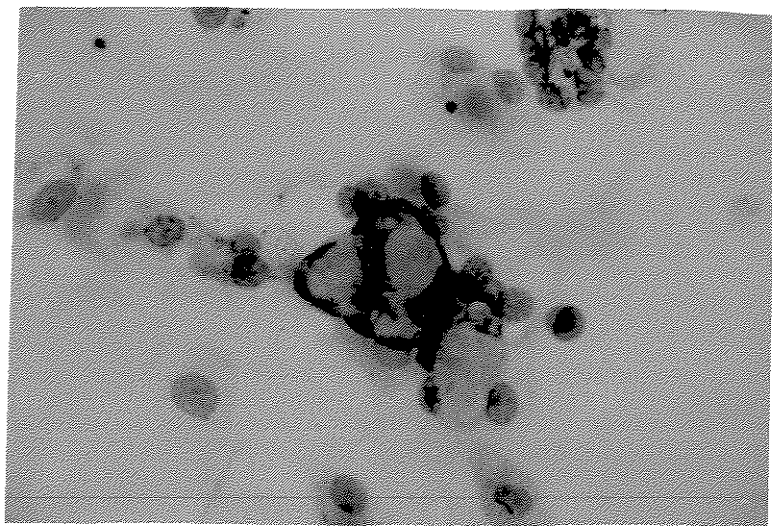


FIGURA III-4

Aspecto de uma cultura de um lisador, com 30 dias após a inoculação do M. leprae, vendo-se um gigantócito, apresentando grandes vacúolos contendo restos bacilares (pontos avermelhados) e material amorfo roseo (bacilos lisados). Foto obtida com ocular 12,5 e objetiva 40, usando-se filme Agfacolor CNS 35 mm, ampliada para 7x10cm.

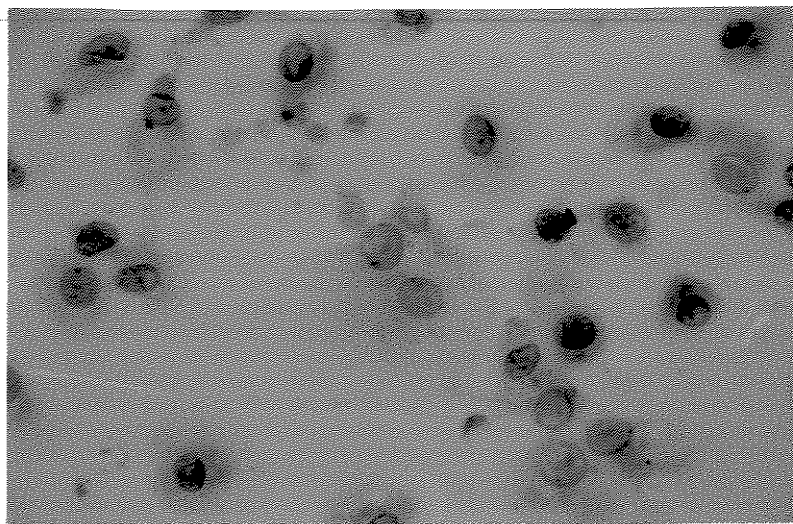


FIGURA III-5

Aspecto geral da cultura de um não-lisador, com 30 dias após a inoculação do M. leprae, observando-se macrófagos isolados, com numerosos bacilos íntegros no seu interior. Foto obtida com ocular 12,5 e objetiva 40, usando-se filme Agfacolor CNS 35 mm, ampliada para 7 x 10 cm.

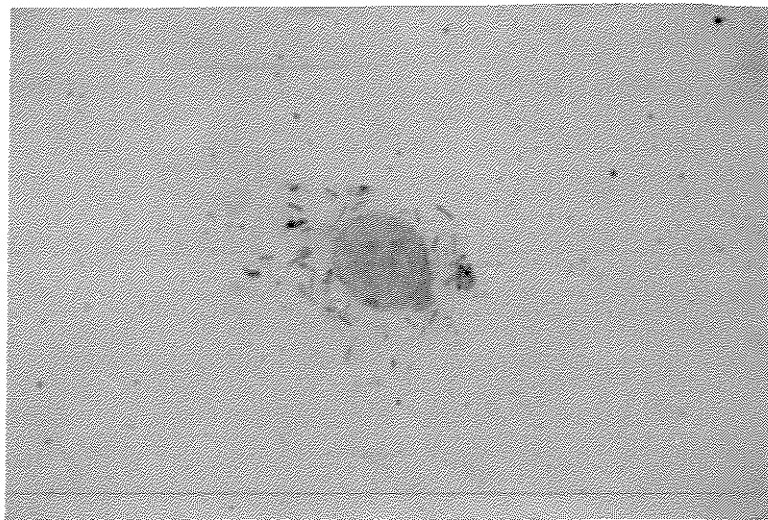


FIGURA III-6

Macrófago de uma cultura de não-lisador, com 30 dias após a inoculação do M. leprae, observando-se numerosos bacilos íntegros ao redor do núcleo, que se apresenta grande e finamente granulado. Foto obtida com ocular 12,5 e objetiva 100, usando-se filme Agfacolor CNS 35 mm, ampliada para 7 x 10 cm.

(A) REAÇÃO NEGATIVA - NÃO-LISADOR

Numerosos bacilos íntegros intracelulares e ausência de sinais de lise no interior das células.

A ausência ou ocorrência de raros bacilos íntegros, com ausência de sinais de lise, poderá ser indicativa de reação negativa, dependendo do comportamento dos macrófagos nos vários dias após a inoculação, e de acordo com os elementos celulares. Já a existência de numerosos bacilos íntegros e raros sinais de lise, nos últimos dias após a inoculação, é indicativa de reação negativa. Foram considerados como sinais de lise a presença de fragmentos bacilares e/ou imagem negativa de bacilos.

(B) REAÇÃO FRACAMENTE POSITIVA - INTERMEDIÁRIO

Raros bacilos íntegros intracelulares e raros sinais de lise no interior das células

Os elementos celulares e o comportamento dos macrófagos nos vários dias após a inoculação podem ser usados para indicar reação fracamente positiva quando há ausência de bacilos íntegros e ausência ou raros sinais de lise. Do mesmo modo, pode ocorrer reação fracamente positiva se, nos últimos dias após a inoculação, forem observados raros bacilos íntegros, independentemente da existência de lise, ou se, nos primeiros dias, ocorrerem numerosos bacilos íntegros e numerosos sinais de lise. A ocorrência de numerosos bacilos íntegros com raros sinais de lise nos primeiros dias após a inoculação, ou com numerosos sinais de lise nos últimos dias, será indicativa de reação fracamente positiva.

(C) REAÇÃO POSITIVA - LISADOR

Ausência de bacilos íntegros intracelulares, e
numerosos sinais de lise no interior das células

Em alguns casos, dependendo do comportamento dos macrófagos no decorrer dos vários dias após a inoculação, e de acordo com os elementos celulares, pode ser observada ausência de bacilos íntegros e ausência ou raros sinais de lise. A existência de raros bacilos íntegros e de numerosos sinais de lise também pode ser indicadora de reação positiva, especialmente nos primeiros dias após a inoculação, quando podem ser encontrados até mesmo numerosos bacilos íntegros. A Tab. III.5 mostra os conceitos dados para as leituras feitas nos 5º, 10º, 15º, 20º e 30º dias de incubação, levando-se em conta os bacilos íntegros intracelulares(bi) e os sinais de lise (fi).

Símbolizando a ausência, raridade e presença em grande número, tanto de bacilos íntegros intracelulares (bi) quanto de sinais de lise (fi), respectivamente por A, R e N podem-se obter combinações como AA, AR, AN, etc., como as que foram utilizadas na Tab. III.5 para expressar ausência de bi e de fi, ausência de bi e raridade de fi, ausência de bi e numerosos fi, etc.

Os elementos celulares observados nas lâminas ajudam, por vezes, a decidir se uma reação é positiva (lisador), intermediária, ou negativa (não-lisador).

Cumpre distinguir, aqui, o que foi chamado de célula "epitelióide", gigantócito, gigantócito tipo Langhans, macrófago e massa necrótica (Pearsall e Weiser, 1970). Célula "epitelióide"

TABELA III.5 - CONCEITOS DADOS PARA AS LEITURAS DO 5º, 10º, 15º, 20º e 30º DIAS APÓS A INOCULAÇÃO DO M. leprae. (EXPLICAÇÃO NO TEXTO).

bi fi Dias	AA	AR	AN	RA	RR	RN	NA	NR	NN
5	nil	il	l	n	i	l	n	i	il
10	nil	il	l	n	i	l	n	i	il
15	nil	il	l	n	i	l	n	n	i
20	nil	il	l	ni	i	il	n	n	i
30	nil	il	l	ni	i	il	n	n	i

n = Não-lisador; i = Intermediário ou lisador fraco, ou reação que fala a favor da positividade; l = Lisador; nil = Não-lisador, ou intermediário, ou lisador; il = Intermediário ou lisador; ni = Não-lisador ou intermediário.

de"é a célula cujo citoplasma é finamente granuloso ou homogêneo, cujos limites celulares são perfeitamente definidos, sendo o núcleo de tamanho médio a pequeno. A forma da célula "epitelióide" depende da forma do macrófago que a originou. Gigantócito é a célula multinucleada que pode fagocitar ou não, do tipo corpo estranho, que apresenta numerosos núcleos no centro da célula. Gigantócito tipo Langhans é a célula multinucleada cujos núcleos se dispõem na periferia celular. Macrófago é a célula que possui a capacidade de fagocitar. Seu citoplasma pode se apresentar fino ou intensamente vacuolizado. Os limites celulares não são bem definidos. O núcleo é grande e geralmente com nucléolo. Podem-se encontrar no interior do macrófago bacilos íntegros, fragmentos bacilares ou imagem negativa de bacilo. Massas necróticas são os restos celulares com ou sem núcleo picnótico.

Feitos esses esclarecimentos, podem ser descritas as principais características dos elementos celulares, como auxiliares na classificação das reações dos macrófagos frente ao bacilo da lepra.

NÃO-LISADOR - Na maioria das vezes, há ausência de células "epitelióides" tanto no 15º, 20º e 30º dias após a inoculação do M. leprae. Se presentes, quase sempre são raras. Os gigantócitos, de modo geral, estão ausentes ou ocorrem raramente, mas podem também ser numerosos. Os gigantócitos tipo Langhans estão ausentes. Predominam os macrófagos. As massas necróticas com bacilos íntegros ou em lise são, em geral, numerosas.

INTERMEDIÁRIO - As células "epitelióides" na maioria das vezes, estão ausentes mas, quando presentes, podem ser ra

ras ou numerosas. Os gigantócitos em geral estão presentes, caindo a frequência relativa dos numerosos e aumentando a dos raros do 15º ao 30º dia após a inoculação. Os do tipo Langhans praticamente não ocorrem, em especial no 20º e 30º dias após a inoculação. De um modo geral, há um equilíbrio entre o número de macrófagos e o de células "epitelioides" ou gigantócitos. As massas necróticas com bacilos íntegros ou lisados são raras.

LISADOR - As células "epitelioides" estão sempre presentes do 20º ao 30º dia após a inoculação, quando ocorre um aumento de seu número. Os gigantócitos aumentam de frequência do 15º ao 30º dia após a inoculação, quando certamente estarão presentes. Os do tipo Langhans aparecem em cerca de 50% dos casos, podendo ser raros ou numerosos. Praticamente sem macrófagos, ao redor do 20º ao 30º dia após a inoculação. As massas necróticas, com bacilos íntegros ou lisados, são praticamente ausentes.

III.8 - Teste da Hipótese Genética

A hipótese genética a ser testada no presente trabalho é a de um gene autossômico recessivo frequente. A averiguação foi feita através dos pais (seleção completa), não havendo pois distorção da proporção teoricamente esperada.

A análise geralmente conhecida como método de Snyder tem sido utilizada com grande frequência pelos geneticistas. No entanto, ela se aplica particularmente bem quando as amo

tras são grandes e o número de filhos por casal é pequeno. Tratando-se de amostras pequenas, Fisher (1939) propôs um método segundo o qual se calcula o número esperado de casais Dominante x Dominante e Dominante x Recessivo que só tem filhos com o caráter dominante.

Fisher opôs-se ao método de Snyder porque os casais Dominante x Dominante são constituídos por três tipos ($AA \times AA$; $AA \times Aa$; $Aa \times Aa$) e os casais Dominante x Recessivo por dois tipos ($AA \times aa$ e $Aa \times aa$); portanto, os filhos dominantes e recessivos não são amostras independentes de uma população homogênea. Para uma descrição detalhada do método de Fisher, em português, ver Beiguelman (1968b).

Admitindo-se que A seja o alelo dominante, e a , o alelo recessivo, em uma população panmítica serão encontrados os seguintes genótipos: AA e Aa , para o fenótipo dominante, e aa para o fenótipo recessivo. Se a população estiver em equilíbrio genético, as frequências dos indivíduos AA , Aa e aa serão iguais, respectivamente, a p^2 , $2pq$ e q^2 . De acordo com a teoria genética, os casais ($AA \times AA$) e ($AA \times Aa$) não podem ter filhos recessivos, mas $1/4$ dos filhos de casais $Aa \times Aa$ devem ser recessivos.

Sendo a probabilidade condicional de um indivíduo dominante ser heterozigoto igual a $2pq/(p^2 + 2pq) = 2q/(1+q)$, então $[2q/(1+q)]^2$ será a probabilidade de ambos os cônjuges de um casal Dominante x Dominante serem heterozigotos, com uma probabilidade de $3/4$ de terem filhos dominantes. Assim, $1 - [2q/(1+q)]^2$ será a probabilidade de pelo menos um cônjuge ser AA , e, portanto, todos os filhos serem dominantes. Estudando-se N casais Dominante x Dominante, com irmandades do tamanho s , o número total espe-

rado de casais com todos os filhos dominantes será dado por

$$\sum_s N_s \left[1 - \left(\frac{2q}{1+q} \right)^2 + \left(\frac{3}{4} \right)^s \left(\frac{2q}{1+q} \right)^2 \right].$$

Entre os casais Dominante x Recessivo, a probabilidade condicional de o cônjuge dominante ser homozigoto é igual a $p^2/(p^2 + 2pq) = p/(1 + q)$. Nesse caso todos os filhos serão dominantes. A probabilidade de o cônjuge dominante ser heterozigoto será $1 - p/(1 + q)$, quando a metade dos filhos será dominante. Numa amostra de N casais Dominante x Recessivo, com irmandades de tamanho s , o número total esperado de casais com todos os filhos dominantes será dado por

$$\sum_s N_s \left[\frac{p}{1+q} + \left(\frac{1}{2} \right)^s \left(1 - \frac{p}{1+q} \right) \right].$$

IV - RESULTADOS

== =====

Os resultados do comportamento dos macrófagos frente ao Mycobacterium leprae, da prova tuberculínica padronizada com PPD, da reação tardia à lepromina (Mitsuda) e dos testes de grupos sanguíneos acham-se descritos sob cada indivíduo representado nos Heredogramas nºs 1 a 33 (ver Apêndice).

No total, foram analisadas 176 pessoas, sendo 60 pais e 116 filhos, distribuídos segundo o sexo e o tipo de casal, como na Tab. IV.1. Uma mulher lepromatosa, que poderia ser incluída em ambas as sub-amostras, constou apenas na sub-amostra de pais.

Dos 60 pais, 20 (33,3%) eram sadios; 9 (15,0%), tuberculoides, e 31 (51,7%), lepromatosos. Entre os 116 filhos, 111 (95,7%) eram sadios; 2 (1,7%) tuberculoides; 1 (0,86%) lepromatoso e 2 (1,7%) indeterminados.

Em média, os cônjuges mostraram $29,71 \pm 2,13$ anos de coabitação e a idade média dos cônjuges vivos era de $54,45 \pm 2,27$ anos para os do sexo masculino e $49,90 \pm 2,19$ para os do sexo feminino. Em relação aos filhos, a idade média mostrou um valor de $26,51 \pm 1,11$.

A investigação da consanguinidade entre os cônjuges mostrou a existência na amostra de dois casais consanguí -

TABELA IV.1 - DISTRIBUIÇÃO DAS FAMÍLIAS ESTUDADAS, DE ACÓRDO COM O TIPO DE CASAL E O SEXO DOS FILHOS EXAMINADOS. (L = lepromatoso; T = Tuberculóide; S = Sadio).

C a s a i s				Nº de Filhos		
Marido		Mulher	Nº	Masc.	Fem.	Total
L	x	L	11	20	8	28
L	x	S	9	21	15	36
S	x	L	5	5	8	13
L	x	T	3	7	10	17
T	x	L	1	3	3	6
T	x	S	4	3	5	8
S	x	T	2	6	2	8
T o t a l			35	65	51	116

neos. Um era de primos em 2º grau ($F = 1/32$) e outro de primos em 3º grau ($F = 1/64$). Essa taxa de consanguinidade (5,7%) foi percentualmente maior do que a observada por Beiguelman (1962b) entre os progenitores de 1479 doentes de lepra (2,6%). Embora as amostras não sejam necessariamente comparáveis, está claro que a diferença provavelmente deve decorrer de flutuações de amostragem.

IV.1 - Grupos Sanguíneos e Exclusão de Paternidade

No total da amostra, foram encontrados 74 (42,8%) indivíduos do grupo A; 22 (12,7%) do grupo B; 6 (3,5%) do grupo AB e 71 (41,0%) do grupo O. Quanto ao sistema MNSs, 35 (20,2%) pertenciam ao grupo M; 111 (64,2%) ao MN; e 27 (15,6%) ao N. Finalmente, em relação ao sistema Rh, 141 (81,5%) foram classificados como Rh positivo (D+) e 32 (18,5%) como Rh negativo (D-).

Através da análise dos grupos sanguíneos, puderam ser detectados dois possíveis casos de ilegitimidade, ambos através do sistema Rh. Num desses casos (Her. 19), o genótipo do suposto filho ilegítimo era CDe/C-e, sendo CDE/cde o genótipo mais provável da mãe. No outro caso (Her. 33, Família 33.b) a mãe era homozigota para o alelo c, mas o filho não possuía o antígeno c.

IV.2 - Reação de Mantoux

Quanto à prova tuberculínica padrão com PPD, no total da amostra foram encontrados 107 (67,7%) não-reatores (nr); 21 (13,3%) reatores fracos (r) e 30 (19,0%) reatores fortes (R).

Considerando-se todos os indivíduos sadios (filhos e pais), foram encontrados 79 (66,9%) não-reatores (nr); 18 (15,3%) reatores fracos (r); e 21 (17,8%) reatores fortes (R).

Considerando-se somente os filhos sadios, foram encontrados 68 (69,4%) não-reatores (nr), 16 (16,3%) reatores fracos (r), e 14 (14,3%) reatores fortes (R).

Entre os 27 pais lepromatosos analisados, 70,4% eram não-reatores (nr), 3,7% reatores fracos (r) e 25,9% reatores fortes (R).

Os dados não mostram diferença significativa entre as frequências de não-reatores dos lepromatosos (71,4%) e dos indivíduos sadios (66,9%) ($\chi^2 = 0,20$; g.l. = 1; $0,50 < P < 0,70$).

A diferença encontrada entre esses resultados e os que foram obtidos por alguns autores (revisão em Bechelli, 1965b) deve decorrer muito provavelmente de diferenças da amostra e do material e técnica utilizados.

IV.3 - Reação de Mitsuda

Em relação aos 160 indivíduos testados com lepro

mina, foram encontrados 49 (30,6%) -, 12 (7,5%) ±; 26 (16,2%) +; 39 (24,4%) ++; e 34 (21,3%) +++. Considerando-se somente os filhos sadios, foram encontrados 17 (16,5%) -; 9 (8,7%) ±; 20 (19,4%) +; 28 (27,2%) ++; e 29 (28,2%) +++. Considerando-se o total de indivíduos sadios, foram encontrados 19 (15,5%) -; 11 (8,9%) ±; 24 (19,5%) +; 36 (29,3%) ++; e 33 (26,8%) +++. Todos os 25 indivíduos lepromatosos analisados mostraram reação de Mitsuda negativa (24 -; e 1 ±). Dentre os tuberculoides, foram observados 4 -; 2 +; 3 ++; e 1 +++. Os dois indivíduos com lepra indeterminada apresentaram reação de Mitsuda negativa (-).

Nos 63 indivíduos comunicantes, filhos de lepromatosos, cujas leituras foram obtidas com 21, 35 e 49 dias, foram observadas 11,1% de reações duvidosas (±) e 71,4% de reações positivas (+, ++ e +++). No 21º, 35º e 49º dias foram observadas, respectivamente, 3, 4 e 0 reações duvidosas novas; 11, 1, e 0, +; 9, 6, e 1, ++; e 7, 6, e 4, +++. A duração média e a moda só puderam ser calculadas para o 21º dia, sendo respectivamente de 1,3 e 1 quinzena para as reações duvidosas; 1,4 e 2 para +; 1,2 e 2 para ++; e 1,6 e 2 para +++.

As leituras positivas da reação tardia à lepromina no 21º dia perduraram, em média, por 1,4 quinzena, e, portanto, até o 35º dia, mas não até o 49º dia. As reações positivas com 49 dias já o eram com 35. Assim, a leitura com 35 dias já engloba as reações positivas com 49 dias, embora com menor intensidade.

Esses achados estão de acordo com os obtidos por Bechelli e cols. (1963), embora as amostras difiram entre si, não apenas pelo seu tamanho mas também pela sua constituição, pois

aqui ela é constituída por comunicantes adultos, filhos de lepro_matosos, e a de Bechelli e cols. (1963) é constituída por não-co_mmunicantes, crianças, jovens e velhos.

Bechelli e cols. (1963) observaram ainda, em não-comunicantes de lepra, que a leitura clínica da reação de Mitsuda com 35 dias mostrava maior frequência (85%) de reações positivas e que, em investigações científicas seria aconselhável fazer-se nova leitura com 49 dias. Foi exatamente o que foi feito no presente trabalho, no qual foi realizada ainda uma outra leitura (21^a dia).

IV.4 - Prova Tuberculínica Padrão e Reação Tardia à Lepromina

Os dados foram analisados através de testes de independência (Tabs. IV.2, IV.3 e IV.4), tendo sido feitas análises dos filhos comunicantes ($N^{\circ} = 93$); do total de comunicantes, filhos e pais sadios ($N^{\circ} = 113$) e do total da amostra ($N^{\circ} = 148$).

Classificando-se os indivíduos em não-reatores (nr), e reatores (r + R), relativamente à reação de Mantoux, e em lepromino negativos (- e +), fracamente positivos (+) e fortemente positivos (++ e +++), relativamente à reação de Mitsuda, não se encontrou associação significativa entre as duas características (Tabs. IV.2, IV.3 e IV.4).

Considerando-se apenas os filhos sadios, a fre-

TABELA IV.2 - DISTRIBUIÇÃO, ENTRE OS FILHOS SA-
DIOS, DO NÚMERO DE NÃO-REATORES (nr), REATORES
FRACOS (r) E REATORES FORTES (R), SEGUNDO A LEI-
TURA CLÍNICA DO TESTE DE MITSUDA (0 = -, +; 1 =
+; 2 = ++, +++).

Reação de Mantoux	Reação de Mitsuda			Total
	0	1	2	
nr	18 (78,3%)	12 (66,7%)	34 (65,4%)	64
r	1	2	12	15
R	4	4	6	14
Total	23 (100%)	18 (100%)	52 (100%)	93

Teste de independência, agrupando-se as classes
(r + R): $\chi^2 = 1,28$; g.l. = 2; $0,50 < P < 0,70$.

TABELA IV.3 - DISTRIBUIÇÃO, NO TOTAL DE SADIOS, DO NÚMERO DE NÃO-REATORES (nr), REATORES FRACOS (r) E REATORES FORTES (R), SEGUNDO A LEITURA CLÍNICA DO TESTE DE MITSUDA (0 = -, ±; 1 = +; 2 = ++, +++).

Reação de Mantoux	Reação de Mitsuda			Total
	0	1	2	
nr	22 (78,6%)	13 (59,1%)	40 (63,5%)	75
r	1	2	14	17
R	5	7	9	21
Total	28 (100%)	22 (100%)	63 (100%)	113

Teste de independência, agrupando-se as classes (r + R): $\chi^2 = 2,63$; g.l. = 2; $0,20 < P < 0,30$.

TABELA IV.4 - DISTRIBUIÇÃO, NO TOTAL DA AMOSTRA, DO NÚMERO DE NÃO-REATORES (nr), REATORES FRACOS (r) E REATORES FORTES (R), SEGUNDO A LEITURA CLÍNICA DO TESTE DE MITSUDA (0 = -, ±; 1 = +, 2 = ++, +++).

Reação de Mantoux	Reação de Mitsuda			Total
	0	1	2	
nr	44 (77,2%)	15 (62,5%)	43 (64,2%)	102
r	4	2	14	20
R	9	7	10	26
Total	57 (100%)	24 (100%)	67 (100%)	148

Teste de independência, agrupando-se as classes (r + R): $X^2 = 2,99$; g.l. = 2; $0,20 < P < 0,30$.

quência de respostas positivas à reação tardia à lepromina entre os 64 não-reatores (71,9%) não se mostrou significativamente diferente da frequência (82,8%) entre os 29 reatores fracos e fortes ($X^2 = 1,28$; g.l. = 1; $0,20 < P < 0,30$). Quando foram considerados todos os indivíduos sadios, a diferença entre as respostas positivas à lepromina entre os 75 não-reatores (70,7%) e os 38 reatores (84,2%) também não se mostrou significativa ($X^2 = 2,49$; g.l. = 1; $0,10 < P < 0,20$). O mesmo foi observado quando se comparou a frequência de respostas positivas à lepromina entre os 102 não-reatores (56,9%) e entre os 46 indivíduos reatores (71,7%) ($X^2 = 2,96$; g.l. = 1; $0,05 < P < 0,10$).

IV.5 - Comportamento dos Macrófagos

Na Tab. IV.5 são apresentados os resultados obtidos na análise do comportamento dos macrófagos, através de leituras das lâminas no 5º, 10º, 15º, 20º e 30º dias após a inoculação do M. leprae. Os resultados finais sobre a capacidade lítica dos macrófagos encontram-se nos heredogramas.

Dentre os 20 pais sadios, houve 2 nos quais as culturas não se diferenciaram, 5 cujas culturas degeneraram, e 3 cujas culturas não passaram de 15 dias. Entre os que foram analisados, 4 mostraram-se não-lisadores (n); 4 intermediários (i); e 2 lisadores (l). Entre os 9 pais tuberculoides, 4 comportaram-se como não-lisadores (n) e 4 como intermediários (i); em um caso a cultura não passou de 15 dias. Entre as culturas dos 31 pais le-

TABELA IV.5 - BACIOS INTEGROS INTRACELULARES (bi), FRAGMENTOS BACILARES E IMAGEM NEGATIVA DE BACIOS (fi), E BACIOS E/OU FRAGMENTOS EM MASSAS NECRÓTICAS (mn), EM DIFERENTES INTERVALOS DE INCUBAÇÃO (DIAS).

Nº	- 5 -		- 10 -		- 15 -		- 20 -		- 30 -	
	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn
Her. 1										
I-1	A	A	A	A	R	R	A	R	R	A
I-2	A	A	A	A	N	A	R	N	N	A
II-1	A	A	A	A	N	R	R	R	R	A
II-2	A	A	N	A	R	R	R	R	R	A
II-3	A	A	R	A	R	A	R	N	N	A
Her. 2										
I-1	A	A	A	A	R	A	R	R	R	A
I-2	A	A	A	A	R	A	R	R	R	A
II-1	A	A	R	A	R	R	R	R	R	A
II-2	nd	nd	N	A	N	A	N	R	R	A
Her. 3										
I-1	A	A	A	A	R	R	R	R	R	A
I-2	R	A	A	A	R	A	R	R	R	A
II-1	N	A	A	A	R	A	R	R	R	A
II-2	N	A	A	A	R	A	R	R	R	A
Her. 4(a)										
I-1	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
I-2	R	A	R	A	R	A	R	R	R	R

Os números se referem aos indivíduos nos herodogramas. A=raríssimos ou ausentes; R=raros; N=numerosos; dg=degeneradas; nd=não diferenciadas. Continua

TABELA IV.5 (Continuação)

Nº	- 5 -		- 10 -		- 15 -		- 20 -		- 30 -	
	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn
II-1	A	A A	dg	dg A	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg
II-2	R	A A	A	A R	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg
Her. 4 (b)										
I-3	R	A A	R	A A	R	A dg	R	A dg	A	N dg
I-4	A	A A	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg
II-3	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg
Her. 5										
I-1	N	A A	N	A A	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg
I-2	N	A A	N	A A	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg
II-1	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg
II-2	A	A A	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg
II-3	A	A A	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg
II-4	R	A A	N	A A	dg	dg dg	dg	dg dg	R	A dg
II-5	A	A A	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg	A	dg dg
II-6	A	A A	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg	dg	dg dg
Her. 6										
I-1	N	A A	N	A A	R	A dg	R	A dg	N	A dg
I-2	N	A A	R	A A	R	A dg	R	A dg	R	A dg
II-1	N	A A	N	A A	R	A dg	R	A dg	N	A dg
II-2	N	A A	N	A A	R	A dg	R	A dg	N	A dg
Her. 7										
I-1	N	A A	N	A A	R	A dg	R	A dg	N	A dg

Continua

TABELA IV.5 (Continuação)

Nº	- 5 -		- 10 -		- 15 -		- 20 -		- 30 -	
	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn
I-2	N	A	R	R	R	A	R	A	R	N
II-1	N	A	A	R	R	A	A	A	N	R
II-2	N	A	A	A	N	A	A	R	N	R
Her. 8										
I-1	R	A	A	A	N	A	N	A	N	A
I-2	N	R	A	A	R	N	N	A	N	R
II-1	R	A	A	A	N	N	A	A	R	R
II-2	R	A	A	A	N	N	A	A	A	R
II-3	R	A	A	A	N	N	A	A	N	A
II-4	R	A	A	A	N	N	A	A	N	A
II-5	R	A	A	A	N	N	A	A	N	A
II-6	N	A	A	A	R	A	N	A	R	A
II-7	N	A	A	A	R	A	N	A	N	A
II-8	N	A	A	A	R	A	N	A	N	A
II-9	N	A	A	A	R	A	N	A	N	A
Her. 9										
I-1	dg	dg	dg	dg	N	N	N	N	A	A
I-2	N	A	R	R	R	A	A	A	R	R
II-1	N	A	A	A	N	A	A	A	A	A
II-2	N	A	A	A	N	A	A	A	A	A
II-3	R	A	A	A	R	A	A	A	A	A
II-4	dg	dg	dg	dg	N	N	N	N	R	R

Continua

TABELA IV.5 (Continuação)

Nº	- 5 -		- 10 -		- 15 -		- 20 -		- 30 -	
	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn
II-5	R	A	N	A	R	N	R	A	dg	A
II-6	N	A	R	A	R	A	dg	A	dg	A
Her. 10										
I-1	N	A	N	A	R	R	R	A	dg	A
I-2	N	A	N	A	R	R	R	A	dg	A
II-1	N	A	N	A	R	R	R	A	dg	A
II-2	R	A	R	A	R	R	R	A	dg	A
II-3	N	A	N	A	R	R	R	A	dg	A
II-4	N	A	N	A	R	R	R	A	dg	A
II-5	N	A	N	A	R	R	R	A	dg	A
II-6	N	A	N	A	R	R	R	A	dg	A
Her. 11										
I-1	N	A	N	A	R	R	R	A	dg	A
I-2	R	A	R	A	R	R	R	A	dg	A
II-1	R	A	R	A	R	R	R	A	dg	A
II-2	N	A	N	A	R	R	R	A	dg	A
Her. 12										
I-1	N	A	N	A	R	R	R	A	dg	A
I-2	A	A	A	A	R	R	R	A	dg	A
II-1	N	A	N	A	R	R	R	A	dg	A
II-2	N	A	N	A	R	R	R	A	dg	A

Continua

TABELA IV.5 (Continuação)

Nº	- 5 -		- 10 -		- 15 -		- 20 -		- 30 -	
	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn
Her. 13										
I-1	R	A	R	A	A	A	A	R	A	N
I-2	N	R	N	N	R	R	N	N	dg	A
II-1	N	A	N	R	N	R	R	R	dg	A
II-2	R	A	A	R	A	A	A	R	dg	R
II-3	N	R	N	R	R	R	R	R	dg	
Her. 14										
I-1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
I-2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
II-1	R	A	N	R	N	A	A	A	N	N
II-2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Her. 15										
I-1	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
I-2	nd	nd	R	R	dg	N	dg	dg	dg	N
II-1	R	A	dg	dg	dg	N	dg	dg	dg	dg
Her. 16										
I-1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
I-2	N	A	A	A	N	R	dg	dg	dg	dg
II-1	N	R	R	R	A	A	dg	dg	dg	dg
II-2	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
II-4	R	A	R	R	dg	dg	A	A	dg	dg

Continua

TABELA IV.5 (Continuação)

Nº	- 5 -		- 10 -		- 15 -		- 20 -		- 30 -	
	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn
Her. 17										
I-1		A	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
I-2		A	A	A	N	A	N	A	A	R
II-1		A	A	A	A	R	R	A	A	N
II-2		A	A	A	A	dg	dg	dg	dg	dg
II-3		R	R	A	N	A	A	dg	dg	A
Her. 18										
I-1		dg	A	dg	dg	dg	dg	dg	R	R
I-2		dg	A	A	dg	dg	dg	A	dg	dg
II-1		A	R	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-2		R	R	A	N	A	dg	dg	dg	dg
Her. 19										
I-1		A	A	A	R	A	A	A	R	A
I-2		A	A	A	A	A	A	A	A	A
II-1		A	A	A	A	dg	dg	dg	dg	dg
II-2		A	A	A	A	A	A	A	A	A
II-3		R	A	A	A	A	A	A	A	A
II-4		dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-5		A	A	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg
Her. 20										
I-1		R	N	R	dg	dg	R	A	dg	A

Continua

TABELA IV.5 (Continuação)

Nº	- 5 -			- 10 -			- 15 -			- 20 -			- 30 -		
	bi	fi	mn	bi	fi	mn	bi	fi	mn	bi	fi	mn	bi	fi	mn
I-2		A	A	N	A	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-1	R	A	A	N	A	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-2	R	A	A	N	A	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-3	N	R	A	dg	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-4	R	A	A	dg	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-5	dg	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-6	N		R	dg	N	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
Her. 21															
I-1	N	R	A	N	R	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-1	A	A	A	N	A	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-2	N	A	A	dg	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-3	R	A	A	dg	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-4	R	A	A	dg	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-5	N	A	A	dg	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-6	N	A	A	dg	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
Her. 22															
I-1	R	A	A	N	A	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
I-2	R	A	A	N	A	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
II-2	R	A	A	dg	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg
II-3	N	A	A	dg	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg

Continua

TABELA IV.5 (Continuação)

Nº	- 5 -		- 10 -		- 15 -		- 20 -		- 30 -	
	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn
Her. 23										
I-1	nd	nd		nd	R	A	A	R	A	A
I-2		A	A	A	A	A	A	A	A	A
II-1	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A
II-2										
II-3	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A
II-4	N	A	R	A	R	A	R	A	R	A
II-5	N	A	R	A	R	A	R	A	R	A
II-6	N	A	R	A	R	A	R	A	R	A
II-7	N	A	R	A	R	A	R	A	R	A
II-8	A	N	A	R	N	A	R	A	N	A
Her. 24										
I-1	N	A	N	A	N	A	N	A	N	A
I-2	N	A	N	A	A	A	A	A	A	A
II-1	N	A	N	A	A	A	A	A	A	A
II-2	A		R	A	dg	A	R	A	R	A
Her. 25										
I-2	N	A	R	A	A	A	A	A	A	A
II-1	N	R	R	A	A	A	A	A	A	A
II-2	N	R	R	A	A	A	A	A	A	A
Her. 26										
I-1	N	R	R	A	N	A	R	A	N	A

Continua

TABELA IV.5 (Continuação)

Nº	- 5 -		- 10 -		- 15 -		- 20 -		- 30 -	
	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn
I-2	R	A	R	A	R	A	N	A	N	R
II-1			N	R	N	R	A	R	N	N
II-2			R	A	N	A	R	N	N	N
II-3			N	A	N	A	R	dg	dg	N
II-4	N	A	N	A	N	A	R	dg	dg	N
Her. 27										
II-1	N	A	N	A	N	A	R	dg	dg	N
Her. 28										
I-2	N	A	N	A	dg	dg	R	A	R	R
II-1	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	A
II-2	R	A	R	A	N	A	N	R	R	A
II-3	R	A	dg	dg	dg	dg	dg	dg	dg	A
II-4	R	A	R	A	R	A	R	dg	dg	A
Her. 29										
I-1	N	R	R	A	R	A	N	A	R	R
I-2	R	A	N	R	R	A	A	A	A	A
II-1	R	A	N	A	N	A	N	dg	dg	N
Her. 30										
II-1	R	A	R	A	N	A	R	A	N	N
II-2	A	A	A	A	A	A	A	dg	dg	N

Continua

TABELA IV.5 (Continuação)

Nº	- 5 -		- 10 -		- 15 -		- 20 -		- 30 -	
	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn	bi	fi mn
Her. 31										
I-1			N	A	N	A	N	R	N	A
I-2			nd	nd	A	A	N	R	N	A
II-1			R	A	A	A	R	A	N	R
Her. 32										
I-1			R	A	R	A	R	A	dg	dg
II-1			R	A	A	A	dg	dg	dg	dg
II-2			R	A	A	A	dg	dg	R	R
II-3			N	A	A	A	dg	dg	dg	N
II-4			A	A	A	A	A	N	A	A
II-5			N	A	A	A	R	R	N	A
II-6			N	R	N	R	N	R	R	A
Her. 33(a)										
II-2			R	A	A	A	A	R	N	R
II-3			R	A	A	A	A	R	R	A
II-4			R	A	A	A	A	R	N	N
II-5			N	A	A	A	A	R	N	N
Her. 33(b)										
II-1			N	A	R	A	A	A	dg	R
II-2			R	A	A	A	A	A	N	R
III-1			R	A	A	A	A	A	N	R
III-2			N	A	A	A	A	A	N	A

promatosos, 2 não se diferenciaram (nd), 5 degeneraram (dg), e 1 não passou de 15 dias. Entre os analisados, 19 (82,6%) comportaram-se como não-lisadores (n) e 4 (17,4%) como intermediários (i).

Quanto às culturas dos 111 filhos sadios, em um caso a cultura não se diferenciou (nd), em 21 ocorreu degeneração (dg), e em 11 as culturas não passaram de 15 dias. Entre as 78 culturas que foram analisadas, 36 (46,2%) se comportaram como não-lisadores (n), 31 (39,7%) como intermediários (i); e 11 (14,1%) como lisadores (l). Dos 2 filhos tuberculoides, um se comportou como intermediário (i), enquanto a cultura do outro degenerou. A cultura do filho lepromatoso não ultrapassou de 15 dias. Entre os 2 filhos indeterminados, um se comportou como não-lisador, enquanto a cultura do outro degenerou.

Analisando-se os cônjuges sadios e tuberculoides, as frequências de pais e mães não-lisadores (respectivamente, 3/6 e 5/12) não sugerem a existência de diferença sexual. Considerando-se os tamanhos das sub-amostras, a análise da proporção sexual pôde ser feita entre os 15 pais e 8 mães lepromatosos (80,0% e 87,5% de não-lisadores, respectivamente) e entre os 26 filhos e 25 filhas sadios (respectivamente, 38,5% e 36,0% de não-lisadores), nenhuma dessas diferenças tendo se revelado significativa ($\chi^2 = 0,20$; g.l. = 1; $0,90 \leq P \leq 0,95$; e $\chi^2 = 0,03$; g.l. = 1; $0,70 \leq P \leq 0,80$). Desta forma, podem ser agrupados os dados dos dois sexos.

Comparando-se a frequência de não-lisadores no total de sadios ($40/88 = 45,5\%$), nos tuberculoides ($4/9 = 44,4\%$) e nos lepromatosos ($19/23 = 82,6\%$), verifica-se a existência de uma alta heterogeneidade ($\chi^2 = 10,33$; g.l. = 2; $P \leq 0,01$).

A frequência de não-lisadores entre os pais lepromatosos ($19/23 = 82,6\%$) não se mostrou estatisticamente diferente da frequência encontrada entre os pais tuberculoides ($4/8$), mas revelou-se significativamente maior do que a frequência entre os pais sadios ($4/10$) ($\chi^2 = 1,82$; g.l. = 1; $0,10 < P < 0,20$; e $\chi^2 = 4,13$; g.l. = 1; $0,02 < P < 0,05$, respectivamente). A frequência de não-lisadores entre os filhos sadios ($36/78 = 46,2\%$) não se mostrou estatisticamente diferente da frequência entre os pais sadios ($4/10$) e entre os pais tuberculoides ($4/8$) ($\chi^2 = 0,15$; g.l. = 1; $P = 0,70$; e $\chi^2 = 0,05$; g.l. = 1; $0,80 > P > 0,90$, respectivamente), mas mostrou-se significativamente menor que a frequência encontrada entre os pais lepromatosos ($19/23 = 82,6\%$; $\chi^2 = 9,53$; g.l. = 1; $P < 0,01$).

IV.6 - Comportamento dos Macrófagos e Reação de Mantoux

Dentre os 108 indivíduos cujas culturas de macrófagos puderam ser analisadas com 20 ou 30 dias, 77 (71,3%) se comportaram como não-reatores. Entre esses, 37 (48,0%) eram não-lisadores, 30 (39,0%) intermediários, e 10 (13,0%) lisadores. Entre os 7 reatores fracos, 4 se comportaram como não-lisadores, e 3 como intermediários; e entre os 24 reatores fortes, 16 (66,7%) eram não-lisadores, 7 (29,2%) intermediários, e 1 (4,1%) lisador.

As Tabs. IV.6, IV.7 e IV.8 apresentam as distribuições das leituras do teste de PPD segundo o comportamento dos

TABELA IV.6 - DISTRIBUIÇÃO, ENTRE OS FILHOS SADIOS, DOS RESULTADOS DA REAÇÃO DE MANTOUX COM PPD, E DO COMPORTAMENTO DOS MACRÓFAGOS (nr = não-reator, r = reator fraco, R = reator forte, n = não-lisador, i = intermediário e l = lisador).

Reação de Mantoux	Macrófagos			Total
	n	i	l	
nr	20 (60,6%)	23 (79,3%)	9 (100%)	52
r	2	3	-	5
R	11	3	-	14
Total	33 (100%)	29 (100%)	9 (100%)	71

Teste de independência, agrupando-se (r + R) e (i + l): $\chi^2 = 5,02$; g.l. = 1; $0,02 < P < 0,05$.

TABELA IV.7 - DISTRIBUIÇÃO, NO TOTAL DE SADIOS, DOS RESULTADOS DA REAÇÃO DE MANTOUX, COM PPD, E DO COMPORTAMENTO DOS MACRÓFAGOS (nr = não-reator, r = reator fraco, R = reator forte, n = não-lisador, i = intermediário e l = lisador).

Reação de Mitsuda	Macrófagos			Total
	n	i	l	
nr	24 (64,9%)	25 (78,1%)	10 (90,9%)	59
r	2	3	-	5
R	11	4	1	16
Total	37 (100%)	32 (100%)	11 (100%)	80

Teste de independência, agrupando-se (r + R) e (i + l): $\chi^2 = 2,81$; g.l. = 1; $0,05 < P < 0,10$.

TABELA IV.8 - DISTRIBUIÇÃO, NO TOTAL DA AMOSTRA, DOS RESULTADOS DA REAÇÃO DE MANTOUX, COM PPD, E DO COMPORTAMENTO DOS MACRÓFAGOS (nr = não-reator, r = reator fraco, R = reator forte, n = não-lisador, i = intermediário e l = lisador)

Reação de Mantoux	M a c r ó f a g o s			Total
	n	i	l	
nr	37 (64,9%)	30 (75,0%)	10 (90,9%)	77
r	4	3	-	7
R	16	7	1	24
Total	57 (100%)	40 (100%)	11 (100%)	108

Teste de independência, agrupando-se (r + R) e (i + l): $\chi^2 = 2,41$; g.l. = 1; $0,10 < P < 0,20$.

macrófagos, respectivamente entre os filhos sadios, no total de indivíduos sadios, e no total da amostra.

Classificando-se os indivíduos em não-reatores (nr) e reatores ($r + R$), quanto à reação de Mantoux, e em não-lisadores (n) e intermediários mais lisadores ($i + l$), quanto ao comportamento dos macrófagos, não se encontrou associação significativa entre as duas características no total de indivíduos sadios e no total da amostra. Assim, no total de sadios e no total da amostra, as frequências de não-lisadores (n) entre os não-reatores (nr) não se mostraram significativamente diferentes das frequências entre os reatores (Tabs. IV.7 e IV.8). No entanto, entre os filhos sadios, a frequência de não-lisadores entre os não-reatores ($20/52 = 38,5\%$) mostrou-se significativamente menor que a frequência ($13/19 = 68,4\%$) entre os reatores fracos e fortes (Tab. IV.6).

IV.7 - Comportamento dos Macrófagos e Reação de Mitsuda

A análise do comportamento dos macrófagos e da reação tardia à lepromina pôde ser feita simultaneamente em 123 indivíduos; dos quais 45 (36,6%) mostraram-se Mitsuda-negativo (-, +) e 78 Mitsuda-positivo (+, ++, +++). Entre os 106 indivíduos cujo comportamento dos macrófagos pôde ser analisado com 20 ou 30 dias, 41 (38,7%) eram Mitsuda-negativo, e 65 (61,3%), Mitsuda-positivo. Entre os Mitsuda-negativo, 23 (56,1%) eram não-lisadores,

15 (36,6%) intermediários, e 3 (7,3%) lisadores. Entre os Mitsuda-positivo, 31 (47,7%) comportaram-se como não-lisadores, 24 (36,9%) como intermediários, e 10 (15,4%) como lisadores.

As Tabs. IV.9, IV.10, e IV.11 apresentam as distribuições das reações de Mitsuda segundo o comportamento dos macrófagos, respectivamente entre os filhos sadios, no total de indivíduos sadios, e no total da amostra. Os testes de independência não revelaram associação significativa entre a reação de Mitsuda e o comportamento dos macrófagos. Assim, as frequências de não-lisadores (n) entre os Mitsuda-negativo (-, +) não se mostraram significativamente diferentes das frequências entre os Mitsuda fracamente positivos (+) e fortemente positivos (++, +++) (respectivamente, $8/18 = 44,4\%$, $7/14 = 50,0\%$ e $13/39 = 46,2\%$, $\chi^2 = 0,01$; g.l. = 2; $0,99 < P < 1,00$, nos filhos sadios; $9/21 = 42,9\%$, $7/15 = 46,7\%$ e $21/45 = 46,7\%$, $\chi^2 = 0,09$, g.l. = 2; $0,95 < P < 0,98$, no total de indivíduos sadios; e $23/41 = 56,1\%$, $9/17 = 52,9\%$ e $22/48 = 45,8\%$, $\chi^2 = 0,96$; g.l. = 2; $0,50 < P < 0,70$, no total da amostra).

IV.8 - Análise Familiar da Reação de Mitsuda

A distribuição dos filhos com relação à reação de Mitsuda, entre os diferentes tipos de casal, é apresentada na Tab. IV.12. Os casais discordantes (0 x 1; 0 x 2) foram agrupados, independentemente do sexo do indivíduo que se mostrou como positivo, tendo em vista os resultados obtidos por Beiguelman

TABELA IV.9 - DISTRIBUIÇÃO, ENTRE OS FILHOS SA-
DIOS, DOS RESULTADOS DA REAÇÃO DE MITSUDA E DO
COMPORTAMENTO DOS MACRÓFAGOS (0 = - e $\pm$; 1 = +,
2 = ++ e +++; n = não-lisador, i = intermediá-
rio e l = lisador).

Macró- fagos	Reação de Mitsuda			Total
	0	1	2	
n	8	7	18	33
i	8	4	15	27
l	2	3	6	11
Total	18	14	39	71

Teste de independência: $\chi^2 = 1,12$; g.l. = 4;
 $0,70 < P < 0,90$.

TABELA IV.10 - DISTRIBUIÇÃO, NO TOTAL DE SADIOS, DOS RESULTADOS DA REAÇÃO DE MITSUDA E DO COMPORTAMENTO DOS MACRÓFAGOS (0 = - e $\pm$; 1 = +; 2 = ++ e +++; n = não-lisador, i = intermediário e l = lisador).

Macrófagos	Reação de Mitsuda			Total
	0	1	2	
n	9	7	21	37
i	9	4	18	31
l	3	4	6	13
Total	21	15	45	81

Teste de independência: $\chi^2 = 2,02$; g.l. = 4;
 $0,70 < P < 0,90$.

TABELA IV.11 - DISTRIBUIÇÃO, NO TOTAL DA AMOSTRA, DOS RESULTADOS DA REAÇÃO DE MITSUDA E DO COMPORTAMENTO DOS MACRÓFAGOS (0 = - e $\pm$; 1 = +, 2 = ++ e +++, n = não-lisador, i = intermediário e l = lisador).

Macrófagos	Reação de Mitsuda			Total
	0	1	2	
n	23	9	22	54
i	15	4	20	39
l	3	4	6	13
Total	41	17	48	106

Teste de independência: $X^2 = 4,16$; g.l. = 4;
 $0,30 < P < 0,50$.

TABELA IV.12 - DISTRIBUIÇÃO DA REAÇÃO DE MITSUDA DOS FILHOS, DE ACÔRDO COM AS CLASSES DOS CASAIS (0 = - e $\pm$; 1 = +; 2 = ++ e +++; ? = ignorado).

C a s a i s		F i l h o s			
Classes	Nº	0	1	2	Total
0 x 0	4	8	1	7	16
0 x 1	6	3	4	5	12
0 x 2	12	7	4	35	46
2 x 2	1	-	-	2	2
? x 0	6*	8	6	7	21
? x ?	6**	3	4	4	11
Total	35	29	19	60	108

(*) 4 cônjuges não analisados eram lepromatosos (êsses casais tiveram seis filhos 0, dois 1, e quatro 2).

(**) todos os cônjuges eram lepromatosos.

(1969, 1971) em amostras maiores, nas quais não observou variação sexual no tipo de reação de Mitsuda.

Entre os 25 filhos dos 11 casais L x L, 16 (64,0%) apresentaram reação de Mitsuda positiva, 9 dos quais (36,0% do total) mostraram reações fortes (++, +++). Entre os 22 filhos dos 4 casais L x T, foram encontrados 11 (60,0%) positivos, dos quais 9 (40,9% do total) eram positivos fortes. Os 14 casais L x S tiveram 47 filhos, dos quais 41 (87,2%) eram Mitsuda positivos (desse, 35, ou seja, 74,5% do total, deram reações fortes). Nos 14 filhos dos 6 casais T x S foram encontrados 11 (78,6%) com reação positiva, dos quais 7 (50,0% do total) apresentaram reações fortemente positivas.

Os resultados (Tab. IV.12) mostram que há uma maior frequência de filhos Mitsuda-negativo quando ambos os pais também são Mitsuda-negativo (50% contra 25% entre os filhos de casais 0 x 1; e 15% entre os filhos de casais 0 x 2). Os dois filhos do casal em que ambos os cônjuges eram Mitsuda positivo (++, +++) também se mostraram Mitsuda positivos (++, +++). A análise estatística dos resultados revelou que a hipótese de independência entre as reações dos pais e dos filhos deve ser rejeitada, quer quando se comparam as famílias em que ambos os cônjuges são Mitsuda negativo com aquelas em que um deles apenas é Mitsuda negativo ($\chi^2 = 5,65$; g.l. = 1; $0,01 < P < 0,02$), quer quando se comparam as famílias em que ambos os cônjuges são Mitsuda negativo com os casais em que um é negativo e o outro é fortemente positivo ($\chi^2 = 6,08$; g.l. = 1; $0,01 < P < 0,02$). Esses resultados confirmam, pois, que a reação de Mitsuda é um caráter familiar (revisão em Beiguelman, 1971).

IV.9 - Análise Genética do Comportamento dos Macrófagos

A Tab. IV.13 apresenta a distribuição dos casais e dos filhos estudados segundo o comportamento dos seus macrófagos frente ao M. leprae.

Considerando-se o tipo de família, quanto à li-se dos bacilos do M. leprae, foram encontrados oito casais em que ambos os cônjuges foram considerados como não-lisadores (n x n), sete em que um dos cônjuges foi considerado como não-lisador e o outro como intermediário (n x i), e dois em que um dos cônjuges foi classificado como intermediário e o outro como lisador (i x l).

Os casais discordantes (n x i) foram agrupados independentemente do sexo do cônjuge não-lisador, uma vez que não há evidência de uma diferença sexual no comportamento dos macrófagos. Dentre os sete casais discordantes (n x i) há cinco pais e duas mães não-lisadores. Quanto aos dois casais discordantes (i x l), em ambos a mãe é lisadora.

Os dados (Tab. IV.13) mostram que, dentre os 18 filhos de casais (n x n), 61,1% são não-lisadores, 22,2% intermediários, e 16,7% lisadores; dentre os 28 filhos de casais (n x i), há 28,6% de não-lisadores, 57,1% intermediários e 14,3% lisadores; dentre os 5 filhos de casais (i x l) há 2 intermediários e 3 lisadores.

Os dados mostram que há associação familiar no comportamento dos macrófagos frente ao M. leprae, nas famílias a

TABELA IV.13 - COMPORTAMENTO DOS MACRÓFAGOS DOS FILHOS, DE ACÓRDO COM AS CLASSES DE CASAIS (l = lisador, i = intermediário, n = não-lisador) *.

C a s a i s		F i l h o s			
Classes	Nº	n	i	l	Total
n x n	8	11	4	3	18
n x i	7	8	16	4	28
i x l	2	-	2	3	5
Total	17	19	22	10	51

Teste de independência, agrupando-se (i+l): $\chi^2 = 8,24$; g.l. = 2; $0,01 < P < 0,02$.

(*) Incluídos apenas os indivíduos cujo comportamento dos macrófagos pôde ser determinado com 20 ou 30 dias de incubação.

nalizadas. Assim, os casais em que ambos os cônjuges apresentam alguma lise ($i \times i$) não têm nenhum filho não-lisador; os casais em que um dos cônjuges é não-lisador ($n \times i$) apresentam 28,6% de filhos não-lisadores e os casais em que ambos os cônjuges são não-lisadores ($n \times n$) apresentam 61,1% de filhos não-lisadores. Reunindo-se os intermediários aos lisadores ($i + 1$), demonstra-se, através do teste de independência, a existência de familiaridade do caráter (Tab. IV.13). Analisando-se apenas os casais com um ou ambos os cônjuges não-lisadores (isto é, $n \times i$ e $n \times n$), e agrupando-se os intermediários e lisadores ($i + 1$) em uma única classe, as diferenças constatadas também se mostraram significativas ($X^2 = 4,80$; g.l. = 1; $0,02 < P < 0,05$).

Apesar de esses fatos demonstrarem familiaridade, é claro que ela pode ser ou não o resultado de uma causa genética. A análise será feita no sentido de se procurar determinar esse possível fator genético, admitindo-se a hipótese de ser o caráter lisador ($i + 1$) condicionado por um gene principal, autossômico e recessivo, e que os indivíduos não-lisadores tenham, pelo menos, um alelo dominante.

Admitindo-se que a sub-amostra de pais sadios seja representativa da população geral, a frequência populacional de indivíduos não-lisadores seria igual a 40%, havendo 40% de intermediários e 20% de lisadores. No entanto, considerando-se que essa sub-amostra é muito pequena ($N = 10$), é preferível usarem-se as estimativas obtidas por Bicudo-Pisani e cols. (1972) em uma amostra de 57 comunicantes e não-comunicantes, entre os quais foi encontrada uma frequência de cerca de 70% de indivíduos 1-0 e 1-1 (os quais correspondem aproximadamente aos nossos lisadores

+ intermediários).

A frequência de lisadores e intermediários, segundo a hipótese de que eles sejam recessivos, é pois igual a $q^2 = 70\%$. Portanto, $q = 83,67\%$ e $p = 16,33\%$. Aplicando-se os valores obtidos às fórmulas (ver III.8), verifica-se que o número esperado de casais Dominante x Dominante sem filhos lisadores é igual a 5,03, sendo pois o número esperado de casais com filhos lisadores igual a 2,97 (ou seja, $8 - 5,03$); por outro lado, entre os casais Dominante x Recessivo, o número esperado de casais sem filhos lisadores é igual a 1,66, e o número esperado com lisadores é igual a 5,34. Comparando-se os números obtidos com os esperados, verifica-se que as diferenças não são estatisticamente significativas ($X^2 = 0,57$, g.l. = 1; $0,50 < P < 0,70$, para os casais Dominante x Dominante; $X^2 = 0,36$, g.l. = 1; $0,30 < P < 0,50$, para os casais Dominante x Recessivo; e $X^2 = 0,93$; g.l. = 2; $0,50 < P < 0,70$, para a soma).

V. DISCUSSÃO

= =====

V.1 - Ilegitimidade

Pela análise dos grupos sanguíneos, puderam ser detectados, através do sistema Rh, dois filhos provavelmente ilegítimos. Um deles seria o primeiro filho do casal do Heredograma 19, e o outro seria também o primeiro filho do casal 33.b (Her.33). Ambos os filhos supostamente ilegítimos foram excluídos dos Heredogramas e das análises.

Num dos casos (Her. 33, família 33.b), tendo em vista que a mãe tem genótipo cde/cde e o filho supostamente ilegítimo não possui o antígeno c, fica evidente a indicação de exclusão de maternidade.

No outro caso (Her. 19), com base exclusivamente nos resultados das reações sorológicas (pai: C+, c-, D+, E-; mãe: C+, c+, D+, E+; filho "ilegítimo": C+, c-, D+, E-) não haveria indicação de ilegitimidade. No entanto, admitindo-se que a maioria dos filhos é legítima e considerando-se os genótipos mais prováveis do casal e dos demais filhos (Her. 19), verifica-se que o pai mais provavelmente é CDe/CDe e a mãe, CDE/cde. Nesse caso, o filho supostamente ilegítimo (sendo CDe/C-e) deve ter recebido do pai um cromossomo CDe, e deveria ter recebido da mãe um cromossomo CDe

ou Cde, mas a mãe não possui nenhum dos dois, o que indica uma exclusão de maternidade. É claro que há outras combinações cromossômicas possíveis no caso, porém elas são raras ou então levariam à exclusão de outros filhos. Foi resolvido por isso, como medida de segurança, excluir-se do Heredograma e das análises o filho eventualmente ilegítimo (ou adotivo), embora não haja provas de que ele realmente o seja.

A frequência de "ilegitimidade" encontrada no presente trabalho (2/100) está razoavelmente próxima de 4,5%, taxa essa calculada por Pinto Jr. e Beiguelman (1967) em uma amostra de 121 filhos de casais em que um dos cônjuges era doente de lepra e havia recebido tratamento em ambulatório.

V.2 - Reação de Mitsuda e Reação de Mantoux (PPD)

No presente trabalho, não se encontrou associação significativa entre as reações de Mitsuda e de Mantoux, o que está de acordo com os resultados obtidos por diversos autores (Bechelli e cols., 1945; Bechelli, 1960, 1962; Shepard e Saitz, 1967; Beiguelman, 1969, 1971), mas difere dos obtidos por outros autores (Rotberg e Souza Campos, 1948; Chaussinand, 1948a; Convit e cols., 1952; Lowe e Davey, 1956; Doull e cols., 1957, 1959; Paula Souza e Bechelli, 1960; Leiker, 1961; Beiguelman e Quagliato, 1965; Souza Campos e cols., 1955).

Esses resultados diferentes são explicados por Bechelli (1960, 1962) como sendo decorrentes das variações existentes entre as amostras. Assim, ele próprio possuía dados que mos-

~~travam associação e dados que não mostravam associação entre~~ os dois testes. As diferenças existentes entre as amostras não são devidas apenas aos seus tamanhos, à idade dos indivíduos, ao fato de provirem de regiões endêmicas ou não, ou serem constituídas por comunicantes de lepra ou não. Conforme comentou Beiguelman (1969, 1971) "os resultados contraditórios observados quando se estuda a associação entre as reações à lepromina e à tuberculina devem decorrer, muito provavelmente, também da própria técnica e do material empregados pelos diferentes investigadores". Alguns autores fizeram o teste de Von Pirquet, outros de Mantoux, uns com tuberculina OT, outros ainda com PPD, em concentrações variadas. Além disso, existem as variações que pode sofrer o PPD. "Que dizer, en tão, da variação na composição da lepromina?" (Beiguelman, 1969).

Após o estudo comparativo entre as reações de Mantoux e de Mitsuda em indivíduos sadios, comunicantes e não-comunicantes, em áreas endêmicas e não-endêmicas, Bechelli (1965a) concluiu que a reação de Mitsuda positiva era independente da prévia tuberculinização, uma vez que não se mostrou significativa a diferença na proporção de positividade lepromínica entre os indivíduos tuberculino positivos e negativos. Entretanto, em algumas áreas pode-se encontrar uma diferença estatisticamente significativa. Observou Bechelli (1965a) que, em alguns grupos, os indivíduos com reações fortes à tuberculina tendem a apresentar uma alta proporção de Mitsuda-positivos. Chamou ainda a atenção para o fato de que uma discordância de resultados atenua muito a importância da sensibilização cruzada como indicativa da existência de outros fatores mais decisivos e fundamentais na determinação da reatividade à lepromina.

V.3 - Comportamento dos Macrófagos frente
ao M. leprae

Relativamente à capacidade lítica dos macrófagos, os resultados deste trabalho mostraram que os indivíduos sadios (comunicantes) se distribuíram nas 3 classes (não-lisadores, intermediários e lisadores), com frequência relativamente baixa de lisadores. Por outro lado, tanto os tuberculoides, quanto os lepromatosos, comportaram-se como intermediários ou não-lisadores, com uma frequência muito alta de não-lisadores entre os lepromatosos.

O fato de quatro lepromatosos terem se comportado como intermediários (e, portanto, como lisadores fracos) deve decorrer, muito provavelmente, do fato de terem sofrido um surto reacional. É digno de nota que todos os quatro que mostraram sinais fracos de lise estavam em fase de regressão da reação.

Quanto aos tuberculoides, os resultados estão, aparentemente, de acordo com os encontrados por Bechelli e cols. (1959), nos quais há 66,7% (4/21) de positividade clínica da reação de Mitsuda entre os que apresentaram negatividade histológica. Já os resultados de Bicudo-Pisani e cols. (1972) mostraram que todos os tuberculoides analisados eram lisadores. Isto pode ser explicado pelo fato de a amostra estudada por estes autores ser constituída, na maioria, por indivíduos com Mitsuda fortemente positivos (++ e +++). A amostra aqui apresentada era constituída, na maioria, por indivíduos Mitsuda negativos ou fracamente positivos. Além disso, 2 indivíduos haviam passado da forma indeterminada pa

ra a tuberculóide, e um dos pacientes exibia a forma tuberculoide reacional.

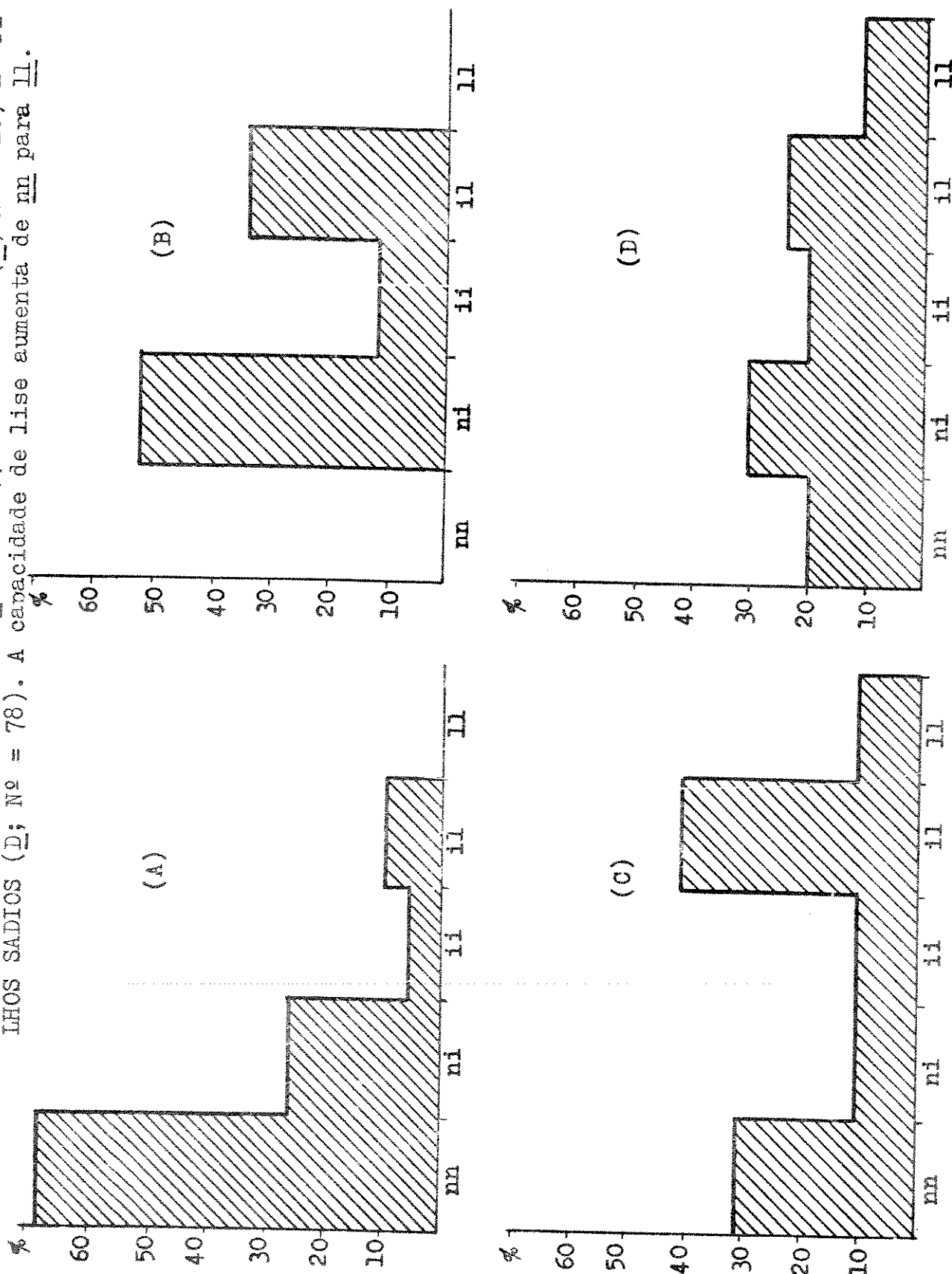
Outro ponto importante a ser discutido refere-se à classificação adotada, a qual não apresenta limites rígidos e bem delimitados. Procurou-se usar um número relativamente pequeno de classes (3), isolando-se os grupos extremos (lisador e não-lisador). Isso não significa que esses grupos sejam homogêneos quanto à capacidade de lise. O critério de classificação adotado, sendo prático, é mais qualitativo do que quantitativo.

Observa-se ainda que, dentro de cada classe, existem indivíduos cujos macrófagos possuem diferentes capacidades de lise. Há, por exemplo, indivíduos intermediários que se aproximam mais dos lisadores (il) enquanto outros se assemelham mais aos não-lisadores (ni). Além disso, há outros que não mostram tendência para nenhum dos dois extremos (ii).

Em outras palavras, entre os indivíduos considerados intermediários (i) verificam-se casos mostrando poucos sinais de lise (ni), outros cujos sinais de lise são mais intensos (il), e ainda os que mostram resposta tipicamente intermediária (ii). Uma reclassificação da classe intermediária (i) envolve a adoção de um critério mais rígido também para as classes extremas (n e l). Com isso, alguns dos indivíduos incluídos nestas últimas classes passariam, respectivamente, para novas classes - ni e il.

Usando-se essa outra classificação, pode-se verificar (Fig. V.1) que os lepromatosos se concentram nos baixos níveis de lise (a maioria não apresentando lise alguma), enquanto os tuberculoides sugerem uma distribuição em que há relativamente maior intensidade de lise. Os pais sadios (Fig. V.1) se distri-

FIGURA V.1 - DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DO COMPORTAMENTO DOS MACRÓFAGOS NOS LEPROMATOSOS (A; N° = 23), TUBERCULOIDES (B; N° = 9), PAIS SADIOS (C; N° = 10) E FILHOS SADIOS (D; N° = 78). A capacidade de lise aumenta de nn para ll.



buen ao longo de toda a escala, sugerindo uma bimodalidade de reações.

Em vista dos pequenos tamanhos das sub-amostras, esses resultados devem ser aceitos com as devidas cautelas e ressalvas. No entanto, eles servem para mostrar, sem qualquer sombra de dúvida, que não há apenas duas classes bem distintas e delimitadas de lisadores e não-lisadores. Pelo contrário, os indivíduos se distribuem ao longo de uma escala de valores, no concernente à sua capacidade lítica. A distribuição dos filhinhos sadios (Fig. V.1), que constituem uma sub-amostra bem maior ($N^{\circ} = 78$) vem ao encontro daquela afirmação.

Nessas condições, os indivíduos sadios seriam constituídos por duas frações, em cada uma das quais haveria variabilidade na intensidade de lise: os lisadores fracos (tendo em um dos seus extremos os não-lisadores) e os lisadores fortes (entre os quais os lisadores representariam o grau máximo de lise).

A favor dessa conclusão existem os resultados de Delville (1971), o qual, inoculando bacilos vivos de M. leprae em cultura de macrófagos de indivíduos sadios não-comunicantes, observou em todas as culturas aspectos de digestão bacilar. Observou ainda marcantes diferenças quantitativas, e diferenças no tempo gasto para a digestão. Comentou, ainda, que, no caso de se trabalhar com bacilos mortos, o comportamento é semelhante, mas o bacilo é mais lentamente digerido. Em seu trabalho, Delville (1971) não procurou classificar os indivíduos segundo sua capacidade lítica, e, portanto, não apresentou frequências, nem distribuição.

Os achados de Bicudo-Pisani e cols. (1972) em cul

turas de indivíduos sadios, comunicantes e não-comunicantes, também demonstram a existência de diferentes graus de capacidade de lise.

Os resultados apresentados no presente trabalho vêm dar suporte à "teoria do limiar de lise" proposta por Beiguelman (1969). De acordo com essa teoria, tanto os lisadores como os não-lisadores incluiriam indivíduos com diferentes graus de capacidade de lise (limiares lisogênicos). Pode-se ver, pelo que foi discutido, que realmente há indivíduos com diferentes graus de lise, de tal forma que poder-se-ia ter uma continuidade da curva de intensidade de lise.

De acordo com Beiguelman (1969), os limiares lisogênicos variariam de acordo com a idade. Em recém-nascidos, não haveria nenhuma ou muito baixa capacidade de lise, podendo no entanto alguns indivíduos apresentarem capacidade lisogênica ao M. leprae mesmo em tenra infância. Alguns indivíduos que não possuem capacidade de lise ao nascimento manteriam essa condição por toda a vida (não-lisadores), enquanto outros (lisadores) adquiririam ou acentuariam essa capacidade, ou seja, em alguns indivíduos o caráter lisador seria congênito, enquanto em outros seria induzido.

Além disso, o fato de que entre os lepromatosos se tenham encontrado muitos não-lisadores e poucos com alguma intensidade de lise, e que os tuberculoides tenham sempre mostrado sinais de lise (embora de intensidade variável nos diferentes indivíduos) também fala a favor da explicação dada por Beiguelman (1969). Assim, ele sugeriu que, entre os lepromatosos, a maioria seria não-lisador, mas que entre eles poderiam ser incluídos al-

guns com alguma capacidade de lise. Situação oposta ocorreria entre os tuberculoides, os quais, em fases reacionais, poderiam incluir não-lisadores.

V.4 - Comportamento dos Macrófagos, Reação de Mantoux e Reação de Mitsuda

A análise comparativa dos resultados do teste de Mantoux e do comportamento dos macrófagos não mostrou diferença significativa no total da amostra e no total de comunicantes (filhos e pais sadios). Entre os filhos sadios, no entanto, a frequência de não-lisadores entre os não-reatores mostrou-se significativamente menor ($P < 0,05$) que a respectiva frequência entre os reatores fracos e fortes.

Deve-se considerar que, tendo sido feitos 15 testes de independência, agrupando-se de formas diversas as diferentes classes para o total de indivíduos, para os comunicantes e para os filhos sadios (estes dois últimos sendo sub-amostras do total) não é de se estranhar que, por simples variação ao acaso, uma análise tenha apresentado resultado significativo ao nível de 5%. A rigor, não há, pois, evidência clara de associação entre o teste de Mantoux e o comportamento dos macrófagos in vitro.

Com relação aos resultados da reação de Mitsuda e do comportamento dos macrófagos, foram analisados os filhos sadios, o total de sadios, e todos os indivíduos da amostra, não ten

do nenhuma das análises mostrando diferença significativa. A inexistência de associação entre o teste de Mitsuda e o comportamento dos macrófagos está de acordo com os dados obtidos por Bicudo-Pisani e cols. (1972) em 57 comunicantes e não-comunicantes. Além dessa concordância de resultados, pode-se citar ainda o trabalho de Bechelli e cols. (1959), os quais estudaram a concordância entre as leituras clínica e histológica da reação de Mitsuda. Esses autores observaram, em 62 comunicantes, 51 (82,3%) de reações clinicamente positivas, entre as quais 15,7% eram histologicamente negativas e 51,0% eram reações falando a favor da positividade. Portanto, a maioria dos comunicantes com reação positiva à lepromina (66,7%) se encontram entre os que apresentam histologia negativa ou falando a favor da reação positiva. Por esses dados vê-se que não há uma concordância integral entre as leituras clínica e histológica da reação de Mitsuda.

Nos dados do presente trabalho, pode-se observar que, entre os 60 comunicantes com reação de Mitsuda positiva, 46,7% são não-lisadores e 36,7% apresentam pouca lise (intermediários), portanto 83,3% se concentram nos níveis mais baixos de lise. É claro que também não há correspondência entre a leitura clínica do teste de Mitsuda e o comportamento dos macrófagos in vitro.

V.5 - Análise Familiar da Reação de Mitsuda

Beiguelman foi o único autor que estudou a distribuição familiar da reação de Mitsuda, tanto em famílias consti

tuidas apenas por indivíduos sadios (Beiguelman, 1962b, Beiguelman e Quagliato, 1965) quanto naquelas com indivíduos afetados pelas formas polares de lepra (Beiguelman, 1965a; recente revisão em Beiguelman, 1971).

Os dados de Beiguelman, e Beiguelman e Quagliato, obtidos em famílias caucasoides das zonas rurais de Rio das Pedras e Cosmópolis (SP), mostraram que, relativamente à reação de Mitsuda, os casamentos ocorreram ao acaso, não tendo sido detectada diferença significativa entre os sexos, tanto para os filhos quanto para os pais. Os resultados aqui apresentados estão de acordo com ambas as observações. Nessas condições, os casais discordantes quanto à reação de Mitsuda puderam ser agrupados independentemente do sexo do cônjuge que apresentava reação positiva ou negativa. Ou seja, os casais $\begin{smallmatrix} 0 \\ + \end{smallmatrix} 0 \times \begin{smallmatrix} 0 \\ 1 \end{smallmatrix}$, $\begin{smallmatrix} 0 \\ + \end{smallmatrix} 0 \times \begin{smallmatrix} 0 \\ 2 \end{smallmatrix}$, e $\begin{smallmatrix} 0 \\ + \end{smallmatrix} 1 \times \begin{smallmatrix} 0 \\ 2 \end{smallmatrix}$ foram agrupados, respectivamente, com os casais $\begin{smallmatrix} 0 \\ + \end{smallmatrix} 1 \times \begin{smallmatrix} 0 \\ 0 \end{smallmatrix}$, $\begin{smallmatrix} 0 \\ + \end{smallmatrix} 2 \times \begin{smallmatrix} 0 \\ 0 \end{smallmatrix}$, e $\begin{smallmatrix} 0 \\ + \end{smallmatrix} 2 \times \begin{smallmatrix} 0 \\ 1 \end{smallmatrix}$.

Os dados indicam, claramente, uma certa familiaridade na reação de Mitsuda, confirmando pois os extensos resultados de Beiguelman. No presente trabalho, a maior frequência (50%) de filhos Mitsuda negativo (-, +) ocorre quando ambos os pais são Mitsuda negativo (0×0), vindo em seguida os casais em que um dos cônjuges é negativo e o outro fracamente positivo (0×1), com 25% de filhos Mitsuda negativo, e, finalmente, os casais em que um dos cônjuges é negativo e o outro, fortemente positivo (0×2), com 15% de filhos Mitsuda negativo. O único casal em que ambos os cônjuges apresentavam forte reação Mitsuda-positivo (2×2) teve dois filhos, ambos sendo também fortemente positivos. Embora os resultados de Beiguelman tenham mostrado maiores frequên-

cias de filhos Mitsuda-negativos, comparativamente aos aqui apresentados, a tendência geral foi a mesma, falando claramente a favor de que a reação de Mitsuda seja um caráter familiar.

Mas, conforme Beiguelman (1969, 1971) deixou muito bem claro, a associação familiar de um caráter frequente na população é uma condição necessária, mas não suficiente para demonstração de uma etiologia genética. A hipótese de trabalho inicialmente aventada (um par de genes principais, com o alelo recessivo sendo responsável pela reação negativa à lepromina) não foi confirmada. Assim é que o próprio Beiguelman mostrou, entre filhos de casais constituídos por pai e mãe lepromatosos, cerca de 31% com fortes reações de Mitsuda (Beiguelman, 1965a). No presente trabalho, os casais O x O tiveram 44% de filhos fortemente positivos para reação de Mitsuda (++ , +++), o que também contraria a hipótese monogênica.

Realizando um estudo quantitativo de uma amostra de pares de gêmeos sadios, que viviam em uma área endêmica de lepra e tuberculose, Beiguelman (1971) chegou à conclusão de que os resultados eram bastante inconsistentes, o que entrava em choque com a hipótese da etiologia genética das características estudadas (reações de Mitsuda, Fernandez, e Mantoux). Sua conclusão final foi que "...Mitsuda reaction is not a genetic trait".

V.6 - Análise Genética do Comportamento dos Macrófagos

As situações que favorecem a hipótese de ser genética a capacidade lisogênica dos macrófagos frente ao M. leprae

podem ser assim sumariadas, de acordo com Beiguelman (1969,1971):

1. Os tipos polares de lepra mostram associação familiar.
2. A concentração de doentes de lepra em irmandades não é casual, mesmo em populações com alta prevalência de lepra.
3. Os consanguíneos de lepromatosos têm maior risco de contrair lepra lepromatosa do que os não consanguíneos desses doentes.
4. Os estudos de gêmeos sugerem que os pares monozigóticos são mais concordantes do que os dizigóticos no concernente às formas de lepra.
5. A associação familiar da reação de Mitsuda foi plenamente demonstrada.
6. A proporção de reação de Mitsuda forte, após calmetização, é significativamente menor em filhos de lepromatosos do que em filhos de sadios.
7. A incapacidade lisogênica em relação ao M. leprae apresentada pelos macrófagos dos doentes lepromatosos parece ser específica.
8. Não é possível a transformação de um indivíduo que reage à inoculação de M. leprae desenvolvendo um infiltrado onde predominam células de Virchow, em um que produz um granuloma tuberculóide, e vice-versa.
9. Alguns comunicantes de lepra são permanentemente incapazes de reagir positivamente ao teste de Mitsuda mesmo quando submetidos à vacinação com BCG e inoculações repetidas de lepromina. Em contraste, outros, mesmo em tenra infância, respondem positivamente à lepromina sem sensibilização demonstrável por M. leprae ou M. tuberculosis.

Numa tentativa de analisar geneticamente a asso-

ciação familiar encontrada em relação ao comportamento dos macrófagos in vitro face ao M. leprae verificou-se o seguinte:

Não há nenhuma indicação de que esteja em ação um gene principal ligado ao sexo (dominante ou recessivo), quer quando se analisam os heredogramas, quer quando se compara o comportamento dos macrófagos nos dois sexos.

No caso de herança autossômica, poder-se-ia pensar na possibilidade de o caráter não-lisador ser condicionado por um alelo recessivo principal. Observando-se os dados (Tab.IV.11), pode-se logo descartar essa hipótese, pois dentre os casais $n \times n$, os quais deveriam ter apenas filhos não-lisadores, foram encontrados 37% (7/19) de filhos lisadores e intermediários.

Outra hipótese genética simples é que o caráter lisador fosse recessivo, e o intermediário fosse heterozigoto. Admitindo-se essa hipótese, os casais ($i \times i$) deveriam ter filhos na proporção de 1:1:0 para lisador, intermediário e não-lisador, respectivamente, e tiveram 3:3:5; os casais ($i \times n$) deveriam ter 0:1:1 e tiveram 4:16:8; e finalmente, os casais ($n \times n$) deveriam ter 0:0:1 e tiveram 3:4:12. Portanto, essa hipótese também não pode ser aceita, a despeito de os casais ($i \times i$) terem mostrado distribuição (1:2:3) que não difere flagrantemente do esperado (1:2:1).

Uma quinta hipótese genética simples a ser aventada (também autossômica) seria a de que o caráter lisador (forte ou fraco) fosse completamente recessivo, diferenciando-se do não-lisador (dominante). Analisando-se os dados, através do método de Fisher (1939), não se pode rejeitar essa hipótese, condicionada à

ressalva de tratar-se de um gene principal com expressividade variável.

Por outro lado, a evidência a favor da hipótese é muito tênue. Deve-se lembrar, por exemplo, o fato de não ter sido detectada nenhuma família em que ambos os cônjuges fossem lisadores. Esses casais são de grande importância na análise do problema, pois, independentemente de suposição básica, tal como equilíbrio populacional, eles deveriam ter exclusivamente filhos lisadores, se fosse verdadeira a hipótese. No entanto, classificando-se o comportamento dos macrófagos em cinco tipos, observam-se 1 casal (il x il) e 1 casal (il x ll), os quais tiveram três filhos il e dois ll (ou seja, os 5 filhos desses casais comportaram-se como il ou ll, nenhum deles sendo não-lisador). Esse resultado favoreceria a hipótese.

Em conclusão, os resultados deste trabalho não contrariam a hipótese de que o caráter lisador (forte ou fraco) seja condicionado por um alelo principal, autossômico e recessivo, com expressividade variável. Está claro, porém, que tais resultados não devem ser considerados, no momento, como provando esta hipótese simplista. Assim não se pode excluir a possibilidade de o comportamento dos macrófagos ser um caráter poligênico que depende da interação de numerosos fatores do meio ambiente, até que mais dados pertinentes ao problema se acumulem.

Para finalizar, podemos dizer, juntamente com Pearsall e Weiser (1970) que o grau de imunidade à lepra no homem é provavelmente determinado não somente por propriedades inerentes aos macrófagos, mas também por outras forças imunes contribuídas, talvez, pelos linfócitos, as quais atuariam em conjunto com os macrófagos.

VI. RESUMO E CONCLUSÕES

== ===== = =====

Na Introdução deste trabalho (Cap.II), fez-se uma revisão geral sobre alguns problemas epidemiológicos da lepra, reação à lepromina, e aspectos genéticos da suscetibilidade à doença, tendo sido comentados os fatores que podem afetar a prevalência da doença e a reação de Mitsuda, essa última de grande valor diagnóstico e prognóstico em Leprologia. Foram referidas as primeiras idéias a respeito da predisposição genética à lepra e revistos os trabalhos sobre os eventuais efeitos pleiotrópicos dos marcadores genéticos (grupos sanguíneos, PTC, proteínas do sôro, deficiência de G-6PD, e hemoglobinas anormais). Foram mencionados os resultados obtidos em gêmeos, relativamente às taxas de concordância das formas da doença e da reação de Mitsuda. Finalmente, foram revistos os trabalhos sobre as análises familiares dos tipos de lepra e sobre o comportamento dos indivíduos sadios em relação à lepromino-reação.

Ainda no capítulo de Introdução, foram comentados alguns estudos feitos em relação ao comportamento in vitro dos macrófagos humanos frente ao M. leprae. Considerando-se algumas evidências a respeito de um possível fator genético, influenciando no aparecimento das formas de lepra, a autora se propôs a estudar a possibilidade de ser o comportamento in vitro dos macrófagos humanos face o M. leprae, um caráter genético. Além disso, propôs-se,

também, a analisar os resultados obtidos quanto aos testes de Mantoux (com PPD), de Mitsuda e do comportamento dos macrófagos, isoladamente e em conjunto, em cada sub-amostra de doentes e de sadios.

No capítulo III, foram descritos o material e os métodos empregados na execução do trabalho. Foram caracterizadas as 35 famílias analisadas, bem como os critérios de seleção das mesmas, o preparo do material para coleta e cultura, a técnica de coleta, as provas tuberculínicas e lepromínicas, a técnica de cultura de macrófagos, as características observadas nas preparações, os conceitos de reação negativa (não-lisador), reação fracamente positiva (intermediário) e reação positiva (lisador), tanto sob o ponto de vista da bacilosscopia, quanto no concernente aos tipos de células existentes na preparação. O clássico método de Fisher, para se testar a hipótese genética, foi descrito sumariamente.

No capítulo IV, foram apresentados os resultados obtidos para o total de 176 pessoas analisadas, segundo a sua distribuição nas 35 famílias. Os resultados da determinação dos grupos sanguíneos, da reação de Mantoux, da reação de Mitsuda, dessas duas provas analisadas simultaneamente, bem como das observações a respeito do comportamento dos macrófagos, e da análise conjunta dessa resposta com as reações de Mantoux e de Mitsuda, foram apresentados, seja em relação aos filhos sadios e ao total de sadios, seja em relação ao total da amostra. Foram ainda apresentados e analisados os resultados da distribuição familiar da reação de Mitsuda e da distribuição familiar do comportamento dos macrófagos.

No capítulo V, os resultados obtidos foram discu

tidos e comparados com outros da literatura pertinente. Desse capítulo podem-se tirar algumas conclusões relevantes:

1) No material humano analisado, não foi encontrada associação significativa entre as reações de Mitsuda e de Mantoux.

2) Não existe um limite nítido entre as classes de resposta in vitro dos macrófagos face o M. leprae morto, encontrando-se praticamente uma distribuição contínua de valores de lise. Nesta distribuição, o comportamento dos macrófagos dos lepromatosos concentrou-se nos baixos níveis de lise, enquanto os dos tuberculoides apresentou valores mais altos.

Tendo em vista o maior tamanho da amostra de indivíduos sadios, os valores de lise por eles apresentados permitiram verificar uma distribuição contínua que sugere bimodalidade. Uma das possíveis modas seria apresentada pelos lisadores fracos (tendo em um dos seus extremos os não-lisadores) e a outra pelos lisadores fortes (entre os quais os lisadores representariam o grau máximo de lise). Esses resultados dão suporte à teoria do limiar de lise de Beiguelman (1969, 1971).

3) Não se demonstrou associação significativa entre a leitura clínica do teste de Mitsuda e o comportamento in vitro dos macrófagos face o M. leprae morto. Da mesma forma, a sensibilização pelo M. tuberculosis também parece não influir no comportamento in vitro dos macrófagos frente ao M. leprae.

4) Os resultados da distribuição familiar do teste de Mitsuda, embora tenham confirmado a existência de familiaridade, também contrariaram a hipótese monogênica de que um alelo re

~~cessivo seria responsável pela reação negativa à lepromina.~~

5) A análise genética do comportamento dos macrófagos foi discutida confrontando-se os resultados obtidos com as indicações que favorecem a hipótese de ser a capacidade lisogênica dos macrófagos frente ao M. leprae dependente de um componente genético importante. Foi demonstrada a existência de familiaridade do caráter, mas os dados não se conformam com modelos genéticos simples para explicar a incapacidade lisogênica dos macrófagos (gene dominante ou recessivo ligado ao sexo, gene autossômico recessivo, e gene incompletamente dominante). Os dados não contrariam a hipótese de a capacidade lisogênica dos macrófagos ser condicionada por um gene principal, autossômico e recessivo, com expressividade variável, mas também não a provam. Os casais em que ambos os cônjuges são lisadores são muito importantes para a análise do problema, pois, independentemente de suposições básicas, tal como equilíbrio populacional, eles deveriam ter exclusivamente filhos lisadores, se fosse verdadeira a hipótese de recessividade autossômica desse caráter. Infelizmente, esses casais não foram detectados na amostra. Por isso mesmo, a hipótese monogênica, por ser muito simplista para explicar a variabilidade existente na capacidade de lise dos diferentes indivíduos, deve ser considerada com reservas, antes de se analisarem famílias cujos cônjuges são lisadores.

VII. BIBLIOGRAFIA

== =====

- ANDRADE, L.M.C. - Comparação entre os aspectos microscópicos e macroscópicos do teste lepromínico. Bol. Serv. Nac. Lepra (Rio de Janeiro), 21: 95-124, 1962.
- AZULAY, R.D.; ANDRADE, L.M.C.; SILVA, C.; RABELO NETTO, A.V.; AZULAY, J.D.; NEVES, R.G.; e MIGUEZ-ALONSO, A. - Comparison of the macroscopic readings and microscopic findings of the lepromin reaction. Internat. J. Leprosy, 28: 38-43, 1960.
- BECHELLI, L.M. - Contribuição para o estudo das relações imunoalérgicas entre tuberculose e lepra pela correlação entre as reações de Mantoux e de Fernandez. Tese. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, São Paulo, 1960.
- BECHELLI, L.M. - Estudo comparativo entre os testes da lepromina e da tuberculina. Bol. Serv. Nac. Lepra (Rio de Janeiro), 21: 171-241, 1962.
- BECHELLI, L.M. - A review of present literature on the lepromin test. Documento da Organização Mundial da Saúde (Unidade de Lepra), 46 pp., 1965a.
- BECHELLI, L.M. - A review of present literature on the immunological correlation between tuberculosis and leprosy. Documento da Organização Mundial da Saúde (Unidade de Lepra), 69 pp., 1965b.
- BECHELLI, L.M. - A lepra hoje. A Saúde do Mundo, Out.: 10-19, 1971.

- BECHELLI, L.M.; KEIL, H.; e ROTBERG, A. - Resultados da lepromino-reação em país não-endêmico de lepra. Rev. Brasil. Leprol., 13: 21-24, 1945.
- BECHELLI, L.M.; SOUZA, P. R. de; e QUAGLIATO, R. - Correlação entre os resultados da leitura clínica e do exame histopatológico da reação de Mitsuda. Rev. Brasil. Leprol., 27: 172-182, 1959.
- BECHELLI, L.; GARCIA, G.; NAKAMURA, S.; e QUAGLIATO, R. - Determinação da data de leitura da reação de Mitsuda com lepromina integral em indivíduos sãos, sem exposição prévia conhecida ao M. leprae. An. VIII Congr. Internac. Leprol. (Rio de Janeiro), 3: 284-294, 1963.
- BECHELLI, L.M. e MARTINEZ DOMINGUES, V. - Further information on the leprosy problem in the world. Internat. J. Leprosy, 39: 601, 1971.
- BEIGUELMAN, B. - Reação gustativa à fenil-tio-carbamida (PTC) e lepra. Rev. Brasil. Leprol., 30: 111-124, 1962a.
- BEIGUELMAN, B. - Hereditariedade da reação de Mitsuda. Rev. Brasil. Leprol. 30: 153-172, 1962b.
- BEIGUELMAN, B. - Grupos sanguíneos e lepra. Rev. Brasil. Leprol., 31: 34-44, 1963.
- BEIGUELMAN, B. - Sistema ABO e epidemiologia de lepra. Rev. Paul. Med., 65: 80-86, 1964a.

- BEIGUELMAN, B. - Taste sensitivity to phenylthiourea among patients affected with both tuberculosis and leprosy. Acta Genet. Med. Gemellol., 13: 190-192, 1964b.
- BEIGUELMAN, B. - Taste sensitivity to phenylthiourea and leprosy. Acta Genet. Med. Gemellol., 13: 193-196, 1964c.
- BEIGUELMAN, B. - The genetics of resistance to leprosy. Internat. J. Leprosy, 33: 808-812, 1965a.
- BEIGUELMAN, B. - Genética e epidemiologia das doenças transmissíveis com especial referência à lepra. Ciência e Cultura, 17: 449-460, 1965b.
- BEIGUELMAN, B. - Further results on the genetics of leprosy resistance. Abstracts of Contributed Papers. III Internat. Cong. Human Genet. (Chicago, U.S.A.): 6-7, 1966.
- BEIGUELMAN, B. - Leprosy and Genetics. A review of past research with remarks concerning future investigations. Bull. Wld Hlth Org., 37: 461-476, 1967.
- BEIGUELMAN, B. - Some remarks on the genetics of leprosy resistance. Acta Genet. Med. Gemellol., 17: 584-594, 1968a.
- BEIGUELMAN, B. - Dinâmica dos genes nas populações e nas famílias. Edart, Livraria Editora Ltda., S. Paulo, (1ª ed.) 212 pp, 1968b.
- BEIGUELMAN, B. - Hereditariedade e Lepra. Tese de Docência Livre. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP), 1969.

- BEIGUELMAN, B. - Lepromin reaction:- genetics studies including twin pair analysis. Acta Leprol., 44: 5-65, 1971.
- BEIGUELMAN, B. - An appraisal on genetic studies on leprosy. Acta Genet. Med. Gemellol. (no prelo), 1972.
- BEIGUELMAN, B. e MARQUES, M.B. - Taste sensitivity to phenylthiourea and drugs with antileprotic effect. Acta Genet. Med. Gemellol., 13: 200-202, 1964.
- BEIGUELMAN, B. e QUAGLIATO, R. - Nature and familial character of the lepromin reactions. Internat. J. Leprosy, 33: 800-807, 1965.
- BEIGUELMAN, B.; PINTO JR., W.; DALL'AGLIC, F.F.; DA SILVA, E. e VOZZA, J.A. - Deficiencia de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G-6PD) e lepra. Ciencia e Cultura 18: 95-96, 1966.
- BEIGUELMAN, B.; DALL'AGLIO, F.F.; e DA SILVA, E. - Estudo das formas polares de lepra pela análise de pares de irmãos. Rev. Paul. Med., 72: 111-119, 1968a.
- BEIGUELMAN, B.; DA SILVA, E.; e DALL'AGLIO, F.F. - Lepra e sexo. Rev. Paul. Med., 72: 120-129, 1968b.
- BEIGUELMAN, B.; PINTO JR., W.; DALL'AGLIO, F.F.; DA SILVA, E.; e VOZZA, J.A. - G-6PD deficiency among lepers and healthy people in Brazil. Acta genet. (Basel), 18: 159-162, 1968c.

- ~~BENEWOLENSKAJA, S.W.~~ Ueber die in-vitro-reaktion der embryona-
len Gewebe und Leukozyten des Menschen auf Lepra-
bazillen. Arch. exp. Zellforsch., 13: 37-46, 1932.
- BICUDO-PISANI, R.C.; BEIGUELMAN, B.; OPROMOLLA, D.W.A.; e VOZ
ZA, J.A. - In vitro behavior of blood derived macropha-
ges against killed Mycobacterium leprae. Internat. J.
Leprosy (no prelo), 1972.
- BINFORD, C.H. - Leprosy - A model in geographic pathology. In
ternat. Pathol., 7: 6-12, 1966.
- CHAGAS, C. - (Segundo citação em Manual de Leprologia, Servi-
ço Nacional de Lepra, Rio de Janeiro, pg. 21, 1960),
1936.
- CHAUSSINAND, R. - Tuberculose et lèpre, maladies antagoniques.
Éviction de la lèpre par la tuberculose. Internat. J.
Leprosy, 16: 431-438, 1948.
- COMISSÃO TÉCNICA DA CAMPANHA NACIONAL CONTRA A TUBERCULOSE -
Prova tuberculínica em saúde pública. Rev. Serv. Nac.
Tuberculose, XII: 219-230, 1968.
- CONVIT, J.; RASSI, E.; RODRIGUES, F.C.; e CONTRERAS, R. - Chan-
ges in the lepromin and tuberculin reactions of lepro-
min-negative leprosy patients after vaccination with
BCG. Internat. J. Leprosy, 20: 347-354, 1952.
- DANIELSSEN, D.C. e BOECK, W. - Traité de la spédalskhead ou
clóphantiasis des Grocs. Traduzido do norueguês por L.A.
Cosson, Baillière, Paris, 1848.

- DELVILLE, J. - In vitro behavior of macrophages from healthy persons against M. leprae and other Mycobacteria. Internat. J. Leprosy, 39: 329-339, 1971.
- DOULL, J.A. - Leprosy. In "Practice of Medicine", IV: 57-78, 1962.
- DOULL, J.A.; GUINTO, R.S.; RODRIGUES, J.N. e BRANCROFT, H. - The incidence of leprosy in Cordova and Talisay, Cebu, P.I. Internat. J. Leprosy, 10: 107-131, 1942.
- DOULL, J.A.; GUINTO, R.S. e MABALAY, M.C. - Effect of BCG vaccination, lepromin testing and natural causes in inducing reactivity to lepromin and to tuberculin. Internat. J. Leprosy, 25: 13-37, 1957.
- DOULL, J.A.; GUINTO, R.S. e MABALAY, M.C. - The origin of natural reactivity to lepromin. Internat. J. Leprosy, 27: 31-42, 1959.
- FAVERO, W. DEL - O censo intensivo de Candeias. Arq. Serv. Nac. Lepra (Rio de Janeiro), 6: 87-235, 1948.
- FISHER, R.A. - Blood groups in England. III. Discussion of familial material. Em TAYLOR, G.L. e PRIOR, A.M. Ann. Eugen., 9: 18-44, 1939.
- GUINTO, R.S. - Problems requiring solution through field studies. Internat. J. Leprosy, 33: 732-738, 1965.
- GUINTO, R.S.; DOULL, J.A. e MABALAY, E.B. - A note on the lepromin reaction in males and females of the general po-

- pulation of Cordova, Mactan Island, Cebu, Philippines. Internat. J. Leprosy, 23: 131-134, 1955.
- HANKS, J.H. - A note on the numbers of leprosy bacilli which may occur in lepromatous nodules. Internat. J. Leprosy, 13: 25-26, 1945.
- HANKS, J.H. - A study of the bacilli in tissue cultures of lepromatous in serum media. Internat. J. Leprosy, 15: 21-30, 1947a.
- HANKS, J.H. - The fate of leprosy bacilli in fibroblasts cultivated from macular and tuberculoid lesions. Internat. J. Leprosy, 15: 31-47, 1947b.
- HANKS, J.H. - The fate of leprosy bacilli fibroblasts cultivated from lepromatous lesions. Internat. J. Leprosy, 15: 48-64, 1947c.
- HANKS, J.H. - Enumeration of Mycobacterium leprae for the standardization of lepromin. Internat. J. Leprosy, 27: 134-140, 1959.
- HANKS, J.H. - Microscopic counts of Mycobacteria conversion factors for the pinhead method. Internat. J. Leprosy, 36: 76-77, 1968.
- HANKS, J.H.; CHATTERJEE, B.R.; & LECHAT, M.F. - A guide to the counting of Mycobacteria in clinical and experimental materials. Internat. J. Leprosy., 32: 156-167, 1964.

- HANKS, J.H.; ABE, M.; NAKAYAMA, T.; TUMA, M.; BECHELLI, L.M.; e MARTÍNEZ DOMÍNGUEZ, V. - Studies towards the standardization of lepromin. Bull. Wld Hlth Org., 42: 703-709, 1970.
- KEIL, E. - Hereditary factors in leprosy. Leprosy Rev., 10: 163-171, 1939.
- KINNEAR-BROWN, J.A. e STONE, M.M. - Tuberculoid leprosy in identical twins. Leprosy Rev., 29: 53-55, 1958.
- LECHAT, M.F., e HANKS, J.H. - The concentration of M. leprae in currently available lepromins. Internat. J. Leprosy, 31: 348-352, 1963.
- LECHAT, M.F.; BIAS, W.B.; GUINTO, R.S.; COHEN, B.H.; TOLENTINO, J. G.; e ABALOS, R.M. - A study of various blood groups systems in leprosy patients and controls in Cebu, Philippines. Internat. J. Leprosy, 36: 17-31, 1968a.
- LECHAT, M.F.; BIAS, W.B.; BLUMBERG, B.S.; MELARTIN, L.; GUINTO, R.S.; COHEN, B.H.; TOLENTINO, J.G.; e ABALOS, R.M. - A controlled study of polymorphisms in serum globulin and glucose-6-phosphate-dehydrogenase deficiency in leprosy. Internat. J. Leprosy, 36: 179-191, 1968b.
- LEIKER, D.L. - Studies on the lepromin test. III. Influence of tuberculosis contact and other factors on the size of the lepromin reaction. Internat. J. Leprosy, 29: 488-495, 1961.

- LESSA, A. - L'Outremer portugais dans la IIème Exposition Mondiale du Sang. Bull. Clin. Stat. (Hôpital D'Outremer), Lisboa, 7: 129-138, 1954.
- LOWE, J. - Epidemiology of leprosy in Hyderabad (Deccan), India. Internat. J. Leprosy, 1: 17-30, 1933.
- LOWE, J. e DAVEY, T.F. - Tuberculin and lepromin reactions in Nigeria. An analysis of the data of Lowe and McNulty. Internat. J. Leprosy, 24: 419-423, 1956.
- MIGUEZ-ALONSO, A. - Lepra dimorfa - Fundamentos de sua concei tuação. (Tese) Rio de Janeiro, 121 pp., 1966.
- MIRANDA, D.P. de - A vacinação B.C.G. e seu poder protetor na ação profilática em massa contra a tuberculose. Rev. Di visão Nac. Tuberculose, XV: 158-207, 1971.
- MOHAMED ALI, P. - Genetic influence in leprosy. Leprosy in India, 37: 252-267, 1965.
- MOHAMED ALI, P. e RAMANUJAM, K. Leprosy in twins. Internat. J. Leprosy, 34: 405-407, 1966.
- MOTTA, E.G. F. da - Teste tuberculínico na prática de saúde pública. Rev. Divisão Nac. Tuberculose, XIV: 305-312, 1970.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE - Comité de expertos de la OMS en lepra: Cuarto informe, Org. mund. Salud Ser. Inf. técn., nº 459, 1970.

- PAULA-SOUZA, R. e BECHELLI, L.M. - Correlação entre as reações lepromínica e tuberculínica em crianças de 0 a 4 anos. Rev. Brasil. Leprol., 28: 203-210, 1960.
- PEARSALL, N.N. e WEISER, R.S. - The macrophage. Lea & Febiger, Philadelphia, 204 pp., 1970.
- PINTO JR., W. e BEIGUELMAN, B. - Taxa de ilegitimidade e lepra. Rev. Paul. Med., 71: 267-270, 1967.
- ROTBERG, A. e SOUZA CAMPOS, N. - Lepromino reações em indivíduos sãos em São Paulo, não comunicantes. Rev. Brasil. Leprol., 16: 267-275, 1948.
- SAHA, N.; WONG, H.B.; BANERJEE, B.; e WONG, M.O. - Distribution of ABO blood groups, G6PD deficiency, and abnormal haemoglobins in leprosy. Journal of Medical Genetics, 8: 315-316, 1971.
- SALZANO, F.M. - Blood groups and leprosy. Journal of Medical Genetics, 4: 102-106, 1967.
- SALZANO, F.M.; SUÑÉ, M.V.; e FERLAUTO, M. - New studies on the relationship between blood groups and leprosy. Acta genet. (Basel), 17: 530-544, 1967.
- SATO, S. - Human Leprosy. In "Mykobakterien und mykobakterielle Krankheiten" (IX: 1-287), ed. por G. Meissner e A. Schmiedel, VEB GUSTAV FISCHER VERLAG JENA, 437 pp., 1967.

- SCHVANTES, A.R.; SALZANO, F.M.; CASTRO, I.V. de; e TONDO, C.V.
Haptoglobins and leprosy. Acta genet. (Basel), 17:
127-136, 1967.
- SHEPARD, C.C.; e SALTZ, E.W. - Lepromin and tuberculin reactivity in adults not exposed to leprosy. J. Immunol., 99:
637-642, 1967.
- SILVEIRA, A.R. da - Epidemiologia. In "Noções de Leprologia", Ministério da Saúde (Rio de Janeiro): 85-96, 1969.
- SOUZA-CAMPOS, N.; ROSEMBERG, J. e AUN, J.N. - Correlação tuberculina-lepromina. Rev. Brasil. Leprol., 23: 23-40, 1955.
- SPICKETT, S.G. - Genetics and the epidemiology of leprosy. I. The incidence of leprosy. Leprosy Rev., 33: 76-93, 1962a.
- SPICKETT, S.G. - Genetics and the epidemiology of leprosy. II. The form of leprosy. Leprosy Rev., 33: 173-181, 1962b.
- STRATTON, F. e RENTON, P.H. - Practical blood grouping. Blackwell, 330 pp., 1958.
- TUMA, M. - Imunologia - In "Noções de leprologia", Ministério da Saúde (Rio de Janeiro): 18-24, 1969.
- VOGEL, F.; KRÜGER, J.; CHAKRAVARTTI, M.R.; RITTER, H. e FLATZ, G. ABO blood groups, Inv serum groups, and serum proteins in leprosy patients from West Bengal (India). Humangenetik, 12: 284-301, 1971.

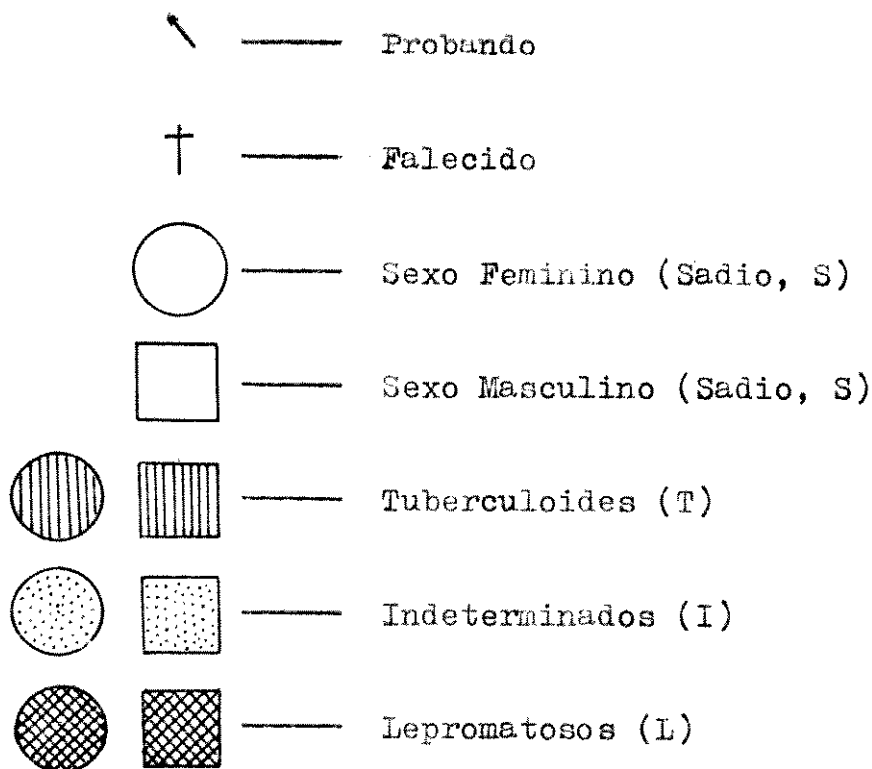
WOOD IV, H.C. - Hemoglobin types in leprosy. Public Health Reports, 71: 1000, 1956.

YANKAH, J.A.K. - Observations on the frequency of ABO and Rh blood groups in leprosy and non-leprosy people in Ghana. Leprosy Rev., 36: 73-74, 1965.

VIII. APÊNDICE: HEREDOGRAMAS

==== =====

LEGENDAS

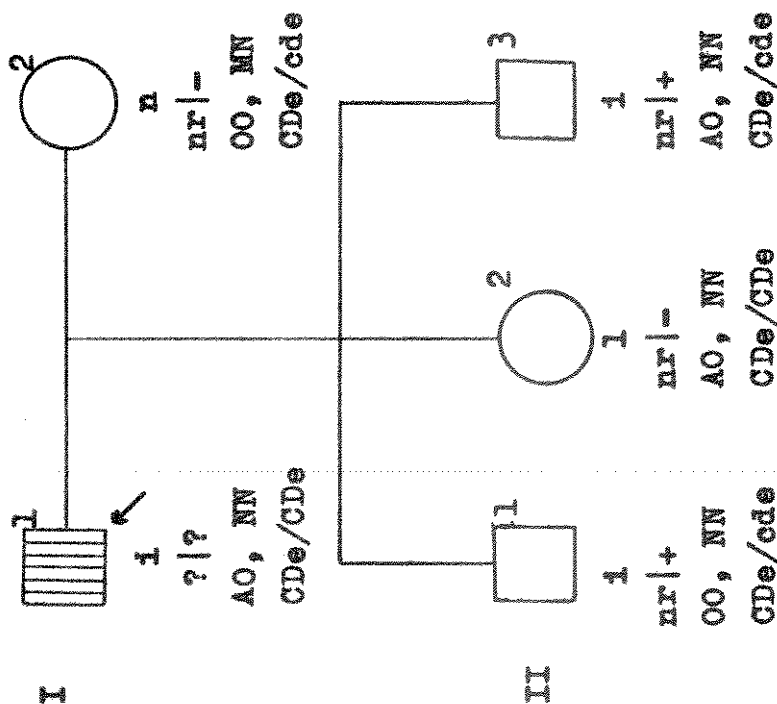


As informações sob cada indivíduo representam, respectivamente:

- Comportamento dos macrófagos (n = não-lisador; i = intermediário; l = lisador, dg = degenerado, nd = não diferenciado, . = não analisado com 20 e 30 dias);
- Reações de Mantoux e de Mitsuda (nr = não reator, r = reator fraco, R = reator forte, ? = ignorado; - = negativa, + = duvidosa, ++ = fracamente positiva, +++ e ++++ = fortemente positivas);
- Genótipos dos grupos sanguíneos ABO e MN;
- Genótipos mais prováveis do sistema Rh.

Os N^{os} sob cada Família são os dos prontuários registrados na Coordenadoria de Saúde da Comunidade (Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo). DDS = Dispensário de Dermatologia Sanitária.

HEREDOGRAMA 1

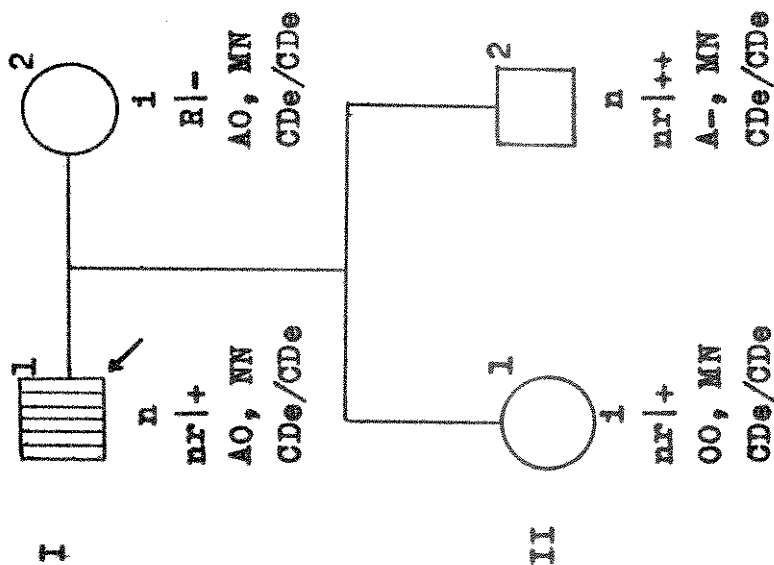


Família 1: T X S

I-1: Nº 66.313

(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 2

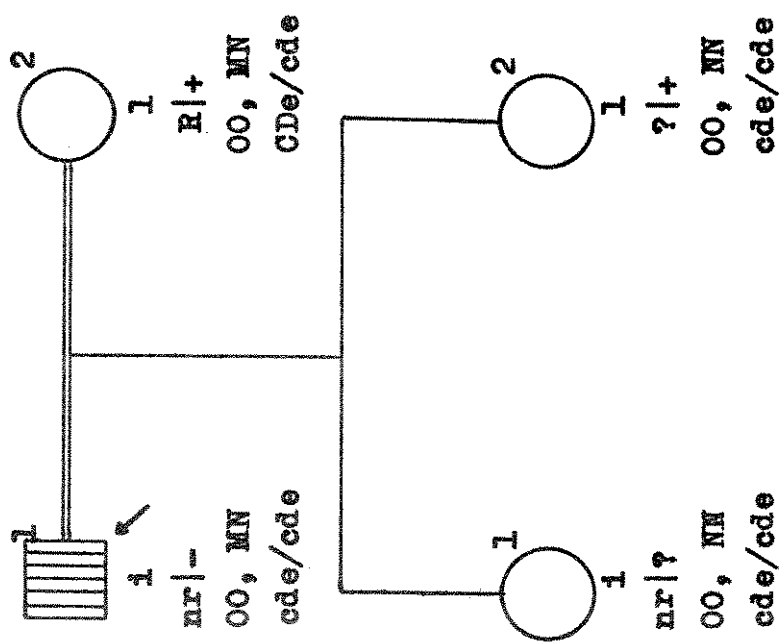


Família 2: T X S

I-1: Nº 61.324

(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 3



Família 3: T X S

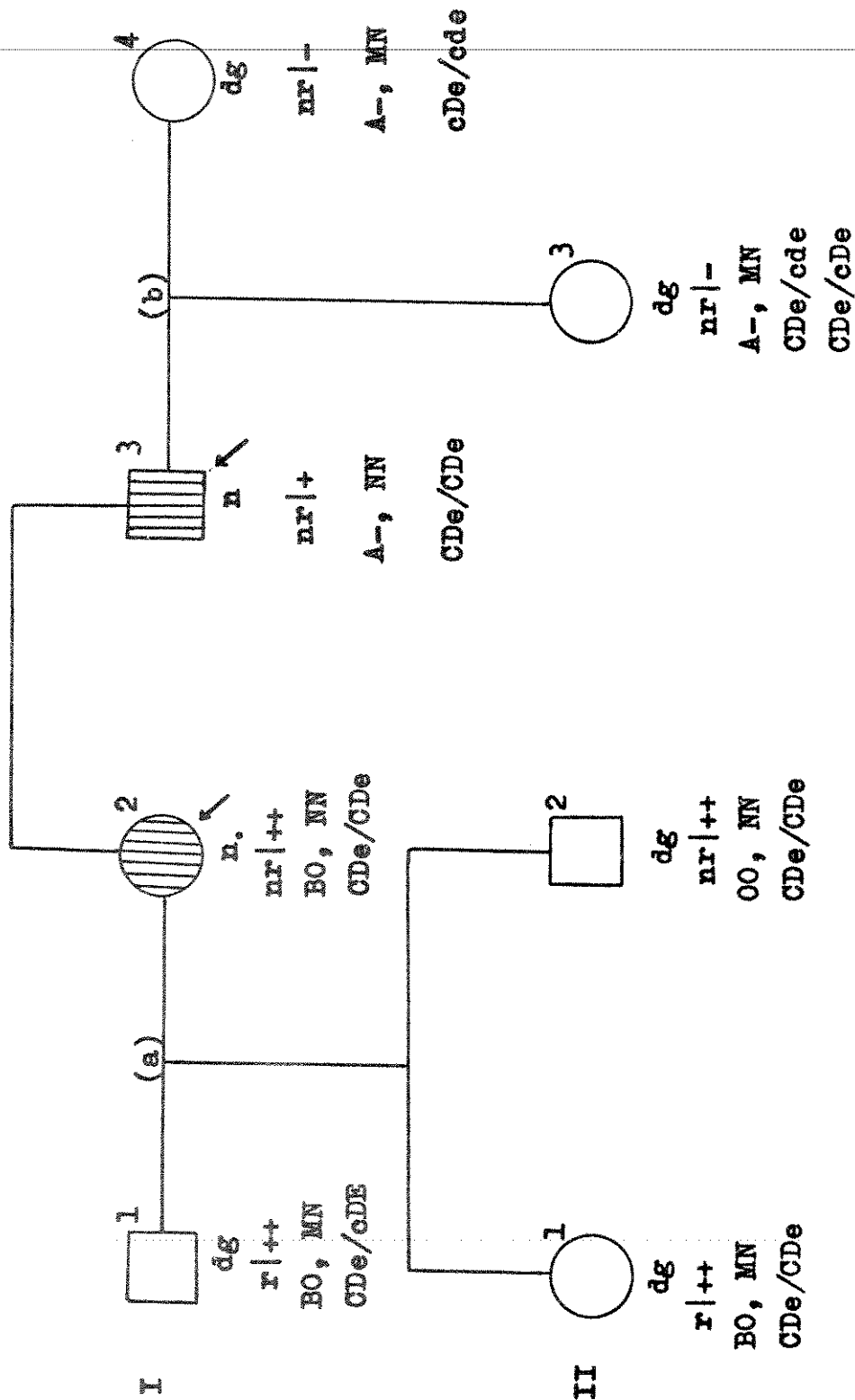
I-1: Nº 61.473

(DDS, Campinas)

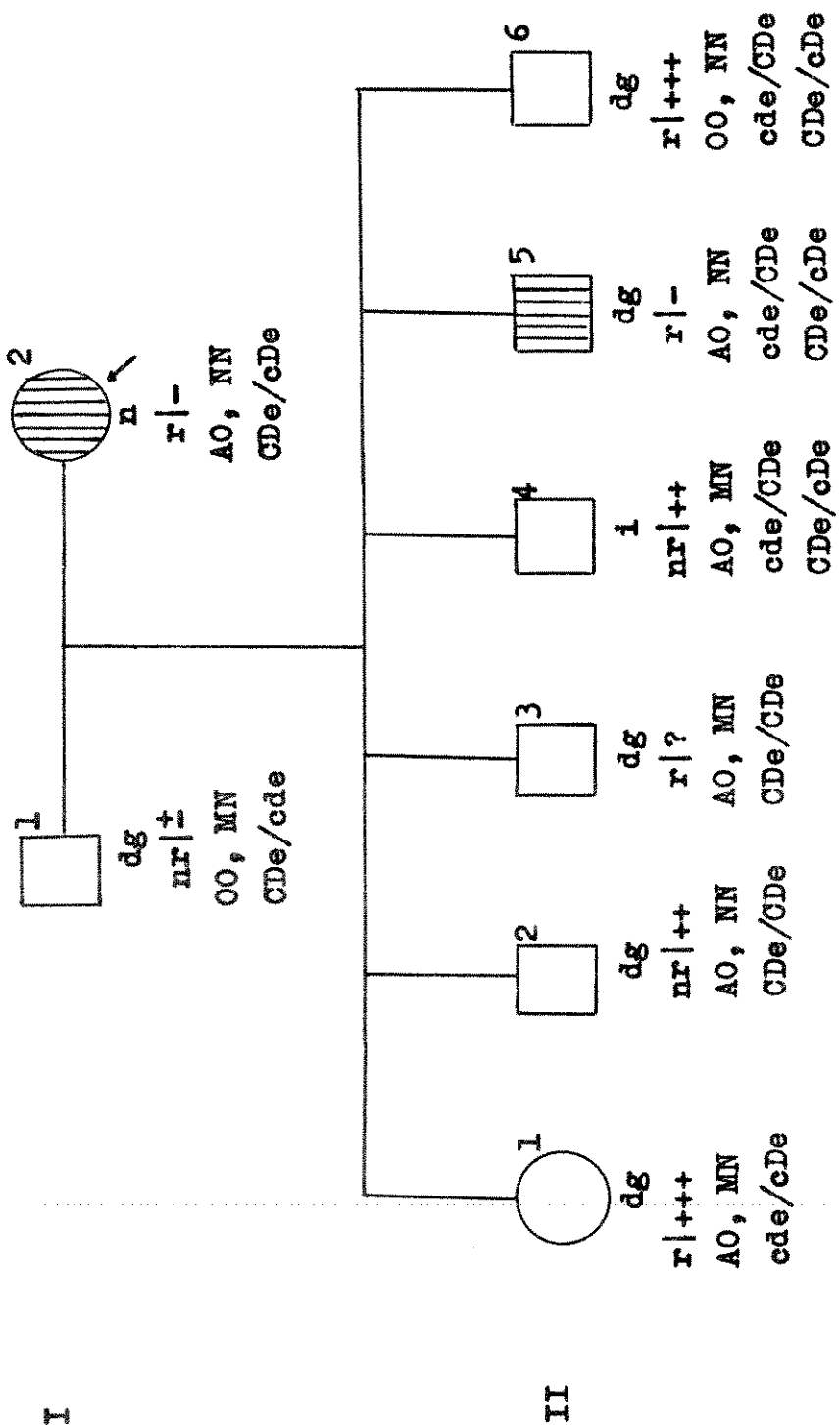
I

II

HEREDOGRAMA 4



HEREDOGRAMA 5

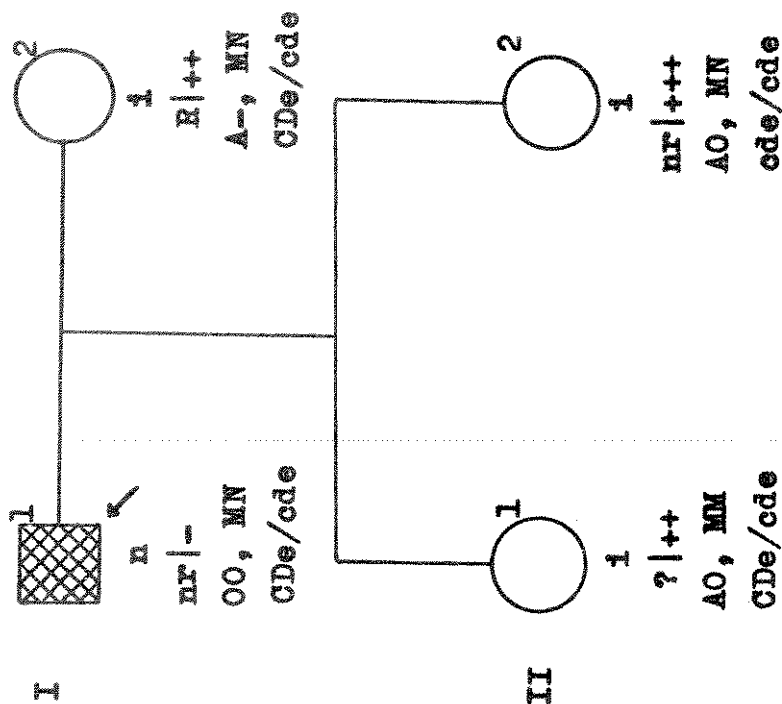


Família 5: T X S

I-2: Nº 11.434

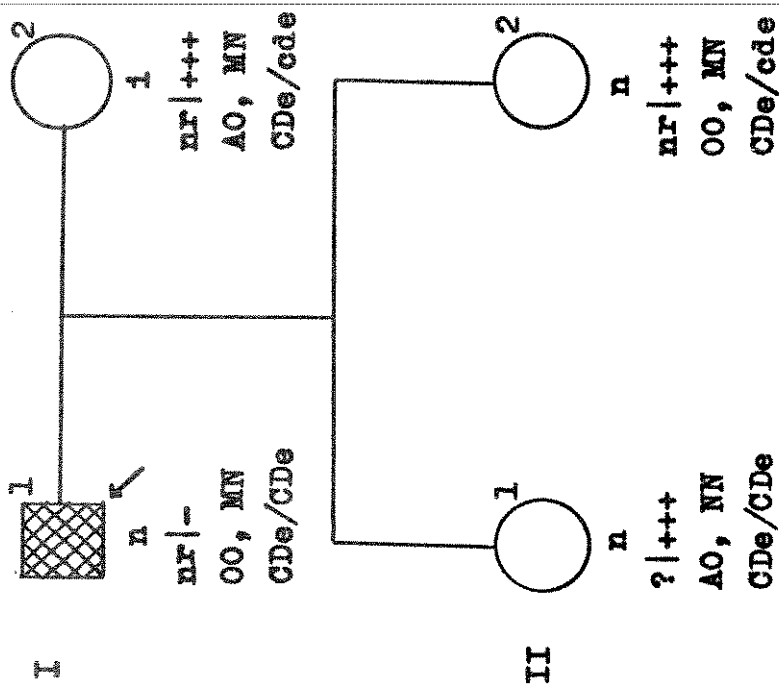
(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 6



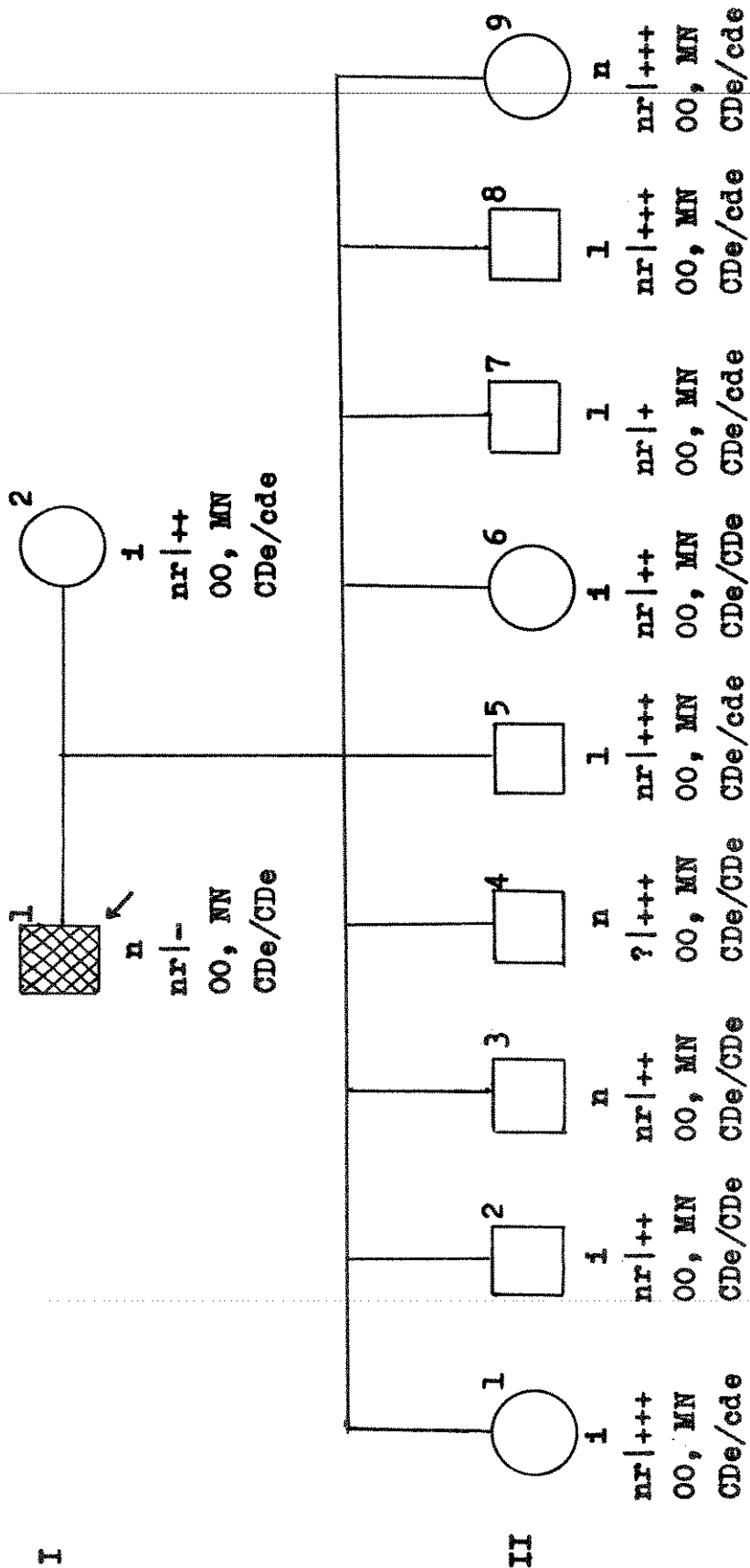
Família 6: L X S
I-1: Nº 23.911
(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 7



Família 7: L X S
I-1: Nº 50.551
(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 8

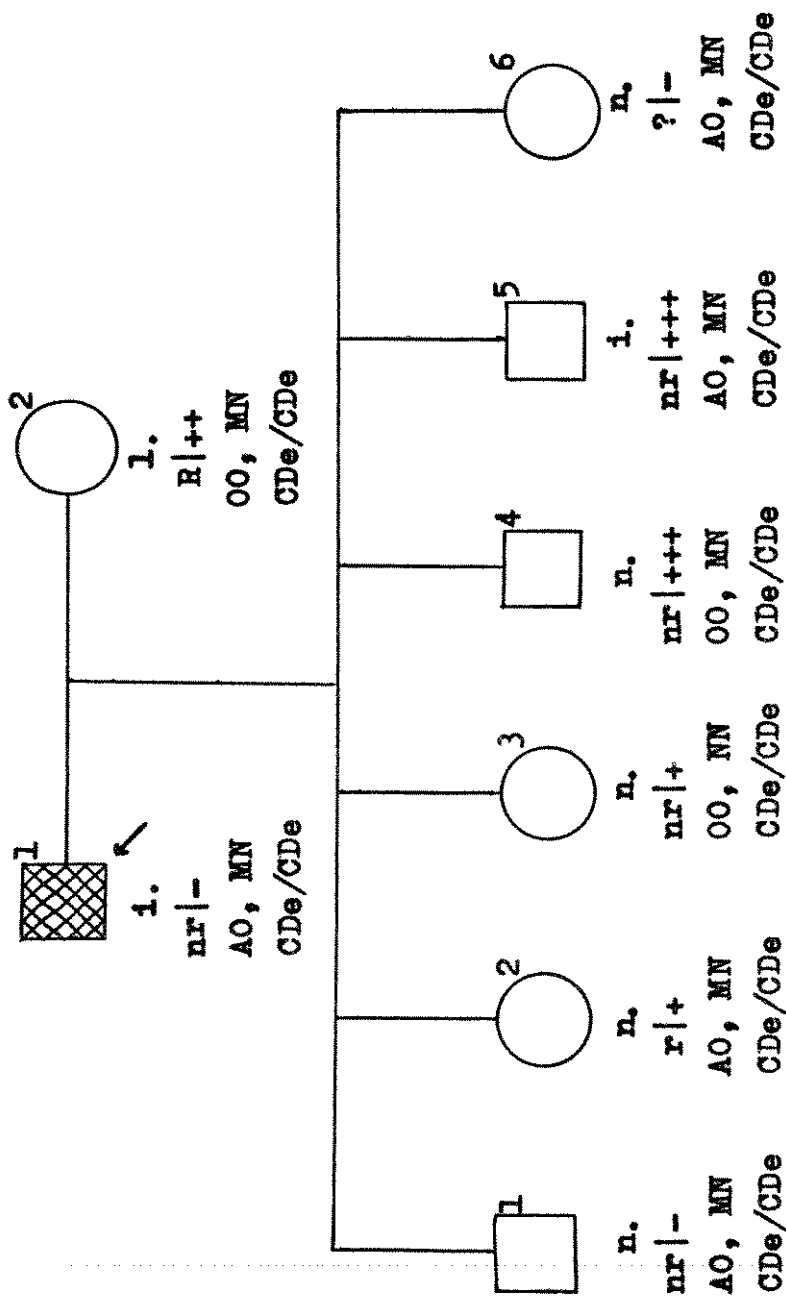


Família 8: L X S

I-1: Nº 56.088

(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 9



Familia 9: I X S

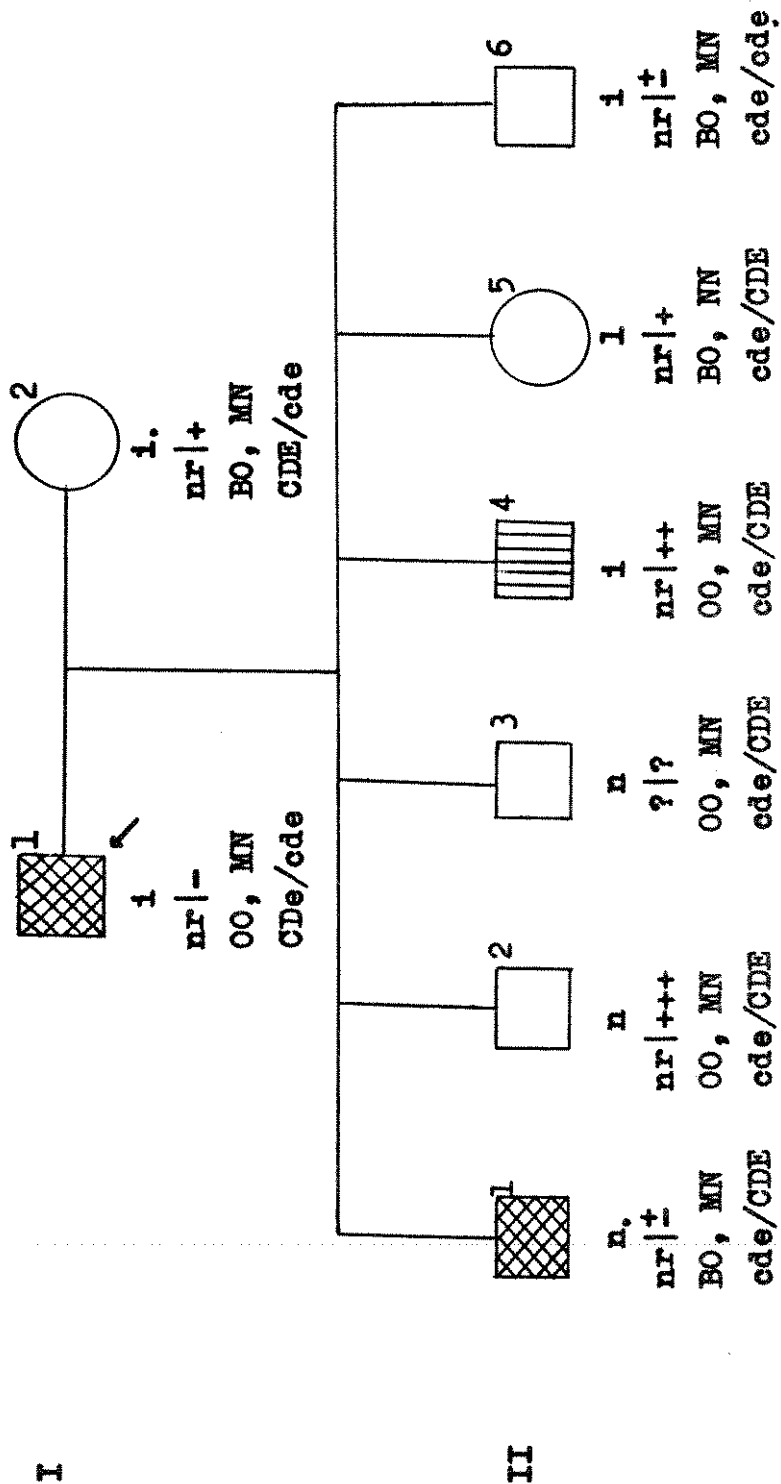
I-1: № 33.701

(DDS, Botucatu)

I

II

HEREDOGRAMA 10

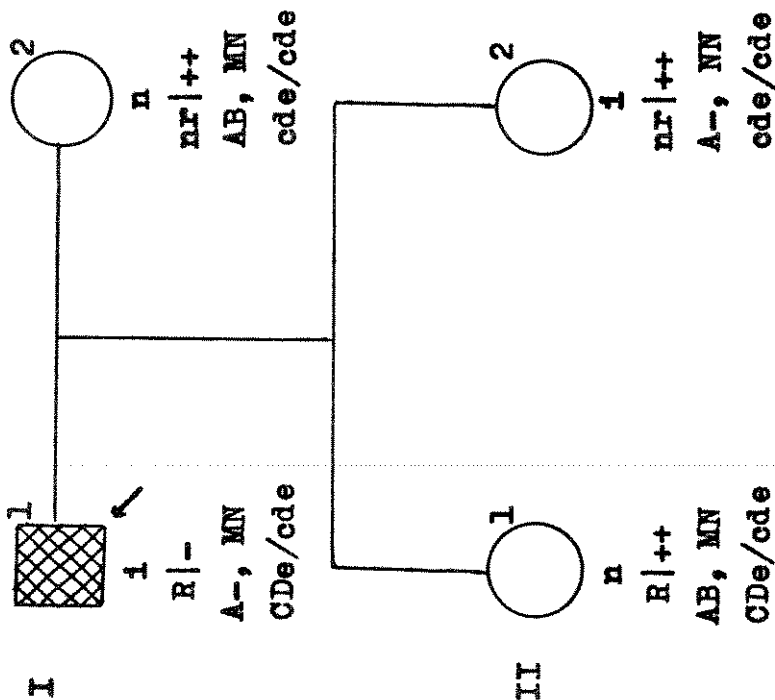


Família 10: L X S

I-1: Nº 44.619

(DDS, Botucatu)

HEREDOGRAMA 11

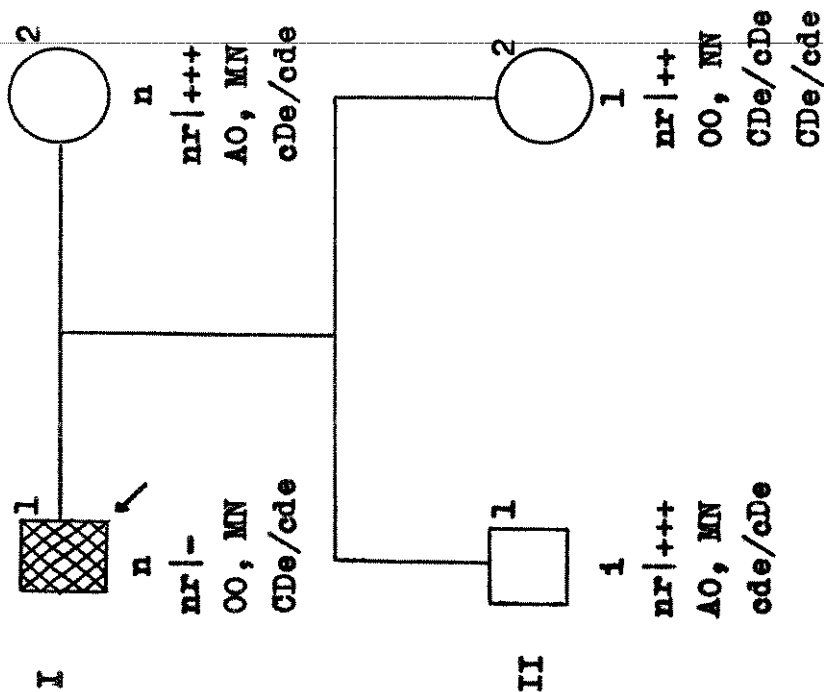


Família 11: L X S

I-1: Nº 61.180

(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 12

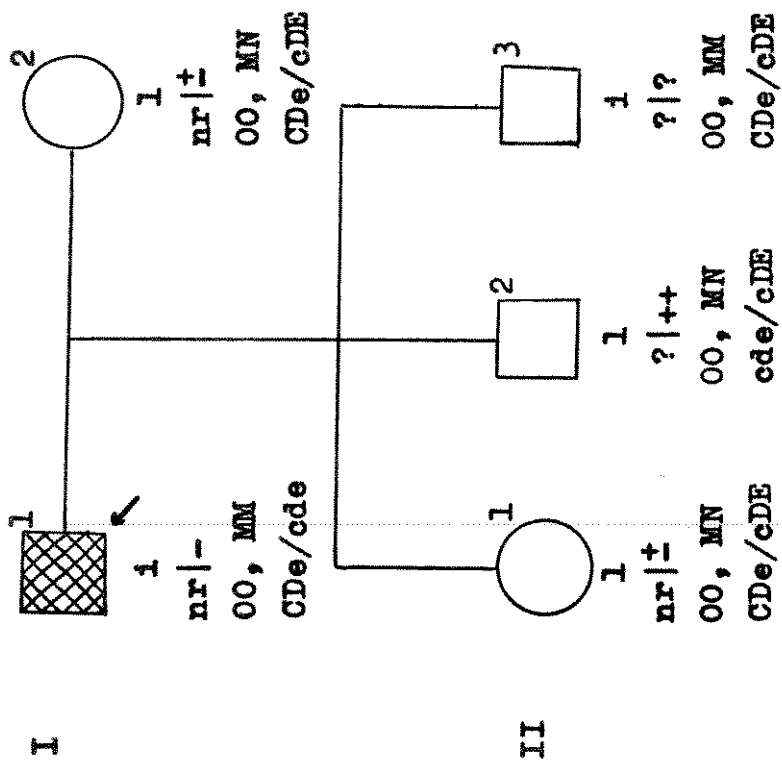


Família 12: L X S

I-1: Nº 54.491

(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 13

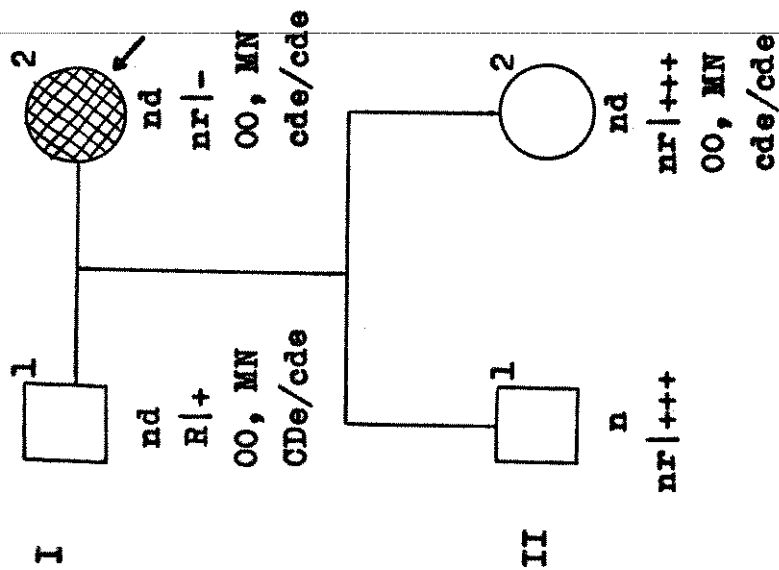


Família 13: L X S

I-1: Nº 66.306

(DDS, Botucatu)

HEREDOGRAMA 14

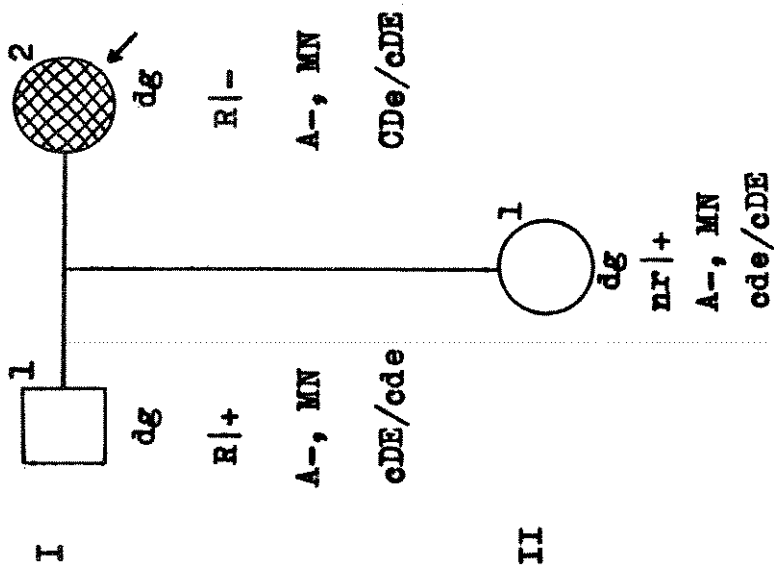


Família 14: L X S

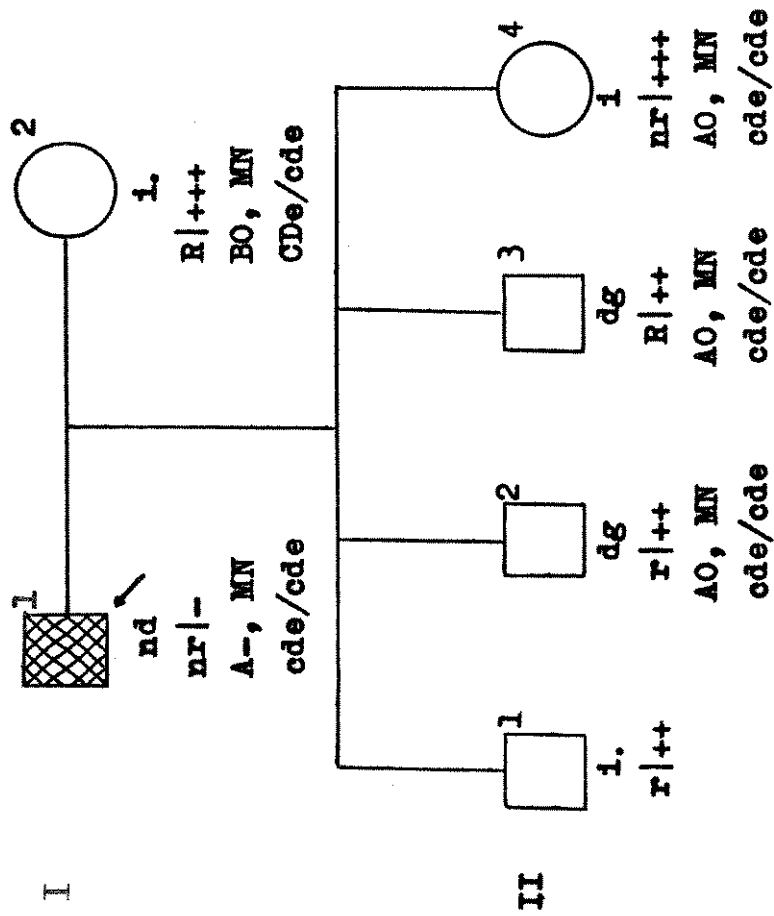
I-2: Nº 58.832

(DDS, Botucatu)

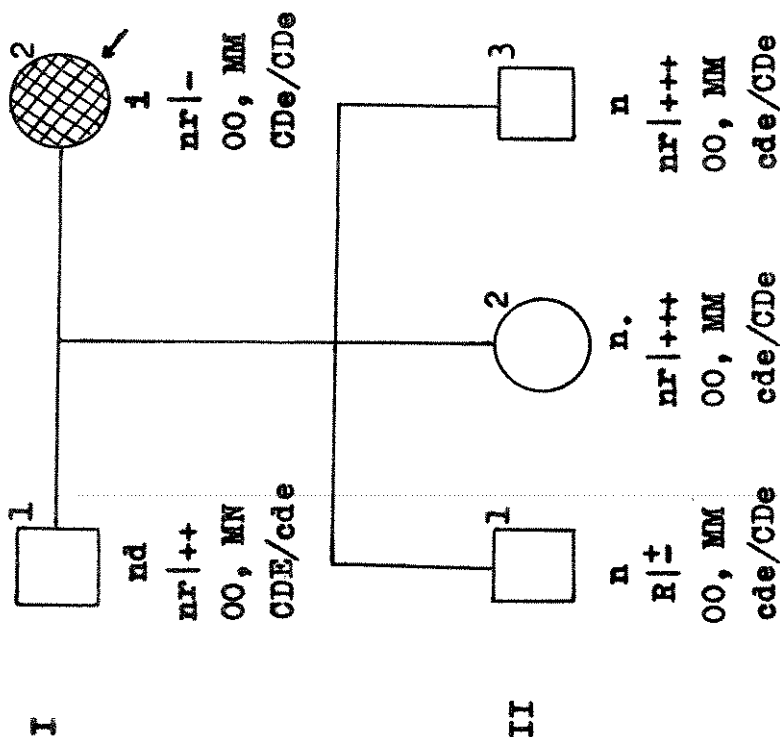
HEREDOGRAMA 15



HEREDOGRAMA 16



HEREDOGRAMA 17

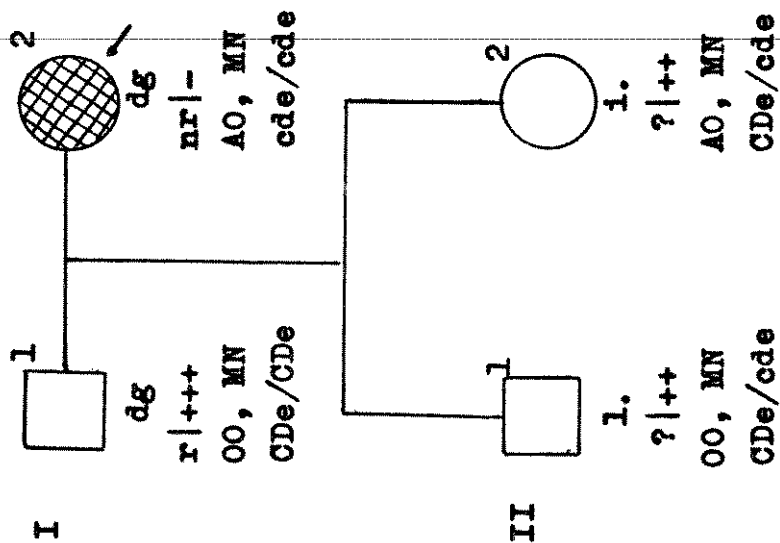


Família 17: L X S

I-1: Nº 66.307

(DDS, Botucatu)

HEREDOGRAMA 18

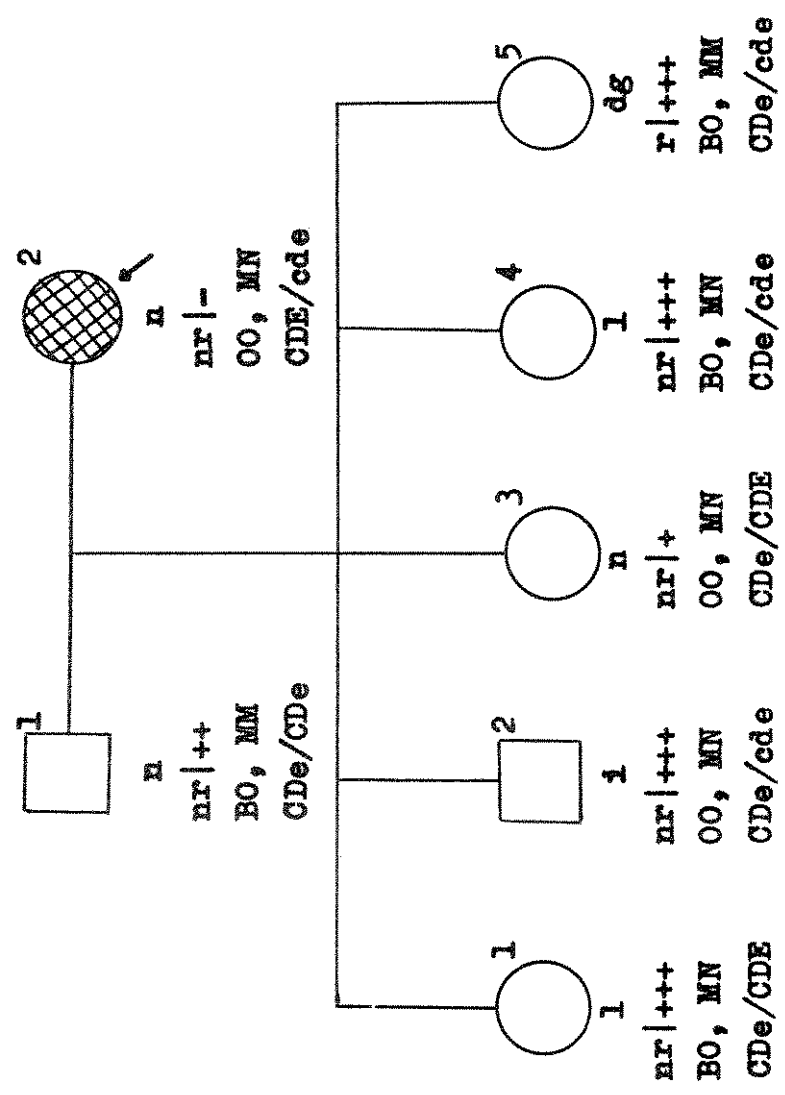


Família 18: L X S

I-1: Nº 53.642

(DDS, Botucatu)

HEREDOGRAMA 19



Família 19: L X S

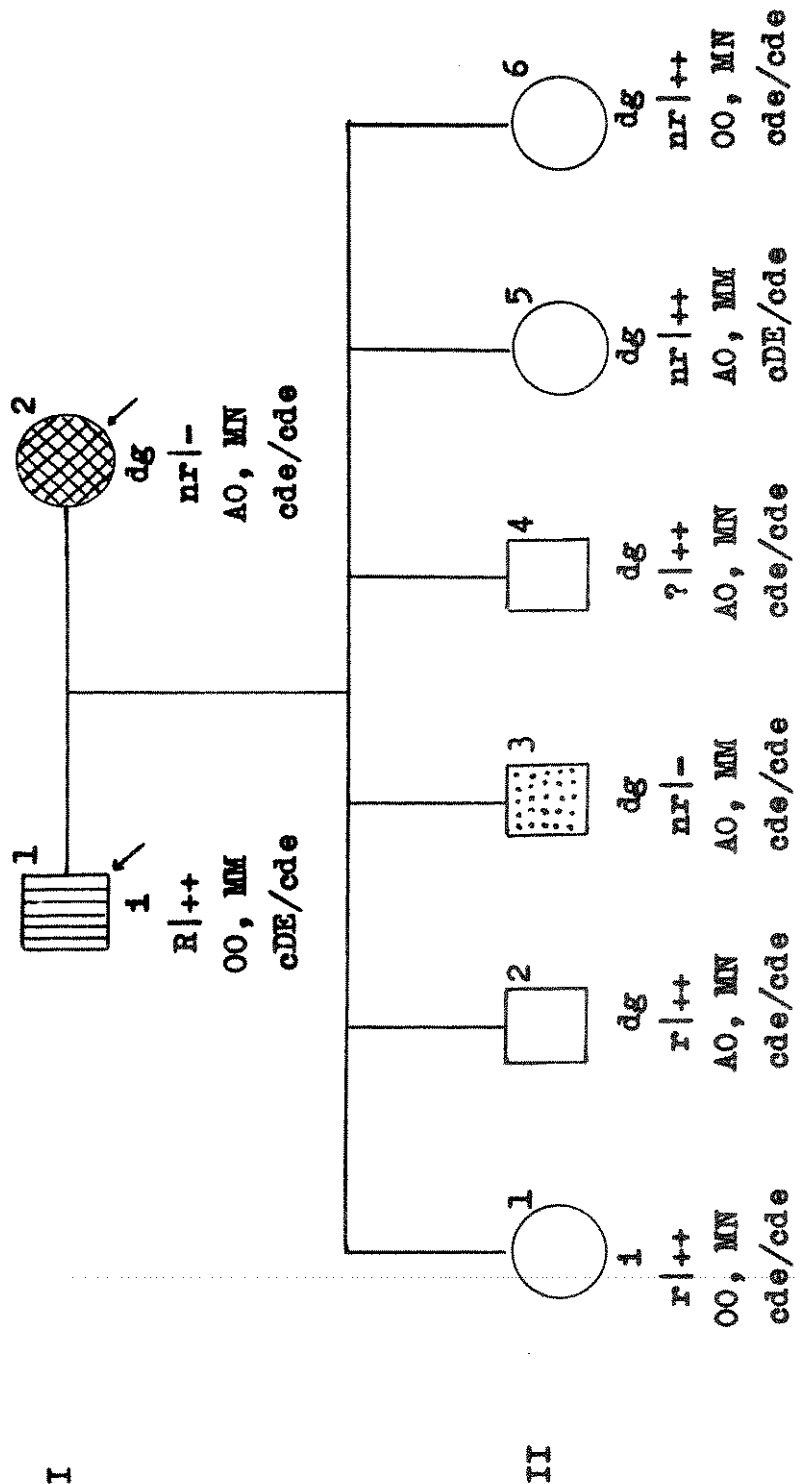
I-2: Nº 68.998

(DDS, Campinas)

I

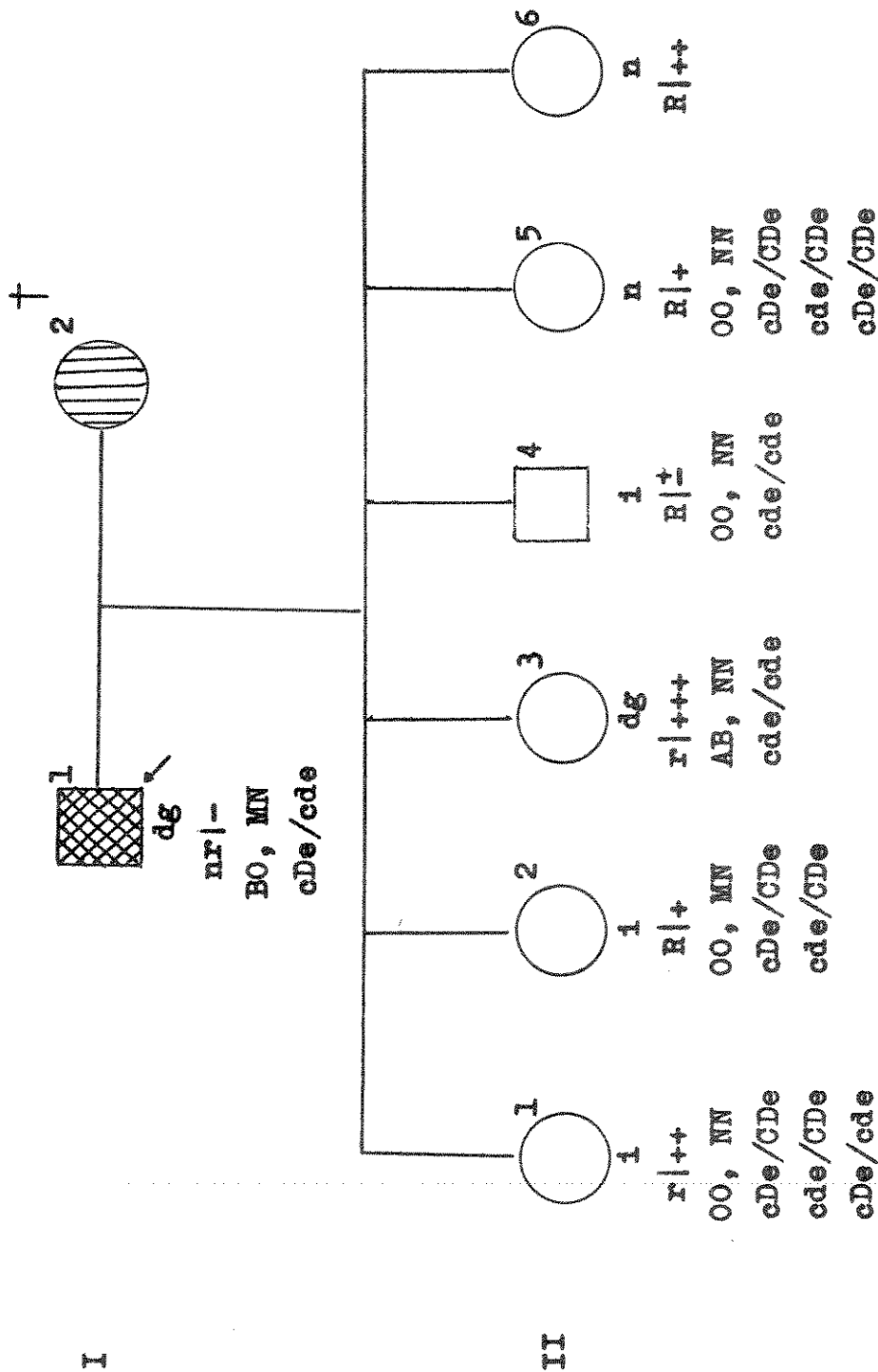
II

HEREDOGRAMA 20



Família 20: L X T
 I-1: Nº 61.502
 I-2: Nº 53.712
 (DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 21



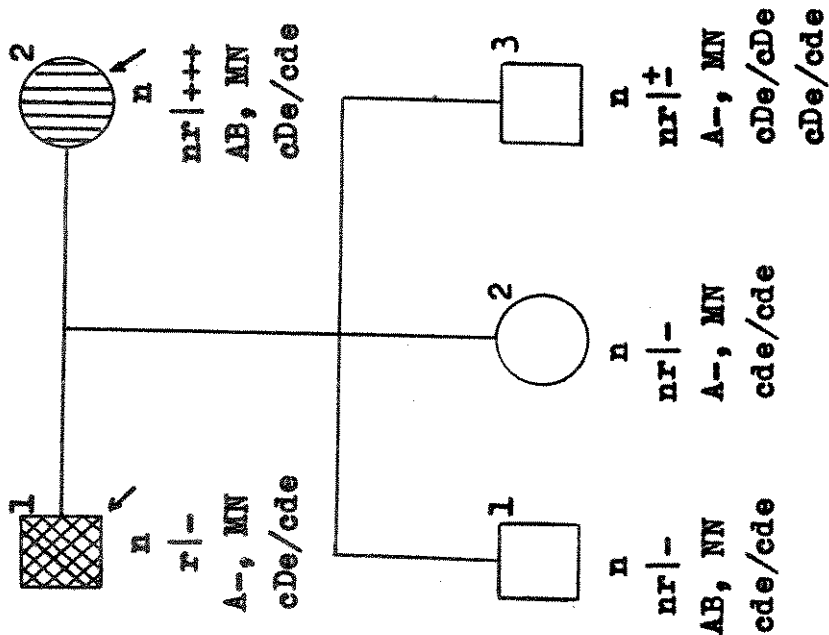
Família 21: L X T

I-1: Nº 29.275

I-2: Nº 37.112

(DDS, Campinas)

HEREDOGAMA 22



Família 22: L X T

I-1: Nº 51.253

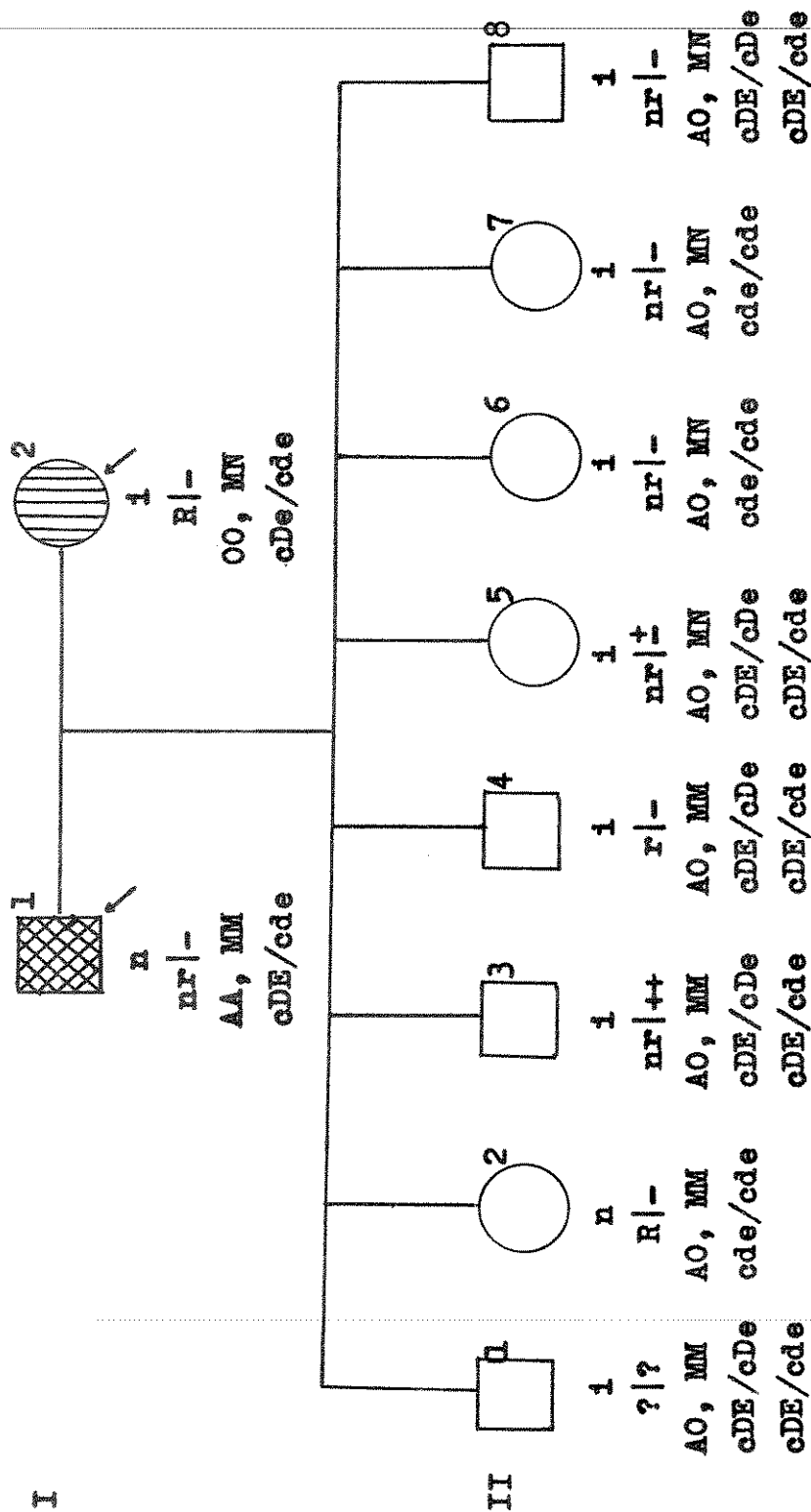
I-2: Nº 61.322

(DDS, Campinas)

I

II

HEREDOGRAMA 23



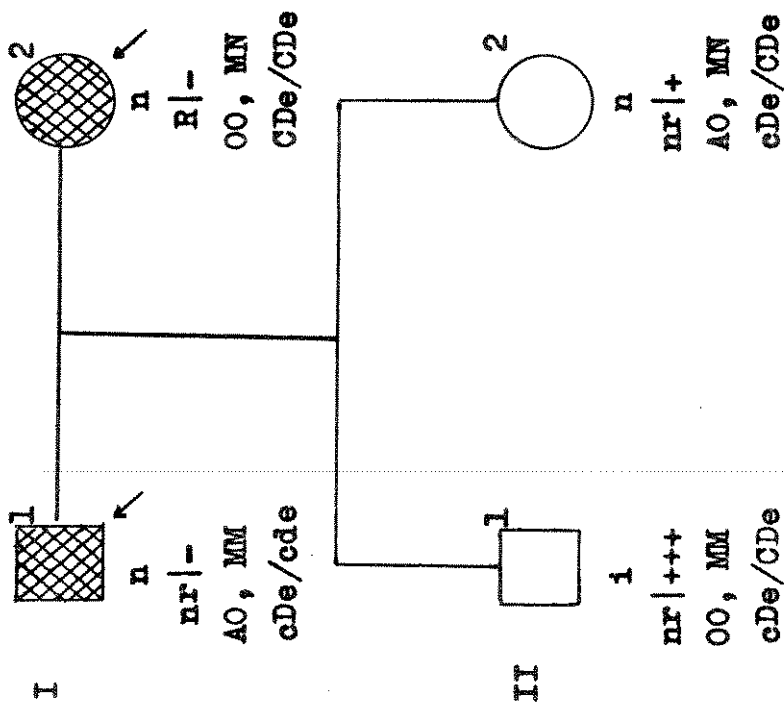
Família 23: L X T

I-1: Nº 66.309

I-2: Nº 66.310

(DDS, Campinas)

HEREDOGAMA 24



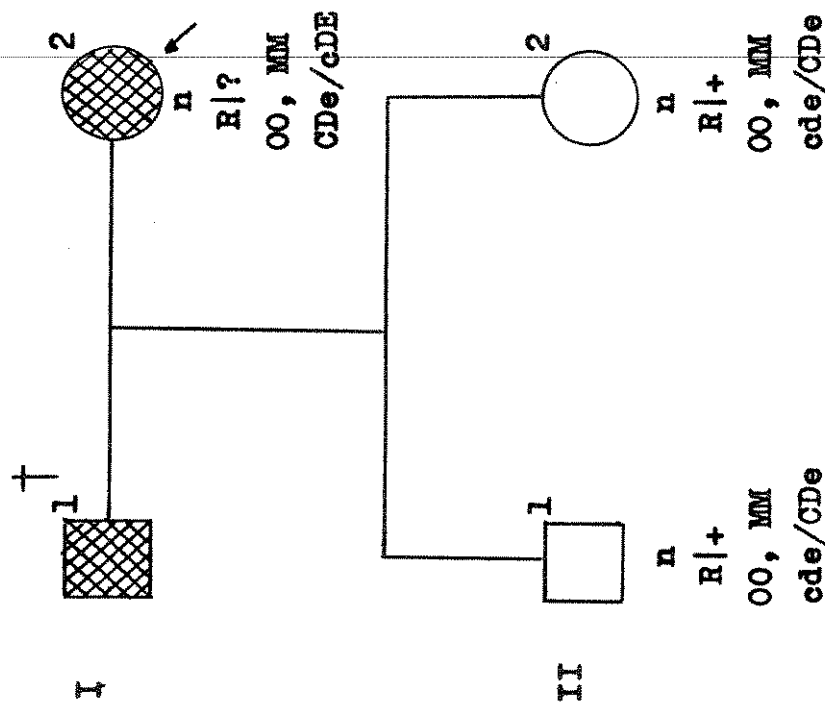
Família 24: L X L

I-1: Nº 29.748

I-2: Nº 30.124

(DDS, Campinas)

HEREDOGAMA 25



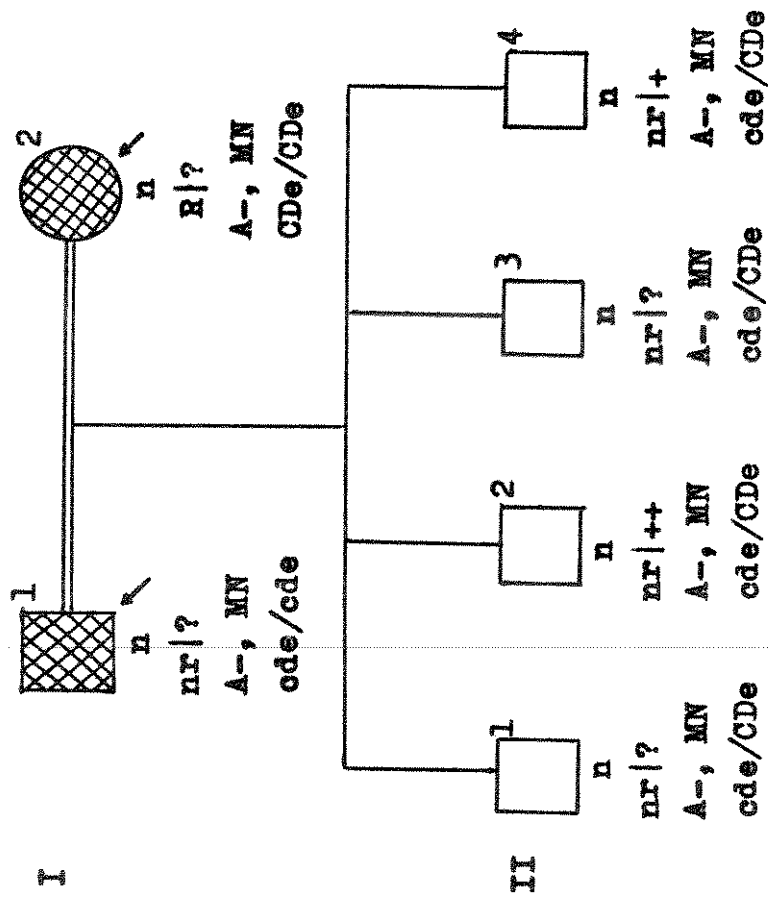
Família 25: L X L

I-1: Nº 21.932

I-2: Nº 54.418

(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 26



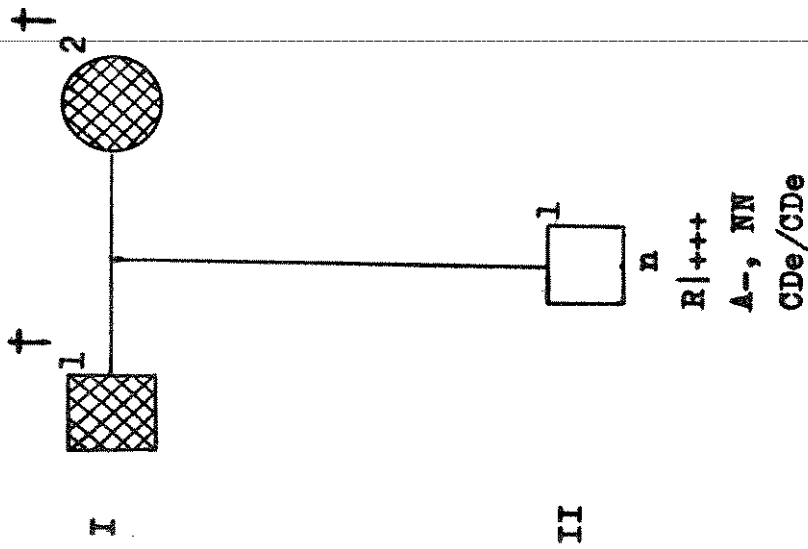
Família 26: L X L

I-1: Nº 30.084

I-2: Nº 22.625

(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 27



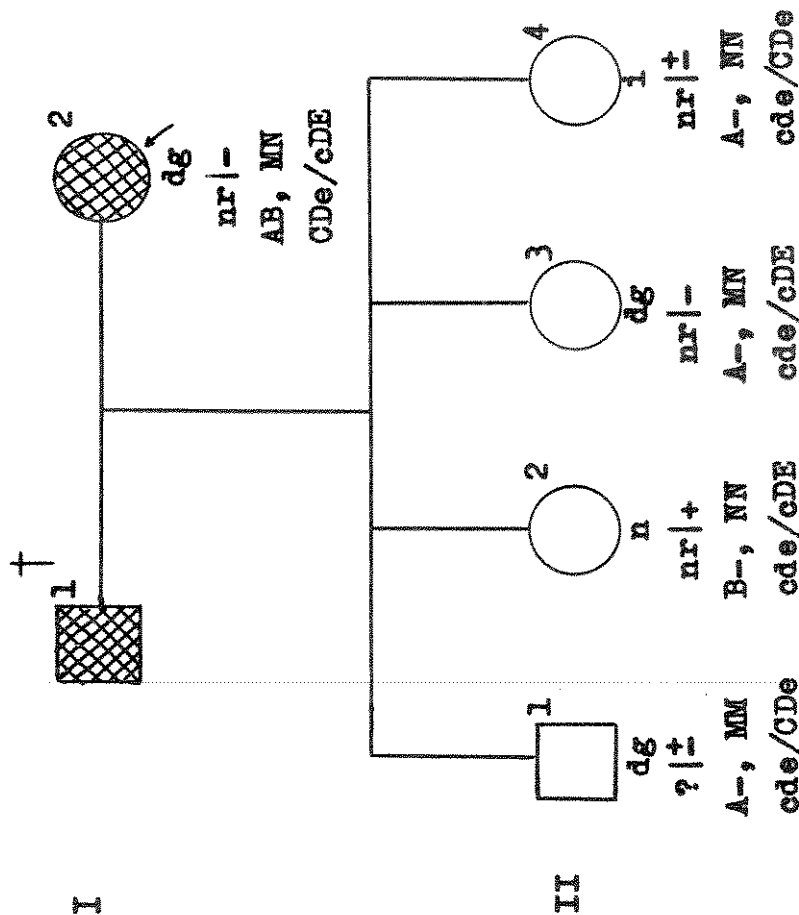
Família 27: L X L

I-1: Nº 1.006

I-2: Nº 3.795

(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 28



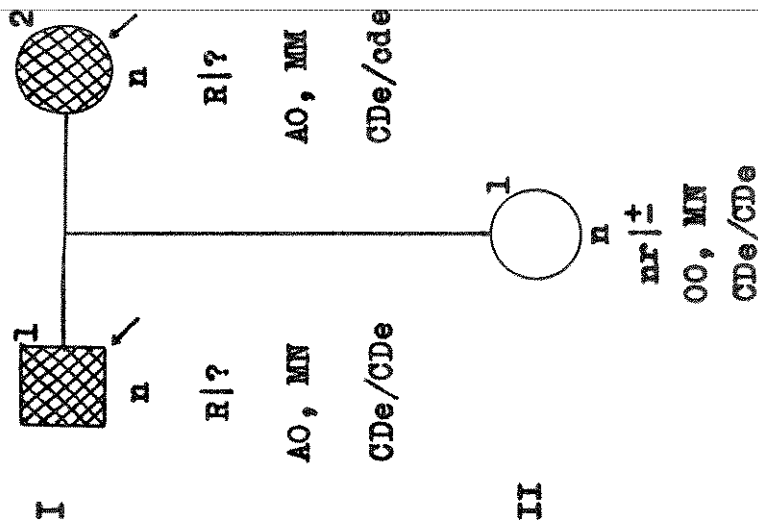
Família 28: L X L

I-1: Nº 57.391

I-2: Nº 68.155

(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 29



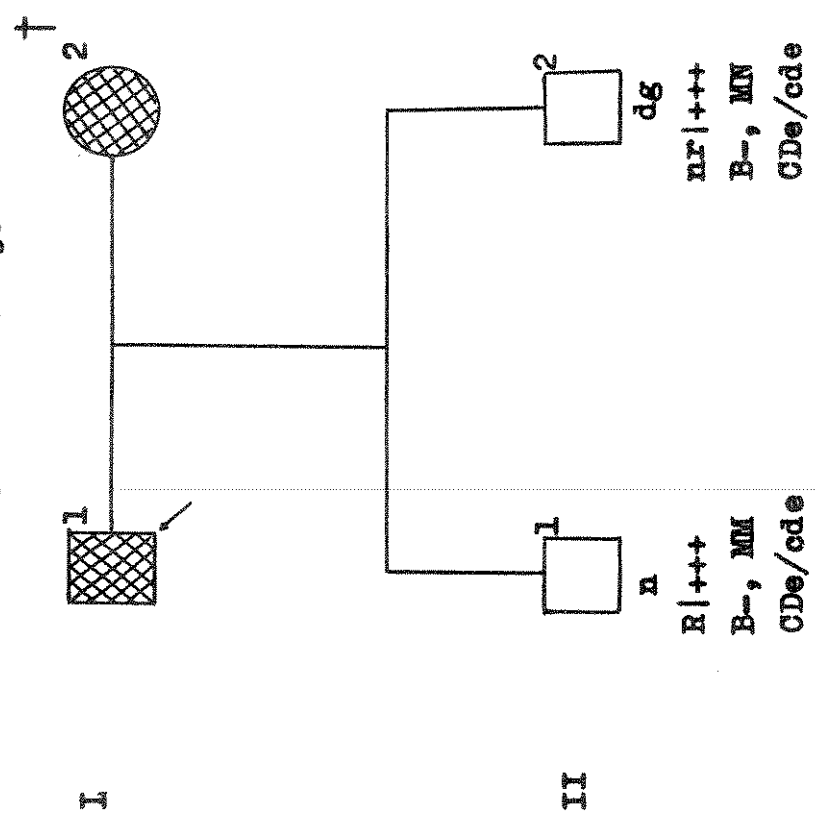
Família 29: L X L

I-1: Nº 20.283

I-2: Nº 27.561

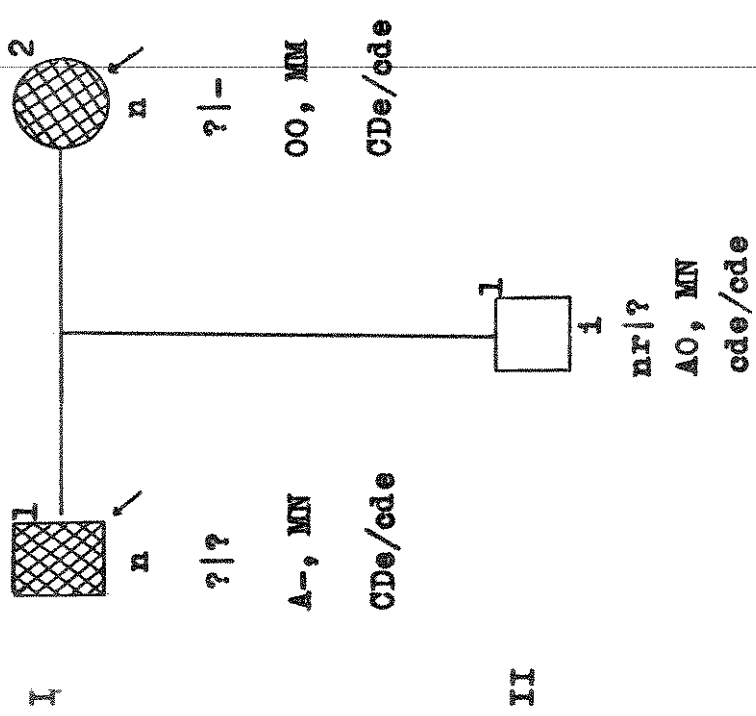
(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 30



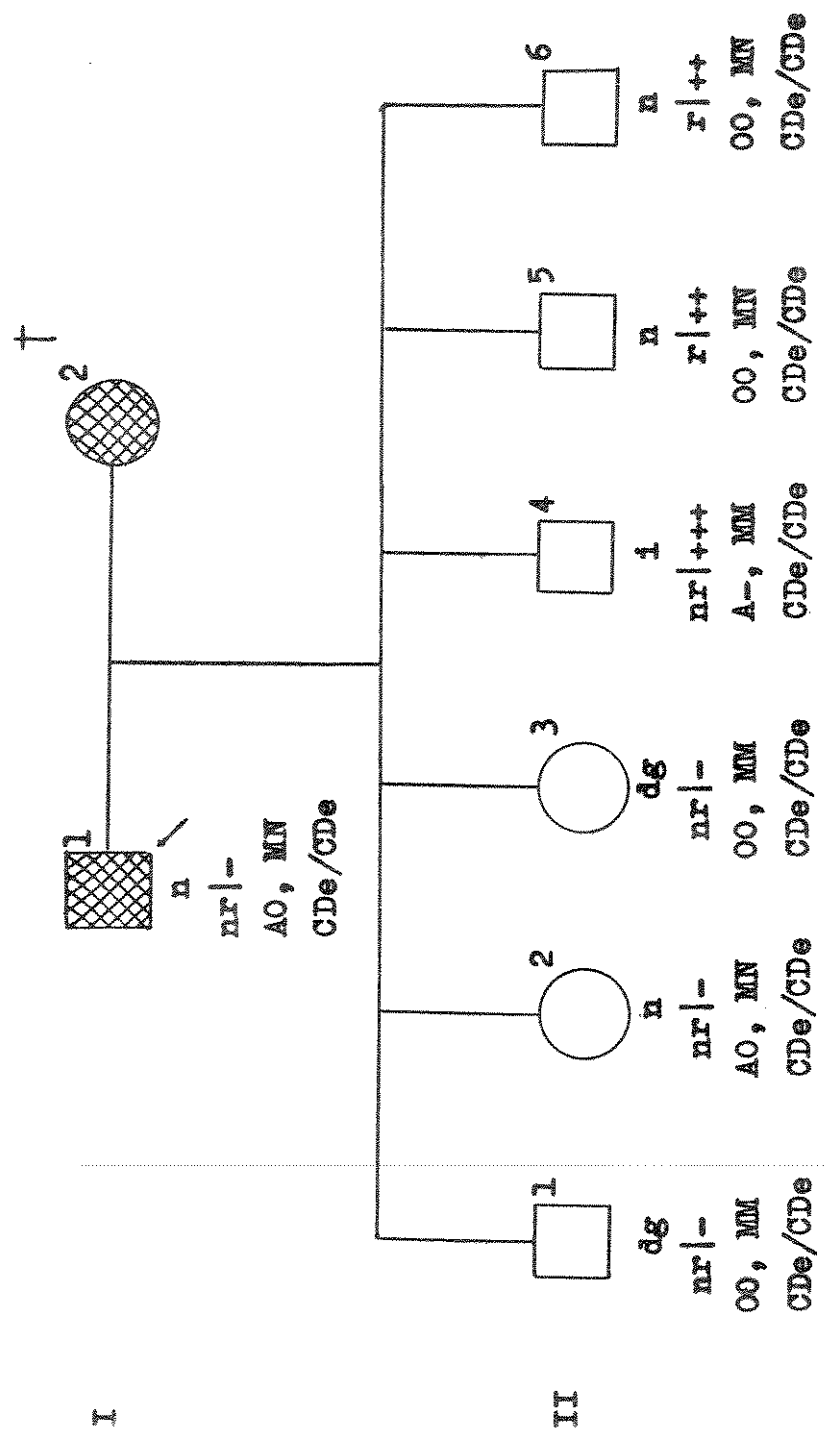
Família 30: L X L
I-1: Nº 42.233
I-2: Nº 35.132
(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 31



Família 31: L X L
I-1: Nº 25.490
I-2: Nº 10.160
(DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 32



Família 32: I X L
 I-1: Nº 34.372
 I-2: Nº 23.425
 (DDS, Campinas)

HEREDOGRAMA 33

L42

