

JOÃO ANTONIO VOZZA

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA REAÇÃO DE MITSUDA

TESE APRESENTADA À FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
CAMPINAS, PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE
DOUTOR.

ORIENTADOR:

PROF. DR. BERNARDO BEIGUELMAN

CAMPINAS, SP

1976

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

À MEMÓRIA DE MEU PAI

EM HOMENAGEM À MINHA MÃE

À MARIA JOSÉ

A JOÃO ANTONIO JR.,
RICARDO,
LUCIANA,
ALEXANDRE E
ANA PAULA,

pelo muito que significam.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

REITOR

Prof. Dr. Zeferino Vaz

COORDENADOR GERAL DA UNICAMP

Prof. Dr. Paulo Gomes Romeo

COORDENADOR GERAL DAS FACULDADES

Prof. Dr. Rogério Cezar de Cerqueira Leite

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

DIRETOR DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti

DIRETOR ASSOCIADO

Prof. Dr. John Cook Lane

CHEFES DOS DEPARTAMENTOS E PROFESSORES TITULARES

Armando de Aguiar Pupo

Aureliano Baptista da Fonseca

Bernardo Beiguelman

Gottfried Köberle

José Aristodemo Pinotti

José Lopes de Faria

José Martins Filho

Luiz Sergio Leonardi

Manildo Fãvero

Manuel Pereira

Nubor Orlando Facure

Oswaldo Vital Brazil

Rachel Villela Fãvero

Silvio dos Santos Carvalhal

Vicente Amato Neto

PROFESSORES EMÉRITOS

Prof. Dr. Antonio Augusto de Almeida

Prof. Dr. Gabriel Oliveira da Silva Porto

A G R A D E C I M E N T O S

Inicialmente, com destaque especial, minha gratidão ao meu amigo Bernardo Beiguelman, sem cujo incentivo, orientação e ajuda não teria sido realizado este trabalho;

Ao Dr. Paulo Clemente Cêzar
Universidade Estadual de Campinas

Ao Dr. José Fernando P. Arena
Universidade Estadual de Campinas

Ao Dr. Guillermo Barrera Fierro
Universidade Estadual de Campinas

À Dra. Regina de Castro Bicudo Pisani
Universidade Estadual de Campinas

Ao Dr. Francisco Pisani
Universidade Estadual de Campinas

Ao Dr. Walter Pinto Jr.
Universidade Estadual de Campinas

Ao Major Dr. Emilio Araujo Rodrigues
Escola Preparatória de Cadetes de Campinas

Ao Capitão Dr. Jair Matano
Escola Preparatória de Cadetes de Campinas

Ao Dr. José Luiz de Oliveira
Casa de Saúde Campinas

Ao Sr. Carlos Magno Celino
Casa de Saúde Campinas

À Srta. Ercilia Scavassani
Casa de Saúde Campinas

Aos sargentos enfermeiros, Geraldo de Jesus Nascimento e
Helio Cezar da Costa
Escola Preparatória de Cadetes de Campinas

Às Sras. Ana Luiza Soares Campos e Sonia Maria Dobner Rocha
Casa de Saúde de Campinas

À Srta. Celina Negro
Universidade Estadual de Campinas

ÍNDICE

PÁG.

I- INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	
I.1 - Reação à lepromina.....	01
I.2 - Verificação in vitro da reação tardia à lepromina.....	05
I.3 - Transformação lifoblástica induzida pela fitohemaglutinina.....	07
I.4 - Objetivos.....	09
II- CASUÍSTICA E MÉTODOS	
II.1 - Casuística.....	13
II.2 - Reação à lepromina.....	14
II.3 - Exame hematológico.....	15
II.4 - Transformação linfoblástica.....	16
II.5 - Eletroforese de proteínas(globulinas)....	17
II.6 - Análise estatística.....	18
III- RESULTADOS.....	19
IV - DISCUSSÃO.....	25
V - CONCLUSÕES.....	29
VI - RESUMO.....	32
VII- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

I- INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

I.1 REAÇÃO À LEPRIMINA

Em 1923 durante a III Conferência Internacional de Lepra, realizada em Estrasburgo, Mitsuda apresentou um relatório de suas experiências sobre a intradermoreação consequente à inoculação de uma suspensão de lepromas, obtidos por trituração e fervura, em 403 doentes de lepra (Mitsuda, 1924). Aqui cumpre notar que, de acordo com Hayashi (1933), as experiências de Mitsuda já vinham sendo feitas bem antes de 1923, visto que, já em 1916, ele publicara suas observações iniciais no Japanese Journal of Dermatology and Urology.

Em suas observações pioneiras, Mitsuda observou que a injeção intradérmica da suspensão de lepromas, rica em *Mycobacterium leprae*, posteriormente denominada *lepromina*, provocava uma reação macroscópica (*reação positiva*) em grande proporção dos doentes classificados como portadores da então chamada lepra máculo-nervosa (a classificação atual seria, provavelmente, de lepra tuberculóide ou indeterminada), não havendo resposta visível (*reação negativa*), nos doentes que, hoje, são classificados como lepromatosos e, eventualmente, dimorfos.

No mesmo trabalho, esse insigne investigador japonês, notara que a injeção de lepromina podia provocar o aparecimento de uma reação local, caracterizada por hiperemia, observável já 24 horas após a injeção. No entanto, Mitsuda detalhou melhor a reação positiva tardia caracterizada pelo aparecimento de um nódulo no local da injeção. Verificou, também, que essa reação se dava em indivíduos doentes e em indivíduos sadios, podendo ser notada, freqüentemente, três semanas após a injeção de lepromina.

A reação precoce à lepromina, embora descrita inicialmente por Mitsuda, é conhecida como reação de Fernandez, em

homenagem ao leprólogo argentino, que deu especial ênfase a seu estudo, enquanto que a *reação tardia à lepromina* é conhecida, muito justamente, pelo nome de *reação de Mitsuda*.

Na interpretação de seus resultados, Mitsuda (1924) supôs que a negatividade da reação tardia à lepromina nos doentes lepromatosos, decorreria de um esgotamento que os impediria de reagir contra o *M. leprae*, sendo essa reação, positiva nos indivíduos sadios e nos portadores de lepra máculo-nervosa. Isso porque os últimos teriam resistência ao bacilo. Hayashi (1933), entretanto, que seguiu a linha de pesquisa de seu mestre e acompanhou o curso natural da doença em seus pacientes, verificou que, entre doentes classificados como neurais (indeterminados), aqueles que evoluíram para a forma lepromatosa eram os que manifestavam anteriormente, reação de Mitsuda negativa à inoculação de lepromina.

Os numerosos trabalhos posteriores a esses permitiram estabelecer que, de um modo geral, nos lepromatosos, a reação é sempre negativa, sendo, praticamente improvável, o aparecimento de positividade, mesmo após tratamento.

Reações positivas fracas ou duvidosas em doentes lepromatosos tratados, são citadas por alguns autores (Fiol et al., 1947; Basombrio et al., 1950; Schujman, 1951; Martinez-Dominguez, 1953; Bechelli et al., 1959; Mukerjee e Kundu, 1961; Leiker, 1961; Azulay et al., 1960; Andrade, 1962). Contudo, segundo Bechelli et al., (1959), essas reações carecem de significado, porquanto, ao exame histológico, elas não mostram a estrutura característica das reações positivas, ou seja, um granuloma do tipo tuberculóide.

Na lepra tuberculóide, a reação é, geralmente positiva, podendo haver negativação nas fases reacionais (Bechelli e Quagliato, 1953; Basombrio, 1956).

Na forma indeterminada de lepra, verificou-se, tanto respostas negativas, quanto positivas à reação de Mitsuda, sendo

que as observações de Hayashi (1933) foram confirmadas. Assim, via de regra, os casos que dão resposta positiva mostram uma evolução benigna da doença, o que não significa, como verificaram Souza Lima e Souza Campos (1950), mau prognóstico para todos os portadores de lepra indeterminada, com reação tardia à lepromina negativa.

A relação da reação de Mitsuda com o prognóstico da infecção, constitui, seguramente, a maior evidência do seu valor prático. De fato, os dados obtidos por intermédio do estudo da reação em comunicantes de doentes de lepra mostram que os indivíduos que apresentam reação de Mitsuda positiva, manifestam resistência à lepra lepromatosa (Dharmendra e Chatterjee, 1955; Quagliato, 1962).

O valor da reação tardia à lepromina entre os não comunicantes de lepra foi, também, objeto de numerosos estudos (Del Favero, 1948; Martinez-Dominguez, 1953; Convit e Rassi, 1954; Guinto et al., 1955; Beiguelman, 1962; Beiguelman e Quagliato, 1965; Beiguelman, 1971), sendo que, segundo Beiguelman (1969, 1971), apenas os casos com reação de Mitsuda positiva, permitem tirar conclusões de prognóstico, enquanto que a reação negativa tem pouca significação, pois parece depender, pelo menos, da idade e da experiência imunológica dos seres humanos.

Quanto às classificações da intensidade da reação tardia à lepromina, tem-se que elas são baseadas nas medidas em milímetros do nódulo reacional. A classificação mais utilizada é aquela proposta na II Conferência Panamericana de Lepra, realizada no Rio de Janeiro em 1946 e confirmada pelos Congressos Internacionais de Leprologia de 1948 (Havana), de 1953 (Madrid) e 1958 (Tôquio) . Outra classificação, menos aceita, é aquela proposta no VIII Congresso Internacional de Leprologia (Rio de Janeiro, 1963).

Beiguelman (1971), propôs um critério simplificado para a classificação da reação de Mitsuda, baseando-se na variabilidade das classes de reação no tempo. Essa classificação considera apenas três tipos de respostas e será a utilizada no presente traba-

lho:

Reação 0 = ausência de reação local ou infiltração discreta com menos de 3 mm de diâmetro.

Reação 1 = infiltração franca, nódulo com 3 até 5 mm, inclusive, de diâmetro.

Reação 2 = a infiltração nodular com mais de 5 mm de diâmetro ou infiltração ulcerada.

O estudo histológico da reação à lepromina foi, também, iniciado por Mitsuda (cf. Hayashi, 1933), e continuado por vários autores (Hayashi, 1933; Schujman, 1936; Rabello Jr. e Rotberg 1937; Nagai, 1938; Alayon, 1939; Alayon e Souza Lima, 1940; Bün gler e Fernandez, 1940; Souza Lima, 1942; Rodriguez, 1950; Yokota, 1953; Lopes de Faria, 1953; Bechelli et al., 1959; Azulay et al. , 1960; Andrade, 1962). Deixaremos de lado os achados referentes à reação de Fernandez, por não interessarem aos objetivos do presente trabalho.

Os resultados relatados pelos autores acima citados permitem concluir que a *reação de Mitsuda positiva*, do ponto de vista microscópico, apresenta um infiltrado granulomatoso, composto , principalmente, por células epitelióides, com uma estrutura tuberculóide, onde os bacilos álcool-ácido resistentes, são ausentes ou raros. A *reação negativa* é aquela caracterizada, microscopicamente, por um infiltrado inflamatório crônico, com histiócitos apresentando grande número de bacilos não digeridos em seu interior. Nesse grupo podem ser incluídas, também, reações que apresentam infiltrados inflamatórios simples, nos quais os bacilos estão ausentes ou são raros. Discussões especulativas, visando elucidar a origem desse tipo de resposta, podem ser encontrados nos trabalhos de Beigelman (1971 e 1972).

Outro tipo de resposta microscópica, é aquela denomi-

nada por Bechelli et al., (1959), como "*favorecendo a hipótese de positividade*". Essa reação mostra, a par com o infiltrado crônico, estruturas tuberculóides-símbles, isto é, um infiltrado granulomatoso incompleto, no qual as células epitelióides estão dispersas ou agrupadas frouxamente. Para outros autores como Azulay et al., (1960) e Andrade (1962), essas estruturas são correlatas à reação positiva, e eles consideram, como Hadler (1953 a e b), que a presença de células epitelióides sugere estrutura tuberculóide em organização.

1.2 - VERIFICAÇÃO IN VITRO DA REAÇÃO TARDIA À LEPRINA

O estudo da capacidade fagocítica dos macrófagos *in vitro*, em relação ao *M. leprae*, parece ter sido feito, pela primeira vez, por Benewolenskaja (1932). Bem mais tarde, Hanks (1947, a, b) descreveu o comportamento dos bacilos de *M. leprae* em culturas de tecidos provenientes de lesões dos tipos lepromatoso e tuberculóide.

A partir de 1963, vários autores retomaram os estudos sobre a capacidade lisogênica *in vitro* dos macrófagos oriundos do sangue, em relação aos bacilos de lepra fagocitados, visando melhor esclarecer o mecanismo da reação tardia à lepromina e averiguar a possível participação de fatores hereditários na determinação de resistência ou suscetibilidade à lepra (Treo e Silva, 1963; Beiguelman e Barbieri, 1965; Barbieri e Correa, 1967; Beiguelman, 1968; Godal e Rees, 1970; Pisani et al., 1973).

Da maior parte desses estudos pode-se concluir que a fagocitose ativa dos bacilos de lepra é realizada, tanto pelos macrófagos provenientes dos lepromatosos, quanto por aqueles oriundos de pacientes com a forma tuberculóide da doença. Entretanto, enquanto na forma tuberculóide os bacilos são fagocitados e

lisados (evidências dessa lise já podem ser verificadas após uma semana de incubação), na forma lepromatosa os bacilos fagocitados continuam, aparentemente, inalterados, decorridas três semanas da incubação.

Em todos os trabalhos citados (Treo e Silva, 1963; Beiguelman e Barbieri, 1965; Barbieri e Correa, 1967; Beiguelman, 1968; Godal e Rees, 1970; Pisani et al., 1973), pode-se dizer que, de maneira geral, houve concordância entre os resultados obtidos *in vitro* e aqueles obtidos por intermédio do critério clínico ou histopatológico, excetuando-se o trabalho de Godal e Rees (1970).

No trabalho de Pisani et al., (1973), foi estudada a capacidade fagocitária e lítica dos macrófagos *in vitro*, contra bacilos de lepra mortos, e estabelecida uma mensuração das reações *in vitro* em intervalos de cinco dias, durante vinte e cinco dias. Foram assim estudados 54 pacientes de lepra (10 lepromatosos, 10 tuberculóides, 10 dimorfos, 17 de lepra indeterminada e 7 de classificação incerta) e 57 indivíduos normais (40 não comunicantes e 17 comunicantes de lepra). Nos doentes de lepra foram observados três tipos de reações: líticas, líticas fracas e não líticas. As reações líticas, como era esperado, corresponderam aos casos de forma tuberculóide de lepra, sendo não líticos os lepromatosos. Os pacientes com lepra dimorfa mostraram os dois tipos de comportamento (9 casos líticos fracos, 1 caso não lítico), enquanto os macrófagos dos portadores de lepra indeterminada tiveram todos os tipos de comportamento acima descritos.

Os indivíduos normais apresentaram macrófagos com baixa taxa de fagocitose e de lise, sendo que, em nenhuma deles, a reação lítica foi de intensidade comparável àquela observada nos casos tuberculóides. No referido trabalho, não encontraram, esses autores, "relação entre a intensidade da reação de Mitsuda e a atividade lítica *in vitro*, dos macrófagos derivados do sangue de in

divíduos normais ".

Tais resultados discordam daqueles publicados por Barbieri e Correa (1967), os quais mencionaram dois tipos de reação entre indivíduos sadios, em concordância com as reações de tipo tuberculóide e lepromatoso, bem como alegaram um nítido paralelismo entre as reações de Mitsuda e àquela *in vitro*.

O comportamento dos macrófagos de indivíduos sadios em relação ao *M. leprae* não pode ser explicado convenientemente, podendo-se aceitar a hipótese de menor atividade desses macrófagos em relação àqueles dos doentes com formas tuberculóide e indeterminada de lepra com a reação de Mitsuda positiva (Bechelli et al., 1959; Pisani et al., 1973).

Lim et al., (1974), utilizaram o teste de redução do " Nitrobluetetrazolium " (NBT), com a finalidade de verificar a ação de neutrófilos e monócitos nos mecanismos de defesa de pacientes com lepra. Assim, estudando controles normais, doentes lepromatosos e doentes com lepra tuberculóide, verificaram que a redução do NBT pelos monócitos dos pacientes portadores dessas formas polares de lepra era significativamente mais elevada que nos controles. No tocante aos neutrófilos não foram observadas, por aqueles autores, diferenças significativas entre controles e doentes.

A interpretação desses dados ao nível da intimidade celular é difícil, mas eles servem para realçar o papel dos monócitos na defesa à infecção pelo *M. leprae*.

1.3 - TRANSFORMAÇÃO LINFOBLÁSTICA INDUZIDA PELA FITO - HEMAGLUTININA

Nos últimos anos, foram realizadas numerosas investi-

gações sobre os linfócitos de doentes de lepra, no que tange à sua reação à fitohemaglutinina (Sheagren et al., 1967, 1969; Rodriguez Paradisi et al., 1967, 1968; Nelson et al., 1971; Dierks e Shepard, 1968; Potier, 1969; Bullock e Fasal, 1971; Han et al., 1971; Wong et al., 1971; Ulrich et al., 1972; Fliess et al., 1972; Pisani et al., 1973; Vozza et al., 1974; Beiguelman et al., 1975). Tal interesse se deve ao fato de, a transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutinina, ser considerada como uma medida indireta da capacidade imunológica de um organismo.

Apesar de vários autores concordarem que a reatividade dos linfócitos à fitohemaglutinina é significativamente reduzida nas culturas de leucócitos de pacientes com lepra lepromatosa (Rodriguez-Paradisi et al., 1967 e 1968; Dierks e Shepard, 1968; Bullock e Fasal, 1971; Wong et al., 1971; Han et al., 1971; Fliess et al., 1972), existem resultados discordantes na literatura pertinente. Assim, Sheagren et al., (1967, 1969), Poitier (1969) e Ulrich et al., (1972), analisando culturas de pacientes lepromatosos e de controles, não notaram diferença significativa entre as médias de linfócitos transformados em ambos.

Por outro lado, Nelson et al., (1971) observaram que os linfócitos de chineses afetados por lepra lepromatosa foram transformados mais intensa e significativamente do que aqueles de chineses normais, quando cultivados em soro normal ou autólogo. No entanto, essas observações não foram confirmadas por eles, em pacientes lepromatosos malaio e indianos.

Beiguelman e Pisani (1974) verificaram, em indivíduos normais, que a transformação linfoblástica diminuía sob a ação de diferentes concentrações de 4-4'-diaminodifenilsulfona (DDS) e aventaram a hipótese de que o nível de DDS nos doentes de lepra poderia explicar a menor intensidade da transformação de seus linfoblastos, descrita por alguns dos autores acima mencionados.

Nessa linha de idéias, Voza et al., (1974) e Beiguelman et al., (1975), investigaram as médias de transformação linfoblástica em doentes lepromatosos, correlacionando-as com a idade dos pacientes, duração da doença, anos de sulfonoterapia, nível sanguíneo de DDS e nível de globulinas séricas. Com isso, puderam verificar, por meio de análise de regressão múltipla, que a proporção de células linfoblasto-símbles estava correlacionada negativamente somente ao nível das frações não gama-globulina do soro e àquele das globulinas totais.

Esse resultado é coerente com os achados de Cooperband et al., (1968), visto que, tais autores, isolaram uma fração alfa-globulina do soro humano normal, capaz de inibir as transformações blásticas induzidas pela fitohemaglutinina.

I.4- OBJETIVOS DO PRESENTE TRABALHO

Em 1972, atendendo a uma solicitação da Dra. Regina de Castro Bicudo Pisani, Prof^a Assistente Doutora do Departamento de Genética Médica da UNICAMP, o autor realizou os hemogramas (série branca e vermelha) de uma amostra de 54 indivíduos, considerados normais. Tais indivíduos foram investigados quanto à capacidade de seus macrófagos sanguíneos reagirem *in vitro* ao *Mycobacterium leprae*, e simultaneamente, testados quanto à reação tardia à lepromina.

Aproveitando os dados colhidos para a realização daquele trabalho, o autor analisou a distribuição da frequência dos linfócitos e dos monócitos, segundo a intensidade da reação de Mitsuda naquela amostra. Isso porque, independentemente da interpre-

tação dada por diferentes autores à reação de Mitsuda no referente à sua significação, todos estão de acordo quanto à classificação histológica dessas respostas, no que concerne ao papel importantíssimo desempenhado pelos macrófagos (Lopes de Faria, 1953; Bechelli et al., 1959; Azulay et al., 1960; inter al.). Além disso, o comportamento *in vitro* dos macrófagos derivados do sangue face o *M. leprae*, não deixa dúvidas quanto à importância da atuação desses elementos celulares na determinação da resposta tecidual ao bacilo (Beiguelman, 1968).

A análise preliminar da amostra dos 54 indivíduos mencionados, que incluiu comunicantes e não comunicantes de doentes de lepra, permitiu ao autor (Vozza, 1972) verificar que a taxa média de monócitos aumentava significativamente com a intensidade da reação de Mitsuda (221,1 entre os negativos, 272,7 entre os positivos fracos e 410,1 entre os positivos fortes), o mesmo não sendo verdadeiro no que concerne à taxa média de linfócitos (Tabela I.1).

Evidentemente, conclusão baseada em tais dados poderia ser espúria, tendo em vista a heterogeneidade da amostra, a qual incluiu comunicantes e não comunicantes de doentes de lepra de ambos os sexos, bem como indivíduos de idades muito variadas. Além disso, houve muitas diferenças quanto aos estratos sociais aos quais pertenciam.

Pareceu, pois, que os resultados encontrados mereciam a realização de uma nova pesquisa, utilizando amostra homogênea, em consequência das implicações teóricas e práticas que poderia ter a demonstração da existência de correlação entre a reação de Mitsuda e a taxa de monócitos no sangue periférico.

Nossa participação posterior (Vozza et al., 1974; Beiguelman et al., 1975) em trabalhos que visavam esclarecer a diminuição da taxa de transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutinina em doentes de lepra, levou-nos a estabelecer novos objetivos para o presente trabalho. Assim, investigamos dois grupos expe-

rimentais compostos, um, por indivíduos apresentando reação de Mitsuda negativa, e outro, composto por aqueles que reagem com forte positividade ao teste lepromínico tardio.

Nesses dois grupos estudamos as taxas de transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutinina, bem como tentamos correlacioná-las com o nível de globulinas séricas e suas frações.

Portanto, para esta investigação foram estabelecidos três objetivos definidos:

- 1) Averiguar a eventual existência de uma relação entre a taxa de monócitos circulantes e a intensidade da reação de Mitsuda;
- 2) Estudar a transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutinina em grupos de indivíduos apresentando classes extremas da reação de Mitsuda;
- 3) Verificar, nos dois grupos do item anterior, se a intensidade da transformação blástica induzida pela fitohemaglutinina estava correlacionada com o nível das globulinas séricas ou com alguma de suas frações.

T A B E L A I.1

ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA A COMPARAÇÃO DAS
MÉDIAS DE MONÓCITOS DO SANGUE PERIFÉRICO
EM INDIVÍDUOS COM REAÇÃO DE MITSUDA NEGATI-
VA, POSITIVA FRACA E POSITIVA FORTE.

FONTES DE VARIACÃO	G.L.	S Q	s^2	F	P
E N T R E	2	335.089	167.544,5	5,15	< 0,01
D E N T R O	51	1.658.328	32.516,2		
T O T A L	53	1.993.417			

II- CASUÍSTICA E MÉTODOS

II.1 - CASUÍSTICA

Com a finalidade de obter uma casuística que constituísse um grupo homogêneo quanto à idade, ambiente e sexo, a amostra escolhida para estudo foi composta por soldados que prestavam serviço junto à Escola Preparatória de Cadetes (EPC) de Campinas. A colaboração voluntária foi obtida após explanações realizadas pelo Major Médico Dr. Emílio Araújo Rodrigues.

Durante os meses de outubro e novembro de 1974 e de 1975, estudamos dois grupos de voluntários. O primeiro (1974) foi constituído, inicialmente, por 110 soldados, sendo que, por circunstâncias várias, ficou reduzido a 89. O segundo grupo (1975) foi constituído, inicialmente, por 104 soldados, restando, ao final, 100 indivíduos. Portanto, a amostra total utilizada neste trabalho foi constituída por 189 adultos do sexo masculino. Por motivos inerentes às suas atividades na EPC, os componentes dos grupos sempre foram estudados entre 13 e 14 horas, em turmas de 10 a 15 soldados por dia.

Para cada voluntário, estabelecemos uma ficha, contendo: nome, número, idade, cor da pele, procedência, se era ou não comunicante de doentes de lepra, data da injeção intradérmica da lepromina, leitura da reação precoce (reação de Fernandez), leitura da reação tardia (reação de Mitsuda), dados hematológicos, eletroforéticos e transformação blástica dos linfócitos, *in vitro*.

Durante a primeira entrevista, realizávamos a inje

ção intradérmica de lepromina e a colheita de sangue para o exame hematológico. O primeiro retorno dos voluntários era marcado para 48 horas depois, e um segundo retorno para 30 dias após a inoculação da lepromina.

II.2 REAÇÃO À LEPRIMINA

A lepromina inoculada foi a lepromina padrão, produzida conforme as normas da OMS e obtida no Serviço Nacional de Lepra (Rio de Janeiro). Apesar disso, foi sempre feita uma verificação prévia da concentração bacilar de cada frasco.

As injeções intradérmicas foram realizadas na face anterior do braço, sobre a região correspondente ao bíceps, com auxílio de seringas de insulina e de agulhas 0,45 x 13mm descartáveis. O volume de lepromina injetado foi de 0,1 ml em todos os casos. A leitura da reação precoce foi feita 48 horas após a injeção de lepromina, sendo anotado, separadamente, o diâmetro do eritema e o diâmetro do nódulo eventualmente presente. A reação tardia à lepromina foi lida entre 30 e 39 dias após a inoculação.

Todas as leituras foram feitas independentemente pelo autor do presente trabalho e pelo Dr. Paulo Clemente Cêzar, Assistente do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da UNICAMP.

A leitura das reações de Mitsuda foi realizada anotando-se o diâmetro do nódulo, o diâmetro do eritema e suas características. Para a classificação das reações utilizou-se, como já

foi mencionado anteriormente, aquela, proposta por Beiguelman(1971).

II.3 - EXAME HEMATOLÓGICO

O sangue para execução do exame hematológico foi sempre colhido utilizando-se seringas de vidro, esterilizadas a 120°C, equipadas com agulhas 25 x 0,8 mm descartáveis. Assim, por punção venosa, eram extraídos 5 ml de sangue de cada indivíduo, os quais eram imediatamente transferidos para frascos contendo 0,1 ml de solução de EDTA sódico a 10%.

O exame hematológico constou de um estudo das séries vermelha e branca, sendo verificados os seguintes parâmetros na série vermelha: contagem global de eritrócitos, dosagem de hemoglobina, determinação do índice hematócrito e calculados os índices de cor (IC), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM). Na série branca determinamos, em cada amostra de sangue, o número global de leucócitos e efetuamos uma contagem específica dos mesmos, realizada em esfregaços corados com o corante de Leishman.

Nas amostras pertencentes aos voluntários do 19 grupo (1974), as contagens globais foram realizadas em câmaras de contagem do tipo "Neubauer melhorada", de acordo com as técnicas clássicas. Nesse grupo, as dosagens de hemoglobina foram realizadas pelo método da cianometemoglobina (Van Kampen e Zijlstra, 1961), utilizando-se reagentes padrões da marca Merck, e um espectrofotômetro Coleman Jr. II.

No 2º grupo de voluntários (1975), as amostras foram estudadas com o auxílio de um contaglôbulos Coulter, modelo D2, sendo a dosagem de hemoglobina, realizada num hemoglobinômetro Coulter, aferido com padrões internacionais e verificado através dos levantamentos do Colégio Americano de Patologistas dos EE.UU. Nesse grupo, a contagem específica foi realizada da mesma forma que no anterior, utilizando-se esfregaços corados pelo corante de Leishmane contando-se um total de 100 leucócitos na periferia e no centro do esfregaço.

II.4 - TRANSFORMAÇÃO LINFOBLÁSTICA

Nesses indivíduos, fizemos então, a colheita de sangue para o estudo da transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutinina e para a realização da eletroforese de proteínas.

O estudo da transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutinina, foi realizado com amostras de 20 ml de sangue colhidas em seringas estéreis heparinizadas. As culturas foram efetuadas incubando o plasma com leucócitos por 72 horas, a 37°C, em frascos de 90 ml, esterilizados, contendo 9 ml do meio para cultura de tecidos, mais 0,1 ml de fitohemaglutinina preparada no Laboratório do Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. O meio consistiu de 60% da solução de Hanks, enriquecida com 0,5% de hidrolisado de lactalbumina, 20% de soro fetal bovino, 20% de líquido ascítico, 100 UI/ml de penicili-

na e 100 µg/ml de estreptomicina.

Após a incubação, o conteúdo dos frascos foi transferido para tubos de centrifugação cônicos e centrifugado durante 5 minutos a 1.000 r.p.m. Para a feitura dos esfregaços, foram usadas gotas do sedimento. Depois de secos os esfregaços foram corados com o corante de May Grunwald-Giemsa, de acordo com a técnica de Rosenfeld (1947). A proporção dos linfócitos transformados, foi determinada pela contagem de, pelo menos, 600 células em cada cultura.

II. 5 - ELETROFORESE DE PROTEÍNAS (GLOBULINAS)

O estudo das globulinas e de sua correlação com a transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutinina, foi realizado em amostras de sangue colhidas sem anticoagulante, a partir da mesma punção venosa descrita no parágrafo anterior. O soro, assim obtido, foi submetido aos procedimentos rotineiros da técnica de eletroforese em fitas de acetato de celulose e as globulinas foram determinadas por densitometria em 500 mµ, após coloração pelo Negro de Sudão, utilizando-se um densitômetro integrador Atago modelo Quick.

II. 6 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na secção II.1, nos referimos às fichas confeccionadas para cada voluntário. Os dados ali contidos foram codificados para análise em computador levando em conta as seguintes informações: número do indivíduo, procedência, idade, cor da pele, se era ou não comunicante de doentes de lepra, tamanho do nódulo da reação de Mitsuda medido em milímetros, número global de leucócitos, número total de neutrófilos e os números absolutos concernentes a bastonetes, segmentados, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos.

Os dados referentes à transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutinina, assim como os resultados das eletroforeses, foram registrados e analisados separadamente.

As médias amostrais foram sempre comparadas ou por intermédio do teste de t de Student ou por meio da análise das variâncias (Snedcor, 1956).

A análise de regressão múltipla do tamanho do nódulo da reação de Mitsuda, sobre os valores absolutos por milímetro cúbico de sangue dos elementos figurados do sangue periférico, foi feita considerando aquela variável dependente em milímetros. Correlacionou-se, assim, o tamanho do nódulo com o número global de leucócitos, com o número total de segmentados e com os números de bastonetes, segmentados, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos. Também se julgou pertinente investigar a correlação entre a soma de linfócitos e monócitos e a reação de Mitsuda tomada em milímetros.

III - RESULTADOS

Em nossa casuística estudamos, como já referimos, a série branca de 189 voluntários examinados.

Na tabela III.1 apresentamos as médias e desvios padrão referentes ao número global de leucócitos, total de neutrófilos e números absolutos de bastonetes, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos, monócitos e linfócitos mais monócitos.

Na tabela III.2, estão apresentadas as médias e os desvios padrão referentes aos linfócitos, aos monócitos e à soma de linfócitos e monócitos, segundo as classes de intensidade da reação de Mitsuda estabelecidas.

Com base nos dados da tabela anterior foi realizada a análise de variância comparando as médias de linfócitos, de monócitos e da soma de linfócitos e monócitos, dados esses resumidos na tabela III.3. Pode-se verificar, pelo valor de F, que não há diferenças significativas entre essas médias nas três classes de reação de Mitsuda observadas.

Resultou, assim, negativa uma premissa que constituímos como um dos objetivos deste trabalho, qual seja verificar a eventual correlação entre a frequência de monócitos no sangue periférico e a intensidade da reação de Mitsuda. Tal correlação fora por nós assinalada em uma amostra de 54 indivíduos (Vozza, 1972), como já referimos. No capítulo que se seguirá, discutiremos hipóteses explicativas dessa discrepância.

Do exame das duas tabelas anteriores res -

salta o fato de termos feito a análise estatística considerando a amostra total de 189 indivíduos. Englobamos, assim, os contingentes de voluntários examinados em 1974 e 1975. Isso porque antes de procedermos dessa forma realizamos uma comparação das médias obtidas nos exames hematológicos desses dois grupos que, além de terem sido estudados em épocas distintas, haviam sido submetidos a duas técnicas hematológicas diferentes (contagens manuais em 1974 e automáticas em 1975). Entretanto, o estudo do número global de leucócitos e dos números absolutos de neutrófilos, bastonetes, segmentados, eosinófilos, basófilos, linfócitos e de monócitos mostrou que as diferenças, entre as médias obtidas em 1974 e aquelas obtidas em 1975, não eram significativas. Em outras palavras não havia razão lógica para estudar as duas amostras separadamente.

A tabela III.4 resume a análise de regressão múltipla em que o tamanho do nódulo da reação de Mitsuda, medido em milímetros, foi tomado como variável dependente sobre os elementos figurados no sangue. Verifica-se pelos valores de t que não se pode sugerir, na amostra examinada, nenhuma correlação significativa entre os elementos figurados e a intensidade da reação tardia à lepromina.

Não utilizamos, aqui, os dados referentes à série vermelha os quais, como já dissemos, foram, também, levantados, já que sua análise nada nos ofereceu de especial interesse.

Como já relatamos no capítulo anterior, os dados concernentes à transformação linfoblástica induzida pela fitoheglutinina e os níveis das globulinas séricas, estudados em dois grupos extremos de reação de Mitsuda, foram tabulados e analisados à parte. A tabela III. 4 expressa esse conjunto de dados, bem como a análise estatística efetuada. Pode-se observar que não há diferenças significativas entre os dois grupos, no tocante aos percentuais de transformação linfoblástica, bem como em relação aos níveis de globulinas séricas. Tais resultados discordam daqueles verificados por numerosos autores em doentes de lepra.

TABELA III.1 - MÉDIAS E DESVIO PADRÃO DE LINFÓCITOS, MONÓCITOS E LINFÓCITOS MAIS MONÓCITOS DE 189 INDIVÍDUOS, AGRUPADA DOS CONFORME A REAÇÃO DE MITSUDA.

REAÇÃO DE MITSUDA	Nº	LINFÓCITOS		MONÓCITOS		LINFÓCIT + MONÓCIT.	
		$\bar{x}$	s (x)	$\bar{x}$	s (x)	$\bar{x}$	s (x)
CLASSE 1	102	3.216,17	988,15	376,00	141,65	3.592,17	1.053,13
CLASSE 2	63	3.178,73	851,80	355,56	106,51	3.534,29	875,95
CLASSE 3	24	3.285,17	1.007,22	404,75	148,47	3.689,92	1.088,42

TABELA III.2 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA POR COMPARAÇÃO DAS
MÉDIAS DE LINFÓCITOS (A), MONÓCITOS (B)
E LINFÓCITOS MAIS MONÓCITOS (C)

A - LINFÓCITOS

VARIAÇÃO	G.L.	s^2 (x)	F
ENTRE	2	99.976,00	0,11
DENTRO	186	897.521,37	$P > 0,05$
TOTAL	188		

B - MONÓCITOS

VARIAÇÃO	G.L.	s^2 (x)	F
ENTRE	2	22.139,00	1,27
DENTRO	186	17.402,00	$P > 0,05$
TOTAL	188		

C - LINFÓCITOS + MONÓCITOS

VARIAÇÃO	G.L.	s^2 (x)	F
ENTRE	2	215.710,00	0,21
DENTRO	186	1.004.500,00	$P > 0,05$
TOTAL	188		

TABELA III.3 - ANÁLISE DE REGRESSÃO MÚLTIPLA DA VARIÁVEL DEPENDENTE,
TAMANHO DO NÓDULO DA REAÇÃO DE MITSUDA, TOMADA EM
MILÍMETROS, SOBRE OS ELEMENTOS FIGURADOS DO SANGUE.

VARIÁVEL	COEF. REGRESSÃO	DESVIO PADRÃO DO COEF. REGRES.	t	P
BASTONETES	0,00169	0,00140	1,213	0,20 < P < 0,30
SEGMENTADOS	-0,00014	0,00017	-0,827	0,40 < P < 0,50
EOSINÓFILOS	0,00003	0,00056	0,055	0,50 < P < 0,60
BASÓFILOS	-0,00249	0,00596	-0,417	0,60 < P < 0,70
LINFÓCITOS	-0,00011	0,00022	-0,514	0,60 < P < 0,70
MONÓCITOS	0,00087	0,00180	0,484	0,60 < P < 0,70

TABELA III.4 - PERCENTUAIS DE TRANSFORMAÇÃO BLÁSTICA E NÍVEIS DE GLOBULINAS SÉRICAS EM 14 INDIVÍDUOS MITSUDA NEGATIVOS E 14 MITSUDA POSITIVOS E COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DESSES VALORES.

REAÇÕES DE MITSUDA	TRANSF. BLÁSTICA %	G L O B U L I N A S				
		TOTAL	ALFA 1	ALFA 2	BETA	GAMA
NEGATIVAS	58,13	4,33	0,28	0,21	1,55	2,29
	61,54	3,60	0,40	1,05	0,94	1,21
	67,58	3,97	0,33	0,87	1,44	1,31
	49,88	4,18	0,31	1,07	0,99	1,81
	61,69	3,35	0,32	0,93	0,78	1,32
	56,00	4,29	0,42	0,95	0,81	2,11
	72,84	3,86	0,29	0,90	0,93	1,74
	63,98	3,25	0,47	0,60	0,73	1,45
	65,17	3,13	0,65	0,24	0,76	1,48
	70,90	3,41	0,42	0,83	0,61	1,55
	64,57	4,00	0,50	0,78	0,78	1,94
	63,43	3,59	0,57	0,57	0,82	1,63
	63,86	3,53	0,35	0,87	0,65	1,66
	55,75	3,44	0,40	0,97	0,70	1,37
$\bar{x}$	65,52	3,71	0,41	0,77	0,89	1,63
s (x)	6,12	0,39	0,11	0,27	0,28	0,32
POSITIVAS	57,57	3,77	0,35	1,04	0,74	1,64
	53,19	4,23	0,25	0,87	0,81	2,30
	61,25	3,96	0,36	0,91	0,78	1,91
	54,84	3,90	0,43	1,02	0,84	1,61
	59,50	3,87	0,33	0,94	0,94	1,66
	50,62	3,79	0,26	0,86	0,74	1,93
	64,11	3,91	0,24	0,94	1,00	1,73
	62,28	3,51	0,26	1,07	0,77	1,41
	64,76	3,28	0,35	0,48	0,86	1,59
	62,13	3,61	0,78	0,42	0,78	1,63
	54,09	3,37	0,57	0,77	0,61	1,42
	57,25	3,70	0,70	1,05	0,87	1,08
	57,72	3,28	0,39	0,65	0,87	1,37
	61,23	3,00	0,30	0,79	0,58	1,33
$\bar{x}$	58,61	3,66	0,40	0,84	0,80	1,62
s (x)	4,30	0,33	0,17	0,20	0,11	0,30

t	-0,290	-0,034	-0,060	0,212	-0,263	-0,015
G.L.	26	26	26	26	13*	26
p	> 0,70	> 0,90	> 0,90	> 0,80	> 0,70	> 0,90

* VARIÂNCIAS DIFERENTES

IV - DISCUSSÃO

Na introdução deste trabalho relatamos (Tabela I.1.) dados obtidos pelo autor (Vozza, 1972) em uma investigação preliminar. O resultado dessa pesquisa mostrou, então, que a frequência dos monócitos do sangue periférico poderia estar correlacionada à intensidade da reação de Mitsuda.

Como já referimos no primeiro capítulo, pareceu-nos que tal resultado merecia ser melhor estudado, face à heterogeneidade da amostra utilizada, já que incluía comunicantes de doentes de lepra, indivíduos de ambos os sexos e de grupos etários e sócio-econômicos muito distintos.

A importância do problema reside no destacado papel desempenhado pelos macrófagos na histogênese da reação de Mitsuda (Lopes de Faria, 1953; Bechelli et al., 1959; Azulay et al., 1960; inter-al.) bem como pelo fato de os macrófagos oriundos dos monócitos dos doentes de lepra reagirem *in vitro* ao *M. leprae* de modo coerente com as respostas histológicas observadas nesses pacientes (Treo e Silva, 1963; Beiguelman e Barbieri, 1965; Barbieri e Correa, 1967; Beiguelman, 1968; Godal e Rees, 1970; Pisani et al., 1973). A importância dos monócitos do sangue periférico na infecção leprotica é salientada também, no trabalho de Lim et al. (1974).

Os resultados do presente trabalho não concordaram, entretanto, com aqueles publicados anteriormente pelo autor (Vozza, 1972), podendo-se supor que tal discrepância tenha sido devida às amostras estudadas. De fato, a amostra analisada no presen-

te trabalho foi mais homogênea, pois todos os indivíduos eram do mesmo sexo, mesma faixa etária e não incluía comunicantes de doentes de lepra. Por outro lado, os resultados aqui assinalados são coerentes com aqueles de Pisani et al. (1973), que observaram nos macrófagos de indivíduos normais, baixas taxas de fagocitose e lise, e não encontraram, relação entre a atividade lítica desses macrófagos e a intensidade da reação de Mitsuda.

Naturalmente, ao obtermos o número absoluto de monócitos ficamos de posse de vários dados hematológicos referentes à série branca, motivo pelo qual julgamos de interesse correlacioná-los ao tamanho do nódulo da reação de Mitsuda, tomado em milímetros. Assim, foi analisado o número global de leucócitos, o número de neutrófilos e os números absolutos concernentes a bastonetes, segmentados, eosinófilos, basófilos e linfócitos e ainda a soma de linfócitos e monócitos. A análise de regressão múltipla efetuada com essas variáveis, utilizando o tamanho em milímetros do nódulo da reação de Mitsuda como variável dependente, não mostrou nenhuma correlação significativa.

A literatura especializada mostra numerosos trabalhos comprovando alterações imunológicas nos doentes de lepra (Dierks e Shepard, 1968; Bullock e Fasal, 1971; Turk e Waters, 1968; Han et al., 1971 a e b) envolvendo linfócitos e gânglios linfáticos. Por esse motivo é que demos especial ênfase (Tabelas III.2 e III.3) aos dados referentes aos linfócitos e também à soma de linfócitos e monócitos, tendo em vista a importância dos linfócitos nas respostas imunológicas.

Como já tivemos oportunidade de relatar, foi nossa participação em trabalhos que procuravam esclarecer a menor taxa de transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutinina em doentes de lepra (Vozza et al., 1974; Beiguelman et al., 1975) o que nos levou a realizar os experimentos já relatados envolvendo essa reação.

Assim, estudamos dois grupos de voluntários, com postos por quatorze indivíduos cada um, os quais apresentavam classes extremas de reação de Mitsuda. Os mesmos indivíduos foram investigados quanto aos seus níveis de globulinas séricas, que foram , também, correlacionados com as taxas de transformação linfoblástica.

Como já relatamos, não houve correlação significativa entre as percentagens de transformação linfoblástica e a intensidade da reação de Mitsuda. Tal resultado contraria aquele mencionado por Barbieri e Correa (1967) relatando dois tipos de reação dos macrófagos *in vitro*, em concordância com a reação de Mitsuda . Por outro lado, nossa observação pode ser considerada como similar àquela publicada por Pisani et al., (1973), que relataram atividades de fagocitose e lise fracas nos macrófagos de indivíduos normais. O trabalho de Lim et al., (1974) relata, também, índices mais fracos de redução do NBT nos monócitos dos controles sadios em relação àqueles dos doentes de lepra.

Quanto à correlação entre os níveis de globulinas séricas e os índices de transformação blástica induzida pela fitohemaglutinina, a mesma não foi significativa, como já foi exposto.

Este resultado, discorda daqueles encontrados em doentes de lepra por Voza et al., (1974) e Beiguelman et al., (1975), os quais verificaram correlação negativa entre o nível das globulinas não gama e os índices de transformação linfoblástica. No entanto, o fato de termos trabalhado com uma amostra de indivíduos sadios torna essas discordâncias explicáveis, podendo ser admitido que os achados referentes aos doentes de lepra constituam expressão das modificações induzidas por esse estado mórbido. Tal hipótese parece-nos mais atraente, quando nos reportamos aos dados de Cooperbard et al., (1968) os quais isolaram, do soro de indivíduos normais, uma alfa-globulina com ação inibitória sobre a transformação linfoblás-

tica induzida pela fitohemaglutinina.

É fato conhecido de há longa data que nos processos inflamatórios as alfa globulinas desempenham importante papel , sendo mesmo a sua determinação eletroforética um dos testes de uso corrente em Patologia Clínica para a avaliação dos mesmos.

Se levarmos em conta que a infecção leprótica apresenta em sua evolução múltiplos aspectos clínicos e, que, quase sempre, há processos inflamatórios consequentes ou correlatos a ela, poderemos aceitar que o aumento dessas globulinas seja o fator determinante dos baixos índices de transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutinina verificados nos doentes de lepra. Realmente, na revisão exaustiva da literatura pertinente feita por Silva e Marques, (1975) pode-se constatar que, embora a maioria dos autores citados relate aumento da alfa-1 ou da alfa -2 globulina, não é possível tentar estabelecer perfis eletroforéticos que possam ser correlacionados aos vários tipos e estadios evolutivos da doença.

Naturalmente essas especulações, baseadas em diferentes trabalhos publicados na literatura , deverão ser verificadas em outros experimentos especialmente planejados para essa finalidade.

V - CONCLUSÕES

Da análise das experiências descritas nos capítulos anteriores podemos tirar as seguintes conclusões:

- 1) Em indivíduos normais, de sexo masculino, não comunicantes de doentes de lepra, não foi possível constatar correlação significativa entre a frequência de monócitos do sangue periférico e a intensidade da reação de Mitsuda.
- 2) A mesma conclusão é válida para a taxa de linfócitos do sangue periférico e para a soma da taxa de linfócitos com a de monócitos.
- 3) A análise dos dados referentes aos demais elementos figurados do sangue periférico que foram estudados (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) também não permitiu assinalar correlação significativa entre suas frequências absolutas e a intensidade da reação de Mitsuda.

- 4) Na amostra estudada não foi possível verificar correlação significativa entre a intensidade da reação de Mitsuda e o número global de leucócitos do sangue periférico.
- 5) Os percentuais de transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutinina não diferiram significativamente em grupos de indivíduos hígidos com classes extremas de reação de Mitsuda.
- 6) As taxas de transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutinina não mostraram correlação significativa com os níveis de globulinas séricas, determinadas eletroforeticamente, em indivíduos sadios.
- 7) Dos resultados do presente trabalho, ressalta a diferença entre os dados citados na literatura, referentes a doentes de lepra, e os dados aqui obtidos em uma amostra de uma população sadia. Parece-nos lícito inferir que as discordâncias observadas, no tocante aos percentuais de transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutini

na e aos níveis de globulinas séricas, podem ser explicadas com base na própria doença. Assim, os diferentes índices de transformação blástica e sua correlação com as globulinas não gama do soro são, a nosso ver, decorrência do estado mórbido causado pela infecção leprótica e a ele inerentes.

VI- RESUMO

Após rever a literatura pertinente à reação tardia à lepromina ao nível macroscópico (reação de Mitsuda) e microscópico, bem como referentes à transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutinina nos linfócitos de hansenianos, e indivíduos sadios, o autor investigou:

- 1) a existência de uma eventual correlação entre a taxa de monócitos do sangue periférico e a intensidade da reação de Mitsuda;
- 2) a transformação linfoblástica induzida pela fitohemaglutinina nas classes extremas da reação de Mitsuda;
- 3) a eventual correlação entre a intensidade da transformação blástica induzida pela fitohemaglutinina e o nível das globulinas séricas.

Nos indivíduos sadios examinados não foram encontradas correlações significativas entre a intensidade da reação de Mitsuda e a frequência de monócitos no sangue circulante ou a dos

demais elementos figurados que foram estudados.

Não se constatou diferença significativa entre os índices percentuais médios de transformação blástica induzida pela fitohemaglutinina nas formas extremas da reação de Mitsuda apresentada por indivíduos sadios .

Os níveis de globulinas séricas não encontraram correlação significativa com os índices de transformação linfoblástica nos indivíduos sadios examinados.

Tais resultados, que diferem daqueles observados em doentes de lepra, foram discutidos pelo autor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAYON, F. L. - Histologia do lepromin-test nos lepromatosos. Rev. Bras. Leprol. , 7 : 3-4 , 1939.

ALAYON, F. L. & SOUZA LIMA, L. - Sobre a histologia da reação de Mitsuda em lepromatosos. Nova contribuição ao seu estudo. Rev. Bras. Leprol., 8 : 367-374, 1940.

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. ; RABELLO NETO, A. V. ; AZULAY , J. D. ; GARRIDO-NEVES, R. & MIGUEZ-ALONSO, A. - Comparison of the macroscopic readings and microscopic findings of the lepromin reaction. Internat. J. Leprosy, 28 : 38-43, 1960.

BARBIERI, T. A. and CORREA, W. M. - Human macrophage culture. The leprosy prognostic test (LPT). Internat. J. Leprosy, 35 : 377-381 , 1967.

BASOMBRIÓ , G; GATTI, J. C. ; CARDAMA, J. E. & COLOMBO, C.V. Modificaciones da la lepromino reacción. Internat. J. Leprosy, 18 : 481-486 , 1950.

- BASOMBRI0, G. - The lepromin reaction in tuberculoid cases. Internat. J. Leprosy , 24: 86-87,1956.
- BECHELLI, L. M. & QUAGLIATO , R. - Teste de Mitsuda na lepra tuberculóide em reação. Rev. Bras. Leprol., 21 : 51-58 , 1953.
- BECHELLI ; L. M. ; RATH DE SOUZA, P & QUAGLIATO, R. - - Correlação entre os resultados da leitura clínica e do exame histopatológico da reação de Mitsuda. Rev. Bras. Leprol., 27 :172-182,1959.
- BEIGUELMAN, B. - Hereditariedade da reação de Mitsuda. Rev. Bras. Leprol. ,30 : 153-172, 1962.
- BEIGUELMAN, B. & QUAGLIATO, R. - Nature and familial character of the lepromin reactions. Internat. Leprosy, 33 : 800-807 , 1965.
- BEIGUELMAN, B. & BARBIERI, T. A.- Comportamento dos macrófagos nas formas polares de lepra. Ciência e Cultura, 17 : 304-305, 1965.
- BEIGUELMAN, B. - Some remarks on the genetics of leprosy resistance. A.Ge.Me.Ge., 17 : 584-594, 1968.
- BEIGUELMAN, B. - Hereditariedade e lepra- Tese apresentada para concurso de Docência Livre de Genética do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, U.S.P., 1969.

BEIGUELMAN, B. - Lepromin reaction:- Genetics studies including Twin Pair Analysis, Acta Leprolog. 44 : 5-65, 1971.

BEIGUELMAN, B. - An appraisal of genetic studies on leprosy. A.Ge.Me.Ge. 21 : 21-52, 1972.

BEIGUELMAN, B.; PINTO JR., W.; EL-GUINDY, M. M. and KRIEGER, H. - Factors influencing the level of Dapsone in Blood. Bull. World Health Organ., 51 : 467 - 471, 1974.

BEIGUELMAN, B. and PISANI, R.C.B.- Effect of DDS on Phytohemagglutinin induced lymphocyte transformation. Internat.J. Leprosy, 42 : 412-415, 1974.

BEIGUELMAN, B. ; PINTO JR., W.; PISANI, R.C.B.; VOZZA, J.A.; EL-GUINDY, M.M. - Lymphocyte transformation and lepromatous leprosy. Ciência e Cultura, 27 : 217-220, 1975.

BENEWOLENSKAJA, S.W. - Ueber die in vitro reaktion der embryonalen Gewebe und Leukozyten des Menschen auf Leprabazillen. Arch. Exp. Zellforsch., 13 : 37 - 46, 1932.

BULLOCK, W.E. and FASAL, P. - Studies of immune mechanism in leprosy. III-The role of cellular and humoral factors in impairment of the in vitro immune response. J. Immunol., 106 : 888-899, 1971.

BÜNGELER, W. & FERNANDEZ, J.M.M. - Estudo clínico histopatológico das reações alérgicas na lepra. 1^a parte: Investigações clínicas sobre a reação à lepromina (reação de Mitsuda). Rev. Bras. Leprol. 8: 157-170, 1940.

CONVIT, J. & RASSI, E. - Lepromin and tuberculin tests in Venezuelan leprosy foci. Induction of lepromin reactivity by BCG vaccination. Internat. J. Leprosy, 23 : 303-310, 1954.

COOPERBAND, S. R.; BONDEVIK, H.; SCHMID, K. and MANNICK, J.A. - Transformation of Human Lymphocytes: Inhibition by homologous alpha globulin. Science, 159 : 1243-1244, 1968.

DHARMENDRA & CHATTERJEE, K.R. - Prognostic value of the lepromin test in contacts of leprosy cases. Leprosy in India, 27 : 149-152, 1955.

DIERKS, R. E. and SHEPARD, C. C. - Effect of phytohemagglutinin and various mycobacterial antigens on lymphocyte cultures from leprosy patients. Proc.Soc.Exptl. Biol. Med., 127 : 391-395, 1968.

FAVERO, W. DEL. - O censo intensivo de Candeias. Arq. Serv. Nac. Lepra (Rio de Janeiro), 6 : 87-235, 1948.

- FIOL, H. ; JONQUIERES, E.D.L.; BRUSCO, C.M. ; MELAMED, A.J. & FIRPO, C.J. - Tratamiento de la lepra com promin (promanida). Rev. Argent. Dermatosisif, 31 : 531-537, 1947.
- FLIESS, E.L.; BALIÑA, L. M.; BACHMANN, A. E.; CARDAMA , J.E. and GATTI, J. C. - Alteraciones de la desdiferenciación linfoblástica en pacientes de lepra lepromatosa y sus consanguíneos sanos leprominonegativos. Leprologia, 17: 83-90, 1972.
- GUINTO, R. S. ; DOULL, J. A. & MALABAY, E. B. - A note on the lepromin reaction in males and females of the general population of Cordova, Mactan Island, Cebu, Philippines. Internat. J. Leprosy, 23:131-134, 1955.
- GODAL, T., REES, R. J. W. - Fate of *Mycobacterium leprae* in macrophages of patients with lepromatous and tuberculoid leprosy. Internat. J. Leprosy, 38:439 -442, 1970.
- HADLER, W.A. - Comportamento do cobaio e do rato normais injetados com lepromina por via intradérmica. Rev. Bras. Leprol., 21 : 165-195, 1953-a.
- HADLER, W.A. - Estudo comparado das lesões provocadas pela injeção intradérmica de suspensões de *M. leprae* e *M. tuberculosis* em cobaios normais. Rev. Bras. Leprol., 21 : 315-340, 1953-b.

HAN, S.H.; WEISER, R.S. & KAU, S.T. - Prolonged survival of skin allografts in leprosy patients. Internat. J. Leprosy, 39 : 1-6, 1971-a.

HAN, S.H.; WEISER, R.S. and LIN, Y.C. - Transformation of leprosy lymphocytes by leprolin, tuberculin and phytohemagglutinin. Internat. J. Leprosy, 39:789-795, 1971-b.

HANKS, J.H. - A study of the bacilli in tissue cultures of lepromata in serum media. Internat. J. Leprosy, 15: 21-30, 1947-a.

HANKS, J.H. - The fate of leprosy bacilli in fibroblasts cultivated from macular and tuberculoid lesions. Internat. J. Leprosy, 15 : 31-47, 1947-b.

HAYASHI, F. - Mitsuda's skin reaction in leprosy. Internat. J. Leprosy, 1 : 31-38, 1933.

LEIKER, D.L. - Studies on the lepromin test. IV. Influence of leprosy on the reactions to lepromin, tuberculin and the "875 Bacillus" suspension. Internat. J. Leprosy, 29 : 496-501, 1961.

LIM, S.D.; KIM, W.S.; KIM, C.S.; GOOD, R.A. and PARK, B. H. - NBT responses of neutrophils and monocytes in leprosy. Internat. J. Leprosy., 42 : 150-153, 1974.

LOPES DE FARIA, J. - Contribuição ao conhecimento da natureza da reação de Mitsuda. Deptº. Imp. Nac. (Rio de Janeiro), 1953.

MARTINEZ-DOMINGUEZ, V. - Estudio epidemiológico y clínico de la endemia de lepra em la Guinea Española. Mem. VI Cong. Internac. Leprol., 1104-1204, 1953.

ITSUDA, K. - Les lèpreux maculo-nerveux d'une part, les tuberculeux, d'autre part, se comportent différemment a la suite d'une inoculation d'émulsion de tubercule lèpreux. III. e Conf. Internat. Lèpre (Strasbourg, 1923). J.B. Baillière et Fils, Paris, 219-220, 1924.

MUKERJEE, N. & KUNDU, S. - The late lepromin reaction in subsided lepromatous cases. Internat. J. Leprosy, 29 : 14-19, 1961.

NAGAI, K. - Histopatologische Befunde nach Anstellung der Mitsuda'schen Reaktion. La Lepro, 9 :26, 1938.

NELSON, D.S.; NELSON, M.; THURSTON, J.M.; WATERS, M. F. R. and PEARSONS, J.M.H.- Phytohemagglutinin-induced lymphocyte transformation in leprosy. Clin. Exp. Immunol., 9 : 33-43, 1971.

PISANI, R.C. B.; BEIGUELMAN, B. and OPROMOLLA, D. V. A. -
In vitro behavior of blood derived macrophages a -
gainst killed *M. Leprae*, - Internat. J. of. Lepro-
sy, 41 : 14-24, 1973.

POTIER, J.C., Sur la transformation lymphoblastique des
lymphocytes de lépreux provoquée par broyat de
léprome murin. Bull. Soc. Pathol. Exot., 62:987-992,
1969.

QUAGLIATO, R. - Interpretação das reações limítrofes ou
duvidosas do teste lepromínico. Bol. Serv. Nac. Le-
pra (Rio de Janeiro), 21 : 13-34, 1962.

RABELLO JUNIOR & ROTBERG, A. - Nota preliminar sobre a aler-
gia histológica na lepra. Arch. Dermat. Syphil . ,
1 : 140-141, 1937.

RODRIGUEZ, R. P. - Reacción de Mitsuda: estudio histopato-
lógico. Bol. Soc. Cubana Dermat. Sifil., 7: 1-16 ,
1950. (Resumo em Internat. J. Leprosy, 18:442-443,
1950).

RODRIGUEZ-PARADISI, E.; BONAPARTE, Y.P. and MORGENFELD, M .
C. - Cultivo de linfócitos en enfermos con lepra -
lepromatosa. Leprol., 12 : 61-63, 1967.

RODRIGUEZ-PARADISI, E., BONAPARTE, Y. P. and MORGENFELD,
M. C. - Blasts in lepromatous leprosy .
Lancet, 1 : 308-309, 1968.

ROSENFELD, G. - Corante pancrômico para hematologia e
citologia clínica. Nova contribuição para com -
ponentes do May-Grünwald e do Giemsa num sô
corante de emprego rápido. Mem. Inst. Butantan
20: 329-334, 1947.

SCHUJMAN, S. - Histopatologia de la reacción de Mitsuda .
Estudio progresivo y comparativo de las reacciones
que provoca en las diversas formas de lepra. Rev.
Bras. Leprol., 4 : 469-475, 1936.

SCHUJMAN, S. - Estudio evolutivo del estado inmunológico
en los casos lepromatosos beneficiados con diver-
sos medicamentos antileproso (chaulmoogra y
sulfonas). Mem. III Conf. Panamericana Leprol. ,
1 : 195-198, 1951.

SHEAGREN, J.N.; BLOCK, J.B.; TRAUTMAN, J.R. and WOLFF, S.
M. - Immunologic reactivity in leprosy. Clin. Res.
15 : 300, 1967.

SHEAGREN, J. N.; BLOCK, J.B.; TRAUTMAN, J.R. and
WOLFF, S.M. - Immunologic reactivity in patients
with leprosy. Ann. Intern. Med., 70:295-302, 1969.

RECEBIDO
1970-01-15

SILVA, O. P., MARQUES, A. L. V. - Proteínas séricas na Hanseníase. Rev. Bras. Pat. Clin., 11 : 173-184, 1975.

SNEDCOR, G. W., - Statistical methods. The Iowa University Press, Ames, Iowa, U.S.A. 5ª ed. 1956.

SOUZA-LIMA, L. - O teste de Mitsuda é reação alérgica? Rev. Bras. Leprol., 10 : 305-319, 1942.

SOUZA-LIMA, L. & SOUZA-CAMPOS, N. - Sobre casos de lepra com evolução anômala. Serv. Nac. Lepra (Rio de Janeiro), 1950.

TREO, M.M. & SILVA, C. - Comportamento do *Mycobacterium leprae* in vitro em sangue total ou plasma de leprosos de diferentes formas clínicas. Anais VIII Cong. Internac. Leprol., 3 : 484-494, 1963.

TURK, J.L. & WATERS, M.F.R. - Cell-mediated immunity in patients with leprosy. Lancet., 2 : 436-438, 1968.

ULRICH, M.; SALAS, B. and CONVIT, J.- Lymphocyte transformation with phytomitogens in leprosy. Internat. J. Leprosy, 40 : 4-9, 1972.

VAN KAMPEN, E.J. , & ZIJLSTRA, W. G., Clin. Chim. Acta , 6 : 538 , 1961; in HENRY, R. J. " Clinical Chemistry ", HARPER & ROW, Publishers Inc., 1964.

VOZZA, J.A., - Eventual correlação entre intensidade da reação de Mitsuda e freqüência de monócitos no sangue periférico. Comun. VIII Cong. da Soc. Bras. de Patologia Clínica. Curitiba, 1972.

VOZZA, J.A.; BEIGUELMAN, B.; PINTO JR., W.; PISANI, R.C.B.; KRIEGER, H. e EL-GUINDY, M.M.-Desdiferenciação linfocítica na lepra lepromatosa. Comun. IX Cong. da Soc. Bras. de Patologia Clínica. Rio de Janeiro, 1974.

WONG, P.C.; CHAN-TEOH, C.H.; WU, S., and KENDALL, F. H. - Transformation of lymphocytes by phytohemagglutinin in leprosy sera. Internat. J. Leprosy, 39:7-13, 1971.

YOKOTA, T. - The histopathological study of Mitsuda reaction in the case of lepromatous leprosy. La Lepro, 22: 232-235, 1953.