

# MODO DE AÇÃO DA DIHIDROESTREPTOMICINA E DO 4-4' DIAMINODIFENILSULFONA NA LEPRO MURINA

PROF. W. A. HADLER\*  
L. M. ZITI\*\*

O 4-4' — diaminodifenilsulfona (DDS) tem atividade no tratamento da lepra murina experimental (15, 16). Esta ação do DDS tem sido, no entanto, posta em dúvida ultimamente (1, 13). A discrepância de resultados tem sido discutida (4) e, provavelmente, depende do método empregado para o estabelecimento dos resultados.

O DDS não parece atuar como bacteriostático, em relação ao *M. lepraemurium*, "in vivo" (10); sua ação provavelmente se efetua através de alterações da vitalidade da célula bacteriana, do que resulta a perda da viabilidade de uma determinada proporção de bacilos. Esta hipótese apoia-se, experimentalmente, no fato de bacilos recobrados de ratos com lepra murina, submetidos a tratamento sulfônico por longo período, produzirem, quando inoculados em outros animais, moléstia que evolui mais lentamente que a produzida por igual pêso de bacilos não submetidos previamente à ação do DDS (10). Esta hipótese é apoiada, também, pelo fato dos aspectos involutivos das lesões leprosas de ratos tratados pelo DDS (6), serem idênticos aos observados em lesões produzidas por bacilos mortos pela ação do calor (7).

A estreptomicina tem se mostrado ativa em relação ao *M. lepraemurium*, "in vivo", (14, 1, 3, 4, 13, 12), atividade esta, por vezes, não verificada (5, 2).

O mecanismo de ação da estreptomicina, na lepra murina, não está estabelecido; é provável, com base tanto nos estudos efetuados com outras micobactérias, como nos resultados de tratamento de lesões provocadas pelo *M. lepraemurium* e submetidas à estreptomicina por curtos períodos (13), que atue como bacteriostático.

Devido à provável diferença no modo de ação do DDS e da estreptomicina, na lepra murina, resolveu-se estudar, comparativamente, a sobrevivência e a evolução das lesões em ratos inoculados com *M. lepraemurium* e tratados com essas substâncias, por longo período.

## MATERIAL E MÉTODO

Ratos Wistar, de ambos os sexos, cujo pêso no início da experimentação variava entre 90 a 120 g, foram inoculados, por via intraperitoneal, com 0,5 ml de uma mesma suspensão de *M. lepraemurium*, contendo aproximadamente 5,7 mg de bacilos. A suspensão foi preparada pelo método usual (8); a determinação do pêso de bacilos por ml da suspensão foi efetuada segundo processo anteriormente descrito (9).

Os animais assim inoculados foram divididos em 2 grupos: *Grupo 1* — Compreende 4 lotes de 20 animais cada um. Um dos lotes permaneceu sem tratamento (contrôle); os outros 3 receberam um dos seguintes tratamentos: a)

---

\* Departamento Histologia e Embriologia, Faculdade Medicina de Ribeirão Preto — Brasil.

\*\* Seção de Quimioterapia, Instituto Butantan, São Paulo — Brasil.

DDS; b) Dihidro-estreptomicina (DH estreptomicina) ; c) DDSDH estreptomicina.

Em todos os lotes dêste grupo o tratamento foi iniciado 7 dias após a inoculação.

O DDS foi administrado por via oral, sendo a substância misturada à ração, na proporção de 0,3%. Com esta concentração cada animal ingeriu, em média, aproximadamente 40 mg de DDS por dia, dose esta que se apresenta ativa na lepra murina (16).

A DH estreptomicina foi administrada por via intramuscular, na dose de 10 mg por dia, por animal, durante todo decorrer da experimentação.

*Grupo 2:* Outro grupo de ratos, inoculados da mesma maneira, foi conservado sem tratamento até o 150º dia de evolução da moléstia. Nesta época os animais foram divididos também em 4 lotes de 20 animais. Um dos lotes continuou sem receber tratamento (contrôle), enquanto os outros 3 foram tratados com DDS, ou com DH estreptomicina, ou com DDS + DH estreptomicina. As doses e vias de administração foram iguais às usadas para o tratamento instituído precocemente (grupo 1).

Dos animais do grupo 1, um animal de cada lote foi sacrificado cada 30 dias até o 90.º dia, cada 60 dias até o 330.º dia e cada 120 dias até o 690º dia. Desta forma foram sacrificados 10 animais de cada lote. Nos outros 10 ratos a moléstia evoluiu à morte natural.

Nos ratos sacrificados periòdicamente estudou-se macro e microscòpicamente a evolução das lesões durante 690 dias. O estudo histológico foi feito em material fixado em formalina a 10%, ou em Bouin, incluído em parafina e corado pela HE e Ziehl-Neelsen.

Nos ratos cuja moléstia evoluiu naturalmente estudou-se a sobrevivência até o 724º dia, quando a experiência foi encerrada. Além disso, êstes animais forneceram, também, dados sòbre a evolução histológica das lesões.

Dos animais do grupo 2 a metade foi sacrificada, periòdicamente, cada 30 ou 60 dias após a instituição do tratamento; nos outros 10 animais a moléstia evoluiu naturalmente até a morte. Desta forma foram obtidos dados para o estudo da evolução das lesões e da sobrevivência.

A sobrevivência foi analisada estatisticamente nos 2 grupos em separado, tendo-se comparado os contròles com os tratados e os tratamentos entre si. Na análise estatística da sobrevivência usou-se a recíproca dos valores (em dias) obtidos. A análise foi efetuada segundo uma experiência fatorial 2x2. Além disso estudou-se a linha de regressão da sobrevivência nas várias condições da experiência, tendo-se comparado os valores dos coeficientes de regressão por testes *t*. Tanto nos animais do grupo 1 como nos do grupo 2 foi considerada a sobrevivência a partir da data em que foi inoculada a suspensão do *M. lepraemurium*.

A sobrevivência foi comparada com a intensidade das lesões verificadas macro e microscòpicamente.

## RESULTADOS

As médias harmônicas da sobrevivência dos animais dos grupos 1 e 2 estão expostas no quadro 1 A sobrevivência média apresenta-se diferente nos animais contròles dos grupos 1 e 2; esta diferença é explicada pelo fato dos contròles do grupo 2 terem sido selecionados, isto é, serem animais que resistiram a infecção duralite os 150 dias que precederam ao tratamento.

A análise de variância da sobrevivência nos animais do grupo 1 está exposta no quadro 2. Os resultados obtidos demonstram que o tratamento pelo DDS, ou pela DH estreptomicina, quando iniciados 7 dias após a inoculação do *M. lepraemurium*, aumentam a sobrevivência dos animais; êste aumento é fortemente significativo para os 3 tratamentos empregados. Os valores das médias de sobrevivência, porém, mostram que a DH estreptomicina, nestas circunstâncias, é mais ativa que o DDS. Além disso a interação DDS — DH

estreptomicina é significativa e tem valor negativo, porquanto, o resultado do tratamento pelo DDS + DH-estreptomicina é inferior à soma dos resultados dos dois tratamentos isolados.

É permitido supor, com base nestes resultados, que o DDS, nestas condições de tratamento, não atua em presença de DH estreptomicina. Esta hipótese é confirmada pelos valores do coeficiente de regressão nos 4 lotes de animais do grupo 1 (Quadro 3 e gráfico).

A comparação dos coeficientes de regressão dos 4 lotes de ratos, efetuada pelo teste t da diferença entre dois coeficientes de regressão, está exposta no quadro 4. Verifica-se, por estes resultados, que os coeficientes de regressão da sobrevivência são diferentes nos animais tratados em comparação com os controles; este fato revela influência significativa do tratamento sobre a sobrevivência, o que fôra já evidenciado através da análise de variância. Esta influência é maior quando se emprega DH-estreptomicina, em comparação com o DDS.

Além disso o coeficiente de regressão da sobrevivência difere significativamente nos animais tratados com DDS em relação aos tratados com DH estreptomicina. Estes dados sugerem que o mecanismo de ação destas duas substâncias é diferente, isto é, que elas atuam de forma diversa na lepra murina. Por outro lado, a ausência de diferença do valor de "b" nos ratos tratados pela DH-estreptomicina, em comparação com os tratados por DDS -F DH-estreptomicina, mostra que o DDS não atua nestas condições.

Nos animais do grupo 2, cujo tratamento teve início 150 dias após a inoculação do *M. lepraemurium*, a sobrevivência dos lotes tratados, em comparação com a dos controles não tratados, não revela diferenças significativas (Quadro 5). Nestas circunstâncias, a análise dos resultados não pode basear-se na sobrevivência, apesar das médias harmônicas da sobrevida serem aparentemente diferentes (veja quadro 1).

O estudo da evolução da moléstia, baseado na extensão e no aspecto das lesões macro e microscópicas e na morfologia dos bacilos, mostra o seguinte: 1) Animais cujo tratamento foi iniciado no 7.º dia que sucedeu a inoculação do *M. lepraemurium*: a) Os ratos tratados pelo DDS apresentam lesões que evoluem de forma comparável à dos animais não tratados, até 240º dia de tratamento. Pouco antes desta época (200 dias), nas lesões dos ratos submetidos ao tratamento, há, no entanto, discretas alterações da morfologia dos bacilos, com aparecimento de numerosas granulações aar. Porém, apenas no 240.º dia de tratamento são observadas as primeiras lesões com aspecto morfológico de caráter involutivo. Os processos involutivos se acentuam nos períodos sucessivos, tornando-se bem evidentes a partir do 400º dia de tratamento. Porém, mesmo nos períodos mais tardios do tratamento (560 dias) ainda são observadas lesões leprosas, as quais, no entanto, são raras, apresentam-se em involução avançada e geralmente não contém bacilos.

b) Ratos tratados pela DH-estreptomicina: Mostram, em relação aos controles, diferenças quanto à intensidade e à extensão das lesões, desde o 60.º dia que sucede o início do tratamento. Nesta época as lesões são de menores dimensões e menos numerosas, nos animais tratados, em comparação com os controles não tratados (fotos 1, 2 e 3). No 90.º dia as diferenças são mais acentuadas. Comparando-se o aspecto anatomo-patológico do 60.º com o do 90.º dia de evolução, verifica-se que nos controles as lesões aumentam sensivelmente em extensão e número; nos animais tratados este aumento também se verifica, porém em menor proporção (fotos 4 e 5).

O número de bacilos por célula leprosa dos animais tratados é, no entanto, grande e comparável ao dos ratos não tratados. No 120.º dia de evolução verifica-se maior aumento do número e da extensão das lesões nos animais tratados, em comparação com os períodos anteriores; porém, as diferenças em relação aos controles não tratados continuam bem nítidas. Após o 200º dia observa-se que as lesões dos ratos tratados com DH-estreptomicina progridem muito pouco

e os bacilos apresentam redução numérica, sendo ao mesmo tempo verificadas alterações morfológicas dos bacilos (granulações, bacilos fragmentados, etc.). As lesões histológicas assumem aspectos que correspondem aos das alterações involutivas e tornam-se paucibacilares. A involução das lesões se acentua progressivamente, mas lentamente, de forma que no 724.º dia ainda são observadas raras lesões, se bem que em involução avançada e geralmente abacilares.

c) Nos animais tratados por DDS + DH-estreptomicina a evolução das lesões é idêntica à dos ratos tratados apenas com DH-estreptomicina, durante todo o decorrer do tratamento. Os resultados mostram que não há involução mais rápida das lesões, devido à administração conjunta das duas substâncias, o que confirma os resultados baseados na sobrevivência.

Com base nas lesões anátomo-patológicas, a DH-estreptomicina é mais eficiente que o DDS, quando o tratamento é instituído no 7.º dia após a inoculação. A DH-estreptomicina + DDS atua Como a DH-estreptomicina apenas. Todos êstes dados confirmam os resultados baseados na sobrevivência dos animais.

2) animais cujo tratamento foi iniciado 150 dias após a inoculação: a) ratos tratados pelo DDS: As primeiras lesões com caracteres involutivos são verificadas já no 90º dia de tratamento, traduzindo-se pela presença de lesões na fase inicial de involução. Os aspectos involutivos são bastante acentuados no 260.º dia de tratamento e nos períodos sucessivos; porém, não se obtém cura histológica das lesões, mesmo nas fases posteriores da experimentação. Nessa época as lesões são, porém, muito pouco numerosas, têm pequenas dimensões e são geralmente abacilares.

b) Ratos tratados pela DH-estreptomicina: As primeiras lesões em involução, que marcam o início aparente da ação da DH-estreptomicina, são verificadas no 260º dia após o início do tratamento. Desta época em diante, a involução das lesões se acentua progressivamente, porém lentamente. Nas fases posteriores do tratamento (400 dias), as lesões verificadas apresentam-se em intensa regressão; são, porém, relativamente numerosas, e geralmente possuem bacilos, mesmo que em número reduzido. Os bacilos geralmente se apresentam morfológicamente alterados.

c) Ratos tratados por DDS + DH-estreptomicina: O ritmo e a intensidade da involução das lesões é comparável ao verificado nos animais tratados apenas pelo DDS. A involução das lesões tem início no 90.º dia que sucede a instituição do tratamento e torna-se bem evidente no 260.º dia. Mesmo nas fases posteriores do tratamento não se obtém cura histológica da moléstia.

A ação dos tratamentos utilizados, sôbre a evolução anátomo-patológica da lepra murina, revela, em síntese, que quando o tratamento tem início 7 dias após a inoculação, nos animais tratados com DDS as lesões evoluem durante certo período e só então passam a involuir; nos ratos tratados com DH-estreptomicina ou com DH-estreptomicina + DDS, a evolução das lesões é inibida desde o 60.º dia. Os aspectos involutivos das lesões, que se verificam nas fases tardias da experimentação, são, porém, idênticos nos três tipos de tratamento, havendo sempre modificações da estrutura das lesões, redução do número e alterações morfológicas dos bacilos (lesões em involução). Em todos há tendência ao desaparecimento das lesões, parecendo ser a DH-estreptomicina mais eficiente que o DDS.

Quando o tratamento é instituído 150 dias após a inoculação, os resultados obtidos pela administração de DDS são mais precoces que os devido à DH-estreptomicina; são já verificados no 90.º dia de tratamento, o qual corresponde ao 240.º dia que sucede a inoculação, época em que são assinalados os primeiros resultados nítidos com o DDS, quando o tratamento tem início no 7.º dia que sucede a inoculação. Além disso, as alterações involutivas das lesões são intensas no 400º dia após a inoculação, tanto quando o tratamento é instituído precocemente (7º dia), como quando é iniciado no 160.º dia que sucede a inoculação. Êste fato revela que, ao menos aparentemente, há uma longa fase durante a qual o DDS é inativo, quando o tratamento é iniciado precocemente (7º dia).

A ação da DH-estreptomicina, quando o tratamento é instituído no 150.º dia, é verificada mais tardiamente em relação ao DDS, ou ao DDS + DH-estreptomicina. Além disso, os animais tratados pelo DDS apresentam os mesmos resultados que os tratados pelo DDS + DH-estreptomicina. Nestas condições parece também não haver somação de efeitos, porém, a presença de DH-estreptomicina não influi, aparentemente, na ação da sulfona, ao contrário do que parecia ocorrer com o tratamento instituído no 7.º dia que sucede a inoculação.

## DISCUSSÃO

Os resultados apresentados sugerem que o mecanismo de ação do DH-estreptomicina e do DDS, na lepra murina, são diferentes. A DH-estreptomicina é dotada de ação bacteriostática para o *M. lepraeneurium*, uma vez que inibe o desenvolvimento das lesões leprosas de ratos, quando o tratamento tem início 7 dias após a inoculação. A inibição da evolução das lesões não é completa, apesar de ser bem evidente, porém, não tem tendência a diminuir de intensidade nas fases finais do tratamento. Além disso, a sobrevivência dos animais tratados com DH-estreptomicina é significativamente maior que a dos controles não tratados, revelando que a ação bacteriostática exerce influência durante toda a evolução da moléstia. A presença da ação inibidora, sobre a evolução das lesões, mesmo nos períodos mais avançados do tratamento, sugere não se desenvolverem raças de bacilos dotadas de estreptomicinorresistência. Esta sugestão, porém, necessita de comprovação experimental, porquanto está em desacordo com os estudos referentes ao *M. tuberculosis* e com dados obtidos em relação à camundongos inoculados com *M. lepraemurium* (12).

O DDS, ao contrário, não inibe, ao menos de forma evidenciável pelo método empregado, o desenvolvimento das lesões leprosas, quando administrado a partir do 7.º dia que sucede à inoculação do *M. lepraemurium*. Nessas condições, não parece dotado de ação bacteriostática em relação a este bacilo, fato aliás, já verificado anteriormente (16). As lesões dos animais tratados são comparáveis, em número e dimensões, às dos controles não tratados, até o 240º dia de tratamento. Dessa época em diante surgem diferenças entre as lesões dos animais tratados e dos controles; estas diferenças constam do aparecimento de fenômenos involutivos nas lesões dos animais tratados, as quais passam a apresentar caracteres histológicos especiais (6). Os fenômenos involutivos progredem nas épocas ulteriores, provocando diminuição do número e das dimensões das lesões, as quais tendem ao desaparecimento (16), mas não desaparecem totalmente. Estes fatos mostram que a ação do DDS só é evidenciável tardiamente, ao contrário do DH-estreptomicina, quando o tratamento é instituído precocemente.

Bacilos recobrados de ratos previamente tratados pelo DDS, durante longo período, quando inoculados em outros ratos, promovem infecção que possui caracteres diferentes da produzida pela mesma dose de bacilos não submetidos à ação da sulfona (10). Nestas circunstâncias, a moléstia evolui para a morte, porém, com ritmo mais lento; são verificadas lesões em involução no decurso da evolução da moléstia, especialmente logo após a inoculação. A menor velocidade de evolução da moléstia e a presença precoce de lesões em involução, tem sido interpretada como consequência da ação do DDS, o qual tornaria inviável certa proporção dos bacilos (10). Por outro lado, foi demonstrado que o ritmo de evolução da lepra murina tem relação com o tamanho do inóculo (11). Nestas condições, a evolução mais lenta da moléstia parece depender da inviabilidade de uma parte do inóculo. O DDS parece atuar sobre a viabilidade da célula bacteriana, ação esta que por razão não evidente manifesta-se tardiamente.

Quando o tratamento tem início no 7.º dia que sucede a inoculação o efeito do DDS, em presença da DH-estreptomicina, é aparentemente nulo, uma vez que ratos tratados com DDS + DH-estreptomicina se comportam, quanto à sobrevivência e à evolução das lesões, como animais que receberam apenas DH-estreptomicina. Baseado neste fato (que está em desacordo com resultados obtidos em camundongos, os quais sugerem que os efeitos do DDS e da estrepto-

micina são aditivos (3a) é permitido formular 2 hipóteses: 1) o DDS atuaria apenas sobre bacilos que se reproduzem normalmente; haveria relação entre a divisão da célula bacteriana e a ação do DDS e, como a DH-estreptomicina tem a ação bacteriostática, impediria a ação da sulfona; 2) o DDS atuaria apenas quando as lesões se apresentam plenamente desenvolvidas e a DH-estreptomicina, inibindo a evolução das lesões, inibiria a ação do DDS.

O estudo da evolução anátomo-patológica das lesões, quando o tratamento é instituído 150 dias após a inoculação do *M. lepraemurium*, porém, mostra que a ação do DDS é relativamente mais precoce nestas circunstâncias; comparativamente ao tratamento iniciado no 7.º dia, as lesões em involução surgem mais cedo. Isto sugere que o DDS atua mais eficazmente nas lesões plenamente desenvolvidas. Quando o tratamento é instituído precocemente (7.º dia) o período inicial, durante o qual o DDS é aparentemente inativo, corresponde à fase na qual as lesões leprosas estão em desenvolvimento. Além disso, no tratamento instituído tardiamente a presença de DH-estreptomicina não diminui a ação do DDS. Estes fatos sugerem não haver influência direta da presença da DH-estreptomicina sobre a ação do DDS, nestas circunstâncias, o que permite julgar como mais provável a segunda das 2 hipóteses formuladas anteriormente.

O aparecimento mais precoce de lesões em involução, nos ratos cujo tratamento pelo DDS tem início no 150.º dia após a inoculação, comparado com ratos cujo tratamento têm início no 7º dia, constitui fato aparentemente paradoxal. Este aparente paradoxo confirma verificação feita em trabalho anterior (16) e está de acordo com a falta de relação entre a dose de inóculo e os resultados de tratamento sulfônico (11). É explicado admitindo-se que a sulfona seja mais ativa nas lesões leprosas em período de estado, isto é, nas lesões que atingiram o grau máximo da evolução. Em lesões deste tipo a ação do DDS é mais precoce e mais evidente que a apresentada pela DH-estreptomicina.

Apesar da ação da DH-estreptomicina sobre o *M. lepraemurium* ser principalmente bacteriostática, os resultados obtidos sugerem a existência de outros mecanismos de ação mais complexos. Admitindo apenas ação bacteriostática não é possível explicar a presença de lesões em involução, nos animais tratados com DH-estreptomicina, especialmente quando o tratamento é instituído 150 dias após a inoculação do *M. lepraemurium*. As lesões em involução, que ocorrem nestas circunstâncias, parecem revelar alterações da viabilidade dos bacilos, porquanto os tecidos do rato não tomam parte ativa na destruição das micobactérias e na cura das lesões leprosas (7).

Os resultados expostos revelam que o mecanismo de ação do DDS é diferente do apresentado pela DH-estreptomicina e exige método de observação prolongado para ser verificado. Por esse motivo, os AA. que se preocupam demasiadamente com a brevidade da experimentação (13) não tem confirmado a atividade do DDS na lepra murina. No estudo da quimioterapia experimental da lepra murina são mais vantajosos não os métodos rápidos, mas os que conferem o maior número possível de fatos observáveis. No mínimo os resultados devem ser baseados na análise estatística da sobrevivência e na evolução macro e microscópica das lesões.

Quando o tratamento é instituído 150 dias após a inoculação, os resultados não podem basear-se na sobrevivência dos animais, perdendo-se, com isso, um elemento importante. Porém, o tratamento assim efetuado, tem a vantagem de fornecer dados que o tratamento precoce não fornece.

## RESUMO

Estudou-se, comparativamente, a ação do DDS e da Dihidroestreptomicina, em ratos inoculados com *M. lepraemurium*, por via intraperitoneal. Os animais foram divididos em 2 grupos: no primeiro, o tratamento teve início 7 dias após a inoculação e no 2º grupo foi iniciado no 150.º dia após a inoculação. Os ratos de cada grupo foram separados em 4 lotes: a) controle; b) tratado com DDS.

c) tratado com DH-estreptomicina; d) tratado com DDS + DH-estreptomicina.

Verificou-se a evolução histológica das lesões e a sobrevivência dos animais de todos os lotes, até o máximo de 724 dias. A sobrevivência foi analisada estatisticamente, segundo uma experiência fatorial 2x2; além disso, determinou-se a linha de regressão da sobrevivência, nos animais do 1.º grupo.

Nos animais do grupo 1 verificou-se: a) o tratamento pelo DDS, ou pelo DH-estreptomicina ou pelo DDS + DH-estreptomicina, especialmente os dois últimos, aumentam a sobrevivência dos animais; b) a interação DDS — DH-estreptomicina é significativa e tem valor negativo; c) a linha de regressão da sobrevivência difere significativamente nos animais tratados com DDS em relação aos tratados com DH-estreptomicina; d) nos ratos tratados com DDS alterações da estrutura e da evolução das lesões histológicas surgem no 240.º dia de tratamento, enquanto que nos tratados com DH-estreptomicina, ou DH-estreptomicina + DDS, há inibição da evolução já observável no 60.º dia; a ação do DDS é mais tardia que a da DH-estreptomicina.

Nos animais do grupo 2 os tratamentos não influíram na sobrevivência, mas modificaram o aspecto histológico das lesões. Com o tratamento pelo DDS ou DDS + DH-estreptomicina surgem lesões em involução já no 90.º dia de tratamento; com o tratamento pela DH-estreptomicina lesões em involução são observadas somente no 250.º dia. A ação do DDS é mais precoce que a exercida pela DH-estreptomicina, nestas circunstâncias.

Êstes fatos sugerem que o mecanismo de ação do DDS e da DH-estreptomicina são diferentes; a última é bacteriostática, ao contrário do primeiro que parece atuar sobre a vitalidade do *M. lepraemurium*. Além disso, o DDS atua melhor sobre as lesões leprosas bem desenvolvidas que sobre as lesões em formação, ao contrário do DH-estreptomicina. Devido a êstes fatos a ação do DDS sobre a lepra murina só é verificada quando a observação é longa; é por esta razão que tem havido discordância quanto à atividade do DDS nesta moléstia.

#### SUMMARY

A comparative study of DDS and dihydrostreptomycin action on the murine leprosy was carried out in rats inoculated with *M. lepraemurium* by intraperitoneal route. The experimental animals were divided in two groups: a) the treatment was started 7 days after the inoculation; b) the treatment was started 150 days after the inoculation. The rats of each group were divided in 4 lots: 1) control (not treated); 2) DDS treated; 3) dihydrostreptomycin treated; 4) DDS plus dihydrostreptomycin treated.

The evolution of the histological lesions and the survival time of the animals of each lot were studied up to the 724th day after the beginning of treatment. The survival time was statistically analyzed by a 2x2 factorial design and the regressive line of the survival time was determined.

On the animals which started the treatment on the 7<sup>th</sup> day, it was observed: a) the DDS, the dihydrostreptomycin, or the DDS plus dihydrostreptomycin treatment, specially the last two, produce an extent of the survival-time; b) the DDS-dihydrostreptomycin interaction is significant and has a negative value; c) the regressive line of the survival time differs significantly on the animals treated with DDS, as compared with those treated with dihydrostreptomycin; d) in the rats treated with DDS the structural and evolutive alterations of the histological lesions become visible in the 240th day of treatment; on the other side, the lot of rats treated with dihydrostreptomycin or DDS plus dihydrostreptomycin shows, after a 60 days treatment a partial inhibition in the evolution of the lesions; this result means that the DDS action is more delayed as compared with the dihydrostreptomycin.

The animals which started the treatment on the 150<sup>th</sup> day, did not show alteration on the survival-time, although the histological aspects of the lesion presented alterations. Under the DDS or the DDS plus dihydrostreptomycin

treatment the lesions have involutive character at the 90<sup>th</sup> day after the beginning of the treatment; under the dihydrostreptomycin treatment involutive lesions were observed after the 250<sup>th</sup> day. In this manner, the DDS action is faster as compared with the dihydrostreptomycin.

The observed facts suggest that the effect of DDS and dihydrostreptomycin on murine leprosy is different; the latter seems to be bacteriostatic, although the DDS seems to actuate on the vitality of *M. lepraemurium*, producing the death of some bacilli. In addition, the effect of DDS is clearer when the animals show well-developed leprosy lesions; the contrary occurs with dihydrostreptomycin, which actuates specially on the incipient lesions. By these reasons, the DDS action on the murine leprosy is only verified when the time of observation is long; this fact is responsible for the contractory results in this respect.

### QUADRO 1

MÉDIAS HARMÔNICAS DA SOBREVIVÊNCIA EM RATOS CONTRÔLES E TRATADOS POR DDS, DH-ESTREPTOMICINA OU DDS + DH-ESTREPTOMICINA. VALORES EM DIAS.

	Grupo 1 - Tratamento iniciado 7 dias após inoculação de <i>M. lepraemurium</i>	Grupo 2 - Tratamento iniciado 150 dias após a inoculação do <i>M. lepraemurium</i>
Contrôles	211	271
DDS	395	328
DH-estreptomicina	599	313
DDS + DH-estreptomicina	588	303

### QUADRO 2

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA SOBREVIVÊNCIA EM RATOS CONTRÔLES E TRATADOS POR DDS, DH-ESTREPTOMICINA OU DDS + DH-ESTREPTOMICINA. TRATAMENTO INICIADO 7 DIAS APÓS A INOCULACAO DO "*M. LEPRAEMURIUM*".

Fonte de variação	Soma dos Quadrados	G. L.	Quadrado médio	F	P
1) Tratamentos	620.571	3	206.857	18,1	XXX
a) DDS	117.723	1	117.723	10,3	XXX
b) DH-estrep- micina	378.303	1	378.303	33,1	XXX
c) interação	124.545	1	124.545	10,9	XXX
2) Erro experi- mental	411.163	36	11.421		
Total	1031.734	39			



### QUADRO 3

COEFICIENTE DE REGRESSÃO DA SOBREVIVÊNCIA EM RATOS CONTRÔLES E TRATADOS COM DDS, DH-ESTREPTOMICINA E DDS + DH-ESTREPTOMICINA. TRATAMENTO INICIADO 7 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO DO "M. LEPRÆMURIUM".

	DDS	DH-estreptomicina	DDS + DH-estreptomicina	Contrôles
b	30,8	10,4	10,2	59,8
S <sup>2</sup> yx	1709	161	126	2684

### QUADRO 4

COMPARAÇÃO ENTRE OS VALORES DE B DA REGRESSÃO DA SOBREVIVÊNCIA EM RATOS CONTRÔLES E TRATADOS COM DDS, DH-ESTREPTOMICINA E DDS + DH-ESTREPTOMICINA. TRATAMENTO INICIADO 7 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO DO "M. LEPRÆMURIUM". A COMPARAÇÃO FOI EFETUADA PELO TESTE T DA DIFERENÇA ENTRE DOIS B.

$$t = \frac{b_1 - b_2}{s^2 \sqrt{\frac{1}{S_x} + \frac{1}{S_{x2}}}}$$

Para 16 e. l.: t<sub>0.05</sub> = 2.120 e t<sub>0.01</sub> = 2.921.

Comparação	t	P
Contrôles x DDS	2,81	X
Contrôles x DH-estreptomicina	5,95	XXX
Contrôles x DDS + DH-estreptomicina	6,01	XXX
DH-estreptomicina x DDS + DH-estreptomicina	0,07	N. S.
DDS x DH-estreptomicina	3,94	XXX

X=P K 0,05 0,01

XXX=P K 0,01

N. S. = Não significativa.

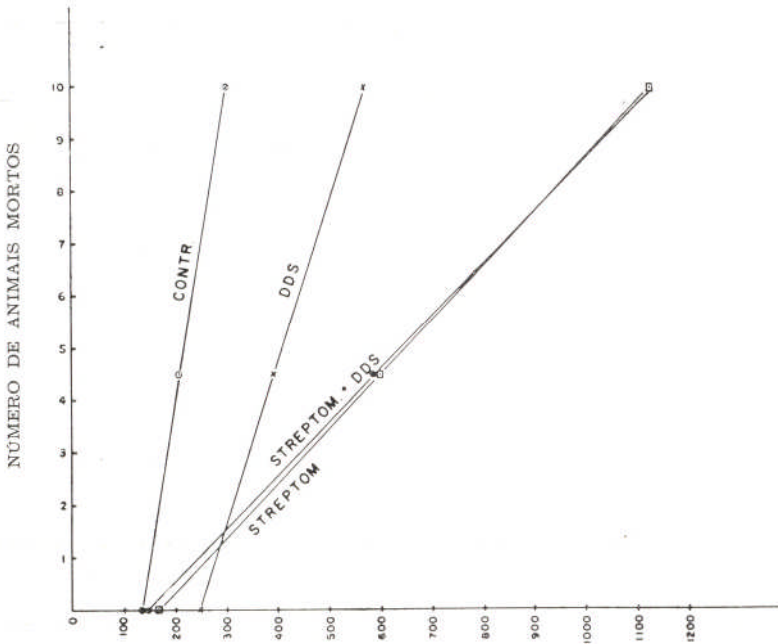
### QUADRO 5

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA SOBREVIVÊNCIA EM RATOS CONTRÔLES E TRATADOS POR DDS, DH-ESTREPTOMICINA OU DDS + DH-ESTREPTOMICINA. TRATAMENTO INICIADO 150 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO DO "M. LEPRÆMURIUM".

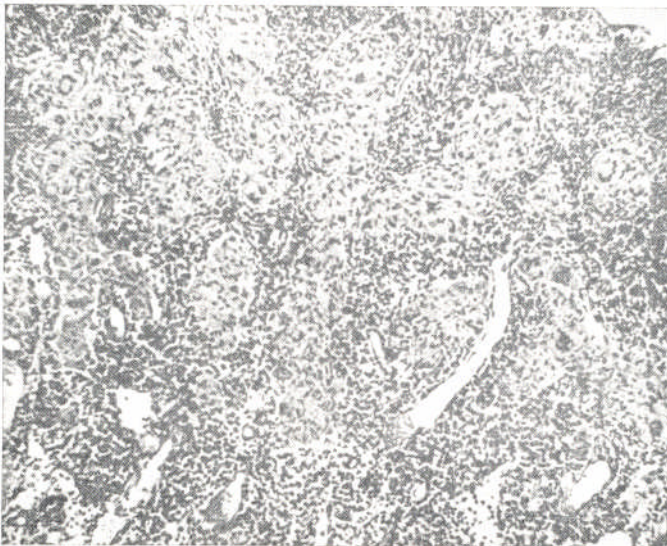
Fonte de variação	Soma dos Quadrados	G. L.	Quadrado médio	F	P
1 - Tratamentos	22.233	3	7.411	0,68	N. S.
a) DDS	7.128	1	7.128	0,66	N. S.
b) DH-estreptomicina	1.488	1	1.488	0,13	N. S.
c) DDS + DH-estreptomicina	13.617	1	13.617	1,25	N. S.
2 - Erro experimental	380.621	36	10.850		
Total	412.854	39			

N. S. = Não significativa.

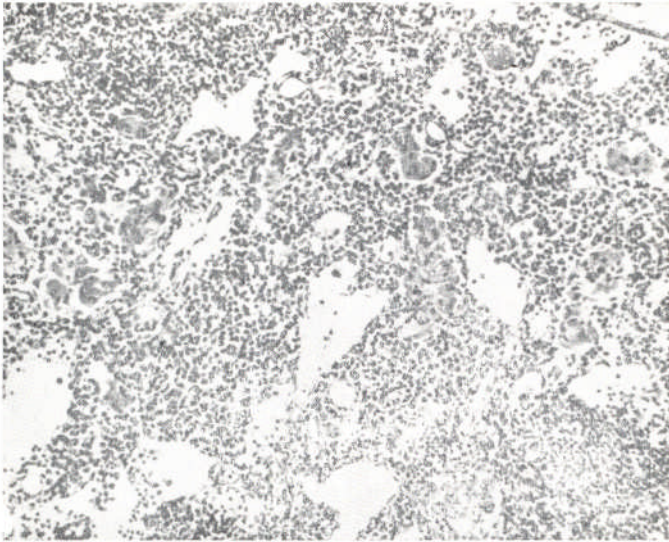
TEMPO DA EVOLUÇÃO DA MOLÉSTIA, EM DIAS. LINHAS DE REGRESSÃO DA SOBREVIVÊNCIA EM RATOS CUJO TRATAMENTO TEVE INÍCIO 7 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO DO *M. LEPRÆMURIUM*.



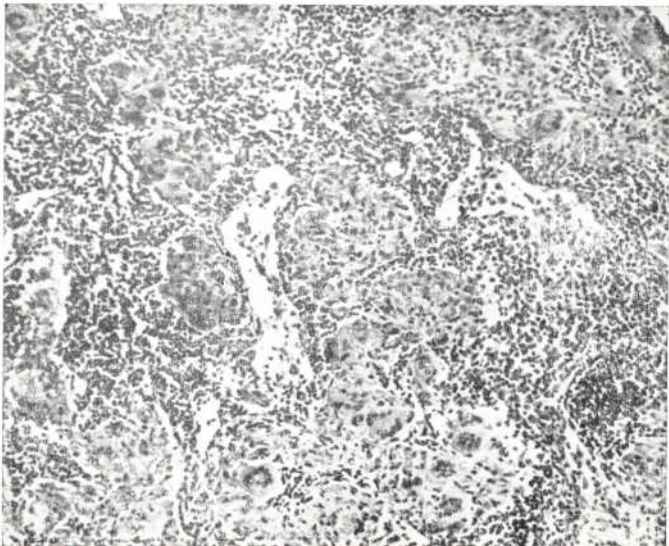
GÂNGLIO LINFÁTICO DE RATOS INOCULADOS COM *M. LEPRÆMURIUM*; HE; 110 x LESÕES COM 60 DIAS DE EVOLUÇÃO.



1 — RATO CONTRÔLE



2 — RATO TRATADO PELO DH-ESTREPTOMICINA



3 — RATO TRATADO PELO DDS.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — BARNETT, M. & BUSHBY, S. R. M. — *Leprosy Rev.* 24: 19, 1953.
- 2 — CARPENTER, C. M., STOCKINGER, H. E., SUHRLAND, L. G. & ACKERMAN, H. — *Am. Rev. Tuberc.* 60: 359, 1949.
- 3 — CHANG, Y. T. — *Intern. J. Leprosy* 21: 57, 1953.
- 3a— CHANG, Y. T. — *Inter. J. Leprosy* 24: 307, 1956.
- 4 — CHANG, Y. T. & DOULL, J. A. — *Leprosy Brifs* 4: 29, 1953.
- 5 — CHAUSSINAND, R., PARIS, C. & CROUGUE, O. — *Ann. Inst. Pasteur* 75, 92, 1948.
- 6 — HADLER, W. A. — *Rev. Brasil. Leprol.* 19: 75, 1951.
- 7 — HADLER, W. A. — Em publicação.
- 8 — HADLER, W. A. & MAURI, A. C. — *Rev. Brasil. Leprol.* 16: 139, 1948.
- 9 — HADLER, W. A. & ZITI, L. M. — *Rev. Brasil. Leprol.* 21: 341, 1953.
- 10 — HADLER, W. A. & ZITI, L. M. — *Rev. Brasil. Leprol.* 24: 56, 1956.
- 11 — HADLER, W. A. & ZITI, L. M. — Em publicação.
- 12 — HOBBY, G. L. & DONIKIAN, M. A. — *Am. Rev. Tuberc.* 72: 846, 1955.
- 13 — HOBBY, G. L., HANKS, J. H., DONIKIAN, M. A. & BACKERMAN, T. — *Am. Rev. Tubers.*, 69: 173, 1954.
- 14 — LEVADITI, C. & CHAIGNEAU-ERHARD, H. — *Compt. rend. Soc. Biol.* 145: 328, 1951.
- 15 — MAURI, A. C. & HADLER, W. A. — *Rev. Brasil. Leprol.* 17: 140, 1949.
- 16 — MAURI, A. C., HADLER, W. A. & CARVALHO, C. M. — *Rev. Brasil. Leprol.* 19: 85, 1951.

# LIOSULFONA

DE ANGELI

NO TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO DA LEPRO

O PRIMEIRO COMPOSTO SINTÉTICO  
EMPREGADO COM SUCESSO:

## LIOSULFONA PARA USO ENDOVENOSO

Solução a 60% de p,p'-diaminodifenilsulfona-N,N'-di-  
dextrose-sulfonato de sodio, em ampelas de 5  
e de 10 cm<sup>3</sup>, caixas com 25 ampolas.

O MAIS RECENTE COMPOSTO SINTÉTICO  
USADO COM VANTAGEM:

## LIOSULFONA PARA USO ORAL

Comprimidos drageados, contendo 0,10 g de  
p,p'-diaminodifenilsulfona por unidade,  
em tubos com 100 e 1.000 drageas.



INSTITUTO DE ANGELI DO BRASIL