

# HEREDITARIEDADE DA REAÇÃO DE MITSUDA

BERNARDO BEIGUELMAN\*

## INTRODUÇÃO

A reação tardia à injeção intradérmica de lepromina, também conhecida como reação de Mitsuda, é considerada por todos os leprólogos como de um valor prognóstico notável, sendo a reação positiva indicadora de resistência do organismo ao *Mycobacterium leprae*. Esta resistência se traduz pelo não contágio dos indivíduos Mitsuda positivos, ou caso ele ocorra, pela manifestação da forma tuberculóide de lepra que, de certo modo, é benigna. É surpreendente, por isso, que até hoje não se houvesse, ao menos, tentado averiguar se o caráter reação de Mitsuda é familiar, a fim de propiciar elementos para a conseqüente investigação de um eventual mecanismo hereditário. É a isto que nos propomos no presente trabalho.

## MATERIAL E MÉTODO

1610 indivíduos da população rural de Rio das Pedras (Estado de São Paulo), foram inoculados com lepromina integral (para a técnica de preparo vide Bechelli & Rotberg, 1956). Em 1510 indivíduos conseguiu-se observar a lepromino-reação tardia, dos quais foram selecionados 220 casais com um total de 762 filhos, a fim de estudar a distribuição familiar da reação de Mitsuda. Por várias maneiras obtivemos a confirmação de que nenhum dos indivíduos examinados havia sido calmetizado.

Se, por um lado, êsses indivíduos constituem uma amostra da população rural da Zona Fisiográfica N.º 14 do Estado de São Paulo (fig. 1), por causa da sua composição racial, predominantemente de origem norte-italiana, por outro lado representam, praticamente, toda a população rural de uma vasta área do Município de Rio das Pedras.

A leitura da lepromino-reação foi feita 28 a 30 dias após a inoculação de 0,1 cc de lepromina na face anterior do braço e de acôrdo com os critérios estabelecidos no VII Congresso Internacional de Leprologia (Tóquio, 1958) conforme Souza-Campos et al., 1962:

- : ausência de elemento visível ou palpável;
- ±: discreta infiltração, menor que 3 mm;
- +: infiltração franca, pápula ou nódulo, com o diâmetro de 3 a 5 mm;
- ++: infiltração nodular com mais de 5 mm de diâmetro;
- +++ : quando há ulcerações do infiltrado.

---

\* Da Divisão Técnica Auxiliar do Departamento da Lepra de São Paulo e do Departamento de Biologia Geral da U. S. P.



Fig. 1 — Mapa do Estado de São Paulo assinalando a Zona Fisiográfica N.º 14, à qual pertence Rio das Pedras, e limites intermunicipais dessa Zona.

### RESULTADOS

A tabela 1 apresenta a distribuição da reação de Mitsuda em 220 famílias. A tabela 2 apresenta a mesma distribuição, segundo os grupos de idade e sexo, numa amostra que inclui além dessas 220 famílias, outros indivíduos examinados que não constituem famílias completas.

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO DAS RESPOSTAS TARDIAS AO TESTE LEPROMÍNICO EM 220 CASAIS E SEUS 762 FILHOS, PERTENCENTES À POPULAÇÃO RURAL DE RIO DAS PEDRAS, SÃO PAULO

Tipos de casamento	N.º de casais	Filhos					Total	Mitsuda positivos % de filhos	
		—	±	+	++	+++		+, ++, +++	++, +++
+++ × +++	1	—	—	1	1	—	2	100,00	50,00
+++ × ++	1	—	—	2	1	—	3	93,75	43,75
++ × +++	4	—	1	6	4	2	13		
+++ × +	3	—	1	3	3	—	7	80,64	29,03
+ × +++	8	—	5	13	4	2	24		
++ × ++	15	1	5	17	8	5	36	83,33	36,11
++ × +	25	9	19	47	10	3	88	66,92	14,28
+ × ++	16	3	13	23	5	1	45		
+ × +	47	15	34	76	23	19	167	70,66	25,15
+++ × ±	3	1	2	5	—	2	10	58,82	17,65
± × +++	1	—	4	2	1	—	7		
+++ × -	1	—	—	2	2	2	6	100,00	60,00
- × +++	1	—	—	1	2	1	4		
++ × ±	6	5	8	5	—	1	19	40,54	2,70
± × ++	5	3	6	9	—	—	18		
++ × -	2	3	1	1	3	—	8	44,44	16,67
- × ++	2	1	5	4	—	—	10		
+ × ±	21	15	20	43	6	5	89	58,28	11,04
± × +	22	13	20	34	5	2	74		
+ × -	6	—	5	10	2	4	21	46,34	17,07
- × +	4	9	8	2	1	—	20		
± × ±	9	8	13	13	—	1	35	40,00	2,86
± × -	7	7	15	9	—	—	31	29,79	2,13
- × ±	7	3	8	4	1	—	16		
- × -	3	9	—	—	—	—	9	0,00	0,00
Total .....	220	105	193	332	82	50	762	60,89	17,32

TABELA 2 — DISTRIBUIÇÃO DAS RESPOSTAS TARDIAS AO TESTE LEPRONÍMICO NUMA AMOSTRA CASUAL DE 1520 INDIVÍDUOS DA POPULAÇÃO RURAL DE RIO DAS PEDRAS, SÃO PAULO

Idade	Sexo	Intensidade da resposta					Total
		—	±	+	++	+++	
4 — 9	M	30 (15,62)	49 (25,52)	88 (45,83)	13 (6,77)	12 (6,25)	192
	F	37 (23,57)	37 (23,57)	55 (35,03)	14 (8,92)	14 (8,92)	157
	M + F	67 (19,20)	86 (24,64)	143 (40,97)	27 (7,74)	26 (7,45)	349
10 — 14	M	6 (4,76)	35 (27,78)	63 (50,00)	17 (13,49)	5 (3,97)	126
	F	13 (10,48)	27 (21,77)	56 (45,16)	22 (17,74)	6 (4,85)	124
	M + F	19 (7,60)	62 (24,80)	119 (47,60)	39 (15,60)	11 (4,40)	250
15 — 19	M	7 (7,45)	28 (29,79)	40 (42,55)	10 (10,64)	9 (9,57)	94
	F	6 (6,90)	25 (28,74)	33 (37,93)	19 (21,84)	4 (4,60)	87
	M + F	13 (7,18)	53 (29,28)	73 (40,33)	29 (16,02)	13 (7,18)	181
20 — 29	M	6 (5,45)	11 (10,00)	57 (51,82)	28 (25,45)	8 (7,27)	110
	F	14 (11,29)	23 (18,55)	61 (49,19)	22 (17,74)	4 (3,22)	124
	M + F	20 (8,54)	34 (14,53)	118 (50,43)	50 (21,37)	12 (5,13)	234
30 — 39	M	6 (4,72)	27 (21,26)	58 (45,67)	28 (22,05)	8 (6,30)	127
	F	10 (9,26)	26 (24,07)	44 (40,74)	20 (18,52)	8 (7,41)	108
	M + F	16 (6,81)	53 (22,56)	102 (43,40)	48 (20,42)	16 (6,81)	235
40 — 49	M	5 (6,67)	19 (25,33)	28 (37,33)	19 (25,33)	4 (5,35)	75
	F	8 (12,12)	16 (24,24)	20 (30,30)	16 (24,24)	6 (9,09)	66
	M + F	13 (9,22)	35 (24,82)	48 (34,04)	35 (24,82)	10 (7,09)	141
50 e mais	M	13 (16,46)	16 (20,25)	34 (43,04)	13 (16,46)	3 (3,79)	79
	F	8 (15,69)	16 (31,37)	18 (35,29)	6 (11,76)	3 (5,88)	51
	M + F	21 (16,15)	32 (24,62)	52 (40,00)	19 (14,62)	6 (4,62)	130
Total	M	73 (9,09)	185 (23,04)	368 (45,83)	128 (15,94)	49 (6,10)	803
	F	96 (13,39)	170 (23,71)	287 (40,02)	119 (16,59)	45 (6,28)	717
	M + F	169 (11,12)	355 (23,36)	655 (43,09)	247 (16,25)	94 (6,18)	1520

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A simples observação da tabela 1 já permite perceber a existência de uma associação entre a intensidade da reação de Mitsuda nas gerações paterna e filial. Essa relação fica melhor evidenciada se as cinco classes de respostas tardias ao teste lepromínico forem reunidas em dois grupos: Mitsuda positivo e Mitsuda negativo. Tem-se assim, na população, três tipos fundamentais de casais:

Mitsuda negativo X Mitsuda negativo

Mitsuda negativo X Mitsuda positivo

Mitsuda positivo X Mitsuda positivo

A tabela 3 mostra a distribuição da reação de Mitsuda nos filhos desses três tipos de casais, quando se retinem as reações positivas à lepromina numa só classe.

TABELA 3 — DISTRIBUIÇÃO FAMILIAR DA REAÇÃO DE MITSUDA QUANDO SE CONSIDERA REUNIDAS NUMA SO CLASSE AS RESPOSTAS POSITIVAS (+, ++, +++)

Tipo de casamento	N.º de casais	F i l h o s		Total
		Negativos N.º %	Positivos	
Negativo × Negativo	26	63 (69,23)	28	91
Positivo × Negativo	74	129 (45,10)	157	286
Positivo × Positivo	120	106 (27,53)	279	385
<b>Total</b>	<b>220</b>	<b>298 (39,11)</b>	<b>464</b>	<b>762</b>

O teste de independência entre "reação de Mitsuda na geração filial" e "tipo de casais segundo a reação de Mitsuda", aplicado aos dados da tabela 3, mostra, pelo valor de qui-quadrado obtido ( $\chi^2 = 60,68$ ; 2 g. 1.;  $P < 0,001$ ), que a distribuição das respostas tardias ao teste lepromínico na geração filial está fortemente associado às respostas apresentadas pelos pais: a maior proporção de filhos Mitsuda negativos é encontrada nas famílias cujos cônjuges são ambos Mitsuda negativos, e a menor proporção, naquelas em que ambos os cônjuges são Mitsuda positivos.

Fica, pois, demonstrado que o caráter reação de Mitsuda é familiar.

Haverá, porém, algum mecanismo hereditário condicionando a familiaridade desse caráter? Ou é ele essencialmente de natureza ambiental?

### Influência ambiental

Falando a favor da existência de influências ambientais sobre a manifestação da reação de Mitsuda, existem várias provas:

I — Estímulos para-específicos, através do *Mycobacterium tuberculosis*, levam à positividade da reação de Mitsuda:

a) A positividade da reação de Mitsuda é conseguida através da calmetização de indivíduos anteriormente Mitsuda negativos. Esse fato que vinha sendo apontado desde 1939 (Fernandez, 1939; Souza-Campos, 1953) foi recentemente demonstrado de maneira concludente (Souza-Campos et al., 1962).

b) Numa série de trabalhos buscando averiguar uma eventual associação entre as reações de Mantoux e Mitsuda, entre os quais pode-se citar os de Bechelli et al., 1945; Rotberg et al., 1948; Rotberg & Souza-Campos, 1948; Paula-Souza et al., 1953; Souza-Campos et al., 1955; Lowe & Davey, 1956; Bechelli et al., 1957; Paula-Souza & Bechelli, 1960, ficou demonstrada a existência de uma associação entre as reações de Mantoux e Mitsuda, positivas, em indivíduos sadios.

Fato de extrema importância, que chama a atenção, na literatura consultada, é o seguinte: se a tuberculina empregada é razoavelmente diluída, não são encontrados indivíduos sadios que sejam Mantoux positivos e Mitsuda negativos (Rotberg & Souza-Campos, 1948; Bechelli et al., 1957; Paula-Souza & Bechelli, 1960), embora sejam encontrados indivíduos Mitsuda positivos e Mantoux negativos. À medida que as doses de tuberculina são aumentadas, eleva-se a proporção de indivíduos, ao mesmo tempo Mantoux positivos e Mitsuda negativos, fato êsse claramente observado no trabalho de Lowe & Davey (1956).

Por outro lado, mesmo que fôssem ou sejam encontrados casos de indivíduos Mantoux positivos, com tuberculina em baixa concentração, e Mitsuda negativos ao mesmo tempo, existem várias causas de erro para justificar êsse encontro, a saber:

1) Considerar-se um indivíduo Mantoux positivo que deu resposta Mitsuda  $\pm$  como Mitsuda negativo e, no entanto, ele ser Mitsuda positivo. Sabe-se, atualmente, existir grande probabilidade de um exame histológico revelar numa reação  $\pm$ , infiltrado nodular ou com tendência à formação de estruturas nodulares, com bacilos ausentes ou raros (Bechelli et al., 1959).

2) Podem ocorrer respostas Mantoux positivas inespecíficas. Embora a inespecificidade das respostas positivas à tuberculina seja atribuída apenas as doses altas (Lowe & Davey, 1956), é permissível presumir que devam ocorrer variações.

3) Não homogeneidade da lepromina.

4) Inoculação profunda da lepromina.

5) Enganos de anotações de resultados, que podem ocorrer mesmo entre os mais cuidadosos pesquisadores, mormente quando se trabalha com grande número de casos.

Ê, portanto, bastante justificável pensar-se que, em indivíduos sadios, a reação positiva à tuberculina bastante diluída seja sempre acompanhada de reação de Mitsuda positiva.

Nos doentes de lepra lepromatosa e, portanto, seguramente Mitsuda negativos, a proporção de indivíduos Mantoux positivos é alta. Se considerarmos, por outro lado, que entre os tuberculosos, a positividade à lepromina é quase sistemática, sendo bastante significativo que as respostas Mitsuda negativas só ocorram em certas formas de tuberculose cutânea e em formas caquéticas (Souza - Campos et al., 1955), temos que aceitar que o organismo anterior-

mente infectado pelo *M. tuberculosis* desenvolve uma resistência à lepra lepromatosa, não sendo o inverso verdadeiro (vide discussão a respeito da competição entre *M. tuberculosis* e *M. leprae* em Rabello, 1957).

II — Estímulos específicos causados por uma infecção leprosa primária, sem manifestações evidentes da doença levam à positividade da reação de Mitsuda, em grande número de casos. Assim, filhos de doentes de lepra lepromatosa apresentam mais freqüentemente reação de Mitsuda positiva; mesmo quando doentes de lepra apresentam mais freqüentemente a forma tuberculóide (Souza-Campos et al., 1957).

### **Influência hereditária**

Falando a favor da existência de um componente hereditário para a manifestação da reação de Mitsuda existem também vários argumentos:

I — Crianças que não receberam qualquer estímulo específico ou para-específico, conhecido, podem dar respostas positivas ao teste lepromínico (Paula-Souza & Bechelli, 1960). Aqui também podem ser lembrados os casos já referidos de adultos sadios Mantoux negativos e Mitsuda positivos.

O fato de que, com a idade, a proporção de indivíduos Mitsuda positivos aumenta, independentemente de terem ou não recebido estímulos ambientais (Paula-Souza & Bechelli, 1960; Souza-Campos et al., 1962) não vai contra a hipótese da existência de um componente hereditário. Apenas pode indicar que o componente genético tem expressividade variável com a idade. Tal concepção é perfeitamente aceitável quando se recorda que as aglutininas do sistema sanguíneo ABO, as quais têm a sua presença incontestavelmente, geneticamente determinada, só aparecem entre o 3.º e 6.º mês de vida extra-uterina, aumentando daí por diante até a idade adulta (Junqueira, 1958).

II — Os trabalhos sobre incidência de lepra em gêmeos, reunidos por Spickett (1962), mostram, embora o número de pares de gêmeos não seja grande (13 pares), um fato bastante significativo: nos 6 pares de gêmeos monozigóticos, a concordância na forma de lepra (o que significa também na resposta à lepromina) foi total, enquanto que nos 7 pares dizigóticos, 3 mostraram discordância.

III — A diferença racial na prevalência de formas de lepra, em comunidades raciais bastante integradas (Spickett, 1962) indica também a existência de um mecanismo hereditário, condicionando a resposta ao teste lepromínico.

### **Hipótese para explicar a familiaridade da reação de Mitsuda**

Todos esses fatos permitem-nos formular uma hipótese para explicar a familiaridade da reação de Mitsuda, a qual se desenvolve de acordo com os pontos seguintes:

1) Além de um componente hereditário condicionando a reação de Mitsuda, existe forte influência ambiental, através de estímulos específicos e principalmente para-específicos (*M. tuberculosis*).

2) Uma fração da população responde positivamente à lepromina por causa de um componente hereditário, mesmo sem ter sido estimulada específica ou para-especificamente. Essa fração da população seria constituída por indivíduos geneticamente determinados para dar reação positiva à lepromina. Entretanto, como a expressividade desse componente hereditário seria variável de

acôrdo com a idade, estímulos específicos ou para-específicos viriam a promover a sua expressão precocemente, ou então, acentuá-la.

3. Por outro lado, a outra fração da população, mesmo sem o componente hereditário para a reação positiva à lepromina, passaria, dependendo da idade, a dar reação de Mitsuda positiva, caso estimulada para-especificamente. A influência da calmetização na positividade da reação à lepromina, ficou demonstrada de maneira concludente (Souza-Campos et al., 1962); além disso, a eficiência do BCG ministrado por via oral mostrou-se tanto maior quanto menor número de meses tinham as crianças, provavelmente por causa de melhor penetração do BCG pelo intestino. Isso nos leva a pensar que a chamada "margem anérgica" (Rotberg, 1937), isto é, a fração da população que se manteria sempre Mitsuda negativa, por ser desprovida do componente hereditário para a resposta positiva, só existiria enquanto não se exercesse sobre a população medidas profiláticas através da aplicação de BCG nas crianças de tenra idade, principalmente por via oral. Nesse caso, a fração da população geneticamente Mitsuda negativa poderia ser comparada àquela que é geneticamente canhota. Os indivíduos canhotos são considerados como homozigotos para um gene recessivo, cujo alelo dominante causa dextrismo (Strangmann-Koehler & Ludwig, 1954, cf. Stern; Trankell, 1955). Entretanto, dependendo da idade, se for exercida uma pressão social no sentido de que os indivíduos genotipicamente canhotos evitem o uso da mão esquerda, eles adotarão o comportamento dos dextros, embora não tenham como êsses, pelo menos um gene dominante.

### **Hipótese de um par de genes, com dominância**

Admitindo como verdadeira a existência de um componente hereditário para a manifestação do caráter reação de Mitsuda, resolvemos investigar a hipótese de tal caráter ser monogênico. Como a penetrância do genótipo que corresponde ao fenótipo reação de Mitsuda negativa, varia com a idade, uma análise mendeliana comum seria incorreta. Resolvemos, então, aplicar para a análise genética desse caráter, o modelo idealizado por Trankell (1955) para o estudo de caracteres de comportamento.

Sabendo-se que os indivíduos Mitsuda negativos são mais freqüentemente filhos de cônjuges ambos Mitsuda negativos (tabela 1 e 3), pode-se admitir como primeira hipótese a ser explorada, que o fenótipo Mitsuda negativo seja devido a um gene recessivo em homozigose. Consideremos, pois, um par de genes alelos: *B* para a reação de Mitsuda positiva e *b* para a reação de Mitsuda negativa, sendo *B* dominante em relação ao seu alelo *b*.

Chamando à proporção do gene *B*, na população, de *p*, e à do gene *b*, de *q*, onde sempre  $p + q = 1$ , ter-se-á numa população em panmixia, de acôrdo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg, os genótipos *BB*, *Bb* e *bb*, respectivamente nas proporções  $p^2$ ,  $2pq$ ,  $q^2$ , sendo  $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ .

Sendo *B* dominante em relação à *b*, os indivíduos com genótipo *BB* e *Bb* apresentam o mesmo fenótipo (Mitsuda positivo), mesmo sem estímulos específicos. Nem todos os homozigotos recessivos, entretanto, apresentarão fenótipo Mitsuda negativo, pois como vimos anteriormente, já está perfeitamente demonstrado na literatura que estímulos para-específicos são capazes de reverter a resposta ao teste lepromínico. Portanto, uma fração dos indivíduos com genótipo *bb* continuará Mitsuda negativa, enquanto outra passará a manifestar o fenótipo dominante. A êsses indivíduos daremos a notação genotípica *bb<sub>m</sub>*.

Numa população onde as crianças não são calmetizadas, é de se esperar o que realmente ocorre, isto é, menor proporção de indivíduos Mitsuda negativos na geração paterna do que na filial, pois a probabilidade de um indivi-



duo sofrer estímulos específicos e para-específicos para a reversibilidade da reação de Mitsuda, está relacionada à idade.

Chamemos de  $a$  à proporção de indivíduos Mitsuda negativos na geração paterna, e de  $z$ , essa proporção na geração filial. Se tomarmos uma amostra casual de famílias da população, deveremos encontrar na geração paterna as proporções genotípicas e fenotípicas expressas na tabela 4.

TABELA 4 - PROPORÇÕES GENOTÍPICAS E FENOTÍPICAS NA GERAÇÃO PATERNA

Genótipo	Proporção genotípica	Fenótipo	Proporção fenotípica
BB	$p^2$	Mitsuda Positivo	$1 - a$
Bb	$2pq$		
$bb_m$	$q^2 - a$		
bb	$a$	Mitsuda Negativo	$a$

Considerando-se que não existe seleção matrimonial quanto ao tipo de resposta ao teste lepromínico, os casamentos entre indivíduos Mitsuda positivos, Mitsuda negativos e Mitsuda negativos X Mitsuda positivos, deverão ser casuais. As proporções desses casamentos na população, em relação aos genótipos, podem ser calculadas como na tabela 5.

TABELA 5 - CÁLCULO DAS PROPORÇÕES DE CASAMENTOS NA POPULAÇÃO, EM RELAÇÃO AOS GENÓTIPOS CONSIDERADOS

♀ \ ♂	BB ( $p^2$ )	Bb ( $2pq$ )	$bb_m$ ( $q^2 - a$ )	bb ( $a$ )
BB ( $p^2$ )	BB × BB $p^4$	BB × Bb $2p^3q$	BB × $bb_m$ $p^2 (q^2 - a)$	BB × bb $p^2a$
Bb ( $2pq$ )	Bb × BB $2p^3q$	Bb × Bb $4p^2q^2$	Bb × $bb_m$ $2pq (q^2 - a)$	Bb × bb $2pqa$
$bb_m$ ( $q^2 - a$ )	$bb_m$ × BB $p^2 (q^2 - a)$	$bb_m$ × Bb $2pq (q^2 - a)$	$bb_m$ × $bb_m$ $(q^2 - a)^2$	$bb_m$ × bb $a (q^2 - a)$
bb ( $a$ )	bb × BB $p^2a$	bb × Bb $2pqa$	bb × $bb_m$ $a (q^2 - a)$	bb × bb $a^2$

Na tabela 6 tem-se calculada a proporção de filhos com genótipo humo. zigoto recessivo, esperada nos três tipos de casamentos considerados.

TABELA 6 — PROPORÇÕES DE FILHOS HOMOZIGOTOS RECESSIVOS (bb) ESPERADOS NOS TRÊS TIPOS DE CASAMENTO EM RELAÇÃO A REAÇÃO DE MITSUDA

Tipos de casamento	Genótipo dos cônjuges	Proporção dos casamentos	Proporção de genótipos bb entre os filhos
Mitsuda Positivo × Mitsuda Positivo	BB × BB	$p^4$	—
	BB × Bb	$4p^3q^2$	—
	Bb × Bb	$4p^2q^2$	$\frac{p^2q^2}{(1-a)^2}$
	BB × bb <sub>m</sub>	$2p^2 (q^2 - a)$	—
	Bb × bb <sub>m</sub>	$4pq (q^2 - a)$	$\frac{2pq (q^2 - a)}{(1-a)^2}$
	bb <sub>m</sub> × bb <sub>m</sub>	$(q^2 - a)^2$	$\frac{(q^2 - a)^2}{(1-a)^2}$
	Total	$(1-a)^2$	$\frac{(q-a)^2}{(1-a)^2}$
Mitsuda Negativo × Mitsuda Positivo	BB × bb	$2p^2a$	—
	Bb × bb	$4pqa$	$\frac{2pqa}{2a(1-a)}$
	bb <sub>m</sub> × bb	$2a (q^2 - a)$	$\frac{2a (q^2 - a)}{2a (1-a)}$
	Total	$2a (1-a)$	$\frac{q-a}{1-a}$
Mitsuda Negativo × Mitsuda Negativo	bb × bb	$a^2$	$\frac{a^2}{a^2}$
	Total	$a^2$	1

De posse dessas informações fica fácil, agora, formular expressões para o cálculo da frequência  $q$  do gene  $b$ .

Chamemos de  $N$ , o número total de filhos de cônjuges ambos Mitsuda negativos, e de  $X$ , o número de filhos Mitsuda negativos desses casais.

Chamemos de  $N$ , o número total de filhos de cônjuges onde um é Mitsuda negativo e o outro Mitsuda positivo, e de  $X$ , o número de filhos Mitsuda negativos desses casais.

Chamemos de  $N$ , o número total de filhos onde ambos os cônjuges são Mitsuda positivos, e de  $X$ , o número de filhos Mitsuda negativos desses casais.

A proporção  $z$  de filhos Mitsuda negativos na geração filial, representa apenas uma fração da proporção de filhos homozigotos recessivos ( $q^2$ ). Tem-se pois, que em todos os tipos de famílias  $z$  representará a fração de filhos  $q$  homozigotos recessivos que manifesta o fenótipo Mitsuda negativo.

Combinando-se tôdas essas informações, obtém-se para os três tipos de casamentos considerados, as equações da tabela 7, as quais permitem o cálculo de três estimativas para a proporção  $q$  do gene  $b$ .

TABELA 7 — EQUAÇÕES QUE PERMITEM ESTIMAR A PROPORÇÃO DO GENE  $b$  ( $q$ )

Tipo de casamento	Equações para a estimação de $q$
Mitsuda Negativo × Mitsuda Negativo	$\frac{z}{q^2} \cdot N_1 = X_1$
Mitsuda Positivo × Mitsuda Negativo	$\frac{z}{q^2} \cdot \frac{q - a}{1 - a} \cdot N_2 = X_2$
Mitsuda Positivo × Mitsuda Positivo	$\frac{z}{q^2} \cdot \frac{(q - a)^2}{(1 - a)^2} \cdot N_3 = X_3$

Se a hipótese for verdadeira, ou impossível de ser rejeitada, as três determinações de  $q$  deverão ser aproximadamente iguais e o valor teórico mínimo de  $q$  será igual a  $\sqrt{z}$ , não podendo ser aceitos valores menores que  $\sqrt{z}$ .

Aplicando as fórmulas da tabela 7 aos resultados apresentados na tabela 3, temos que as três estimativas de  $q$  dão os seguintes valores

$$0,7516 \quad 0,7528 \quad 0,7138$$

os quais são bastante semelhantes, satisfazendo assim a hipótese proposta, apesar das numerosas causas de erro. Pode-se portanto, admitir a existência de um par principal de genes com dominância completa, determinando a resposta ao teste lepromínico, embora tal existência não fique provada.

Os resultados apresentados na tabela 8 mostram ainda que a melhor estimativa para a proporção  $q$  do gene  $b$ , na população estudada, adotando-se a hipótese proposta, é igual a 0,74, o que permite estimar a proporção teórica do genótipo  $bb$  para a resposta negativa à lepromina, nessa mesma população, em  $q^2 = 54,76\%$ . A proporção calculada para o gene  $b$ , é bastante alta, o que está de acordo com a nossa investigação sobre a frequência de casamentos consanguíneos entre pais de doentes de lepra.

TABELA 8 — COMPARAÇÃO ENTRE AS FREQUÊNCIAS OBSERVADAS E ESPERADAS DE INDIVÍDUOS MITSUDA NEGATIVOS E POSITIVOS NA GERAÇÃO FILIAL, SEGUNDO OS DIFERENTES VALORES ATRIBUÍDOS A  $q$

Hipóteses	Tipos de casamento						$\chi^2$ 1 g. l.
	Negativo × Negativo		Positivo × Negativo		Positivo × Positivo		
	63 neg.	28 pos.	129 neg.	157 pos.	106 neg.	279 pos.	
$q = 0,71$	70,6	20,4	131,7	154,3	105,2	279,8	3,759
$q = 0,72$	68,6	22,4	131,1	154,9	107,2	277,8	1,937
$q = 0,73$	66,8	24,2	130,5	155,5	109,2	275,8	0,975
$q = 0,74$	65,0	26,0	129,8	156,2	111,1	273,9	0,554
$q = 0,75$	63,3	27,7	129,2	156,8	113,0	272,0	0,618
$q = 0,76$	61,6	29,4	128,5	157,5	114,8	270,2	1,064
$q = 0,77$	60,0	31,0	127,8	158,2	116,6	268,4	1,843
$q = 0,78$	58,5	32,5	127,2	158,8	118,4	266,6	2,890

Quando um caráter é devido a genes recessivos raros em homozigose, a probabilidade de encontrá-lo em filhos de consanguíneos é maior do que em filhos de casais não consanguíneos. esse fato é comumente observado em genética médica. Na investigação que efetuamos, de 1068 doentes lepromatosos, apenas 1,4% eram filhos de casais de primos em primeiro grau e 0,85% filhos de outros tipos de casais com menor coeficiente de consanguinidade; de 411 tuberculóides, 1,95% eram filhos de primos em primeiro grau e 1,7% filhos de outros casamentos consanguíneos. Isso mostra, por um lado, não haver diferença significativa entre a taxa de consanguinidade nos pais de lepromatosos e tuberculóides, e, por outro, que a frequência de casamentos consanguíneos entre doentes de lepra é da mesma ordem da que foi calculada por Saldanha (1960) para algumas populações do Estado de São Paulo. Também, a baixa proporção de casamentos consanguíneos entre os pais de doentes de lepra lepromatosa, confirma que no caso da resposta negativa à lepromina não está envolvido um gene raro.

#### **Varição da resposta ao teste lepromínico com o sexo e a idade**

Uma questão bastante importante deve ser levantada aqui: serão as respostas positivas à lepromina, quando induzidas por estímulos ambientais, em indivíduos geneticamente Mitsuda negativos, histologicamente iguais à encontrada em indivíduos geneticamente Mitsuda positivos? Ou, no caso de histologicamente iguais, cessada a ação dos estímulos específicos e para-específicos, serão essas respostas mantidas?

Embora através de resultados indiretos, tudo nos parece indicar que devemos responder negativamente a uma ou outra das perguntas. A isso somos levados pela análise dos resultados da tabela I, nas tabelas 9 e 10 e figuras 2-I e 2-II.

TABELA 9 — TESTES DE INDEPENDÊNCIA ENTRE REAÇÃO MITSUDA E GRUPOS DE IDADE

Classes	Sexo	$\chi^2$	G.L.	P
—, ±, +, ++, +++	M	65,942	24	P < 0,001
	F	44,036	24	0,001 < P < 0,01
	M + F	86,055	24	P < 0,001
— e outros	M	22,714	6	P < 0,001
	F	16,901	6	0,001 < P < 0,01
	M + F	39,081	6	P < 0,001
± e outros	M	16,014	6	0,01 < P < 0,02
	F	4,973	6	0,50 < P < 0,70
	M + F	14,716	6	0,02 < P < 0,05
+ e outros	M	5,311	6	0,50 < P < 0,70
	F	10,602	6	0,10 < P < 0,20
	M + F	13,624	6	0,02 < P < 0,05
++ e outros	M	30,496	6	P < 0,001
	F	12,599	6	0,02 < P < 0,05
	M + F	34,061	6	P < 0,001
+++ e outros	M	4,057	6	0,50 < P < 0,70
	F	5,815	6	0,50 < P < 0,70
	M + F	4,019	6	0,50 < P < 0,70
(—, ±) e outros	M	24,543	6	P < 0,001
	F	13,755	6	0,02 < P < 0,05
	M + F	28,858	6	P < 0,001
(—, ±, +) e outros	M	24,560	6	P < 0,001
	F	8,565	6	0,10 < P < 0,20
	M + F	23,342	6	P < 0,001
(—), (±, +), (++, +++)	M	44,436	12	P < 0,001
	F	25,395	12	0,01 < P < 0,02
	M + F	57,435	12	P < 0,001

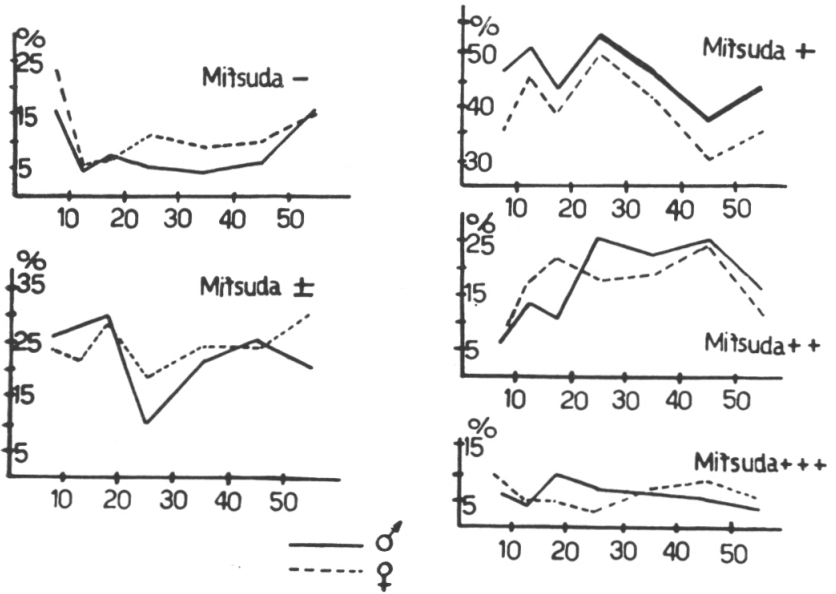
TABELA 10 — TESTE DE INDEPENDÊNCIA ENTR

Grupo de idades	—, ±, +, ++, +++ $\chi^2$ ; G.L. = 4	— e outros $\chi^2$ ; G.L. = 1	± e outros $\chi^2$ ; G.L. = 1	+ e outros $\chi^2$ ; G.L. = 1
4 — 9	6,774 (0,10 < P < 0,20)	3,224 (0,05 < P < 0,10)	0,178 (0,50 < P < 0,70)	4,167 (0,02 < P < 0,05)
10 — 14	4,740 (0,10 < P < 0,20)	2,914 (0,05 < P < 0,10)	1,603 (0,20 < P < 0,30)	0,587 (0,30 < P < 0,50)
15 — 19	5,360 (0,20 < P < 0,30)	0,345 (0,50 < P < 0,70)	0,024 (0,80 < P < 0,90)	0,397 (0,50 < P < 0,70)
20 — 29	8,801 (0,05 < P < 0,10)	2,540 (0,10 < P < 0,20)	3,430 (0,05 < P < 0,10)	0,161 (0,50 < P < 0,70)
30 — 39	3,340 (0,50 < P < 0,70)	1,892 (0,10 < P < 0,20)	0,265 (0,50 < P < 0,70)	0,577 (0,30 < P < 0,50)
40 — 49	2,560 (0,50 < P < 0,70)	1,248 (0,20 < P < 0,30)	0,022 (0,80 < P < 0,90)	0,773 (0,30 < P < 0,50)
50 e mais	2,787 (0,50 < P < 0,70)	0,135 (0,70 < P < 0,80)	2,065 (0,10 < P < 0,20)	0,774 (0,30 < P < 0,50)
Total	9,442 (0,30 < P < 0,50)	7,081 (0,01 < P < 0,01)	0,095 (0,70 < P < 0,80)	5,196 (0,02 < P < 0,05)
Heter.	24,920 G.L. = 24 (0,30 < P < 0,50)	5,217 G.L. = 6 (0,50 < P < 0,70)	7,492 G.L. = 6 (0,20 < P < 0,30)	2,200 G.L. = 6 (0,90 < P < 0,95)

## REAÇÃO DE MITSUDA E SEXO EM CADA GRUPO DE IDADES

++ e outros $\chi^2$ ; G.L. = 1	+++ e outros $\chi^2$ ; G.L. = 1	(-, $\pm$ ) e outros $\chi^2$ ; G.L. = 1	(-, $\pm$ , +) e outros $\chi^2$ ; G.L. = 1	(-), ( $\pm$ , +), (+, +, +++) $\chi^2$ ; G.L. = 2
0,557 (0,30 < P < 0,50)	0,891 (0,30 < P < 0,50)	0,454 (0,50 < P < 0,70)	1,554 (0,20 < P < 0,30)	6,311 (0,02 < P < 0,05)
0,857 (0,30 < P < 0,50)	0,112 (0,70 < P < 0,80)	0,002 (0,95 < P < 0,98)	1,024 (0,30 < P < 0,50)	5,180 (0,05 < P < 0,10)
4,213 (0,02 < P < 0,05)	1,679 (0,10 < P < 0,20)	0,500 (0,30 < P < 0,50)	0,982 (0,30 < P < 0,50)	1,145 (0,50 < P < 0,70)
0,354 (0,50 < P < 0,70)	1,962 (0,10 < P < 0,20)	6,794 (0,01 < P < 0,01)	4,139 (0,02 < P < 0,05)	4,381 (0,10 < P < 0,20)
0,447 (0,50 < P < 0,70)	0,113 (0,70 < P < 0,80)	1,520 (0,20 < P < 0,30)	0,172 (0,50 < P < 0,70)	2,563 (0,20 < P < 0,30)
0,022 (0,80 < P < 0,90)	0,752 (0,30 < P < 0,50)	0,298 (0,50 < P < 0,70)	0,115 (0,70 < P < 0,80)	1,762 (0,30 < P < 0,50)
0,546 (0,30 < P < 0,50)	0,324 (0,50 < P < 0,70)	1,375 (0,20 < P < 0,30)	0,136 (0,70 < P < 0,80)	0,217 (0,80 < P < 0,90)
0,120 (0,70 < P < 0,80)	0,020 (0,80 < P < 0,90)	4,141 (0,02 < P < 0,05)	0,150 (0,50 < P < 0,70)	7,396 (0,02 < P < 0,05)
6,876 G.L. = 6 (0,30 < P < 0,50)	5,813 G.L. = 6 (0,30 < P < 0,50)	6,802 G.L. = 6 (0,30 < P < 0,50)	7,972 G.L. = 6 (0,20 < P < 0,30)	14,163 G.L. = 12 (0,20 < P < 0,30)

**I — Variação de cada tipo de resposta considerado isoladamente.**



**II — Variação de tipos de resposta reunidos.**

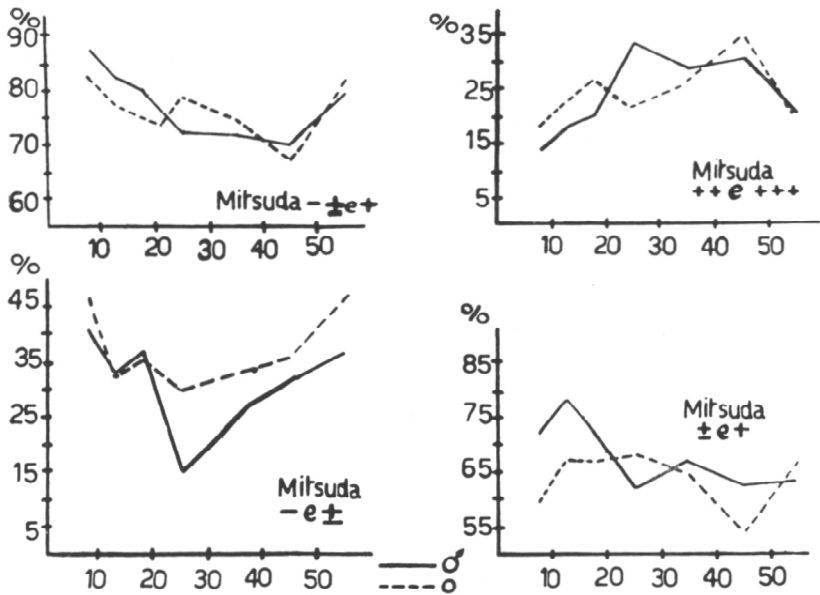


Fig. 2 — Distribuição da reação de Mitsuda segundo a idade e sexo numa amostra de 1510 indivíduos da população rural do Rio das Pedras, São Paulo



Os nossos resultados em Rio das Pedras mostram que existe uma diminuição da negatividade das respostas até as idades de 29-30 anos, quando se acentua essa diminuição, ao passo que nas idades superiores a 50 anos, ocorre uma tendência oposta, isto é, no sentido de aumentar a negatividade. Esse comportamento fica melhor evidenciado quando se reúnem as respostas — e + (fig. 2-II). É interessante assinalar, entretanto, que em ambos os sexos, tanto a resposta + como a +++ não variou com a idade, e que para o sexo feminino não houve variação significativa com a idade, das respostas ± e das respostas ++ e +++ reunidas (tabelas 1 e 9, figs. 2-I e 2-11). Além disso, pela observação da tabela 10, vemos que, embora não se tivesse assinalado diferença sexual ao se considerar as 5 classes convencionais para a classificação da reação de Mitsuda, nem ao se considerar as classes ± e +++ isoladamente, esta diferença apareceu em outras situações. Foi verificada diferença sexual na classe ++ no grupo de idade de 15 a 19 anos e na classe +++ no grupo de 20 a 29 anos, embora a diferença não fosse significativa para o total. A classe Mitsuda — mostrou diferença sexual significativa no total; a classe + no grupo de 4 a 9 anos e no total, e a reunião das classes ± e +, juntadas a fim de dirimir dúvidas sobre eventuais erros de classificação, passíveis apenas de ocorrer entre essas duas classes, confirmou a existência de diferença sexual na reação de Mitsuda.

Além do presente trabalho, do tipo censo intensivo, só temos notícia do exaustivo trabalho de Del Fávero, em Candeias (1948). Apesar dos critérios de leitura da reação de Mitsuda terem sido diversos, os resultados podem ser comparados quando se reúnem tôdas as respostas positivas em cada amostra. Assim, pode-se perceber, facilmente, que os dados obtidos por nós e por Del Fávero são discordantes. Esse autor encontrou que a positividade da reação de Mitsuda aumenta com a idade, de maneira muito semelhante para ambos os sexos, havendo uma leve tendência para um aumento de negatividade nos grupos etários mais velhos.

Só podemos atribuir as diferenças encontradas nos resultados dos dois trabalhos à ação do meio ambiente em que as duas pesquisas foram efetuadas e à possibilidade de que a lepromino-reação positiva em indivíduos geneticamente Mitsuda negativos possa, caso cessem os estímulos para-específicos, readquirir a sua verdadeira expressão genotípica. Assim, a alta proporção de indivíduos Mitsuda negativos encontrada por nós teria a sua explicação na pouca possibilidade de aquisição de resistência à tuberculose na zona rural de Rio das Pedras e à erradicação da lepra naquela região, atualmente. A intensa diminuição de indivíduos Mitsuda negativos no grupo etário de 20-29 anos, principalmente do sexo masculino, poderia ser explicada pela maior possibilidade de contacto desses indivíduos com as populações urbanas e, portanto, com a tuberculose e a lepra. Finalmente, o aumento de Mitsuda negativos após a idade de 50 anos, poderia ser explicado pela perda da resistência adquirida à tuberculose, por falta de contacto com o BK. Isso implicaria na possibilidade de, nesses casos, haver também perda da capacidade de responder à lepromina, fato que merece ser investigado. No que concerne à resistência à tuberculose, sabe-se que, depois de adquirida, poderá desaparecer, caso os estímulos causadores da mesma também desapareçam, embora permaneça no organismo a capacidade de readquiri-la, caso novamente estimulado (reação anamnésica; Rich, 1946). Haverá algum mecanismo semelhante no comportamento frente ao *M. leprae*?

#### AGRADECIMENTOS

O presente trabalho não teria sido realizado se não tivéssemos contado com a colaboração valiosíssima do Sr. Sérgio Pavanelli, dispensarista do Dispensário de Lepra de Piracicaba, que colaborou, de tôdas as maneiras, du-

vante a coleta de dados. A própria escolha da população para a inoculação da lepromina está ligada ao Sr. Sérgio Pavanelli.

Queremos também agradecer ao Dr. Oswaldo Cambiaghi, Médico-Chefe do Dispensário de Lepra de Piracicaba, sua valiosa cooperação, colocando à nossa disposição um funcionário tão eficiente como o Sr. Pavanelli, providenciando uma viatura para as viagens a Rio das Pedras, e fornecendo-nos todas as informações necessárias a respeito da região.

#### RESUMO

No presente trabalho o autor analisou a distribuição da reação de Mitsuda em 220 casais, coletados ao acaso, e seus 762 filhos, todos residentes na zona rural de Rio das Pedras, São Paulo, Brasil, e verificou a existência de familiaridade para a reação à lepromina.

Após discutir as provas que falam a favor da existência de influências ambientais e as que dizem respeito a um componente hereditário para a manifestação da reação de Mitsuda, o autor propõe a hipótese de um componente genético para explicar a familiaridade desse caráter.

Aplicou-se o modelo de Trankell (1955) para a análise dos dados. Verificou-se que a distribuição encontrada é compatível com a hipótese da existência de um par principal de genes com dominância completa controlando as respostas à lepromina, admitindo-se que a resposta negativa ao teste de Mitsuda é causada por um gene recessivo (*b*), mas que uma fração dos indivíduos homocigotos recessivos (*bb*) possa manifestar o fenótipo oposto, sob a ação de fatores ambientais, especialmente o contacto com os bacilos da lepra ou tuberculose.

Reunindo os dados familiares a outros, coletados na mesma população rural, fez-se uma análise da distribuição da reação de Mitsuda, segundo os grupos de idade e sexo. Os resultados obtidos mostram que nas populações rurais a proporção de indivíduos Mitsuda negativos é maior do que nas populações urbanas. Os resultados apresentados indicam ainda a necessidade de novas investigações sobre as reações positivas induzidas à lepromina.

#### SUMMARY

The distribution of Mitsuda's skin reaction of 220 random couples and their 762 children was analysed. All of them are practically unmixed descendants of Northern Italian immigrants living in the rural region of Rio das Pedras, São Paulo, Brazil.

The Mitsuda's reaction of the children were significantly associated with those observed among their parents.

The literature pertinent to environmental and genetical factors believed to influence Mitsuda's reaction was reviewed and a genetical hypothesis was suggested for explaining the observed parent-off-spring association.

As no simple Mendelian hypothesis could account for the findings, a Trankell's model (1955) has been applied to the situation. The results are in agreement with the hypothesis of an autosomal recessive gene (*b*) causing lepromin-negative reaction, provided that a fraction of *bb* individuals might manifest the opposite phenotype under para-specific stimuli (*Mycobacterium tuberculosis*).

Combined familial and non-familial data from the same rural region, classified by age and sex were analysed for lepromin-reaction. The results show

that the frequency of Mitsuda-negative subjects is higher in rural populations than in urban ones. There is also a sex difference. More data on induced lepromin-positive reaction will be of great interest.

\* \* \*

O presente trabalho foi realizado com auxílio da Fundação Rockefeller e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

#### REFERÊNCIAS

1. BECHELLI, L. M.; KEIL, H. & ROTBERG, A. - Resultados da leprominoreação em países não endêmicos de lepra. Rev. Brasil. Leprol., **13**:21-24, 1945.
2. BECHELLI, L. M.; QUAGLIATO, R. & NASSIF, S. J. - Lepromino-reação em holandeses radicados há 2-3 anos no Brasil e sem contacto conhecido com doentes de lepra. Rev. Brasil. Leprol., **25**:107-125, 1957.
3. 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. Brasil. Leprol., **27**:172-182, 1959.
4. BECHELLI, L. M. & ROTBERG, A. - Compêndio de Leprologia. S. N. L., Rio de Janeiro, 1956.
5. DEL-FAVERO, W. - O censo intensivo de Candelas. Arq. Serv. Nac. Lepra, **6**:87-235, 1948.
6. FERNANDEZ, J. M. M. - Estudio comparativo de la reacción de Mitsuda con las reacciones tuberculínicas. Rev. Arg. Dermosifil., **23**:425-453, 1939.
7. JUNQUEIRA, P. C. - Incompatibilidade sangüíneo materno-fetal. Resenhas Pediátricas (Hospital São Zacharias), Rio de Janeiro, **6**:7-141, 1958.
8. LOWE, J. & DAVEY, T. F. - Tuberculin and lepromin reaction in Nigeria. An analysis of the data of Lowe and McNulty. Internat. J. Leprosy, **24**:419-423, 1956.
9. PAULA-SOUZA, R. & BECHELLI, L. M. - Correlação entre as reações leprominica e tuberculínica em crianças de 0 a 4 anos. Rev. Brasil. Leprol., **28**:203210, 1960.
10. PAULA-SOUZA, R.; FERRAZ, N. T. & BECHELLI, L. M. - Influência do BCG vivo e morto sobre a reação de Mitsuda. Rev. Brasil. Leprol., **21**:43-50, 1953.
11. RABELLO, F. E. - Primeiros elementos, critérios de apreciação e um plano de estudo das correlações entre lepra e tuberculose. Rev. Brasil. Leprol., **25**:231-244, 1957.
12. RICH, A. R. - Patogenia de la tuberculosis. 1.4 Ed. Castelhana por Oscar Croxatto, Editorial Alfa, Buenos Aires, 1946.
13. ROSEMBERG, J.; SOUZA-CAMPOS, N. & AUN, J. N. - Da relação imunobiológica entre tuberculose e lepra. Rev. Brasil. Leprol., **10**:8-18, 1951.
14. ROTBERG, A. - Some aspects of immunity in leprosy and their importance in epidemiology, pathogenesis and classification of forms of the disease. Based in 1529 lepromin-tested cases. Rev. Brasil. Leprol., **5**:45-97, 1937.
15. ROTBERG, A.; BECHELLI, L. M. & KEIL, H. - Reação de Mitsuda em área não leprogênica. V Cong. Intern. Lepra, Habana, 1948. Habana, Memo-ria, 1949, p. 586-594.
16. ROTBERG, A. & SOUZA-CAMPOS, N. - Lepromino-reações em indivíduos são em São Paulo, não comunicantes. Rev. Brasil. Leprol., **16**:267-275, 1948.
17. SALDANHA, P. H. - Frequencies of consanguineous marriages in Northeast of São Paulo, Brazil. Acta Genet. (Basel), **10**:71-88, 1960.
18. SOUZA-CAMPOS, N. - O B. C. G. na profilaxia da lepra. Rev. Brasil. Leprol., **21**:292-314, 1953.

19. SOUZA-CAMPOS, N.; LESER, W.; BECHELLI, L. M.; QUAGLIATO, R. & ROTBERG, A. — Viragem da lepromino-reação em função de diferentes estímulos. Influência da idade, nessa viragem, no grupo etário de 6 a 43 meses. *Rev. Brasil. Leprol.*, **29**:3-20, 1962.
20. SOUZA-CAMPOS, N.; ROSEMBERG, J. & AUN, J. N. — Correlação tuberculina-lepromina. *Rev. Brasil. Leprol.*, **23**:23-40, 1955.
21. SOUZA-CAMPOS, N.; ROSEMBERG, J. & AUN, J. N. — Significance of the relationship between the lepromin and tuberculin reactions in leprosy contacts. *Internat. J. Leprosy*, **25**:38-48, 1957.
22. SPICKETT, S. G. — Genetics and the epidemiology of leprosy. II — The form of leprosy. *Leprosy Review*, **33**:173-181, 1962.
23. STERN, C. — Principles of Human Genetics. 3.<sup>a</sup> ed., W .11. Freeman, São Francisco (U. S. A.), 1960.
24. STRANGMANN-KOEHLER, J. & LUDWIG, W. — Untersuchungen fiber die Komponenten der Seitigkeit des Menschen, insbesondere die Venigkeit. *Zeitschr. Mensch. Verb. u. Konstitutionslehre*, **32**:219-258, 1954 apud STERN, C.
25. TRANKELL, A. — Aspects of Genetics in Psychology. *Amer. J. Hum. Genet.*, **7**:264-276, 1955.