

TRABALHO DO CENTRO INTERNACIONAL DE LEPROLOGIA

Diretor: Prof. E. Rabello

ASPETOS DA BIOQUIMICA DA LEPRA

Por GILBERTO G. VILLELA.

(Chefe de laboratório do Instituto Oswaldo Cruz e Perito do Centro
Internacional de Leprologia).

A lepra apresenta para as investigações de bioquímica, um campo ainda relativamente pouco explorado. Apesar desta doença constituir um flagelo que desde há muito vem preocupando os patologistas, o estudo das modificações químicas que se operam no metabolismo tem sido de pequena amplitude. O mesmo se verifica no que diz respeito às transformações por que passam no organismo os medicamentos empregados ao combate à lepra. A própria química do bacilo é em parte calcada nas verificações feitas para o bacilo da tuberculose. O papel da nutrição, de enorme importância para a evolução e tratamento da maioria das infecções, no que se refere à lepra, sómente tem sido objeto de cogitações nos últimos anos.

Para melhor compreensão da evolução e do prognóstico dos diversos tipos de lepra, torna-se vantajoso associar ao exame clínico as pesquisas de ordem química, como atualmente se vem fazendo com proveito em outras doenças infecciosas. A própria separação dos tipos clínicos talvez se possa fazer com mais segurança se introduzirmos dados positivos colhidos da bioquímica. O tratamento e os benefícios que se possa trazer ao doente certamente se refletem na composição química dos humores. Da mesma forma

a evolução clinica determina modificações no sangue que pódem ser de utilidade para o diagnostico e prognostico da doença.

O estudo da reação leprosa tem mostrado que se operam certas modificações no quimismo do meio interno e que o tratamento causal impedindo essas perturbações permite, em muitos casos, beneficiar o doente, evitando ou atenuando as crises febris.

Um estudo de conjunto sobre a quimica aplicada á lepra ainda não tendo sido feito, as publicações acham-se portanto esparsas, o que dificulta uma visão geral sobre a questão. A unica "mise-aupoint" da questão foi por nós recentemente publicada no Int. Jour. of Leprosy. O presente trabalho constitue uma revisão aumentada do assunto.

Para facilitar, o assunto será dividido em tres partes. A primeira versará sobre a quimica do bacilo de Hansen; a segunda sobre as variações quimicas do sangue e dos humores; a terceira sobre o metabolismo e as relações entre a nutrição e a lepra.

QUIMICA DO BACILO DA LEPPRA

A dificuldade em se obter culturas puras do bacilo de Hansen (**M. LEPPRAE**) fez com que os primeiros resultados sobre a quimica deste microorganismo só fossem obtidos graças á histo-quimica dos tecidos ricos em bacilos. A aplicação das tecnicas microquimicas iniciadas por **UNNA** forneceu alguns resultados interessantes mas que trouxeram sómente informações qualitativas (**HERXHEIMER, PALDROCK, MITSUDA**).

PALDROCK (71) em tecidos ricos em bacilos, mostrou que os granulos do bacilo da lepra contem lipoides e lipoproteides, os quaes se córam pelos corantes da serie da fuchsina, depois de acidificados com acido nitrico a 10% durante 12 horas. Os lipoides existem tanto nos granulos como no corpo bacilar (72). A fração lipoproteica foi cognominada por **PALDROCK** de "plasteoproteide" e se dissocia pelo alcool cloridrico a quente, dando como substrato, uma albumina basica (69,70). A albumina acha-se ainda sob a fôrma de nucleo-proteide e de carioproteide (71). Os granulos do bacilo da lepra, assim como os do bacilo da tuberculose, contem acidos nucleicos (acido carionico) e se comportam como Gram-positivos, sendo que os acidos graxos são Gram-negativos. Para **PALDROCK** o bacilo de Hansen é, portanto, constituído de acido nucleico livre e combinado, lipoides livres e proteínas basicas. Os ensaios feitos com bacilos provenientes de culturas (amostras isoladas por **KEDROWSKI** e **SCHLOSSBERGER**, de **Francfort** e de **C. MARTIN** de Londres) indicaram a **PALDROCK** reações microquimicas semelhan-

tes ás obtidas anteriormente para os bacilos provenientes de tecidos lepromatosos, pelo que este autor concluiu serem realmente de germens causadores da lepra (71).

MITSUDA utilizando o polarimetro e a coloração pelo **Sudan III**, achou substancias lipoides nos bacilos, porém diversas do colesterol. Os tecidos lepromatosos, segundo **CEDERCREUTZ**, contem corpusculos birefringentes e portanto esterres de colesterol. **HERXHEIMER** não confirmou este fato. Conjuntamente com **HILDEBRANDO PORTUGAL** também não nos foi possivel encontrar esterres de colesterol nos córtes em congelação de tecidos leprosos examinados com luz polarizada (107).

Os primeiros ensaios, partindo de bacilos em cultura (amostra isolada por **DUVAL**) e utilizando tecnicas quimicas, foram iniciadas por **GURD** e **DENIS**, em 1911 (37). Estes autores extrairam uma substancia graxa, de aspéto de cêra contendo fosforo e considerada então como uma lecitina. O pigmento foi identificado a um lipocromo e as gorduras sendo hidrolisadas forneceram acidos graxos não saturados. A saponificação separou substancias insaponificaveis dando a reação do colesterol. Mais tarde, **LONG** e **CAMPBELL** extrairam lipides totaes do bacilo da lepra que deram 27,2% de materias não saponificaveis (55).

UYEI e **ANDERSON** estudaram extensivamente a quimica do bacilo da lepra adotando as mesmas tecnicas por êles anteriormente empregadas para o conhecimento da composição do bacilo de **Koch (100)**.

Estes autores mostraram que a fração lipoidica do bacilo da tuberculose encerra cêra que é dificilmente saponificavel. A substancia cêrea sendo saponificada fornece acidos graxos diversos e alcooes elevados. **TAMURA** estudou os alcooes provenientes da cêra e conseguiu caracterizar dentre êles um alcool de peso molecular elevado (**C29H56O**) que denominou de "mykol" e que goza de propriedades acido-resistentes. A acido-resistencia do bacilo deve correr por conta da presença deste alcool. O "mykol" não dá as reações do colesterol, bem que possúa estrutura muito proxima (**WELLES, DEWITT** e **LONG**). A cêra foi purificada por **ANDERSON** e não tem propriedades acido-resistentes, no emtanto a fração insaponificavel possui essas mesmas propriedades em alto gráo devido ao "mykol". Os acidos graxos pertencem a varios tipos (cerotico, palmitico, estearico, oleico). Os acidos graxos saturados liquidos constituem 45% dos acidos totaes e representam a parte biologicamente ativa das gorduras. Os acidos obtidos da fração acetona-solúvel pela hidrolise dos fosfatides foram o acido phtioico e tuberculoestearico (**ANDERSON** e **CHARGAFF**) (4). O acido phtioico

produz, quando injetado no peritoneo do cobaio, intensa monocitose, células gigantes e epitelioides e as injeções repetidas dão lugar á formação de tecido tuberculoso massiço (**SABIN e DOAN**) (90),

A análise do bacilo da lepra foi do mesmo modo empreendida por **UYEI e ANDERSON** que trabalharam com material proveniente de 3.000 tubos de cultura de "Mycobacterium leprae" isolado de um caso humano e conhecido como amostra 370 do Hygienic Laboratory de Washington (Apa case). Abaixo damos um quadro ex traído do trabalho destes autores, em que se vê a composição do bacilo da lepra em confronto com a do bacilo da tuberculose (100).

	M. leprae		M. tuberculosis	
	grs.	%	grs.	%
Fosfatides	100.5	2.25	253.1	6.54
Gorduras soluveis na acetona	289.5	6.47	240.0	6.20
Cêra sol. no cloroformio	444.8	9.98	427.0	11.03
Lipoides totaes	834.6	18.70	920.1	23.78
Polisaccarideos	41.2	0.92	33.9	0.87
Residuo bacteriano seco	3389.8	80.38	2902.0	75.01
Idem por cultura	1.488	—	1.928	—

Conforme mostra o quadro acima, o bacilo da lepra apresenta uma composição bem proxima da do bacilo da tuberculose.

A fração fosfatide sendo purificada fornece uma cêra neutra que **Anderson** e seus colaboradores denominaram de leprosina (5). A saponificação da leprosina liberta numerosos ácidos graxos, glicerol e álcooes secundarios. Dentre os ácidos graxos foi isolado um novo ácido — o ácido leprosinico. A leprosina assim como o "mykol" do bacilo de **Koch** é ácido resistente (**SABIN**). **ANDERSON** verificou que a leprosina não dá nenhuma das reações peculiares ao colesterol mas que deve possuir constituição bastante proxima.

Não se pôde afirmar que a composição dos bacilos estudados por **ANDERSON** e seus colaboradores correspondam a do verdadeiro bacilo da lepra, porquanto as amostras com que eles trabalharam não podem ser consideradas como identicas ás do bacilo das lesões. As amostras cultivadas são presumivelmente bacilos ácidos resistentes saprofitas, mas cuja composição quimica provavelmente deve ser muito proxima da do bacilo de **HANSEN**.

Mais recentemente (6) **ANDERSON, REEVES e CROWDER** estudaram a composição da fração lipidica soluvel na acetona do bacilo de **HANSEN** e chegaram a isolar ácidos graxos saturados dextrorrotatorios e diferentes daqueles obtidos da cêra do bacilo de **Koch** (ácido behenico e tetracosanoico; serie C16, C19, e C22).

As propriedades antigenicas dos bacilos parecem derivar principalmente dos acidos graxos elevados e possivelmente da fração solúvel na agua depois de hidrolisada (polisacarides: trehalose).

BIOQUIMICA DO SANGUE E DOS HUMORES

A composição do sangue na lepra sómente nestes ultimos anos é que tem sido objeto de investigações sistematizadas. Alguns resultados interessantes já puderam ser divulgados. Assim as dosagens feitas antes e durante a febre leprosa indicaram diferenças que permitem algumas aplicações praticas. Passemos em revista os trabalhos que se tem publicado sobre os diversos componentes do sangue.

a) Calcio e fosforo inorganico.

As primeiras pesquisas relativas ao metabolismo do calcio na lepra foram publicados por **UNDERHILL**, **HONEIJ** e **BOGERT** que observaram retenção do calcio tanto maior quanto mais adiantada é a doença (98). **BOULAY** e **LEGER** procuraram saber se a retenção se faz continuamente ou por meio de perdas intermitentes de calcio. Em dois doentes com retenção verificada, alimentados com uma dieta contendo de 1,50 a 1,60 de CaO, a eliminação diaria de calcio foi em média de 0,597 gr. para um e 0,735 gr. para o outro. Em outros dois casos com hiperexcreção de Ca, estes autores notaram que o fosforo se elimina tambem em excesso e que se faz por descargas bruscas seguidas de periodos de retenção. Segundo **BOULAY** e **LEGER**, a retenção de calcio é inicial, sendo que a hiperexcreção se acentúa nos casos adiantados (17 e 18). Devemos notar que as observações destes autores foram feitas em numero pequeno de casos para que se possam tirar conclusões definitivas (5 casos de leprosos de raça negra e de tipo tuberoso) (19).

Os beneficios da medicação calcica e a presença de lesões osseas frequentemente observados no decurso da lepra, levaram os pesquisadores a procurar a taxa de calcio no sôro nas diversas formas clinicas da molestia.

O calcio existe normalmente no sôro sob duas formas diferentes, uma difusivel e outra não difusivel. A fração difusivel passa através das membranas de colodio (ultrafiltros) e representa 45 a 60% do calcio total do sôro (**RONA** e **TAKAHASHI**, **NEUHAUSEN** e **PINCUS**, v. **MEYSENBURG**, **LIU**). O calcio difusivel está em parte ionizado e em parte não ionizado. A fração não difusivel não se acha ionizada e por isso deve corresponder á parte unida ás proteínas (calcio combinado).

O soro normal encerra em média 10,5 mgr. de Calcio total (23).

CONCEPCION e **SALCEDO**, em 1926, e **LEMANN**, **LILES** e **JOHANSEN**, **CRUZ** e **LARA** e **VILLELA**, em 1927, estudaram sucessivamente as variações da calcemia na lepra. **LEMANN**, **LILES** e **JOHANSEN** não lograram encontrar hipocalcemia como também não verificaram relação entre a resorção ossea e o teor de calcio do soro (54). A ingestão de oleo de chaulmoogra não tem ação sobre a calcemia dos leprosos. **CONCEPCION** e **SALCEDO**, bem que tenham trabalhado com a tecnica de **HALVERSON** e **BERGEIM** para o sangue total, opinam pela existencia de taxas diminuidas de calcio (27). Sabendo-se hoje que os globulos não encerram calcio, a tecnica por eles adotada, para ser comparavel ás dosagens no soro, necessita de ser ajustada com a determinação do volume globular.

CRUZ, **LARA** e **PARAS**, em 70 casos, pertencendo a varios tipos da doença, observaram variações normaes na calcemia, nos casos apresentando febre leprosa ou lesões renaes ou tuberculosas. Durante a reação leprosa os valores obtidos por estes autores foram diminuidos variando de 6,18 a 10,45 mgr. para 100 c.c. naqueles portadores de lesões renaes e 7,53 a 9,79 mgr. naqueles com tuberculose. (29). A baixa é portanto bastante nitida nos doentes com reação leprosa. **VILLELA**, em 1928, estudando 113 doentes pertencendo aos diversos tipos de lepra encontrou hipocalcemia em 51 dos casos (valores abaixo dos limites normaes). A média obtida para o total dos casos foi de 8,82 (101). Transcrevemos em seguida as médias descriminadas para cada tipo:

(segundo VILLELA) (101)	Caldo para 100cc. de soro
Maculosa	9,26 mgr.
Tuberosa	9,34
Nervosa	8,06
Mixta	8,42
Total	8,82

Variações normaes: 8,9 a 12,9

BADENOCH e **BYRON** notaram diminuição sensivel de calcemia sobretudo durante a febre leprosa (33 casos) e **HERRERA** baixa sómente na febre leprosa (39).

WOOLEY e **Ross**, em 1931, estudando as frações do calcio na lepra, mostraram que a fração difusivel diminue e a fração não difusivel se mantem dentro dos limites normaes (110). A média encontrada para o calcio difusivel em 21 casos apresentando atrofiás osseas acentuadas foi de 4,5 mgr. em logar de 5,8 que é a média normal.

Em publicação mais recente (111) estes autores referem que a calcio não difusível está em geral aumentado quando a fração difusível diminue, e que volta ao normal quando o doente acusa melhoras. Deve-se mencionar que nos doentes com hiperglobulinemia a fração não difusível apresenta valores altos. Os dados publicados por **WOOLEY** e **Ross** acham-se abaixo tabulados:

	Ca em mgrs. para 100cc. de sôro		
	Total	Difusível	Não-difusível
Doentes estacionados	9,4 a 11,5	4,0 a 5,6	4,4 a 7,5
Doentes com melhoras	8,7 a 11,0	4,1 a 6,3	3,8 a 6,5
Doentes retrogredindo	9,3 a 12,1	4,2 a 6,2	4,3 a 9,9
Media normal	10,4	5,4	5,0

Conforme indicam os dados acima, as variações são de pequena amplitude e não podem constituir um sintoma específico da molestia.

O fosforo inorganico não sofre oscilações extensas na lepra, sendo que as percentagens mais elevadas se encontram em doentes com complicações renaes que dependem por conseguinte do grão de insuficiencia renal. Os valores obtidos por **WOOLEY** e **Ross** variam de 1,7 a 4,5 mgr. perfeitamente comparaveis á media normal (3,7 mgr. para 100cc.).

Um assunto ainda não estudado e que, pensamos, poderá trazer resultados bastante interessantes é o da determinação da fosfatase do plasma. Desde que são frequentes os disturbios osseos na lepra, o poder do plasma de hidrolisar os esterres fosforicos possivelmente poderá sofrer alterações que venham trazer resultados promissores.

b) Reserva alcalina.

Os resultados favoraveis obtidos por **C. NICOLAS** durante a febre leprosa com o emprego de uma terapeutica alcalina sugeriram naturalmente o estudo da reserva alcalina durante e depois da reacção.

PÁRAS procurou em 100 doentes, distribuidos por varios grupos (lepra não complicada, reacção leprosa, lepra com tuberculose, lepra com nefrite, lepra com complicações diversas) quaes os valores existentes para a reserva alcalina. Na lepra sem complicações, a reserva alcalina é normal, bem como na lepra associada á tuberculose. Valores abaixo do normal, indicando acidose franca, foram encontradas na lepra complicada de nefrite. Numeros pouco abaixo do normal obteve **PÁRAS** na febre leprosa sem tratamento alcalino (acidose frustra).

VALORES PARA A RESERVA ALCALINA (SEGUNDO PÁRAS) (74)
EM VOLUMES POR CENTO DE CO₂

	Variações	Medias
Lepra sem complicações	60 a 83	67.9
Lepra com tuberculose	68 a 78	72.0
Lepra com nefrite	26 a 78	61.0
Reação leprosa	52 a 78	66.5
Lepra com complicações diversas	50 a 84	59.6
Variações normaes	60 a 78	70

Resultados concordantes referem **ROXAS-PINEDA, NICOLAS** e **LARA** que estudaram 44 casos de reação leprosa e 18 de lepra não complicada. Na reação leprosa a media foi de 59 (48,6 a 69,9). Contudo, clinicamente os doentes não apresentaram sintomas de acidose. Os autores acima atribuem a baixa da reserva alcalina nessa fase à excessiva decomposição dos protides tissulares que tem lugar durante a febre. O tratamento pelo bicarbonato de sodio, que faz aumentar a reserva alcalina, é sempre benefico ao doente e o cloreto de amoneo, que é acidozante, mostra-se prejudicial (89). Havendo tambem quêda do calcio do sôro na reação leprosa, estes autores propõem a associação do bicarbonato ao clorêto de calcio, sobretudo nos casos rebeldes. **BEJARANO** e **MEDINA** tambem observaram tendencia para acidose em 6 casos por eles estudados (14). **HERRERA** encontrou valores medios levemente diminuidos principalmente nos doentes com lepra nervosa ou apresentando complicações nervosas. Assinala **HERRERA** (39) que a dieta com proteínas aumenta a acidose e desfavorece o estado geral.

c) Protides.

JOLTRAIN, STEVENSON, FRAZIER e **WU, NEILL** e **DEWAR**, mostraram que o sôro dos leprosos apresenta sensivel aumento dos protides totaes, o qual se deve à elevação da fração globulina. **FRAZIER** e **WU** referem as seguintes medias, que passamos a transcrever (34):

	Em grs. para 100cc. de sôro		
	Protides totaes	Albuminas	Globulinas
Forma nodular	3,72	4,08	4,68
Forma mixta	3,67	4,15	4,52
Forma maculo-anestésica	3,66	5,01	3,65
Valores normaes	3,94	4,35	2,09

A hiperglobulinemia indicada pelo quadro acima, é muito acentuada, só sendo ultrapassada no sôro de kala-azar e de shistosomose, onde pôde atingir 8,54 gr. de globulinas para 100cc. (**SIA** e **WU**, **MELENEY** e **WU**).

Os tests empregados para o diagnostico de kala-azar (formolgelificação, test de **RAY**, test de **SIA**) tambem dão reações positivas para a lepra, em virtude do aumento da fração globulina do sôro.

SCHLOSSMANN, que estudou as proteínas do sôro na lepra, obteve percentagens bastante elevadas para as globulinas (media de 4,53%). Julga este autor que a hiperglobulinemia deve correr por conta de varios fatores, como sejam: destruição de hematias, ação da febre, ações locais (resorção de produtos bacterianos), auto-imunização, alergia, má nutrição geral (91). Igualmente chama a atenção o fato de que as globulinas do sôro estão de algum modo relacionadas com as perturbações do sistema reticulo-endotelial, que na lepra se acha alterado. De fato, varios autores (**HERXHEIMER**, **PESCHKOWSKY**) teem insistindo na semelhança do quadro hematico e tissular apresentado pela lepra com o das reticulo-endotelioses (77) e (44).

WOOLEY e **Ross**, assinalaram que os protides do sôro na lepra oferecem variações que merecem ser tomadas em consideração (111). Assim a globulinemia diminue quando as melhoras do doente se acentuam, permitindo nesse caso fazer um prognostico favoravel. Ha tambem que considerar as alterações da calcemia, já referidas, e que oscilam na razão inversa da protidemia. **RAO** observou hiperglobulinemia sobretudo nas formas cutaneas da doença.

Comtudo, parece que o aumento das globulinas se faz em todos os tipos da lepra. Só estudos mais detalhados levando em consideração a evolução clinica dos casos é que poderão resolver com mais segurança esta questão. **RAO** informa que a injeção de oleo de hydnocarpus determina a queda das globulinas, apezar de se seguir de uma pequena fase de ascensão (84). Este autor tambem notou que o indice de sedimentação varia inversamente com a fração globulina do sôro.

A velocidade de sedimentação das hematias é um test de grande utilidade para acompanhar a evolução de um processo morbido infeccioso e está de certo modo relacionada com a composição do plasma em protides. Sabe-se mesmo que a velocidade de sedimentação obedece em grande parte ao quociente $\frac{\text{globulina}}{\text{albumina}}$ e ao fibrinogenio

albumina

do plasma. E' tão estreita a relação entre as frações dos protides e a sedimentação das hematias que alguns autores (**THEORELL**, **WESTERGREN**, **WIDSTROM**) propuzeram formulas em que dada a composição do plasma em fibrinogenio, albuminas e globulinas, é

possível calcular a velocidade de sedimentação de um sangue, conhecendo-se o volume de globulos (86).

As doenças em que existe hiperglobulinemia, como o kalaazar, a shistosomose, a doença de Nicolas-Favre, ou aquelas em que sómente a relação é invertida com aumento relativo das globulinas, como na tuberculose e em certas ginecopatias, verifica-se sensível aumento da velocidade de sedimentação. Na lepra ha, em geral, aceleração da sedimentação nas formas evolutivas e na febre leprosa devido em grande parte á hiperglobulinemia. **PÁRAS, LAGROSA e IGNACIO** mostraram que na lepra não existe correlação entre a velocidade de sedimentação e o teor em lipides do plasma (76).

As propriedades físicas do sôro de leprosos (viscosidade, peso específico, indice refractometrico) teem sido investigadas, porém até agora os resultados ainda são pouco numerosos e em geral discordantes (**KUSAKA**) (46). O aumento do indice refractometrico encontrado em alguns casos (**MEINERI**) (59) deve ser atribuido, a nosso vêr, ao aumento dos protides do sôro (fração globulina) tendo por conseguinte a mesma significação do que as variações destes.

A amino-acidemia foi estudada em pequeno numero de casos por **MOLINELLI e RÉ** que obtiveram elevação, excetuando-se a febre leprosa onde os valores são baixos (60). Essas variações não devem estar ligadas á doença em si, porem a disturbios hepaticos que podem aparecer no decorrer da molestia.

LEFROU e BONNET observaram que nos doentes não sifiliticos, com hiperglobulinemia, inversão do quociente albumina globulina do sôro e apresentando indice de Vernes normal, o diagnostico de lepra é muito provavel (52). Quando o indice de Vernes é anormal e os outros sintomas são presentes, o diagnostico é menos seguro. Não havendo inversão do quociente A/G e a globulinemia sendo normal, mesmo que o indice de Vernes não ofereça anormalidade, não deve haver probabilidade de lepra. O indice de Vernes nesse caso não está em relação com a hiperglobulinemia, contrariamente ao que acontece na leishmaniose, na malaria e na tuberculose, como procuram demonstrar **CHORINE e PRUDHOMME** (26). As reações imunologicas observadas na lepra necessitam de ser investigadas pelo seu lado quimico; já se começa a prever relações estreitas entre a composição do sôro em protides e a sensibilidade das reações sorologicas (**SCHREUS**) (93).

d) Lipases.

A existencia de um fermento lipolitico capaz de destruir a parte externa do bacilo da lepra ainda não foi experimentalmente de-

monstrada. Entretanto, numerosos autores teem procurado evidenciar que na lepra em atividade existe baixa sensível do poder lipolítico do sôro (**ROGERS**).

Desde que se determinou quimicamente que os lipídes envolvem o *M. leprae*, é provável que o organismo infetado fabrique enzimas específicas destinadas a lizar a capa gordurosa. **ROGERS** e **POMARET** pensam que o aumento da lipase do sôro representa um bom índice de defesa do organismo e que os corpos bacilares sem a camada lipídica são facilmente fagocitados.

Recentemente **SHEN**, trabalhando com germens do mesmo grupo do bacilo de **HANSEN**, conseguiu demonstrar que a capsula gordurosa os defende contra os agentes químicos, pois os bacilos cultivados em meios que não proporcionam a formação de lipídes são facilmente destruídos (94).

Na tuberculose, **SPARMANN** verificou que ha diminuição da lipase serica. Na sífilis tambem existe quêda do fermento lipolítico, que volta ao normal quando se institue o tratamento específico (**SOMOGYI MIETLING, SHAPIRO, BACHKVITCH**). Outros, porem, contestam este fato (**DURDELLO, GRZYBOWSKI**).

O resultados no que respeita a lipase do sôro, teem sido na lepra incertos e contraditórios. **AOKI**, trabalhando com tributirina, não logrou encontrar nenhuma enzima correspondente no sôro dos leprosos e sómente uma lipase específica para o oleo de ginocardio (7).

PRICHODCENKO e **KRUGLIJAK** pesquisaram a lipase nos sôros ativados e inativos pelo calor. A lipase termostavel aumenta quando a infeção é ativa e o numero de bacilos é grande. A queda da lipase dá-se logo que as melhoras se acentuam. O teôr em lipase é para estes autores, proporcional ao numero de bacilos e á linfocitose. A pesquisa da lipase quinino-resistente foi negativa, indicando só existir lipase pancreatica e não hepatica. O tratamento tem ação sobre a lipase termostavel (81). Devemos aqui mencionar que a tecnica empregada por estes autores foi a de **HANRIOT**, hoje abandonada, por induzir a varias causas de erro (instabilidade da monobutirina, pH não considerado).

NEILL e **DEWAR**, notaram que ha diminuição da lipase nas formas com reação leprosa, ao passo que valores normaes nas demais formas da doença (63). O tratamento pelo chaulmoogra não tem influencia sobre a lipase do sôro, fato esse que infirma a hipotese de **ROGERS**.

Atividade lipolítica normal foi encontrada por **LEIGHEB** em 10 casos de lepra (1 de lepra nervosa, 2 de lepra nodular e 7 de lepra mixta (53).

ZASLAVSKY, em 28 casos, também refere valores normaes. Em casos antigos, **HENDERSON** verificou baixa da lipase. Assim também são os resultados de **SANNICANDRO**, **SHAW** e **MACKENZIE**, **POOMAN**, **PALDROCK**. Em desacordo são os dados de **GOLLEZKERI** e **CHARPURE** que mostram 4 a 6 vezes a media normal.

Segundo **PALDROCK**, as substancias ativas e eficazes para o tratamento da lepra são as que determinam maior aumento da lipase do sangue (72). Baseado nessa hipotese é que esse autor propoz ser feita a dosagem da lipase sistematicamente no Leprosario de Muuli, em Tartur (Finlandia) sob sua direção, para o controle da atividade dos medicamentos ensaiados.

O tratamento pela neve carbonica determina sensível aumento da lipase (**PALDROCK**). **POOMAN**, sob a orientação de **PALDROCK**, ensaiou o poder lipolitico do soro para com o oleo de ricino, a lecitina e a monobutirina e verificou que sempre essa enzima aumenta no soro após o tratamento pelo oleo de chaulmoogra (70).

A discordancia apresentada pelos trabalhos sobre as variações das lipases no soro residem principalmente na pouca precisão das tecnicas de dosagem. A nosso vêr, nem a dosagem dos acidos graxos libertados pela ação da lipase nem tampouco a quêda da tensão superficial (tecnica de **RONA**) permite obter resultados satisfatorios pelas tecnicas atualmente em uso.

A lipase da pele na lepra ainda não foi investigada sistematicamente. **SANNICANDRO** refere valores normaes. A estearase, isto é a enzima capaz de dissociar os esterres, deve possivelmente ter importancia na mobilização dos lipides dos tecidos cutaneos. **PORTER** mostrou que os tecidos são tanto mais ricos em estearase quanto mais resistentes em ralação ás infeções. O pulmão, por exemplo, é um dos órgãos mais pobres em estearase e dos mais receptiveis á infeção tuberculosa. O gato que é resistente á invasão do bacilo de **KOCH**, possui os tecidos ricos nessa enzima (**PORTER**) (80). Recentemente, **EMERSON**, **ANDERSON** e **LEAKE**, notaram baixa da lipase dos tecidos do rato infetado experimentalmente com a lepra murina (31).

e) Colesterol.

O teor em colesterol do plasma normal oscila de 160 a 200 mgr. para 100cc. Essas variações dependem em parte da tecnica usada para a extração. Com a tecnica de **MYERS** e **WARDELL** encontramos a media normal de 172 mgr., sendo de 150 para o sexo masculino e 194 mgr. para o sexo feminino. Pela tecnica de **BLOOR**

(extração com álcool-éter) os valores são mais elevados (media de 200 mgr.).

A colesterolemia tem sido estudada na lepra por parte de numerosos autores. **MARCHAND** em 1922, foi talvez o primeiro que instituiu dosagens em doentes de lepra (4 casos) sendo 3 de lepra mixta e 1 de lepra tuberosa. Em três doentes antigos êle observou hipocolesterolemia (120 a 130 mgrs.) e valor normal em um de infecção recente (57). Concluiu este autor que a colesterolemia é normal no inicio da lepra e que diminue sómente nos casos antigos. O numero pequeno de doentes é insufficiente para que se possa emitir alguma conclusão.

BOULAY e **LÉGER** tambem em 4 casos (2 recentes e 2 antigos) utilizando a tecnica de **GRIGAUT** (media normal de 160 mgr.%) obtiveram numeros baixos (83 a 100 mgr.). Nos casos recentes e em boas condições geraes, o tratamento pelo chaulmoogra determinou aumento da colesterolemia (19). **GERARD** e **WOLTZ** só conseguiram valores diminuidor para o colesterol do plasma nos doentes da forma tuberosa (35). **USHIDA**, em 126 casos obteve a media de 121,9 mgr. para 100 cc. que é levemente inferior á media normal por êle estabelecida (150,6 mgr.) (99). **BORGATTI** tambem encontrou baixa da colesterolemia. Entretanto, em um caso de lepra tuberosa complicado de psoríase e outro de lepra nervosa durante o puerperio os valores achados foram elevados (213 e 241 mgr. respectivamente) pela tecnica de **AUTENRIETH** e **FUNK** (16). E' interessante notar que tanto o psoríase como o puerperio que elevam a colesterolemia nesses casos tambem mostram aumento, máo grado a infecção leprosa. **BOYD**, em 15 casos iniciaes de lepra, achou diminuição da colesterolemia que se acentua nos casos mais adiantados (21). O tratamento para este autor não tem influencia sobre o colesterol do plasma. **OTERO** e **HERNANDES** em Porto Rico, e **GOMES**, **LEITÃO** e **WANCOLLE** em S. Paulo, tambem encontraram valores baixos para a colesterolemia dos leprosos (36 e 68). Estes ultimos autores verificaram que a colesterolemia varia na razão inversa da gravidade clinica da doença e que nos doentes recentes o tratamento pelo oleo de chaulmoogra faz aumentar a taxa de colesterol no plasma. **BALEI** observou hipocolesterolemia em 14 casos estudados e não poude estabelecer relação entre o adiantamento da lepra e o teor do colesterol no sôro (36).

A baixa de colesterol afeta mais o tipo de lepra mixta e a diminuição se faz sentir tanto na fração livre como na combinada sob a forma de esterés, conforme demonstram recentemente **VILLELA** e **CASTRO** (102), em 55 casos. **BLACK** e **ROSS** acharam aumento dos esterés nos casos em que o doente não oferece tendencia para melhorar. Os doentes por eles examinados apresentaram requente-

mente o test de **VAN DEN BERGH** positivo, o que indica disturbios hepaticos (15).

PARAS, nas Ilhas Filipinas, obteve os seguintes resultados: nos casos não tratados o colesterol diminue levemente; naqueles tratados pelo chaulmoogra, mas ainda com bacilos no muco nasal, o colesterol se eleva até os limites normaes; nos casos tornados negativos pelo tratamento, o colesterol é normal. (73).

VILLELA, CASTRO e ANDERSON, mais recentemente, estabeleceram que a colesterolemia se acha diminuida sobretudo na forma mixta e nos casos mais recentes, havendo aumento naqueles em que a duração da doença é maior (mais de 10 anos). Os doentes tratados quasi não mostram diferença apreciavel em relação aos não tratados, vindo confirmar os achados de **BOYD** (103). As variações da colesterolemia em relação ao sexo e idade são da mesma amplitude das existentes nos individuos normaes, isto é, superiores nos mais idosos e nos do sexo feminino (104). Os doentes pertencendo á raça branca mostram maior teor em colesterol no plasma do que os pertencendo á raça negra ou mestiça (**VILLELA, CASTRO e ANDERSON**) (103).

Na lepra experimental do rato (lepra murina), **CHORINE e CROUGUE** tambem obtiveram diminuição da colesterolemia, bem que pouco regular (25).

f) Lipides totaes, acidos graxos e indice de iodo dos acidos graxos.

O teor de lipides no plasma normal oscila em torno de 600 mgr. para 100cc. (**BOYD**: 589 mgr.; **WILSON e HANSEN**: 657 mgr.; **VILLELA, CASTRO e ANDERSON**: 603 mgr.). A medida para os acidos graxos totaes é de 320 mgr. (**NAN e GILDEA**), 350 mgr. (**VILLELA e SILVA**), 353 mgr. (**BOYD**). O indice de iodo dos acidos graxos é proximamente de 88 para o plasma normal (**BOYD, CSONKA, VILLELA, CASTRO e ANDERSON**).

As primeiras verificações sobre a lipemia dos leprosos devem-se a **PARAS**. Este autor estudou numerosos casos encontrando valores baixos para os acidos graxos totaes, nos casos não tratados ou tratados insufficientemente. Nos doentes tratados, sem bacilos no muco nasal, as percentagens de acidos graxos são normaes (75). Os fosfolipides mantem-se dentro dos limites normaes.

ITO, em 33 casos, obteve valores elevados para os acidos graxos e baixos para o colesterol na maioria dos doentes, estando de algum modo em desacordo no que se refere aos acidos graxos com os resultados de **PARAS** (42).

ANDERSON e **ANDERSON**, baseados na diminuição do índice de iodo dos ácidos graxos observada por **HANSEN** em certas doenças cutâneas (eczema infantil) procuram saber se na lepra existe também baixa dos ácidos não saturados. Chegaram estes autores às seguintes conclusões: os casos com lesões predominantemente cutâneas são os que mostram valores mais baixos; nos doentes tratados o índice de iodo é normal e na febre leprosa (1 caso) é muito baixo. Os doentes por eles examinados pertenciam unicamente à forma mixta (1). A positividade das reações sorológicas (R. de Wassermann) coincide em grande percentagem com a elevação de lipemia (**ROEE**) (87).

Em numero maior de casos e pertencendo a todas as formas da lepra, **VILLELA**, **CASTRO** e **ANDERSON** observaram diminuição do índice de iodo principalmente nos doentes não tratados (103). Quanto ao teor em lipídeos totais, estes autores mostraram que os valores são mais baixos nos casos recentes do que nos adiantados e que o tratamento faz aumentar ligeiramente a lipemia. (Ver Quadro).

QUADRO DA LIPEMIA

Lipídeos do sangue em 100 casos de lepra, em mgr. para 100cc. de sangue —
(segundo **VILLELA**, **CASTRO** e **ANDERSON**)

CASOS	Lipídeos totais	Ácidos graxos	Numero de Iodo	Coolesterol
Total dos casos	857	386	62.8	129
Forma cutânea	856	390	62.9	131
Forma nervosa	861	387	60.5	136
Formas mixtas	851	364	63.5	127
Casos tratados	819	391	58.4	130
Casos não tratados	873	384	64.7	128

g) Glicose.

A glicemia foi inicialmente estudada por **PARAS** e as percentagens obtidas mostraram tendencia para a hiperglicemia, bem que não exista relação nem com a duração nem com a forma da lepra (75). Outros autores também referem medias pouco acima do normal (**RAJEWSKI**, **WAYSON**, **WOOLEY**). **LAI**, em 59 casos, achou percentagens normaes para a glicose do sangue mas notou que o limiar de excreção é baixo, a julgar pela frequencia da glicosuria durante a prova de carga (47).

GLICEMIA EM JEJUM NA LEPROSA

Autores	Medias	Numero de casos	Metodo
Paras	119	17	Folin-Wu
Wayson, Badger e Dewar	108	32	Benedict
Wooley	109	80	Folin-Wu
Lai	88,5	39	Folin-Wu

A glicosuria é um sintoma que aparece em numerosos doentes após as refeições e que perdura de 3 a 12 horas. A percentagem de leprosos com glicosuria em 175 casos foi de 23,4%, segundo os dados de **WAYSON, BADGER e DEWAR** (108). Em doentes submetidos ao tratamento pela vitamina B1 (aneurina) observamos que a glicemia diminue principalmente nas primeiras semanas (106).

A curva glicemica é em geral normal e a glicosuria é frequente durante o test (**LAI**). Na lepra do rato, **EMERSON** obteve uma curva glicemica prolongada que este autor julga estar em relação com perturbações hepaticas. Curvas desse tipo são presentes nos animaes mais atingidos pela doença experimental e que são portadores de lesões histo-patologicas extensas do figado (30). Quando a infecção está no inicio, a curva glicemica é normal e bem assim o teor em glicogenio e a histologia da glandula hepatica. As anormalidades do test de tolerancia da glicose parecem portanto estar ligadas sómente aos disturbios do figado e não á infecção leprosa em si.

h) Outros constituintes do sangue.

As substancias nitrogenadas investigadas no sangue de doentes de lepra só oferecem alterações quantitativas apreciaveis quando existe concomitancia de lesões renaes. Sendo elevada a percentagem de nefrite entre os leprosos, torna-se interessante assinalar as variações que se observam quanto aos constituintes nitrogenados (uréa, creatinina, acido urico, nitrogenio não protidico) (**PARAS**) (75). Fato é que não havendo lesão renal a lepra não apresenta nada de anormal no que diz respeito á retenção de produtos nitrogenados. Ha alguns pontos que carecem ainda de esclarecimentos, taes como a eliminção de medicamentos derivados do oleo de chaulmoogra e a irritação que os mesmos possam fazer ao rim dos doentes de lepra. Resta tambem investigar se o tratamento continuo pode ou não acelerar o aparecimento de lesões renaes.

Recentemente, **LEE** estudou o metabolismo do Clorêto de Sodio em 40 casos de lepra por meio de dosagens no sangue e na urina (49). Este autor não encontrou valores afastados do normal, pelo que conclue não existir na lepra perturbações na eliminação deste sal. Quanto ao suco gastrico, devem ser aqui citadas as pesquisas de **ANDERSON** e **CERQUEIRA** que em 25 casos obtiveram baixa da acidez livre (24). **LEE** tambem achou hipo-acidez e mesmo aquilia nos doentes por êle estudados (50). As perturbações do quimismo gastrico talvês se relacionem com disturbios do metabolismo em que o clorêto de sodio possivelmente esteja em causa. Nesse sentido tornam-se necessarias investigações mais detalhadas para que se possa melhor conhecer o seu mecanismo.

O teor em clorêto de sodio do plasma está tambem sujeito ás condições do estado funcional do rim como tambem das glandulas endocrinas e dos tecidos em geral. As melhoras que a dieta sem sal produz na tuberculose cutanea e na lepra, estão de certo modo condicionadas ao mecanismo de retenção do sal pelos tecidos (43). Ainda não foi pesquisado até agora qual a influencia e as variações que essa dieta determina sobre o metabolismo do clorêto de sodio e da agua. E' possivel que um estudo dessa natureza venha trazer beneficios para o tratamento da doença.

Entre outros constituintes dosados no sangue acha-se o glutathion reduzido que nos ratos infetados experimentalmente (*M. muris*) baixa tal como acontece na tuberculose (**PRUDHOMME**) (82).

Imunoquimica.

Estudos quimicos no campo da imunologia da lepra foram feitos por **SCHREUS** (89), **MARRAS** (58) e mais recentemente por **HAYATA** (38), **RHEE** (87) e **HENDERSON** (40). Algumas relações entre as reações serologicas (**WASSERMANN**, **KAHN**, **VERNES**), a proteina e a quantidade de lipides do plasma foram relatadas.

Metabolismo e nutrição.

As investigações bioquimicas orientam-se ultimamente no sentido de verificar quaes as relações possiveis entre a nutrição e a lepra. Esses estudos começam a se esboçar com observações ainda pouco precisas sobre a influencia da dieta contendo vitaminas no tratamento da doença. A coincidencia entre a alimentação pobre em vitaminas e a frequencia de casos de lepra é outro ponto que está preocupando os pesquisadores.

BROWN, na Nigeria, empregou a vitamina B com o fim de observar a sua influencia sobre os leprosos, cuja dieta este autor

julga ser inadequada em 40% dos casos (22). Os resultados foram pouco significativos, porém os doentes acusaram aumento de peso e bem estar geral.

A presença de pelagra em zonas onde a lepra é mais abundante e a dieta pobre em vitamina G (B2) tal como se verifica em **Calcuttá** (Índia) levou **BASU** a ministrar vitaminas B1 e B2 e maior quantidade de protides aos doentes de lepra. Os casos nervosos melhoram visivelmente, mas os pertencentes á forma nodular não apresentaram nenhuma melhoria (12 e 13).

No Sudão Anglo-Egipcio, **ATKEY** procurou relacionar a frequencia da lepra com a alimentação carenciada. A falta de leite nessa região é uma das causas para o baixo valor nutritivo da dieta (**ATKEY**) (8).

MORAES, em 1937 (62), observou que o metabolismo basal, determinado pelo aparelho de Benedict-Roth, se encontra aumentado na lepra, sobretudo durante a reação leprosa. O tratamento eficaz faz baixar o metabolismo basal.

Na lepra experimental do rato, foi observado por **LAMB** que os animaes em avitaminose do complexo B são mais suscetiveis á infecção (48). A injeção intracardiaca de material infectado, em ratos carenciados e alimentados com dieta pobre em protides, permite obter lesões mais extensas do fígado, em comparação com os ratos infectados mas sem avitaminose. **LAMB** chama a atenção para a coincidência da presença do beriberi nas regiões em que a lepra é endêmica. Acredita este autor que os estados de desnutrição teem papel acentuado na implantação da lepra, visto que diminuem a resistencia á infecção. A defesa contra o germen estando em relação com o estado de nutrição, o estudo sistemático da influencia dos fatores nutritivos sobre a implantação da doença, constitue um problema de importancia capital. A lepra do rato tendo grande semelhança com a do homem e sendo ela influenciada pela riqueza da alimentação em vitaminas e protides, é muito possível que a do homem também o esteja.

Na lepra experimental do rato, **KOBASHI** também fez algumas observações interessantes no que diz respeito á influencia das vitaminas sobre a resistencia á infecção. A inoculação de emulsões de bacilos provoca, nos animaes em avitaminose, lesões mais extensas do que naqueles alimentados convenientemente (45). E' a vitamina B a que exerce maior ação impediente, seguindo-se a vitamina A. A vitamina C nada indicou de particular. Deve-se notar que os animaes empregados para o estudo da avitaminose C (cobaios) não se prestam para a produção da infecção leprosa.

Em trabalho comunicado á Conferencia do Cairo em Março 1938 (106), mostramos a vantagem do emprego da vitamina B pura no tratamento das nevrites agudas, bem como no estado geral do doente. A maioria dos casos apresentaram aumento sensível do peso. Nossos resultados foram recentemente confirmados no Hawaii por **BADGER** e **PATRICK** (10).

NICHOLLS, em Ceylão, estudando a ocorrência de estados de avitaminose A não pode verificar nenhuma relação com a existencia da lepra (66).

Assim como na tuberculose, a lepra é mais frequente quando as condições de nutrição são precarias. **KEIL** chama a atenção para o fato que ambas as doenças atacam o organismo principalmente na infancia, época em que a nutrição tem papel relevante. Ainda não foram empreendidos estudos no sentido de diminuir a incidencia da infecção leprosa na infancia pela simples modificação do regimen alimentar.

A aplicação á lepra das regras dieteticas estabelecidas para a tuberculose cutanea por **GERSON**, **SAUERBRUCH** e por **HERMANNSDORFF**, foi recentemente iniciada por **KEIL**, que publicou resultados bastante animadores. Este autor observou que em Surinam (Indias Neerlandezas) os habitantes alimentam-se exclusivamente de arroz descorticado e de peixe ou carne salgada. Esse tipo de alimentação é muito pernicioso aos doentes de lepra que oferecem melhoras sensiveis unicamente pela modificação da dieta. Essa modificação consiste em abolir o sal por completo e incluir alimentos ricos em vitaminas e gorduras e pobres em glucides e protides animaes (43). A dieta é sobretudo indicada aos doentes infiltrados, edemaciados e com hipersensibilidade (**KEIL**).

O estudo de conjunto aqui por nós apresentado mostra que a bioquimica da lepra ainda oferece muitos aspetos novos a serem investigados. O vasto campo do metabolismo permanece quasi inexplorado. Pouco se conhece sobre as transformações sofridas pelos medicamentos no organismo leproso. No dominio da nutrição já se começa contudo a perceber o valor da dieta e de algum modo a influencia benefica das vitaminas.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — **ANDERSON (H. H)** e **ANDERSON (J. V. D)** — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 32 (1935) 1470.
- 2 — **ANDERSON (H. H)**, **CERQUEIRA (P)**, **ANDERSON (J. V. D)** e **PORTUGAL (H)** — *American Jour. Trop. Med.* 16 (1936) 689.
- 3 — **ANDERSON (R. J)**, *Jour. Biol. Chem.* 83 (1929) 169; 83 (1929) 505; e 84 (1929) 703.

- 4 — ANDERSON (R. J), e CHARGAFF (E) - *Jour. Biol Chem.* 85 (192930) 77.
- 5 — ANDERSON (R. J), COWDER (J. A), NEWMAN (M. S) e STODOLA (F. H) — *Jour. Biol. Chem.* 113 (1936) 537,
- 6 — ANDERSON (R. J), REEVES (R. E) e CROWDER (J. A) — *Jour. Biol. Chem.* 121 (1937) 649.
- 7 — AOKI (T.) — *Japanese Jour. Dermat.* 30 (1930) 33.
- 8 — ATKEY (F. H) — *Bull. Off. Int. Hyg. Publ.* 26 (1934) 490.
- 9 — BADENOCH (A. G) e BYRON (F. E) — *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 26 (1923) 253.
- 10 — BADGER (L. F) e PATRICK (D. W) — *Science* 88 (1938) 8 N.' 2270.
- 11 — BALD(E) — *Giorn. Italiano Dermat. Sif.* 68 (1925) 427.
- 12 — BASU (N. K) — *Zeitschr. Vitminforsch.* 3 (1934) 194.
- 13 — BASU (N. K) — *Jour. Indian Med. Assoc.* 5 (1935) 8.
- 14 — BEJARANO (J.) e MEDINA (R.) — *Zentralbl. Haut end Geschiechtk* (1928).
- 15 — BLACK (S. H) e Ross (H) — *U. S. Publ. Healthc Repet.* 50 (1935) 50.
- 16 — BORGATTI (M) — *Bol. Italiano Biol.* 3 (1928) 84.
- 17 — BOULAY (A) e LEGER (M) — *Bull. Soc. Path. exot.* 15 (1922) 865.
- 18 — BoULAY (A) e LEGER (M) — *Bull. Soc. Path. exot.* 25 (1922) 1002.
- 19 — BoULAY (A) e LEGER (M) — *Bull. Soc. Path. exot.* 16 (1923) 57.
- 20 — BoYD (E) — *Jour. Biol. Chem.* 101 (1933) 323.
- 21 — Bovo (T. C) e ROY (A. C) — *Indian Jour. Med. Res.* 15 (1928) 643.
- 22 — BROWN (J. A. K) — *West African Med. Jour.* 8 (1935) 1; citado em *Trop. Med. Bull.* 33 (1936) 614.
- 23 — CANTAROW (A) — *Calcium metabolism and calcium therapy*, 1931. Lea & Fibiger. Philadelphia.
- 24 — CERQUEIRA (P) e ANDERSON (H. H) — *Rev. Brasileira Leprol.* 4 (1936) 145.
- 25 — CHORINE (V) e CROUGUE (O) — *Compt. rend. Soc. Biol.* 122 (1936) 621.
- 26 — CHORINE (V) e PRUDHOMME (R) — *Bull. Soc. Path. exot.* 27 (1934) 633.
- 27 — CONCEPCION (I) e SALCEDO (3) — *Jour. Philippine Islands Med. Assoc.* 6 (1926) 154.
- 28 — COWDRY (E. V), HEINBURGER (L. F) e WILLIAMS (P. S) — *American Jour. Path.* 12 (1936) 13.
- 29 — CRUZ (M. C), LARA (C. B) e PARAS (E) — *Philippine Islands Me3. Assoc.* 8 (1928) 216.
- 30 — EMERSON (G) — *American Jour. Trop. Med.* 16 (1936) 699. 31-EMERSON (G), ANDERSON (H. H) e LEAKE (C. I) - *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 30 (1932) 150.
- 32 — EMERSON (G), ANDERSON (H. H) e LEAKE (C. I) — *ProC. Soc. Exp. Biol. Med.* 31 (1933) 18.
- 33 — EMERSON (G), ANDERSON (H. H) e LEAKE (C. I) — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 31 (1933) 272.
- 34 — FRAZIER (C. N) e Wu (H) — *American Jour. Trop. Med.* 5 (1925) 297.
- 35 — GERARD (G) e WOLTZ (H) — *Bull. Soc. Path. exot.* 26 (1933) 702.
- 36 — GOMES (J. M), PEREIRA LEITÃO (C. A) e WANCOLLE (A) — *Rev. Biol. Hyg.* 1 (1927) 39.

- 37 — GLUM (F. B) e DENIS (W) — Jour. Exp. Med. 14 (1911) 606.
38 — HAYATA (H) — La Lepro 5 (1934) 433.
39 — HERRERA (R. M) — Actas Derm. — Sif. 26 (1934) 535.
40 — HENDERSON (H) — Int. J. Lep. 5 (1937) 267.
41 — HERRERA, REYES (M) — Siglo Med. 95 (1935) 394; Medicina 15 (1935) 473.
42 — ITO (H) — Acta Dermat. Nipponica 5 (1925) 469.
43 — KEEL (E. C) — Internat. Jour. Lep. 1 (1933) 393.
44 — KLINGMULLER (V) — Die Lepra, in Jadassohn Handb. Haut Geschlk. 10, II, (1930), 80.
45 — KOBASHI (S) — Internat. Jour. Lep. 1 (1933) 354.
46 — KUSAKA (A) — Ref. Zentrbl. Haut-u. Geschlechtk. 10 (1924) 447.
47 — LAI (D. G) — American Jour. Trop. Med. 14 (1934) 575.
48 — LAMB (A. R) — American Jour. Hyg. 21 (1935) (438) 575.
49 — LEE (H. S) — Japanese Jour. Dermat. Urol. 37 (1935) 87.
50 — LEE (H. S) — Japanese Jour. Dermat. Urol. 38 (1935) 70.
51 — LEFROU (G) e BONNET (P) — Bull. Acad. Méd. 111 (1934) 175; Bull. Soc. Path. exot. 27 (1934) 35 e 364.
52 — LEFROU (G) e BONNET (P) — Bull. Soc. Path. exot. 27 (1934) 631.
53 — LEIGHEB (V) — Giorn. Italiano Dermat. Sif. 74 (1933) 114.
54 — LEMANN (I. I), LILES (R. T) e JOHANSEN (F. A) — American Jour. Trop. Med. 7 (1927) 61.
55 — LONG (E. R) e CAMPBELL (L. K) — American Rev. Tuberc. 6 (192223) 636.
56 — MAN e GILDEA — Journ. Biol. Chem. 99 (1932) 61.
57 — MARCHAND (L) — Bull. Soc. Path. exot. 15 (1922) 159.
58 — MARRAS (A) — Biochim. Terap. Exp. 15 (1928) 264; citado em Internat. Jour. Lep. 1 (1933) 252.
59 — MEINERI (P. A) — Giorn. Italiano Mal. Ven. Pelle. 65 (1927) 1207.
60 — MOLINELLI (E. A) e RE (P. M) — Rev. Sud-Americano Med. 1 (1930) 781.
61 — MOLINELLI (E. A) e ROYER (M) — Compt. rend. Soc. Biol. 102 (1929) 873.
62 — MORAES (J) — Rev. Bra. Leprol. 5 (1937) 287.
63 — NEILL (M) e DEWAR (M) — U. S. Public Health Bull. 168 (1927) 21.
64 — NEILL (M) e DEWAR (M) — U. S. Publ. Health Bull. 168 (1927) 4.
65 — NEUHAUSEN (B. S) e PINCUS (J. B) — Jour. Biol. Chem. 57 (1923) 99.
66 — NICOLLS (L) — Indian Med. Gaz. 69 (1934) 24.
67 — NISHIKAWA (T) — La Lepro 3 (1932) N.º 2; citado em Internat. Jour. Lep. 2 (1934) 497.
68 — OTERO, MORALES (P) e HERNANDES (L. G) — Puerto Rico Jour. Publ. Health & Trop. Med. 5 (1930) 443.
69 — PALDROCK (A) — Arch. Dermat. u Syph. 147 (1924) 450.
70 — PALDROCK (A) — Dermat. Wchneschr. 81 (1925) 1431.
71 — PALDROCK (A) — American Jour. Trop. Med. 7 (1927) 405.
72 — PALDROCK (A) — Dermat. Wchneschr. 84 (1927) 487.
73 — PARAS (E) — Philippine Jour. Sci. 30 (1926) 219.
74 — PARAS (E) — Philippine Jour. Sci. 33 (1927) 155.
75 — PARAS (E) — Philippine Islands Med. Assn. 11 (1931) 1.
76 — PARAS (E), LAGROSA (M) e IGNACIO (J) — Trans. 8.º Cong. Far. East. Assn. Trop. Med. Bangkok (1930), 631.

- 77 — PESCHKOSKI (G. W) — *Internat. Jour. Lep.* 2 (1934) 129.
- 78 — PETERS (J. P) e VAN SLYKE (D. D) — 1931, WILLIAM & WILKINS, Baltimore, vol. 1, p. 808.
- 79 — POOMAN (A) — *Arch. Schiffs-Trop. — Hyg.* 39 (1935) 70.
- 80 — PORTER — *Ref.: von Euler's Chemie der Enzyme.* 2 (1922) 48.
- 81 — PRICHODCENKO (A) e KRUGLIJAK (P) — *Cong. Panruss.* 1928; citado em *Zentralbl. Haut-u. Geschlk.* 35 (1931) 471.
- 82 — PRUDHOMME (R. O) — *Compt. rend. Soc. Biol.* 121 (1936) 1167.
- 83 — RAJEWSEI (A. S) — *Arch. Schiffs-Trop. u-Hyg.* 34 (1930) 651.
- 84 — RAO (G. R) — *Indian Jour. Med. Res.* 19 (1932) 993.
- 85 — READ (B) — *Jour. Biol. Chem.* 62 (1924) 513.
- 86 — REICHEL (H) — 1936, JULIUS SPRINGER, Vienna.
- 87 — RHEE (Y. C) — *Japonesse ,Tour. Dermat. Urol.* 32 (1932) 101.
- 88 — RONA (P) e TAKAHASHI (D) — *Bioch, Zeitschr.* 49 (1913) 370.
- 89 — ROXAS-PINEDA (E), NICOLAS (C) e LARA (C. B) — *Jour. Philippine Islands Med. Assn.* 8 (1928) 207.
- 90 — SABIN (F. R) e DOAN (C. A) — *Jour. Exp. Med.* 46 (1927) 645.
- 91 — SCHLOSSMANN (K) — *Zeitschr. Immunitf.* 62 (1929) 447.
- 92 — SCHLOSSMANN (K) — *Zeitschr. Immunitf.* 68 (1930) 154.
- 93 — SCHREUS (H. T) - *Actas Dermat. Sif.* 27 (1935) 858.
- 94 — SHEN (T. H) — *Jour. Shanghai Sci. Inst.* 1 (1934) 157; citado em *Internat. Jour. Lep.* 3 (1935) 380.
- 95 — STEVENSON (W. D. W) — *Indian Jour. Med. Res.* 12 (1925) 283.
- 96 — TAJIRI (S) et AL. — *Lepro* 5 (1934) 140; citado em *Internat. Jour. Lep.* 2 (1934) 377.
- 97 — TAKASHIMA (S) — *La Lepro* 6 (1935) 31; citado em *Internat. Jour. Lep.* 4 (1936) 407.
- 98 — UNDERHILL (F. P), HONEIJ (D. J) e BOGERT (L. J) — *Jour Exp. Med.* 32 (1920) 41.
- 99 — USHIDA (M) — *Ref.: Zentbl. Haut-u. Geschlk.* 27 (1928) 420.
- 100 — ZYEI (N), e ANDERSON (R. J) — *Jour. Biol. Chem.* 94 (1932) 653.
- 101 — VILLELA (G. G) — *Sciencia med.* 6 (1928) 1.
- 102 — VILLELA (G. G) e CASTRO (A) — *Compt. Rend. Soc. Biol.* 123 (1936) 433.
- 103 — VILLELA (G. G), CASTRO (A) e ANDERSON (J. V. D) — *Jour. Trop. Med. Hyg.* 39 (1936) 126.
- 104 — VILLELA (G. G), CASTRO (A) e ANDERSON (J. V. D) — *Rev. Brasileira Leprol.* 4 (1936) 111.
- 105 — VILLELA (G. G) e SILVA (C) — *Inst. Oswaldo Cruz.* 27 (1933) 1.
- 106 — VILLELA (G. G) — *Acta Med.* 1, 1938.
- 107 — VILLELA (G. G) — (trabalho inédito).
- 108 — WAYSON (N. E), BADGER (L. F) e DEWAR (M. M) — *Philippine Jour Sci.* 30 (1926) 219.
- 109 — WELLS (H. G), DEWITT, (L. M) e LONG (E. R) — 1923, WILLIAM & WILKINS, Baltimore.
- 110 — WOOLEY (J. G) e ROSS (H) — *U. S. Publ. Health Rep.* 46 (1931) 641.
- 111 — OLEY (J. G) e ROSS (H) — *U. S. Public Health Rep.* 47 (1932) 380.