

AÇÃO DA HIALURONIDASE TESTICULAR SÔBRE A EVOLUÇÃO DA LEPRO MURINA

W. A. HADLER*

L. M. ZITI**

As hialuronidasas, cujo efeito principal é despolimerizar o ácido hialurônico, contido na substância fundamental do tecido conjuntivo, atuam como "fator de difusão" de bactérias nos tecidos. Por outro lado, algumas bactérias apresentam ácido hialurônico como elemento integrante da cápsula. Devido a êstes fatos as enzimas dêste grupo têm importância na patogenia de diversas moléstias (2).

Foi verificado experimentalmente que a hialuronidase testicular acelera o desenvolvimento das lesões e a disseminação dos bacilos, em ratos e camundongos inoculados com *M. lepraemurium*, por via subcutânea (7, 12).

Trabalhos realizados com o *M. tuberculosis* mostraram que várias proteínas básicas, normalmente presentes nos tecidos (protaminas, histonas e lisozima), têm ação inibidora sôbre o crescimento de culturas de micobactérias (11); fato semelhante ocorre em relação a hialuronidase testicular, que também pertence ao grupo das proteínas básicas (4).

Baseado nesses estudos resolveu-se verificar a ação da hialuronidase testicular sôbre a evolução da lepra murina, em ratos inoculados por via intra-peritoneal.

MATERIAL E MÉTODO

Ratos Wistar, com 90-120 g de pêso, foram inoculados com suspensão de *M. lepraemurium* contendo aproximadamente 5 mg de bacilos; a inoculação foi feita na cavidade peritoneal. O preparo da suspensão e a determinação do peso de bacilos foram efetuados de acôrdo com processos anteriormente descritos (5, 6).

Os ratos assim inoculados foram divididos em 4 lotes de 20 animais, os quais receberam os seguintes tratamentos, iniciados 7 dias após a inoculação:

LOTE 1 — tratado com 4-4'-diaminodifenilsulfona (DDS). Os animais receberam DDS por via oral, sendo a substância misturada à ração, na proporção de 0,3%. Com essa dosagem cada animal ingeriu, em média, aproximadamente 40 mg de DDS por dia, dose esta que apresenta atividade na lepra murina (10).

LOTE 2 — tratado com hialuronidase testicular bovina. Cada animal recebeu, por via subcutânea, 25 U. túrbido-redutoras de hialuronidase, em dias alternados.

LOTE 3 — Tratado com DDS hialuronidase. Vias de administração e doses iguais às usadas para os lotes 1 e 2.

LOTE 4 — Não tratado, contrôle.

Os tratamentos se prolongaram durante todo o decorrer da experimentação, que teve a duração de 670 dias.

* Dep. Histologia e Embriologia. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto — Brasil.

** Seção de Quimioterapia, Inst. Butantan, S. Paulo — Brasil.

De cada um dos 4 lotes, 10 animais foram sacrificados periódicamente, com intervalo de 30 ou 60 dias. Nestes animais estudou-se a evolução da moléstia, durante a experimentação, através do aspecto macro e microscópico das lesões. Para o estudo histológico o material foi fixado em solução formalina de 10%, incluído em parafina, e corado pela HE e pelo Ziehl-Neelsen.

Nos outros 10 animais de cada lote observou-se a evolução da moléstia até a morte natural. Nestes, estudou-se a sobrevivência durante o tempo da observação (670 dias). Os dados referentes à sobrevivência foram analisados estatisticamente segundo disposição fatorial 2 x 2, tendo sido, para isso, usada: as recíprocas dos valores da sobrevivência obtidos.

RESULTADOS

Os resultados, baseados na sobrevivência, estão expostos nos quadros 1 e 2. Revelam que hialuronidase, nas condições utilizadas, não tem influencia sobre a evolução da lepra murina experimentalmente induzida, porquanto não modifica a sobrevivência dos animais. Além disso, o tratamento pela hialuronidase não apresenta interação com o tratamento pelo DDS, isto é, um dos tratamentos não interfere sobre o outro.

A evolução da lepra murina, baseada no estudo anátomo-patológico dos animais, confirma os dados referentes à sobrevivência; mostra que apenas o DDS interfere na evolução das lesões. Nos ratos tratados com hialuronidase, desde o início da infecção, as lesões são comparáveis as dos controles não tratados; esta situação não se modifica com o progredir da evolução. Apenas nos animais que recebem tratamento pelo DDS são observados aspectos histológicos que correspondem ao das lesões em involução, os quais surgem tardiamente.

DISCUSSÃO

A hialuronidase atua como "fator de difusão" de bactérias no tecido conjuntivo; inclusive o *M. lepraemurium*, quando inoculado no subcutâneo, apresenta maior disseminação quando os animais são tratados por esta enzima (7, 12). Estes resultados não são confirmados, porém, em ratos inoculados por via intraperitoneal.

Quando se efetua a inoculação de ratos com *M. lepraemurium*, utilizando-se a cavidade peritoneal como ponto de injeção, a disseminação inicial dos bacilos efetua-se principalmente por via linfática (1, 3, 9, 8, 5) e hemática (9, 5). Nestas circunstâncias, as micobactérias têm contato restrito com a substância fundamental do tecido conjuntivo.

Provavelmente por este motivo a hialuronidase não exerce influência apreciável na disseminação dos bacilos, durante este período da infecção. Após esta primeira fase, formam-se lesões a partir de células situadas na intimidade do tecido conjuntivo. Porém, mesmo em tais circunstâncias a hialuronidase aparentemente não exerce influencia sobre a evolução das lesões. Este fato poderia ser explicado pela rapidez com que os bacilos são fagocitados pelos macrófagos, o que condicionaria um período muito curto durante o qual as micobactérias

QUADRO I

MÉDIAS HARMÔNICAS DA SOBREVIVÊNCIA NOS 4 LOTES EXPERIMENTAIS.

	Contrôle	DDS	Hialuro- nidase	Hialuronidase + DDS
Médias em dias	211	396	299	374

QUADRO 2

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA SOBREVIVÊNCIA NOS 4 LOTES EXPERIMENTAIS.

Fonte de variação	G. Liberdade	S. Quadrados	Quadrado médio	F	P
1 - Tratamentos	3	302.648	100.882	6,39	≤ 0,01
a - DDS	1	205.349	205.349	13,00	≤ 0,01
b - Hialuronidase	1	38.316	38.316	2,43	≥ 0,05
c - Interação	1	58.983	58.983	3,74	≥ 0,05
2 - Erro Experimental	36	568.210	15.783		
Total	39	870.858			

estariam livres, no interior da substância intercelular. Assim sendo, a difusão dos bacilos, através da substância fundamental do tecido conjuntivo, aparentemente não possuiria importância na evolução da lepra murina, ao menos em animais inoculados por via peritoneal. Esta hipótese, para explicar a falta de ação da hialuronidase, é apoiada pela observação, mas necessita de confirmação experimental.

Por outro lado, a hialuronidase não inibe, "in vivo", o crescimento do *M. lepraemurium*; a falta de atividade da hialuronidase, neste particular, verifica-se tanto em animais que recebem unicamente esta enzima, como em ratos tratados concomitantemente pelo DDS. Êste dado revela que a hialuronidase não tem atividade terapêutica na lepra murina, nas condições experimentais utilizadas.

SUMMARY

The effect of testicular hyaluronidasis on the evolution of murine leprosy was studied in rats, inoculated with *M. lepraemurium* by the intraperitoneal route. The results, which were based on the statistical analysis of the survival time and on the evolution of the leprosy lesions show, that the hyaluronidasis, administered by the subcutaneous route (dose: 25 U each two days), does not modify the evolutive rate of the disease. This enzyme has neither determined more rapid bacillary dissemination, nor has influenced the leprosy lesions or mycobacteria growth rate in the rat tissues. There is not interaction between hyaluronidasis and DDS treatment.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — DEAN, G., Centralblat. f. Bakt. 34: 222, 1903.
- 2 — DURAN-REYNALS, F. — Ann. New York Acad. Sci. 52: 943, 1950.
- 3 — FITE, G. L. — Nat. Inst. Health Bull. 173: 45, 1940.
- 4 — FLETCHER, F., EPSTEIN, C. & JEWELL, P. L. — J. gen. Microbiol. 8: 323, 1953.
- 5 — HADLER, W. A. & MAURI, A. C. — Rev. Brasil. Leprol., 16: 139, 1948.
- 6 — HADLER, W. A. & ZITI, L. M. — Rev. Brasil. Leprol., 21: 341, 1953.
- 7 — KAWAGUCHI, Y. — La Lepro 22: 23, 1953.
- 8 — MARCHOUX, E. — Presse Med. 21: 201, 1914.
- 9 — MARCHOUX, E. & SOREL, F. — Ann. Inst. Pasteur 26: 675, 1912.
- 10 — MAURI, A. C., HADLER, W. A. e CARVALHO, C. M. — Rev. Brasil. Leprol. 19: 85, 1951.
- 11 — MYRVIK, Q. & WEISER, R. S. — Am. Rev. Tuberc. 64: 669, 1951.
- 12 — NAKAMURA, M. & SHINGU, M. — La Lepro 22: 97, 1953.