

TRÊS CASOS DE LEPROMATOSE TRATADOS PELA LISOZIMA ASSOCIADA AO CALCIFEROL (VITAMINAS D² E D³)*

Estudo preliminar com apresentação de um dos doentes.

J. AGUIAR PUPO**

A *lepra incipiens* apresenta-se em flagrante predominância com os caracteres clínico-patológicos das formas do grupo *indeterminado*, curando-se seguramente pela moderna terapêutica: sulfonas (derivadas da diamino-difenil-sulfona); tiambutazona (quimioterápico Ciba 1906, derivado da difenil-tioureia), sulfamidas de tendência cumulativa (derivadas da sulfa-dimetoxi-pirazina).

Quando a vigilância do clínico e do sanitário não surpreende o mal na passagem da infecção latente à moléstia, através o controle periódico dos contatos nos focos domiciliares, a lepra é diagnosticada após vários anos de discreta evolução, dominando a lepromatose nos balanços censitários; este tipo anérgico da moléstia, pela alta cifra de incurabilidade, constitui serio óbice ao controle da endemia.

Resistindo aos atuais recursos da terapêutica, a lepromatose invade lentamente o tegumento cutâneo, a mucosa das vias aéreas superiores, o sistema nervoso periférico e tardiamente as próprias vísceras, bloqueando as defesas do sistema reticulo-endotelial pela proliferação bacilar no seio dos macrófagos (*leprazellen* de Virchow); a crônica infecção, evoluindo em terreno anérgico, realiza a fatalidade do grande mal, que se traduz pelo aspecto hediondo das suas mutilações e seqüelas.

O tratamento da lepromatose arrasta-se no séquito de sua cronicidade, entremeada por agudas exacerbações (*lepra-reaction*) que decorrem da interferência terapêutica, definindo desalentador esforço da defesa orgânica.

Na porfiada luta contra a lepra maligna, cuidamos do ensaio de novos medicamentos, aplicando o Calciferol, a Lisozima e as tripsinas em sucessivos ensaios terapêuticos, cuja diferencial ora trazemos ao conhecimento de nossos leprologos.

Lisozima — A. Baccaredda-Boy e P. Sertoli² em comunicação ao I Sim-pósio Internacional sobre a Lisozima (Milão 1959) e os leprologos brasileiros N. C. Silva e R. S. C. Andrade³, em trabalho de n.º 84, apresentado ao VIII Congresso Internacional de Leprologia (Rio de Janeiro, 1963), relatam animadores resultados com o emprego da Lisozima na cura da lepra, inspirados pela ação antibiótica e propriedades dessensibilizantes desse medicamento que detêm os surtos reacionais da moléstia.

A Lisozima é um produto natural, de ação lítico-imunitária, descoberto em 1922 por Alexander Flemming¹, no mucus nasal de um paciente afetado de coriza, tendo sido verificada posteriormente a sua presença nos líquidos e tecidos do organismo humano e dos animais; é também encontrada no latex do mamão, fruto da *Carica papaya*, planta da família das Papayaceas, ubiqüitária nos países tropicais este fermento é extraído preferencialmente da albumina do ovo, que o contém em maior proporção.

* Comunicação à Sociedade Paulista de Leprologia na sessão de 11 de maio de 1963.

** Professor Emérito da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

A lisozima é uma proteína de reação básica, que se apresenta cristali-zada em solutos de seus sais resultantes de combinações com os ácidos comuns; a sua molécula protéica, cujo pêso aproximado é de 13.900, é constituída por 125 ácidos aminados que se associam em cadeias, formando um polipeptídeo que contém especialmente arginina, ácido aspártico, triptofano e muito pouca tirosina.

Nos tecidos pode ser verificada a lisozima pelos métodos de coloração, próprios das proteínas básicas (*fast-green* e outros), abrindo largo campo às investigações experimentais, permitindo o contrôlo *in situ* da impregnação do agente microbiano.

No campo da biologia geral e da patologia os estudos desse fermento estenderam-se aos mais variáveis aspectos da investigação clínica e experimental, motivando três Simpósios Internacionais, realizados em Milão nos anos de 1959, 1961 e em abril de 1964.

Pode ser empregada como biostático e analérgico na dose de 75 miligramas de cloreto de lisozima, mantendo concentração ativa no sangue pelo espaço de 12 horas, quando injetada pela via muscular (aplicar 1 a 2 vezes nas 24 horas).

V. Ricci⁴, da Clínica Oto-rino-iorringoiátrica da Universidade de Padova (Itália), assim se refere às propriedades terapêuticas do novo medicamento: "L'attività anti-infettiva è quella che per prima è stata messa in evidenza, e la stessa scoperta del lisozima si è basata sulla dimostrazione di tale attività. Questo, infatti, è considerato un principio difensivo, esponente dell'immunità naturale aspecifica, che agisce in senso batteriolítico, battericida ed agglutinante, su molti microorganismi patogeni"³.

A ação antimicrobiana biostática da lisozima decorre de uma dissolução por hidrólise da membrana bacteriana de estrutura muco-polissacarídica, e conseqüente modificação físico-química do próprio corpo bacteriano, como demonstraram os estudos de Hallaner e Meyer, citados por Ricci⁴.

Segundo Chatterji (citado por Claude Jardim 14), a membrana do bacilo de Hansen conteria muco-polissarídes e lípidos que justificam os ensaios terapêuticos que ora nos preocupam; no caso da lepromatose, os efeitos que vimos observando seriam resultantes da hidrólise das membranas das células de Virchow, liberando os bacilos e atuando secundariamente sobre os seus próprios invólucros ácido-resistentes, por um mecanismo de quebra de complexos protéicos que denominamos *breaking-action*.

As reações violentas e o processo secundário curativo-reparador que observamos no nosso doente de observação I, decorreriam de uma dissolução bacilar, com difusão de endotoxinas e conseqüente reação alérgico-imunitária, semelhante ao *ictus immunisatorius* das reações de Herxheimer observadas na arsenoterapia intensiva de sífilis secundária exantemática.

Nas moléstias causadas por vírus, confirmando as verificações experimentais *in vitro* de sua ação antimicrobiana biostática e endocelular, a lisozima apresenta-se como medicamento eficaz, evidenciando rápidas melhoras no Herpes Zoster, no Herpes simples e na Estomatite aftosa.

Além da sua ação antimicrobiana biostática, a lisozima é dotada de ação hemostática como coagulante e de efeitos cicatrizantes nas ulcerações cutâneas e das mucosas, pelo estímulo aos processos de granulação do tecido conjuntivo.

ASSOCIAÇÃO DO CALCIFEROL

Há muitos anos vimos empregando, com evidente êxito, a vitamina D² no tratamento da reação leprótica, confirmando os estudos de Montel¹³, que obteve resultados favoráveis aplicando o método de Charpy no tratamento da lepra; seguindo esta prática de incontestado resultado no tratamento da tuberculose cutânea, aplicamos série de 12 injeções intramusculares de ergosterol irradiado, na dose de 15 miligramas, com espaço de 5 dias, prescrevendo si-

multaneamente 2 gramas diárias de cloreto de cálcio por via oral; além de modificar o metabolismo fosfo-cálcico, o calciferol exerce uma ação analérgica e estimulante de defesa geral de relevante valor curativo. Nos casos ora em estudo, associamos a lisozima ao calciferol por meio de curas sucessivas, com o objetivo de consolidar os efeitos da primeira.

A sùmula clínico-terapêutica dos casos que passamos a relatar, justifica o prosseguimento dos estudos preliminares que ora trazemos a esta douta Sociedade, apresentando o doente de observação I, que testemunha grande êxito terapêutico.

OBSERVAÇÕES PESSOAIS

CASO I - M. F., branco, brasileiro, sexo masculino, 34 anos, casado, residente nesta Capital. Contaminado pelo pai.

Diagnóstico — Antecedentes evolutivos. I → L → I L R.

A moléstia data de 9 anos, quando notou lesão maculosa circular na parte lateral do tórax. Com a aplicação de injeções de Sulfon Cilag, prescrita por abalizado leprólogo, dissimulou-se a lesão; falecido o médico assistente, suspendeu o tratamento, temendo controle sanitário. No 7.º ano de moléstia apresentou-se em nosso consultório particular (julho de 1962) com lepromatose disseminada de aspecto máculo-papuloso e tuberoso. Após tratamento intensivo (92 injeções endovenosas de sulfenona (DDS solúvel preparada pelo Instituto Butantan); quando a resolução das lesões era visível, acusou reação leprótica acompanhada de febre, suores abundantes, astenia, poliadenopatia, mais acentuada nas regiões inguinal e axilar, perdendo 14 quilogramas no peso corporal; durante 10 meses a reação resistiu ao tratamento dessensibilizante pelos corti-costeróides (Haldrona Lilly por via oral e Decadron injetável). A medicação antibiótica moderada pela sulfá-dimetoxi-pirazina, na dose oral de 0,50 g (Midikel Parke Davis) e o quimioterápico Ciba 1906 (dose oral de 50 centigramas a 1 grama), prescritas em séries alternadas durante 4 meses, não removeu a crise de reação leprótica, mantendo-se estado geral precário, incompatível com o trabalho. A *partir de 27 de setembro de 1963* foram aplicadas 20 injeções de Lisozima Laboratil, na dose de 75 miligramas alternadas com injeções musculares de gamaglobulina (Hemofagina: produto Haemoderivados S.A.); dominou-se a reação leprótica, desaparecendo a febre e melhorando o estado geral; as lesões nodulares tornaram-se moles e fistulizadas, cicatrizando-se em seguida à formação de crostas; as placas de infiltração lepromatosa dissimularam-se e a mais extensa constituída por uma placa de lesões confluentes localizadas na coxa esquerda, ulcerou-se, cobriu-se de extensa crosta e cicatrizou-se, como se observa na fotografia do doente em franco estado de reparação cutânea. O estado geral de saúde permitiu a volta ao trabalho, sendo de 6 quilogramas o aumento do peso corporal.

Para consolidação das melhoras, foram aplicadas 12 injeções intramusculares de Vidé 3 — Hidrosol Wander (15 miligramas de 7-dehidro colesterol de origem animal, obtido pela irradiação ultra-violeta) espaçadas de 5 dias, prescrevendo-se simultaneamente 2 gramas diárias de cloreto de cálcio por via oral, durante os 2 meses de tratamento. Em seguida foi prescrito complexo B e Vitamina C (Pambevex C — Parke Davis pela via oral) durante 2 meses. Retornando à medicação pelo Calciferol foram aplicadas 12 injeções musculares de Azotyl (Vitamina D² em solução oleosa). Em abril de 1964, consolidando o estado geral de saúde e dominado o quadro evolutivo da lepromatose invasora e reacionária, foi iniciada nova série de Lisozima, aplicando-se nas mesmas condições, cêrca de 10 injeções até a data da apresentação do doente à Sociedade de Leprologia. O exame histopatológico de uma das lesões residuais da parte posterior do braço esquerdo, acusou o seguinte resultado constante do laudo do Dr. Fernando Alayon: "Na epiderme nota-se certo grau de acantose que apresenta em um ponto, solução de continuidade, dando lugar à formação de pequena úlcera. Imediatamente abaixo da epiderme, nota-se

a presença de denso infiltrado inflamatório crônico constituído de histiocitos, cujo citoplasma apresenta, as vêzes, intensa vacuolização e leucócitos polimorfo nucleares neutrófilos. Há no ponto que corresponde ao fundo de úlcera grande acúmulo destes últimos e exsudato fibrinoso, com formação de um abscesso. No interior de alguns histiocitos encontramos raros bacilos degenerados, mal corados, de aspecto granuloso, com certo grau de metacromasia. Diag.: Leproma.

Nota — A lesão é atípica, no sentido de que há grande desproporção entre o número de elementos celulares vacuolizados e o de bacilos. Parece tratar-se de lesão em processo de fusão ou de lise, diferente do aspecto que se observa nas lesões em reação".

CASO II - N. M. A., branca, sexo feminino, casada, 40 anos, residente nesta Capital.

Diagnóstico — Lepromatosa anérgica.

De 1954 a 1959 tolerou curas intensivas pelas injeções endovenosas de Promanid Parke Davis, Diazona Abbott pela via oral e injeções venosas ou musculares de Sulfon Cilag; a partir de 1960 o caso alergizou-se tolerando mal a sulfonoterapia, sendo as crises de reação leprótica intercorrentes ao tratamento, acalmadas pela medicação analérgica clássica, *porém persistindo a intolerância reacionária à medicação sulfônica*. A partir de 1962 foram aplicadas 3 séries de 12 injeções de Sterogil SARSA (Vitamina D² em sua forma pura), injetável pela via muscular, de 5 em 5 dias, prescrevendo-se simultaneamente 2 gramas de cloreto de cálcio pela via oral ; desapareceram inicialmente , as reações; em recidiva individualizaram-se na face e nas extremidades dos membros superiores e inferiores, novas lesões, que nos levaram ao recurso da nova terapêutica pela Lisozima Laboratil: foram aplicadas 30 injeções intra-musculares de 75 miligramas em dias alternados, verificando-se sem reação geral a concomitante fusão dos lepromas que perderam a consistência dura característica, tornaram-se depressíveis, translúcidas, deixando correr um líquido citrino à punção; deste material foram feitos esfregaços e extensão em lâminas, que examinadas do ponto de vista citológico e bacteriológico, pelo Dr. Estevam de Almeida Neto, acusaram os seguintes caracteres que transcrevemos de seu relatório: "A. *Exame bacteriológico* — Coloração ZIEHL-NEEL-SEN : presença de grande número de bastonetes álcool-ácido resistentes isolados ou, como é mais freqüente, aglomerados em pequenos e médios agrupamentos. Raras globias. Resultado quantitativo: ++ ; coloração ZIEHL-FONTES: não foram reveladas as granulações de Much. B. *Exame citológico* — De permeio a numerosos elementos da série branca sanguínea, onde predominam os neutrófilos, são vistos macrófagos parasitados por numerosos bastonetes branco-opacos ou levemente corados em violeta com a disposição típica do *M. leprae*; há também numerosos restos nucleares de prováveis macrófagos e aglomerados de bastonetes branco-opacos, repetindo o mesmo arranjo já mencionado. Conclusão: O quadro citológico corresponde ao das lesões lepromatosas em regressão".

Com idêntica finalidade à do emprêgo da Lisozima, isto é, de atuar sobre os macrófagos infectados e os próprios bacilos, pela quebra de proteínas das membranas (*breaking action*) e sucessiva ação sobre o germe desprotegido em sua resistência, aplicamos como tratamento complementar 24 injeções intra-musculares em dias alternados de Ambozim Richter, à base de 2 ½ miligramas respectivamente, de Tripsina e Alfa quimotripsina^{9, 10, 11}; são fermentos proteclíticos, de reação básica, dotados de ação anti-flogística, ativando a fagocitose. A tolerância a esta medicação foi favorável e para averiguar o estado das lesões residuais, foi feito o exame histopatológico de uma lesão fechada, amolecida e de coloração cereo-translúcida, cujo protocolo da autoria do Dr. Fernando Alayon foi o seguinte: "Epiderme ligeiramente atrofiada. No

corion presença de infiltrado inflamatório crônico constituído por histiócitos, cujo citoplasma apresenta vacuolização e numerosos linfócitos. A coloração pelo Ziehl-Neelsen revelou a presença de numerosos bacilos álcool ácido resistentes, muitos dos quais agrupando-se em globias. Observa-se ainda grande número de granulações álcool ácido resistentes e de bacilos mal corados. Diagnóstico: Leproma".

CASO III — D. V. B., branca, sexo feminino, casada, 38 anos, residente em Itatiba (Estado de São Paulo).

Diagnóstico — A moléstia iniciou-se estado I.L., curando-se pela sulfonoterapia intensa, realizada no Sanatório Pirapitinguí. Em 27 de novembro de 1962 apresentou-se em meu consultório com lepromatose anérgica, caracterizada por nódulos disseminados pelos membros superiores e inferiores, de tamanhos variáveis, de consistência dura, cobertos por epiderme brilhante e de cor vermelho-vivo. Reação de Mitsuda negativa.

Tratamento realizado — 12 injeções intramusculares de Sterogil SARSA (Vitamina D² em sua forma pura), na dose de 15 miligramas de 5 em 5 dias, associada ao cloreto de cálcio na dose diária de 2 gramas por via oral; 20 injeções intramusculares diárias de Rifocina Lepetit (antibiótico extraído do *Streptomyces Mediterranei*) associadas a Sulfona Lafi oral (D.D.S.), resistindo as lesões; de abril a julho de 1963 foram prescritas 40 injeções de Lisozima Laboratil seguidas de 20 injeções de Rifocina, com o objetivo de se obter pela *breaking-action* da Lisozima, maior efeito da ação antibiótica da Rifocina, antibiótico de evidente ação na lepra e na tuberculose, finalidade que conseguimos, verificando o amolecimento dos lepromas, que se tornaram descorados, cobertos de pele clara e redobrável, tendo o exame histopatológico de uma lesão realizada pelo Dr. Fernando Alayon revelado o seguinte aspecto que transcrevemos de seu relatório: "Atrofia da epiderme. No cório superficial há denso infiltrado inflamatório crônico constituído, principalmente, por células histiocitárias, algumas das quais apresentam vacuolização citoplasmática e picnose nuclear (células de Virchow). Nos cortes corados pelo método de Ziehl-Neelsen observa-se grande quantidade de bacilos álcool ácido resistentes intra e extra-celulares. Diagnóstico: Leproma (recente)".

Após a hripsia acima, foi prescrito o tratamento pelo quimioterápico Ciba 1906 que, reativando as lesões, nos induziu ao emprêgo das injeções de Vidé 3-Hidrosol Wander associado ao cálcio por via oral; atuando como dessensibilizante, este tratamento permitiu o emprêgo, sem reação, da sulfametoxi-pirazina (Midikel Parke Davis oral) associado às injeções de Ambosin Richter aplicado em dias alternados. Após 2 meses de tratamento, as lesões lepromatosas entraram em nova fase de regressão, despertando-nos o interesse de um estudo citológico e bacterioscópico, que realizado pelo Dr. Estevam de Almeida Neto, consta do seguinte relatório: "A. *Exame bacteriológico* — a) Ziehl-Neelsen: Presença de grande quantidade de bacilos álcool ácido resistentes com disposição em globias e também esparsos ou em pequenos e grandes agrupamentos. Quantitativo +++ . b) Ziehl-Fontes: Não foram evidenciadas as granulações de Fontes. B. *Exame citológico* — Presença de raros macrófagos abarrotados de bastonetes branco-opacos e grande quantidade dessas mesmas formações em posição aparentemente extra-celular; *bastonetes branco-opacos são vistos em grande quantidade isolados e em agrupamentos*. Conclusão: O quadro citológico corresponde ao das lesões lepromatosas em regressão.

CONCLUSÃO DIFERENCIAL

Apreciando o sério problema da lepromatose, na tradição de longos anos de observação, a partir da era sulfônica, e refletindo após os fatos que rela-

tamos sôbre os três casos constantes do presente estudo, apresentamos a esta comunhão de leprólogos o seguinte critério para a disciplinação do tratamento da lepromatose:

I — *Casos iniciais de evolução pacífica:*

- a) Praticar a cura intensiva pelo Dapsona (D.D.S.) em suas várias modalidades de derivados farmacêuticos de aplicação pelas vias parenterais. A dupla ou triplice associação de biostáticos específicos para a cura da leprose esta sendo empregada por Souza Lima, com o objetivo de evitar a resistência do *Micobacterium leprae* ao agente terapêutico prescrito isoladamente.
- b) Após o branqueamento das lesões, aplicar a Dapsona oral na dose de 25 a 50 mg duas vêzes por semana; havendo possibilidade de repetido con-trôle pode-se praticar a cura de consolidação pelas injeções quinzenais de Dapsona injetável de ação retardada (suspensão de D.D.S. em chaulmugrato de etilio utilizada por J. Schneider).
- c) Nos casos de zonas agrícolas realizar o tratamento segundo o item *b* inicialmente preconizado pelos leprólogos ingleses e franceses em suas campanhas da África, ajuizando-se que as doses altas das sulfonas criam freqüentemente os estados de *lepra-reaction*.

II — *Casos de lepromatose em reação:*

- a) Realizar a cura pelas injeções de Liozima em séries de 15 ampolas aplicadas em dias alternados, seguidas de Calciferol em série de 12 injeções musculares aplicadas de 5 em 5 dias, simultâneas ao cloreto de cálcio por via oral.
- b) Nos casos de reatividade persistente, prescrever a cura analérgica pelos corticóides (via oral ou parenteral), reincidindo no tratamento, segundo o item *a* ou tentando a cura moderada pelos biostáticos do grupo da tiambutazona (quimioterápico Ciba 1906) ou das sulfas cumulativas derivadas da sulfa-dimetoxipirazina ou da sulfa-fenilpirazol.
- c) Desaparecida a reatividade do processo lepromatoso com o tratamento dos itens acima, praticar durante 2 meses o descanso da terapêutica biostática em regime de super-alimentação auxiliada pela medicação polivitamínica.
- d) Nos casos de reatividade não superada pelas medicações acima sugeridas, praticar a calmetização durante 2 meses, tentando a imunização secundária e dessensibilização alérgica, recurso terapêutico que utilizamos ha alguns anos, com a dose semanal de 20 centigramas de BCG oral.

BIBLIOGRAFIA

1. FLEMING, A. — Proc. Royal Soc. Med., Série B, 93-306, 1922
2. BACCAREDDA-BOY, A. & SERTOLI, P. — Ricerche preliminari sull'azione del Liozima nella Lepra. Atti I Symposium Intern. sul Liozima di Flemming. Aprile, Milano.
3. SILVA, N. C. & ANDRADE, R. S. C. — Nota prêvia sôbre o uso da Liozima e sua associação à D.D.S. na terapêutica da lepra. Resumos VIII Cong. Int. Lepr. R. Janeiro, 1963, p. 42.
4. RICCI, V. — L'azione terapeutica, in alcune affezioni rinusinusali, del liso-zima, in associazione con anti-istaminici e capillaro-protettori di sintesi. Omnia Therap., **12**(4):379-396, 1961.

5. CAMPOS, I. R. P. — Novas aquisições em terapêutica (1962). Rev. Paul. Med., **63**:188, 1963.
6. MONCALVO, F. & PAOLINT, F. A. — Azione del Lisozima sull'attività catalitica del Micobatteri tuberculare. Comunicazlone al I Symposium Internazionale del Lisozima di Flemming, Milano, 1959.
7. BESTA, B. — Lisozima e tubercolosi. Relazione al I Symposium Internazionale del Lisozima di Flemming, Milano, 1959.
8. ZAMBOTTI, V. — Lisozima, mucopolisaccaridi e Mesenchima. Relazione al I Symposium Internazionale sull Lisozima di Flemming, Milano, 1959.
9. NUTHROP, KUNITZ — Chrystalline trypsin-isolation and purity test. J. Gen. Phys., **16**:267, 1932-1933.
10. INNERFIELD, I. — Parenteral administration of trypsin. Clinical effect in 538 patients. J. A. M. A., **152**(7):597, 1953.
11. DE BARBIERI — Fondamenti biochimici e farmacologia delle applicazione terapeutiche della tripsina e della chimotripsina. Atti Soc. Lombarda di Scienze Medico-Biologiche, **14**, 1959.
12. REIS, A. M. — Comprovação clínica da ação combinada de uma associação enzimática-antibiótica em processos infecciosos de diversas etiologias. Hospital, **63**(6):1335, 1963.
13. MONTEL, R. — La methode de Charpy dans le traitement de la Lèpre. Bull. Soc. Path. Exot., **38**(3/4):63, 1945.
14. JARDIN, C. — Agents thérapeutiques et remèdes traditionels contra la Lèpre. Marseille, Robert, 1961.