

ANALISE FAMILIAL DO COMPORTAMENTO *in vitro* DOS MACRÓFAGOS HUMANOS FRENTE AO *Mycobacterium leprae**

Dértia V. FREIRE-MATA.**

RESUMO: A análise genética do comportamento dos macrófagos face ao *M. leprae* foi discutida, confrontando-se os resultados obtidos com as indicações que favorecem a hipótese de ser a capacidade lisogênica dos macrófagos frente ao *M. leprae* dependente de um componente genético importante. Foi demonstrada a existência de familiaridade do caráter, mas os dados não se conformam com alguns modelos genéticos simples (gene autossômico, dominante ou incompletamente dominante; e gene ligado ao sexo, dominante ou recessivo). Os dados não contrariam a hipótese de a capacidade lisogênica dos macrófagos ser condicionada por um gene principal, autossômico e recessivo, com expressividade variável, mas essa hipótese, por ser muito simplista para explicar a variabilidade existente na capacidade de lise dos diferentes indivíduos, deve ser considerada com reservas.

Palavras chave: Hanseníase. Macrófagos. Genética. *Mycobacterium leprae*.

1 INTRODUÇÃO

Desde há muito tempo se tem discutido a possibilidade de a susceptibilidade à hanseníase depender de um componente hereditário importante¹. Muito embora a associação familiar de uma característica não seja condição suficiente para demonstrar que ela é hereditária, é evidente que ela é condição necessária para tanto. Várias foram as análises familiares realizadas, tanto considerando-se os tipos de hanseníase envolvidos 11. 14 quanto o comportamento dos indivíduos sadios em relação à leprominoreação 7. 11. 12, 14. Além desses estudos, foram realizadas pesquisas sobre

uma eventual associação entre alguns marcadores genéticos e a hanseníase. Entre esses marcadores podem ser mencionados os grupos sanguíneos ABO, MNSs, Rh, K, Js, P, Fy, Jk, Le, Di 9,20,26,27,32,38,39 e as proteínas do soro Hp, Inv, Pi e Gc 1,22,27,33,40

Todos esses trabalhos, no entanto, são inconclusivos e alguns achados contradizem outros. Há também estudos sobre HLA, GLO, Bf 19,30,41.

Serjeantson *et al.*³⁴ fizeram um estudo incluindo grande número de marcadores (ABO, MN, Rh, Gerbich, Hp, DIA, MDH, SOD, LDH, ICD, AK, peptidases A, B, C, PHI, PGK, GOT, ceruloplasminas, hemoglobinas, Tf, Bf, PgM., PgM., GLO, ADA, AcPh, 6PGD

(*) Trabalho dedicado ao Prof. Bernardo Beiguelman com admiração, reconhecimento e amizade.

(**) Departamento de Genética, Universidade Estadual Paulista. 18600 Botucatu, São Paulo

e ESD), concluindo que o modelo de herança multifatorial é superior àquele que leva em conta a existência de um único gene responsável pela susceptibilidade à hanseníase, "embora a evidência para uma herança multigênica não seja conclusiva". Uma ampla revisão do assunto se encontra em Beiguelman⁸.

Diversos autores procuraram demonstrar diferentes tipos de herança para a susceptibilidade à hanseníase, como Beiguelman¹²; Spickett^{36,37}; Morton *et al.*²⁸; Smith³⁵, entre outros. As diferentes hipóteses foram largamente discutidas por Beiguelman^{7,8,11}.

Muito embora se saiba que a hanseníase se manifesta em decorrência de uma infecção pelo *M. leprae*, esses achados citados parecem falar a favor de uma diferença individual em relação ao grau de manifestação da mesma. Na rápida revisão do assunto aqui apresentada foram citados alguns trabalhos realizados com a finalidade de desvendar o mecanismo que controla a susceptibilidade dos indivíduos a desenvolverem a hanseníase.

Um outro aspecto a ser abordado quanto à susceptibilidade dos indivíduos, quando infectados, a apresentarem hanseníase virchowiana ou tuberculóide é através do comportamento dos macrófagos frente ao *M. leprae*.

A capacidade fagocítica de macrófagos humanos *in vitro* frente ao *M. leprae* foi descrita pela primeira vez por Benewolenskaja¹⁶. Mais tarde, Hanks^{23, 24, 25} trabalhou com culturas de tecidos de doentes e demonstrou haver degeneração dos macrófagos e acúmulo dos bacilos nas massas necróticas. Beiguelman^{4,10} observou que, *in vitro*, os macrófagos dos hansenianos fagocitavam os bacilos do *M. leprae* e se comportavam de modo diferente conforme proviessem de indivíduos com hanseníase virchowiana ou tuberculói-

de. Nos primeiros, os bacilos se mantinham aparentemente intactos mesmo após três semanas de incubação, enquanto nos últimos encontrava-se lise bacilar, revelada pela presença de bacilos fragmentados, restos bacilares e coloração tênue.

Conforme a capacidade de lise dos macrófagos, os indivíduos foram classificados em *não-lisadores*, os que não lisam o *M. leprae*, e *lisadores* os que lisam^{4,5,14}. Tanto os lisadores quanto os não-lisadores incluiriam indivíduos com diferentes graus de capacidade de lise" do *M. leprae* ("teoria do limiar de lise", de Beiguelman^{2,3,7,8,10,11})

Delville¹⁸, estudando o comportamento dos macrófagos humanos *in vitro* frente ao *M. leprae*, em não-comunicantes, observou que em todas as culturas havia sinais de digestão bacilar mas que havia marcantes diferenças quantitativas, bem como diferenças no tempo gasto para a digestão. Comentou que parece haver um mecanismo de digestão na célula que é liberado por um fenômeno de limiar. Convit *et al.*¹⁷ observaram que pacientes virchowianos inoculados com *M. leprae* possuíam bacilos íntegros até 120 dias após; alguns, depois de 90 a 120 dias, destruíam os bacilos.

Beiguelman^{7,10} admitiu a possibilidade de ser a capacidade lisogênica dos macrófagos um caráter genético que, em geral, só se expressa clinicamente sob a ação de fatores do meio ambiente.

Considerando-se a possibilidade de ser o comportamento dos macrófagos humanos um caráter genético, propôs-se no presente trabalho a estudar o comportamento dos macrófagos frente ao *M. leprae* em famílias de doentes de hanseníase. Com isso, procurou-se testar a hipótese de ser o comportamento dos macrófagos um caráter familiar e, em caso afirmativo, analisar

também se sua capacidade de lise frente ao *M. leprae* fagocitado poderia ser explicada por uma hipótese genética simples (monogênica).

2 MATERIAL E MÉTODOS

A partir dos arquivos dos Dispensários de Dermatologia Sanitária de Botucatu e de Campinas (Est. de São Paulo), nos quais constava a forma clínica dos doentes de hanseníase, selecionamos 35 famílias caucasóides, nas quais pelo menos um dos cônjuges apresentava um dos tipos polares de hanseníase. Essas famílias deveriam ter também filhos maiores de 12 anos. No total, foram analisadas 176 pessoas.

As 35 famílias estavam assim distribuídas: 11 (31,4%) em que ambos os cônjuges apresentavam hanseníase virchowiana (V x V) ; 14 (40,0%) em que um apresentava hanseníase virchowiana e o outro era sadio (V x S). 4 (11,4%) em que um apresentava hanseníase tuberculóide e o outro hanseníase virchowiana (T x V) e 6 (17,2%) em que um apresentava hanseníase tuberculóide e o outro era sadio (T x S). Entre os casais, um era de primos em 2.º grau (F = 1/32) e o outro em 3.º grau (F = 1/64), o que forneceu uma taxa de consangüinidade de 5,7%. A análise dos grupos sanguíneos revelou dois casos de exclusão de paternidade, os quais foram, por isso, eliminados da amostra.

A determinação dos grupos sanguíneos foi feita com o auxílio de 9 anti-soros (anti-A, anti-B, anti-AB, anti-M, anti-N, anti-D, anti-C, anti-E e anti-c), além do auxílio de provas inversas (caso do sistema ABO) e do teste indireto de Coombs (caso do sistema Rh) .

As culturas de macrófagos, leituras e classificação das lâminas, foram realizadas pela técnica descrita por Freire-Maia 21.

A classificação das formas de hanseníase utilizada foi a recomendada pelo Congresso Internacional de Leprologia (1953, Madrid).

Em resumo, os indivíduos foram classificados como :

Não-lisadores — Numerosos bacilos íntegros intracelulares e ausência de sinais de lise no interior das células. Ausência de células "epitelióides", de gigantócitos, principalmente do tipo Langhans e presença de numerosas massas necróticas com ou sem bacilos íntegros.

Intermediários — Raros bacilos íntegros intracelulares e raros sinais de lise no interior das células. As células epitelióides na maioria das vezes estão ausentes. Os gigantócitos podem estar presentes, sendo mais numerosos no 15.º dia e tornando-se raros no 30.º dia. Ausência de gigantócitos do tipo Langhans e raras massas necróticas.

Lisadores — Ausência de bacilos íntegros intracelulares e numerosos sinais de lise no interior das células. Presença de células "epitelióides" aumentando o número a partir do 20.º dia. Gigantócitos aumentando de freqüência do 15.º ao 30.º dia. Presença dos gigantócitos do tipo Langhans em 50% dos casos. Macrófagos praticamente ausentes a partir do 20.º dia e ausência de massas necróticas.

A averiguação foi feita por seleção completa e a hipótese genética de um gene autossômico recessivo freqüente foi testada através do método de Fischer (cf. Beiguelman¹³).

RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta a distribuição dos casais e seus filhos, segundo o comportamento dos macrófagos frente

ao *M. leprae*, eliminando-se os casais em que um dos cônjuges era falecido e considerando-se apenas os casais nos quais foi possível obter resultados com 20 e 30 dias de inoculação.

Considerando-se o tipo de família, quanto à lise dos bacilos de *M. leprae* foram encontrados oito casais em que

ambos os cônjuges foram considerados como não-lisadores (n x n) ; sete em que um dos cônjuges foi considerado como não-lisador e o outro como intermediário (n x i) ; e dois em que um dos cônjuges foi classificado como intermediário e o outro como lisador (i x l).

TABELA 1 — Distribuição da capacidade de lise dos macrófagos frente ao *M. leprae* nas famílias estudadas.

Família	CASAL		FILHOS				
	Marido	Mulher	n	i	l	dg	nd
1	i(T)	n(S)		2	-	-	-
2	n(T)	i(S)	1	1	-	-	-
3	l(T)	l(S)	-	1	1	-	-
4a	dg(S)	n(T)	-	-	-	2	-
4b	n(T)	dg(S)	-	-	-	1	-
5	dg(S)	n(T)	-	1	-	5	-
6	n(V)	l(S)	-	2	-	-	-
7	n(V)	l(S)	2	-	-	-	-
8	n(V)	i(S)	3	3	3	-	-
9	i(V)	i(S)	5	1	-	-	-
10	i(V)	i(S)	31	2*	-	-	-
11	i(V)	i(S)	1	1	-	-	-
12	n(V)	n(S)	-	1	1	-	-
13	i(V)	n(S)	-	1	2	-	-
14	nd(S)	nd(V)	1	-	-	-	1
15	dg(S)	dg(V)	-	-	-	1	-
16	nd(V)	i(S)	-	2	-	2	-
17	nd(S)	i(V)	3	-	-	-	-
18	dg(S)	dg(V)	-	1	1	-	-
19	n(S)	n(V)	1	1	2	1	-
20	i(T)	dg(V)		1		5***	
21	dg(V)	?(T)	2	3	-	1	-
22	n(V)	n(T)	3	-	-	-	-
23	n(V)	i(T)	1	7	-	-	-
24	n(V)	n(V)	1	1.	-	-	-
25	7(V)	n(V)	2	-	-	-	-
26	n(V)	n(V)	4	-	-	-	-
27	7(V)	7(V)	1	-	-	-	-
28	7(V)	dg(V)	1	1	-	2	-
29	n(V)	n(V)	1	-	-	-	-
30	7(V)	?(V)	1	-	-	1	-
31	n(V)	n(V)	-	-	-	-	-
32	n(V)	?(V)	3	1	-	2	-
33a	7(V)	?(V)	41	-	-	-	-
33b	n(V)	n(V)	2	-	-	-	-

n = não-lisador; i = intermediário; l = lisador; dg = degenerado; nd = não diferenciado; S = sadio; T = hanseníase tuberculóide; V = hanseníase virchowiana.

*1(T); **1(V),1(I); ***(1); §1(V)

Os casais discordantes (n x i) foram agrupados independentemente do sexo do cônjuge não-lisador, uma vez que não há evidência de uma diferença sexual no comportamento dos macrófagos. Dentre os sete casais discordantes (n x i) havia cinco pais e duas mães não-lisadores. Quanto aos dois casais discordantes (i x 1), em ambos a mãe era lisadora.

Os dados (Tabela 2) mostram que, dentre os 18 filhos de casais (n x n), 61,1% eram não-lisadores, 22,2% eram intermediários e 16,7% eram lisadores. Dentre os 28 filhos de casais (n x i), 28,670 eram não-lisadores, 57,170 eram intermediários e 14,3% eram lisadores. Dentre os 5 filhos de casais (i x 1), 2 eram intermediários e 3 eram lisadores.

TABELA 2 — Comportamento dos macrófagos dos filhos, de acordo com as classes de casais*.

CASAIS		FILHOS			
CLASSES	N.º	n	i	1	TOTAL
nxn	8	11	4	3	18
n x i	7	8	16	4	28
i x 1	2	-	2	3	5
TOTAL	17	19	22	10	51

*Incluídos apenas os indivíduos cujo comportamento dos macrófagos pode ser determinado com 20 ou 30 dias de inoculação.

n = não-lisador; i = intermediário; 1 = lisador.

Teste de independência, agrupando-se (i+1); $\chi^2 = 8,24$; g.1. = 2; $0,01 < P < 0,02$.

Os dados mostram que há associação familiar no comportamento dos macrófagos frente ao *M. leprae* nas famílias analisadas. Assim, as frequências de filhos não-lisadores entre os casais (i x 1), (n x i) e (n x n) foram, respectivamente, de 0, 28,6% e 61,1%. Reunindo os intermediários aos lisadores (i+1), demonstra-se, por intermédio de um teste de independência, a existência de familiaridade do caráter. Analisando-se apenas os casais com um ou ambos os cônjuges não-lisadores (isto é, n x i e n x n), e agrupando-se os intermediários e lisadores (i + 1) em uma única classe, as diferenças constatadas também se mostram significativas ($X^2 = 4,80$; g. 1. — 1; $0,02 < P < 0,05$).

Apesar de esses fatos demonstrarem familiaridade, é claro que ela pode ser ou não o resultado de uma causa genética. A análise será feita no sentido de se procurar determinar esse possível fator genético, admitindo-se a hipótese de ser o caráter lisador (i + 1) condicionado por um gene principal, autossômico e recessivo, e que os indivíduos não-lisadores tenham, pelo menos, um alelo dominante.

Admitindo-se que a subamostra de pais sadios seja representativa da população geral, a frequência populacional de indivíduos não-lisadores seria igual a 40%, havendo 40% de intermediários e 20% de lisadores. No entanto, considerando-se que essa subamostra é muito pequena (n = 10), é

preferível usarem-se as estimativas obtidas por Pisani *et al.*²⁹ em uma amostra de 57 comunicantes e não-comunicantes, entre os quais foi encontrada uma freqüência de cerca de 70% de indivíduos 1-0 e 1-1 (os quais correspondem aproximadamente aos nossos lisadores + intermediários).

A freqüência de lisadores e intermediários, segundo a hipótese de que eles sejam recessivos, é pois igual a $q^2 = 70\%$. Portanto, $q = 83,67\%$ e $p = 16,33\%$. Aplicando-se os valores obtidos às fórmulas de Fisher, verifica-se que o número esperado de casais Dominante x Dominante sem filhos lisadores é igual a 5,03, sendo pois o número esperado de casais com filhos lisadores igual a 2,97 (ou seja, $8 - 5,03$). Por

outro lado, entre os casais Dominante x Recessivo, o número esperado de casais sem filhos lisadores é igual a 1,66 e o número esperado com lisadores é igual a 5,34 (isto é, $7 - 1,66$). Comparando-se os números obtidos com os esperados, verifica-se que as diferenças não são estatisticamente significativas ($X^2 = 0,57$; $g. l. = 1,0$; $0,50 < P < 0,70$, para os casais Dominante x Dominante; $X^2 = 0,36$; $g. l. = 1$; $0,30 < P < 0,50$, para os casais Dominante x Recessivo; e $X^2 = 0,93$; $g. l. = 2$; $0,50 < P < 0,70$, para a soma).

A Tabela 3 reúne os dados relativos a 14 famílias, nas quais só se observam casais em que um dos cônjuges, pelo menos, apresenta fenótipo recessivo.

TABELA 3 — Distribuição dos fenótipos supostamente recessivos (lisador e intermediário) dominante (não-lisador) em 14 famílias.

CASAI	Tamanho da irmandade (s)	N.º de irmandades (N _s)	N.º DE IRMANDADES	
			Sem lisadores	Com lisadores
Não-lisador	1	3	2	1
x	2	2	-	2
	3	1	1	-
Não-lisador	4	2	1	1
TOTAL		8	4	4
Não-lisador	2	4	1	3
	3	1	-	1
x	8	1	-	1
(Lisador + intermediário)	9	1	-	1
TOTAL		7	1	6

4 DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

As situações que favorecem a hipótese de ser genética a capacidade lisogênica dos macrófagos frente ao *M. leprae* podem ser assim sumariadas, de acordo com Beiguelman^{7,11}.

- Os tipos polares de hanseníase mostram associação familiar.
- A concentração de hansenianos em irmandades não é casual, mesmo em populações com alta prevalência de hanseníase.

- c) Os consangüíneos de pacientes virchowianos têm maior risco de contrair hanseníase virchowiana do que os não-consangüíneos desses doentes.
- d) Os estudos de gêmeos sugerem que os pares monozigóticos são mais concordantes do que os dizigóticos no concernente às formas de hanseníase.
- e) A associação familiar da reação de Mitsuda foi plenamente demonstrada.
- f) A proporção de reação de Mitsuda forte, após calmetização, é significativamente menor em filhos de virchowianos do que em filhos de sadios.
- g) A incapacidade lisogênica em relação ao *M. leprae* apresentada pelos macrófagos dos doentes virchowianos parece ser específica.
- h) Não é possível a transformação de um indivíduo que reage à inoculação de *M. leprae* desenvolvendo um infiltrado onde predominam células de Virchow, em um que produz um granuloma tuberculóide e vice-versa.
- i) Alguns comunicantes de hanseníase são permanentemente incapazes de reagir positivamente ao teste de Mitsuda, mesmo quando submetidos à vacinação com BCG e inoculações repetidas de lepromina. Em contraste, outros, mesmo em tenra infância, respondem positivamente à lepromina sem sensibilização demonstrável por *M. leprae* ou *M. tuberculosis*.

Numa tentativa de se analisar geneticamente a associação familiar encontrada no presente trabalho em relação ao comportamento dos macrófagos face ao *M. leprae*, algumas ponderações podem ser feitas a respeito de algumas hipóteses genéticas simples:

— Quer quando se analisam os heredogramas, quer quando se compara o comportamento dos macrófagos nos dois sexos, não há nenhuma indicação de que esteja em ação um gene ligado ao sexo.

— No caso de herança autossômica, poder-se-ia pensar na possibilidade de o caráter não-lisador ser condicionado por um gene recessivo. Observando-se os dados (Tabela 2), pode-se logo descartar essa hipótese, pois dentre os casais $n \times n$, os quais deveriam ter apenas filhos não-lisadores, foram encontrados 39% (7/18) de filhos lisadores e intermediários.

— Outra hipótese genética simples é que o caráter lisador fosse recessivo, e o intermediário fosse heterozigoto. Admitindo-se essa hipótese, os casais ($i \times 1$) deveriam ter filhos na proporção de $1 : 1 : 0$ para lisador, intermediário e não-lisador, respectivamente, e tiveram $3 : 3 : 5$; os casais ($i \times n$) deveriam ter $0 : 1 : 1$ e tiveram $4 : 16 : 8$; e finalmente, os casais ($n \times n$) deveriam ter $0 : 0 : 1$ e tiveram $3 : 4 : 12$. Portanto, essa hipótese também não pode ser aceita, a despeito de os casais ($i \times i$) terem mostrado distribuição ($1 : 2 : 3$) que não difere flagrantemente do esperado ($1 : 2 : 1$).

— Uma quarta hipótese genética simples, testada no presente trabalho, seria a de que o caráter lisador ($i + 1$) fosse devido a um gene autossômico recessivo, diferenciando-se do não-lisador (dominante). Como se viu, essa hipótese, condicionada à ressalva de tratar-se de um gene principal com expressividade variável, não pôde ser rejeitada.

A evidência a favor da 4^a hipótese, no entanto, é tênue. Deve-se lembrar, por exemplo, o fato de não ter sido detectada nenhuma família em que ambos os cônjuges fossem lisadores

(1). Esses casais são de grande importância na análise do problema, pois, independentemente de suposições básicas, tal como equilíbrio populacional, eles deveriam ter exclusivamente filhos lisadores, se fosse verdadeira a hipótese. No entanto, classificando-se o comportamento dos macrófagos em cinco tipos, observam-se 1 casal (il x il) e 1 casal (il x 11), os quais tiveram três filhos il e dois 11 (ou seja, os 5 filhos desses casais comportaram-se como il ou 11, nenhum deles sendo não-lisador). Esse resultado favoreceria a hipótese.

Agradecimentos

A autora é muito grata ao Prof. Bernardo Beiguelman, da Faculdade de Medicina da UNICAMP, pelas valiosas orientações e colaboração prestadas nas fases de planejamento, coleta e análise dos dados; ao Dr. Walter Pinto Júnior, também da UNICAMP e ao Sr. Pedro G. Faulin, da UFSCar, pela colaboração prestada na fase de coleta de dados; e aos Profs. Beiguelman e Ademar Freire - Maia, da UNESP, pela leitura

Em conclusão, os resultados deste trabalho não contrariam a hipótese de que o caráter lisador (forte ou fraco) seja condicionado por um alelo principal, autossômico e recessivo, com expressividade variável. Está claro, porém, que tais resultados não devem ser considerados, no momento, como provando esta hipótese simplista. Assim, até que mais dados pertinentes ao problema se acumulem, não se pode excluir a possibilidade de o comportamento dos macrófagos ser um caráter poligênico, eventualmente dependente de interação com fatores ambientais.

crítica do manuscrito. A autora, naturalmente, é a única responsável pelos resultados e conceitos aqui apresentados.

O projeto de pesquisa, do qual o presente trabalho é parte, foi patrocinado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Procs. n.ºs 66/449, 67/157, 69/932).

ABSTRACT — The lysogenic capacity of human macrophages facing *M. leprae* *in vitro* may be dependent on an important genetic component. Although the family aggregation of the trait is demonstrated, this is a necessary but not sufficient condition to prove genetic influence. The data do not fit some simple genetic models (autosomal dominant or incompletely dominant gene; dominant or recessive sex-linked gene). The results obtained are consistent with the hypothesis that the macrophages' lysogenic capacity is mainly due to a major gene with variable expressivity. This hypothesis may be too simple to account for the whole variability detected and therefore must be considered just as a working hypothesis.

Key words: Hanseniasis. Macrophages. Genetics. *Mycobacterium leprae*.

REFERENCIAS

- 1 ANANTHAKRISHNAN, R.; WALTER, H.; KELLERMANN, G.; MATZNETTER, T. Further studies on associations between leprosy and genetic markers in human serum. *Hum. Genet.*, 19:183-192, 1973.
- 2 BEIGUELMAN, B. An appraisal of genetic studies on leprosy. *Acta Genet. Med. Gemellol.*, 21 :21-52, 1972.
- 3 BEIGUELMAN, B. *Dinâmica dos genes nas populações e nas famílias*. São Paulo, Edart, 1968. 212p.
- 4 BEIGUELMAN, B. Further results on the genetics of leprosy resistance. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF HUMAN GENETICS, 3., Chicago, 1966. *Abstracts of Contributed Papers*. Chicago, 1966. p.6-7.

- 5 BEIGUELMAN, B. Genética e epidemiologia das doenças transmissíveis com especial referência à lepra. *Cien. Cult.*, 17(4) :449-460, 1965.
- 6 BEIGUELMAN, B. The genetics of resistance to leprosy. *Int. J. Lepr.*, 33 (4) :808-812, 1965.
- 7 BEIGUELMAN, B. Hereditariedade da reação de Mitsuda. *Rev. Bras. Leprol.*, 30(4) :153-172, 1962.
- 8 BEIGUELMAN, B. *Hereditariedade e lepra*. São Paulo, 1969. n.p. [Tese — Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto]
- 9 BEIGUELMAN, B. Lepra e genética. *Cien. Cult.*, 34:1121-1146, 1982.
- 10 BEIGUELMAN, B. Lepromin reaction: genetics studies including twin pair analysis. *Acta Leprol.*, (44) :5-65, 1971.
- 11 BEIGUELMAN, B. Leprosy and genetics: a review of past research with remarks concerning future investigations. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 87: 461-476, 1967.
- 12 BEIGUELMAN, B. Sistema ABO e epidemiologia da lepra. *Rev. Paul. Med.*, 65(2) :80-86, 1964.
- 13 BEIGUELMAN, B. Some remarks on the genetics of leprosy resistance. *Acta Genet. Med. Gemellol.*, 17(4) : 584-594, 1968.
- 14 BEIGUELMAN, B.; DALL'AGLIO, F.F.; SILVA, E. Estudo das formas polares de lepra pela análise de pares de irmãos. *Rev. Paul. Med.*, 72(3): 111-119, 1968.
- 15 BEIGUELMAN, B. & QUAGLIATO, R. Nature and familial character of the lepromin reactions. *Int. J. Lepr.*, 33 (4) :800-807, 1965.
- 16 BENEWOLENSKAJA, S.W. Ober die in-vitro-Reaktion der embryonalen Gewebe und Leukocyten des Menschen auf Leprabacillen. *Arch. Exper. Zellforsch.*, 13:37-46, 1932.
- 17 CONVIT, J.; ARANZAZU, N.; PINARDI, M.; ULRICH, M. Immunological changes observed in determinate and lepromatous leprosy patients and Mitsuda-negative contacts after the inoculation of a mixture of *Mycobacterium leprae* and BCG. *Clin. Exp. Immunol.*, 86(2) :214-220, 1979.
- 18 DELVILLE, J. *In vitro* behavior of macrophages from healthy persons against *M. leprae* and other mycobacteria. *Int. J. Lepr.*, 39:329-339, 1971.
- 19 DE VRIES, R.R.P.; FAT, R.F.M.L.A.; NIJENHUIS, L.E.; VAN ROOD, J.J. HLA-linked genetic control of host response to *Mycobacterium leprae*. *Lancet*, 2:1328-1330, 1976.
- 20 FAYE, I.; RUSHER, H.; TSALA, M.P.; BLOC, G. Lèpre at groupe sanguin à Dakar. *Bull. Soc. Méd. Afr. Noire Langue Franc.*, 16(4) :551-553, 1971.
- 21 FREIRE-MAIA, D.V. Comportamento *in vitro* dos macrófagos humanos frente ao *M. leprae*. Estudo em pessoas saudáveis e pacientes com Hanseníase virchowiana e tuberculóide. *Hansen. Int.*, 8 (2) :81-90, 1983.
- 22 GOEDDE, H.W.; BENKMANN, H.G.; HIRTH, L.; ROHDE, R.; ROUGE-MONT, A.; DELBRUCK, H. Phenotypes of Gc and Tf in leprosy patients of Mali and Ethiopia. *Hum. Hered.*, 24:383-386, 1975.
- 23 HANKS, J.H. The fate of leprosy bacilli in fibroblasts cultivated from lepromatous lesions. *Int. J. Lepr.*, 15: 48-64, 1947.
- 24 HANKS, J.H. The fate of leprosy bacilli in fibroblasts cultivated from macular and tuberculoid lesions. *Int. J. Lepr.*, 15(1) :31-47, 1947.
- 25 HANKS, J.H. A study of the bacilli in tissue cultures of lepromata in serum media. *Int. J. Lepr.*, 15(1) :21-30, 1947.
- 26 LANGUILLON, J.; LINHARD, J.; DIEBOLT, G. Groupes sanguins: hémoglobines anormales et lèpre. *Bull. Soc. Méd. Afr. Noire Langue Franc.*, 16(4) :581-584, 1971.
- 27 LECHAT, M.F.; BIAS, W.B.; GUINTO, R.S.; COHEN, B.H.; TOLENTINO, J.G.; ABALOS, R.M. A study of various blood group systems in leprosy patients and controls in Cebu, Philippines. *Int. J. Lepr.*, 36(1) : 17-31, 1968.
- 28 MORTON, N.E.; LEW, R.; HUSSELS, I.E.; LITTLE, G.F. Pingelap and Mokie Atolls: historical genetics. *Amer. J. Hum.-Genet.*, 24:277-289, 1972.

- 29 PISANI, R.C.B.; BEIGUELMAN, B.; OPROMOLLA, D.V.A. *In vitro* behavior of blood derived macrophages against killed *M. leprae*. *Int. J. Lepr.*, 41(1):14-24, 1973.
- 30 REA, T.H. & TERESAK, P.I. HLA-DR antigens in tuberculoid and lepromatous leprosy. *Lepr. Rev.*, 51(2) :117-123, 1980.
- 31 ROTBERG, A. Some aspects of immunity in leprosy and their importance in epidemiology, pathogenesis and classification of forms of the disease. Based on 1529 lepromin-tested cases. *Rev. Bras. Leprol.*, 5(n. esp.) :45-97, 1937.
- 32 SALZANO, F.M.; SURE, M.V.; FERLAUTO, M. New studies on the relationship between blood groups and leprosy. *Acta Genet. (Basel)*, 17:530-544, 1967.
- 33 SCHWANTES, A.R.; SALZANO, F.M.; CASTRO, I.V.; TONDO, C.V. Haptoglobins and leprosy. *Acta Genet. (Basel)*, 17:127-136, 1967.
- 34 SERJEANTSON, S.; WILSON, S.R.; KEATS, B.J.B. The genetics of leprosy. *Ann. Hum. Biol.*, 6:375-393, 1979.
- 35 SMITH, D.G. The genetics hypothesis for susceptibility to lepromatous leprosy. *Hum. Genet.*, 50(2) :163-177, 1979.
- 36 SPICKETT, S.G. Genetics and the epidemiology of leprosy. I. The incidence of leprosy. *Lepr. Rev.*, 33(2):76-93, 1962.
- 37 SPICKETT, S.G. Genetics and the epidemiology of leprosy. II. The form of leprosy. *Lepr. Rev.*, 34(3) :173-181, 1962.
- 38 SPIELMANN, W.; TEIXIDOR, D.; RENNINGER, W.; MATZNETTER, T. Blutgruppen and Lepra bei Moçambiquanischen Volkerschaften. *Human genetik*, 10(4):304-317, 1970.
- 39 VOGEL, T. ABO blood groups and leprosy. *J. Med. Genet.*, 5:56-57, 1968.
- 40 WALTER, H.; BAJATZADEH, M.; KELLERMANN, G.; MATZNETTER, T. Associations between leprosy and serum protein groups. *Humangenetik*, 10:298-303, 1970.
- 41 YOUNGCHAIYUD, U.; CHANDANA-YINGYONG, D.; VIBHATAVAN IJA, T. The incidence of HLA antigens in leprosy. *Vox Sang.*, 32(6): 342-345, 1977.