

# Lipídeos na pele de ratos com lepra murina (\*)

Por

Gilberto G. Villela e Hermínio Linhares

Não tendo sido feitas, a nosso conhecimento, verificações sobre a constituição da pele de rato infetado com lepra murina, causada por um bacilo ácido álcool resistente (bacilo de Stefansky — *Mycobacterium leprae muris*) procuramos averiguar se o tumor subcutâneo encerra lipóides bi-refringentes, colesterol e lípides totais em maior percentagem do que na pele do rato normal.

Os lipóides bi-refringentes foram assinalados na lepra humana por Cedercreutz (1) em cortes de leproma, feitos por congelação e fechados com glicerina, líquido isótropo; processos microquímicos e técnicas de coloração especial foram por ele feitos para melhores conclusões.

Esse achado porem não foi confirmado por Herxheimer (2) que, no seu clássico trabalho sobre a célula leprosa, diz não ter observado dupla refração após examinar muitos cortes e fragmentos, inclusive de órgãos internos, ainda mesmo empregando a prova do ácido sulfúrico de Versé, não se tratando pois de um ester puro do colesterol.

Um de nós (G. V.) em conjunto com Hildebrando Portugal também não encontrou lipóides bi-refringentes em tecidos lepromatosos examinados com luz polarizada (3).

Em diversos cortes de oito tumores de ratos com lepra murina procuramos verificar se apresentavam corpúsculos birefringentes. Os animais haviam sido inoculados por via subcutânea na região axilar direita com 1 cc. de emulsão de tumores de lepra murina, provenientes de ratos naturalmente infectados na cidade do Rio de Janeiro. No momento de serem sacrificados, seis a sete meses depois de infectados, havia no local da inoculação grandes tumores riquíssimos em bacilos ácido álcool resistentes; esses granulomas foram extirpados, fixados em formol a 10% e feitos cortes histológicos com micrótomo de congelação para serem examinados entre lâmina e laminula, tendo como

---

\* Recebido para publicação a 21 de outubro de 1942 e dado à publicidade em fevereiro de 1943.

líquido intermediário o xarope de Apathy. O exame foi feito com o microscópio Zeiss (aumento 400) tendo se colocado o sistema de polarização (Nicol analisador e polarizador).

Os lipóides bi-refringentes apresentam-se com a forma de cruz de Malta. A propriedade de dupla refração se percebe quando se pratica a rotação do prisma analisador colocado na ocular, que desaparece quando o analisador volta à posição primitiva. A observação foi feita com luz intensa (lâmpada Zeiss Punktlicht), porque a forte luminosidade facilita muito o exame, sobretudo quando os grãos são anisotropos.

Em nenhum dos casos examinados foi possível evidenciar lipóides birefringentes pelo exame micropolariscópico.

Procuramos igualmente verificar se o colesterol dos tumores estava aumentado em relação à pele normal do animal. As dosagens foram feitas com a técnica que se segue:

Pesou-se uma grama de material que se triturou cuidadosamente e se colocou em balão de Erlenmeyer de 100 cc. Adicionaram-se 10 cc. de potassa alcoólica a 40% recentemente preparada e mais 10 cc. de álcool absoluto. Deixou-se no banho maria durante três horas, com um tubo servindo de condensador de refluxo. O material do balão, depois de frio, foi passado para um funil de separação onde se extraiu com eter (três porções de 20 cc.). A camada etérea depois de separada foi lavada com água destilada até não ter mais reação alcalina. O eter depois de lavado foi seco com sulfato de sódio anidro e evaporado, em cápsula de vidro de Iena, em banho maria a 37°. O resíduo depois de seco foi retomado por 5 cc. de clorofórmio, seco e este tratado por 2 cc. de anidrido acético e 0,1 cc. de ácido sulfúrico. A leitura da cor foi observada depois de 15 minutos no fotômetro gradual de Pulfrich, usando-se o filtro 561 e a cuba de 2,5 mm. A leitura foi multiplicada pelo fator 364 e depois por 100, para se obter o resultado em miligramas para 100 gramas úmidas.

Os resultados obtidos mostraram que o tumor contém mais colesterol do que a pele normal. Entretanto, determinando-se o teor em água da pele e do tumor, verifica-se que a primeira contém uma percentagem maior de água, de modo que, referindo-se o colesterol para o material, vai-se encontrar valores quase iguais para a pele e o tumor.

DOSAGEM DO COLESTEROL EM 100 GRS. DE TECIDO DE RATOS  
NORMAIS E COM LEPRO MURINA

TECIDO	COLESTEROL EM MGR. PARA 100 GRS.	
	Úmido	Seco
Pele .....	285	1425
Tumor .....	360	1440

No que diz respeito aos lipídeos totais, o mesmo fato foi possível observar. Os valores para a pele e o tumor são pouco maiores para este último, referindo-se em gramas de tecido seco. Esta pequena diferença não nos parece contudo significativa. A técnica usada foi da pesagem do resíduo total após a extração repetida com álcool eter.

DOSAGEM DOS LIPÍDEOS TOTAIS EM 100 GRS. DE TECIDO DE RATOS NORMAIS E COM LEPPA MURINA

TECIDO	LIPÍDEOS TOTAIS EM MGR. PARA 100 GRS	
	Úmido	Seco
Pele.....	495	2475
Tumor.....	582	2677

SUMÁRIO

Os exames micropolariscópicos de cortes de tumores de ratos com lepra murina, não evidenciaram lipídeos birefringentes.

Os resultados obtidos na dosagem do colesterol na pele normal de ratos e nos tumores subcutâneos, mostraram valores quase iguais após a correção do teor em água dos tecidos. Sem esta correção, o tumor contém mais colesterol que a pele normal.

Os lipídeos totais tem valores pouco maiores para o tumor do que para a pele normal, mesmo referindo-se em gramas de tecido sêco. Esta pequena diferença não parece contudo significativa.

ABSTRACT

*Skin lipids of the rat infected by "Mycobacterium leprae muris"*

The AA, were unable to find by micropolariscopic examination the presence of anisotropic lipoids in the tumor of the subcutaneous tissue of the rat infected by Stefansky bacilli.

Cholesterol determinations in normal skin of the rat and of the tissues (tumor) of infected rats showed slight increased values for the later. However, when the water content is considered and the values represented as dry tissue only slight differences are obtained. Total lipids values for the infected skin are higher than for the normal skin but almost the same values are obtained when calculated as dry tissue.

## BIBLIOGRAFIA

1. CEDERCREUTZ, A.  
1920. Leprastudien, angeschlossen an einige neue histologische Beobachtungen bei Lepra tuberosa. Arch. Dermat. u. Syph., 128: 20.
  2. HERXHEIMER, G.  
1923. Über die Leprazellen. Virchows Arch. path. Anat., 245: 403.
  3. VILLEIA, G. G.  
1939. Aspectos da Bioquímica da Lepra. Rev. Brasileira Leprol., 7: (2) 27.
-