



EXPLORAÇÃO FUNCIONAL DA TIREÓIDE EM CHAGÁSICOS

*JULIO KIEFFER, DOMINGOS LOMONACO, RÔMULO RIBEIRO PIE-
RONI e HELIO LOURENÇO DE OLIVEIRA*

Publicação I E A N.º **70**
1963

INSTITUTO DE ENERGIA ATÔMICA
Caixa Postal 11049 (Pinheiros)
CIDADE UNIVERSITÁRIA "ARMANDO DE SALLES OLIVEIRA"
SÃO PAULO, 9 — SP. — BRASIL

EXPLORAÇÃO FUNCIONAL DE TIREÓIDE EM CHAGÁSICOS

Julio Kieffer, Domingos Lomonaco,
Rômulo Ribeiro Pieroni e Helio Lourenço de Oliveira

Divisão de Radiobiologia do IEA
e
Departamento de Clínica Médica da
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

PUBLICAÇÃO IEA Nº 70

Reprint from : "4th Inter-American Symposium on the Peaceful
Application of Nuclear Energy"
April-1962 - Mexico City

Comissão Nacional de Energia Nuclear

Presidente: Prof. Marcello Damy de Souza Santos

Universidade de São Paulo

Reitor: Prof. Luiz Antonio da Gama e Silva

Instituto de Energia Atômica

Diretor: Prof. Rômulo Ribeiro Pieroni

Conselho Técnico Científico do IEA

Prof. José Moura Gonçalves

Prof. Francisco João Humberto Maffei

} pela USP

Prof. Rui Ribeiro Franco

Prof. Theodoreto H. I. de Arruda Souto

} pela CNEN

Divisões Didático-Científicas:

Div. de Física Nuclear: Prof. Marcello D.S. Santos

Div. de Física de Reatores: Prof. Paulo Saraiva de Toledo

Div. de Engenharia Nuclear: Prof. Luiz Cintra do Prado

Div. de Radioquímica: Prof. Fausto Walter de Lima

Div. de Radiobiologia: Prof. Rômulo Ribeiro Pieroni

Div. de Metalurgia Nuclear: Prof. Tharcisio D. Souza Santos

Div. de Engenharia Química: Prof. Pawel Krumholz

EXPLORAÇÃO FUNCIONAL DA TIREÓIDE EM CHAGÁSICOS

JULIO KIEFFER, DOMINGOS LOMONACO,
RÔMULO RIBEIRO PIERONI E HELIO LOURENÇO DE OLIVEIRA
INSTITUTO DE ENERGIA ATÔMICA E
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA DA FACULDADE DE
MEDICINA DE RIBEIRÃO PRÊTO DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO
SÃO PAULO, BRASIL

Abstract

Functional exploration of the thyroid in persons suffering from Chagas' disease. Taking advantage of the existence of a population group fully studied with regard to the epidemiology of Chagas' disease, in Vila de Coqueiros, São Paulo State, Brazil, studies were made of certain parameters of the thyroid function for the purpose of better defining the eventual condition of malfunctioning of the gland in this disease, which has long been held to be responsible for thyroid disorders.

The human material consisted of a control group and a group of carriers with positive Machado-Guerreiro reaction and other indications of Chagas' disease, including both children and adults of both sexes.

The following routine tests were made: capture of radioactive iodine in 6 and 24 hours, plasmatic radioiodoproteinemia (PBI¹³¹) and plasmatic iodoproteinemia (PBI¹²⁷). The tests were repeated, in a statistically significant group, after administration of thyrotrophic hormone in a dosis of 5 to 15 U.S.P. units.

The results confirmed previous pilot data to the effect that the measurements of capture and of plasmatic iodoproteinemia would be lower than the measurements made on individuals in the control group. The difference is statistically significant. Following the administration of exogenous TSH the capture values significantly increased, and liberation of hormone was appreciable.

In view of the results obtained, the authors are of the opinion that, as a first approximation, the functional thyroid deficit frequently occurring in a high percentage of persons suffering from Chagas' disease may be interpreted as being due to diminished hypophyseal stimulation.

Further research is under way, particularly directed toward the possibility of showing hypothalamic-hypophyseal anatomic lesions that could be held responsible for the laboratory findings.

Resumen

Exploración funcional del tiroides en personas afectadas por la enfermedad de Chagas. Aprovechando la existencia, en la Vila de Coqueiros, Estado de São Paulo, Brasil, de un núcleo de población ampliamente estudiado desde el punto de vista epidemiológico de la enfermedad de Chagas, procediose a realizar estudios de algunos parámetros de la función tiroidea con el objeto de definir mejor el estado eventual de disfunción de la glándula en esta enfermedad, que desde hace mucho tiempo se tiene por responsable de los trastornos tiroideos.

El material humano estuvo integrado por un grupo-testigo y por uno de portadores de reacción positiva Machado-Guerreiro y otras manifestaciones de la enfermedad de Chagas, incluyendo los dos grupos niños y adultos de ambos sexos.

Se efectuaron las siguientes pruebas de rutina: captación de yodo radiactivo en las horas 6^a y 24^a, radioiodoproteinemia plasmática (PBI¹³¹) y iodoproteinemia plasmática (PBI¹²⁷). Las pruebas se repitieron en un grupo estadísticamente significativo después de la administración de una hormona tireotrófica en dosis de 5 a 15 U.S.P. unidades.

Los resultados confirmaron datos pilotos anteriores en el sentido de que las medidas de captación y de iodoproteinemia plasmática son inferiores a las medidas verificadas en individuos del grupo-testigo. La dife-

rencia es estadísticamente significativa. Después de la administración de TSH exógeno, los valores de captación aumentaron considerablemente, y la liberación hormonal fue apreciable.

Ante los resultados encontrados, los autores opinan que, a primera vista, el déficit funcional tiroideo, frecuente en un alto porcentaje de pacientes de la enfermedad de Chagas, puede interpretarse como resultado de un estímulo hipofisario disminuido.

Se están realizando en la actualidad otras investigaciones orientadas especialmente hacia la posibilidad de demostrar lesiones anatómicas hipotálamo-hipofisarias a las que puedan atribuirse los hallazgos de laboratorio.

Resumo

Exploração funcional da tireóide em chagásicos. Valendo-se da existência, na Vila de Coqueiros, Estado de São Paulo, Brasil, de um núcleo populacional amplamente estudado do ponto de vista epidemiológico da moléstia de Chagas, procedeu-se aos estudos de alguns parâmetros de função tireoidiana com o objetivo de melhor caracterizar o eventual estado de disfunção da glândula, nesta moléstia, de há muito tida como responsável por distúrbios tireoidianos.

O material humano constou de um grupo de referência e de portadores de reação Machado-Guerreiro positiva e de outras manifestações da moléstia de Chagas, distribuídos entre crianças e adultos de ambos os sexos.

Como provas de rotina foram realizadas: Captação de radioiodo na 6ª e 24ª horas, radioiodoproteinemia plasmática (PBI²⁶¹) e iodoproteinemia plasmática (PBI²⁷). Em grupo estatisticamente significativo foram repetidas as provas após administração de hormônio tireotrófico na dose de 5 a 15 U.S.P. unidades.

Os resultados confirmaram dados pilotes anteriores, no sentido de serem as médias de captação e de iodoproteinemia plasmática inferiores às médias verificadas em indivíduos do grupo-contrôle. A diferença é estatisticamente significativa. Após a administração de TSH exógeno, os valores de captação sofreram incrementos significativos, do mesmo modo que a liberação hormonal foi apreciável.

Em face dos resultados encontrados os autores são de opinião que, em primeira aproximação, o déficit funcional tireoidiano, freqüente em alta percentagem dos chagásicos, pode ser interpretado na dependência de um diminuído estímulo hipofisário.

Ulteriores pesquisas estão em curso, especialmente orientadas no sentido de permitir demonstrar lesões anatómicas hipotálamo-hipofisárias que possam ser responsabilizadas pelos achados laboratoriais.

Desde as descrições iniciais de Carlos Chagas⁽¹⁻⁹⁾ foram invocados distúrbios da função tireoidiana em portadores da forma de tripanossomose que se passou a denominar de mal de Chagas.

Numerosos autores, que após Chagas se interessaram pelo assunto,⁽⁷⁾ voltaram a fazer referências ao que era classificado como um quadro de tireoidite, que, no entanto, não era melhor identificado ou comprovado por qualquer prova laboratorial. Ficava assim a idéia de que a glândula tireóide desempenhava ou podia desempenhar um papel na complexa e multifária sintomatologia desta moléstia, especialmente em sua fase crônica, de verdadeira patia chagásica.

Com o objetivo de verificar o eventual comprometimento da função tireoidiana nos chagásicos crônicos, foi realizada esta investigação, cujos resultados preliminares desejamos comunicar, mau grado continuarem os estudos em pleno desenvolvimento.

A tanto fomos levados, não somente pelo desejo de verificar a antiga suspeita, mas, e principalmente, pelo fato de terem-se verificado (Lomonaco, resultados não publicados), em um grupo de pacientes chagásicos

crônicos, hospitalizados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, São Paulo, por motivos vários (cardiopatia chagásica, megas diversos e razões outras), valores da iodoproteinemia plasmática menores que o limite inferior de normalidade 95% com freqüência maior que a esperável em uma população não selecionada.

Este grupo de observações iniciais, totalizando 62 casos, acusou uma incidência de 34% de tais valores, menores do que o limite inferior da normalidade 95%. Valores de iodoproteinemia plasmática entre 2 e 3 microgramas foram numerosos. Nestes pacientes, no entanto, não foi possível encontrar, clinicamente, manifestações que justificassem o achado laboratorial.

Com este objetivo, concebeu-se o estudo de alguns parâmetros da função tireoidiana numa população onde o mal de Chagas fôsse endêmico, possivelmente em região coincidente com aquela que provavelmente forneceu o grupo observado no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto.

Preocupação inicial foi encontrar um grupo de pacientes portadores do mal de Chagas que pudesse ser

confrontado com um grupo de referência que permitisse atestar, na medida do possível, toda e qualquer outra variável capaz de interferir na apreciação dos parâmetros da função tireoidiana escolhidos para este fim. Para tanto, escolheu-se a população de Cássia dos Coqueiros, pequeno município situado na zona norte do Estado de São Paulo, na mesma área endêmica de Ribeirão Preto. Acresce que esta população está sob observação da cadeira de Medicina Preventiva da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto há cerca de 15 anos, tendo-se demonstrado bastante estável em sua composição, pois que se trata de local fora das rotas normais de tráfego e de pequeno desenvolvimento econômico. Além disso, graças aos levantamentos epidemiológicos anteriormente realizados e às medidas de erradicação dos triatomídeos levadas a efeito no município, os portadores do mal são pacientes crônicos, com pelo menos 10 anos de reação sorológica positiva comprovada.

As amostras de chagásicos e não chagásicos não puderam obedecer a condições de rigidez de causação em face das dificuldades inerentes a um trabalho realizado em meio predominantemente rural; foram assim incluídos os indivíduos que voluntariamente, ou atendendo a certas medidas de persuasão, concordaram em submeter-se às provas. Isto explica a disparidade entre o tamanho dos dois grupos.

Provas realizadas e métodos empregados

No grupo em estudo foram realizadas com caráter sistemático as provas seguintes:

- a) *Reação de Machado-Guerreiro*, executada segundo a técnica descrita por Freitas.⁽⁸⁾ Segundo o autor, a prova, tal como é executada, apresenta índice de positividade da ordem de 95% nos indivíduos portadores do mal de Chagas. A prova não fornece resultados falsos positivos, mas pode, ocasionalmente, apresentar alguns falsos negativos.
- b) *Captação de radioiodo* (¹³¹I), com medida na 24ª hora, expressa em percentagem da dose administrada. Foi utilizada técnica dentro dos padrões recentemente sugeridos pela Agência Internacional de Energia Atômica. Nas contagens totalizaram-se valores que permitissem uma precisão de medida dentro de 3%.
- c) *Determinação da iodoproteinemia plasmática* (PBI¹²⁷), pela técnica de Barcker⁽⁹⁾ modificada por Nicolau.⁽¹⁰⁾ A colheita do material foi feita simultaneamente com a do PBI¹³¹. Os valores

são expressos em microgramas por 100 ml de plasma.

- d) *Determinação da radioiodoproteinemia plasmática* (PBI¹³¹), na 48ª hora da administração da dose traçadora de ¹³¹I. A técnica empregada foi a da absorção do iôdo livre em resina de troca iônica.

Como provas complementares, realizadas em menor número de casos, e visando a obter outras informações relativas à função tireoidiana, foram realizadas mais as provas seguintes:

- e) *Prova de depressão com T₃*. Após administração de 100 microgramas de triiodotironina diárias, durante 10 dias, determinou-se a captação de radioiodo. A prova foi realizada naqueles indivíduos que apresentaram valores de captação acima de 45%.
- f) *Prova de estímulo tireoidiano com tireotrofina* (TSH). Após administração de 10 U.S.P. unidades de TSH, seguiu-se, em função de tempo, a captação do radioiodo e a iodoproteinemia plasmática, prolongando-se a observação, por vezes até 96 horas após a administração do hormônio. A prova foi realizada naqueles indivíduos que apresentavam valores de iodoproteinemia plasmática inferiores a 4 microgramas por 100 ml de plasma.
- g) *Dosagem do teor de ¹²⁷I na água*. A análise foi realizada em diversas amostras da água distribuída pela rede da vila de Cássia dos Coqueiros.
- h) *Dosagem do teor de ¹²⁷I no sal*. Foram determinados os teores de ¹²⁷I de diversas amostras de sal colhidas entre as marcas mais vendidas no município.
- i) *Dosagem da excreção urinária de ¹²⁷I*. A técnica empregada foi a de Barcker⁽¹¹⁾ modificada por Carr,⁽¹²⁾ controlando-se pela creatinina a coleta efetiva. A determinação foi realizada em 3 pacientes.

Material humano

Na população de Cássia dos Coqueiros—cuja área urbana abrange 1.200 habitantes e a zona rural 3.000— foram examinados indivíduos de ambos os sexos com idade superior a 13 anos, em plena atividade física segundo o critério de sua positividade ou negatividade para com a reação de Machado-Guerreiro, nêles realizada anteriormente, na grande maioria dos casos há mais de 10 anos, e ora confirmada.

Todos os pacientes foram submetidos a um exame clínico especializado com o objetivo de apreciar-se a função tireoidiana, sendo posteriormente excluídos dos grupos de estudo todos aqueles que apresentassem, clinicamente, quadros sugestivos de disfunção tireoidiana ativa. Assim, foram excluídos os casos de hipertireoidismo (confirmado laboratorialmente) e cinco casos de hipotireoidismo (confirmados pelas provas laboratoriais) sendo um caso de cretinismo primário por atireose, e outro de quatro irmãos com estigmas de cretinismo, por provável defeito de síntese.

O grupo assim selecionado ficou constituído por 101 indivíduos com reação de Machado-Guerreiro positiva (MG+), que chamaremos de positivos ou chagásicos, e de 54 com reação negativa (MG-), que denominaremos negativos.

Resultados

Os grupos negativo e positivo apresentam composição muito próxima no que diz respeito ao sexo e aos diversos grupos etários, estando fundamentalmente sujeitos aos mesmos hábitos de vida, regime alimentar, suprimento de água e fontes de suprimento complementar de iodo através do sal.

Dos três parâmetros tireoidianos estudados, trataremos aqui tão somente da captação de radioiodo na 24^a hora e da iodoproteïnemia plasmática (PBI¹²⁷), pois os dados relativos à radioiodoproteïnemia plasmática (PBI¹³¹), ainda estão sendo analisados, especialmente em face dos teores de iodo na água, no sal, e dos valores da excreção urinária, com o objetivo de melhor apreciar as características dinâmicas desta população.

A incidência de bócio, que deve ser considerado endêmico na área, foi de 30,0% nos negativos e 31,5% nos positivos. Como se depreende destes achados, a existência ou não do mal de Chagas em nada interferiu neste aspecto da glândula tireóide. Nesse sentido cumpre assinalar que as condições de intensa infestação, da área estudada, permitem presumir infecções precocíssimas.

As médias dos valores da captação de radioiodo na 24^a hora e da iodoproteïnemia plasmática para os negativos e positivos, portadores ou não de bócio, acham-se consignadas na Tabela I.

A simples inspeção destes resultados dispensa qualquer análise estatística e nos mostra não existirem diferenças significativas.

As curvas de distribuição das freqüências relativas aos diversos grupos podem ser apreciadas nas figuras 1, 2, 3, 4, 5, e 6.

As variações do andamento dos gráficos representa-

TABELA I

MÉDIAS DA CAPTAÇÃO DE RADIOIODO E IODOPROTEINEMIA PLASMÁTICA NOS GRUPOS NEGATIVO E POSITIVO

CAPTAÇÃO de RADIOIODO (¹³¹I)

MG - 54 casos	$\bar{x} = 34,0 \sigma = \pm 12,5$
MG + 101 casos	$\bar{x} = 30,0 \sigma = \pm 12,3$

IODOPROTEINEMIA PLASMÁTICA (PBI¹²⁷)

MG - 54 casos	$\bar{x} = 6,5 \sigma = \pm 1,7$
MG + 101 casos	$\bar{x} = 6,3 \sigma = \pm 1,7$

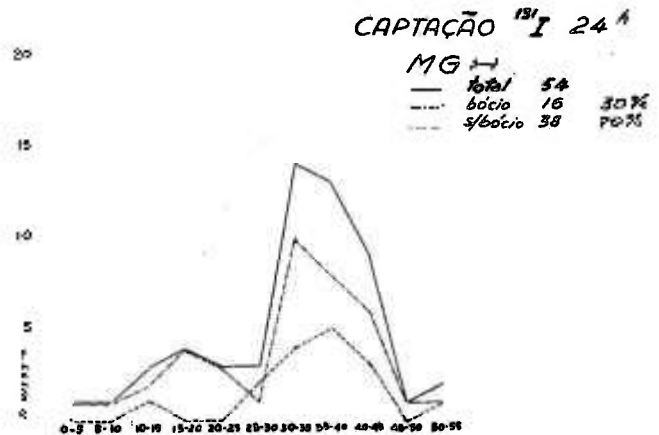


Fig. 1

Captação de radioiodo no grupo negativo. Distribuição da freqüência no total, nos sem bócio e com bócio.

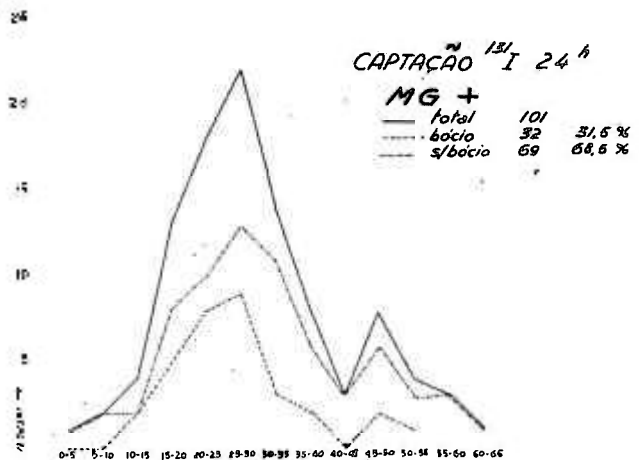


Fig. 2

Captação de radioiodo no grupo positivo. Distribuição da freqüência no total, nos sem bócio e com bócio.

tivos das freqüências, embora pudessem sugerir comportamentos especiais, demonstraram-se destituídas de significação quando devidamente analisadas estatisticamente quanto ao tipo da distribuição.

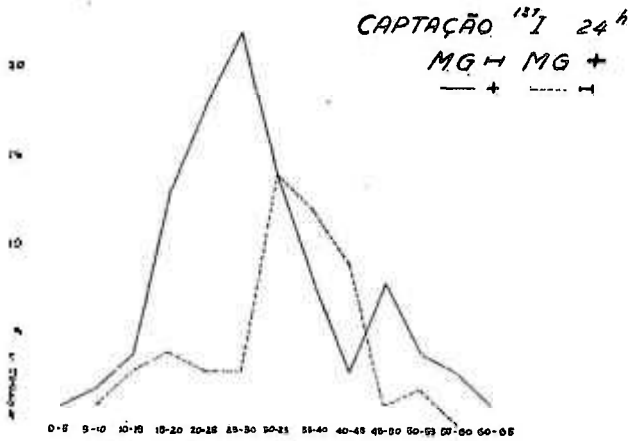


Fig. 3

Captação de radioiodo. Distribuição da frequência nos grupos negativo e positivo.

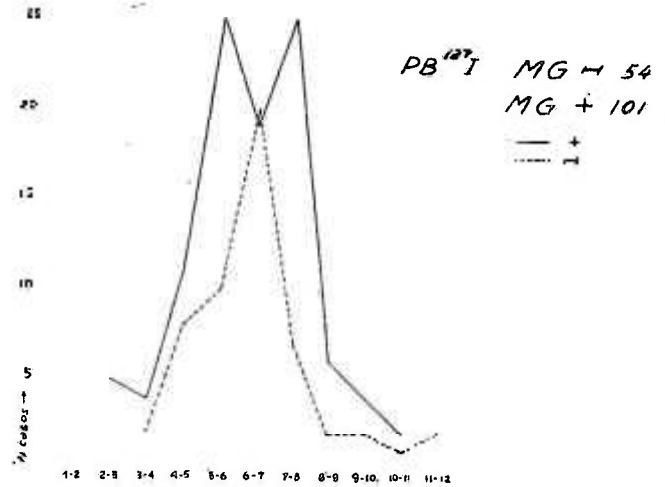


Fig. 6

Iodoproteinemia plasmática. Distribuição da frequência nos grupos negativo e positivo.

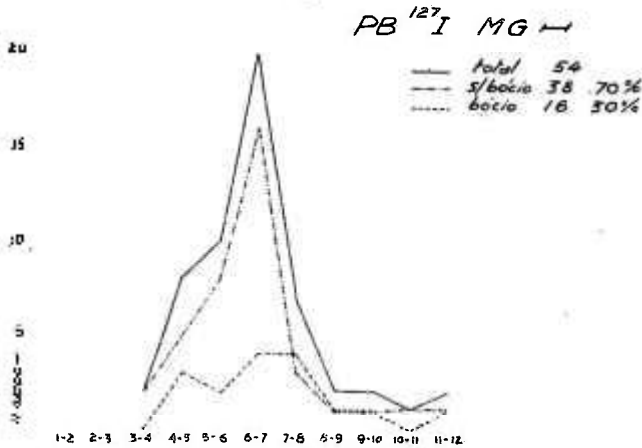


Fig. 4

Iodoproteinemia plasmática no grupo negativo. Distribuição da frequência no total, nos sem bócio e com bócio.

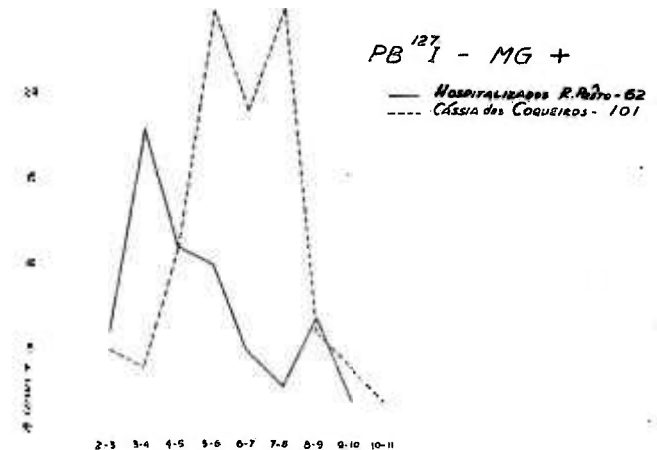


Fig. 7

Iodoproteinemia plasmática. Distribuição da frequência nos positivos hospitalizados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Prêto e nos de Cássia dos Coqueiros.

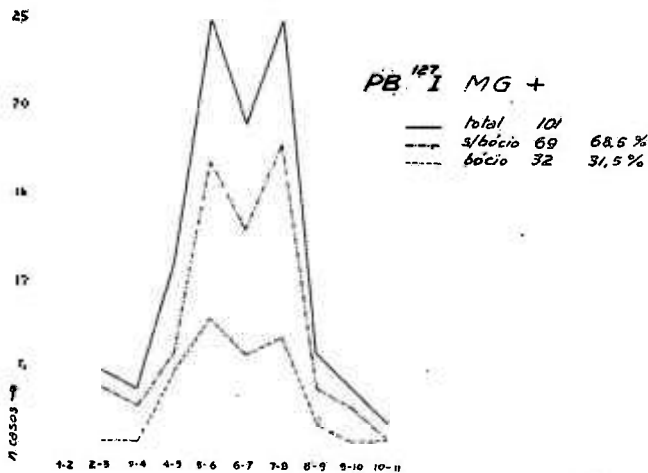


Fig. 5

Iodoproteinemia plasmática no grupo positivo. Distribuição da frequência no total, nos sem bócio e com bócio.

Dada a natureza da evidência representada pelos pacientes internados no Hospital das Clínicas de Ribeirão Prêto, cujos valores de PBI¹²⁷ podem ser comparados em sua distribuição com o grupo positivo de Cássia na figura 7, é claro que a presente investigação tinha por objetivo definido a tese das hipóteses figuradas na Tabela II.

Como se vê, a possibilidade de aceitação da hipótese H₁, sugerida por aqueles resultados, exigia que os valores das citadas proporções, nas amostras, apresentassem uma diferença no sentido previsto.

Com efeito, os valores amostrais foram:

$$p_1 = 8,9\% \quad \text{e} \quad p_2 = 3,7\%$$

TABELA II

SÚMULA DA ANÁLISE DAS HIPÓTESES

TESTE das HIPÓTESES

$$H_0 \rightarrow P_1 \leq P_2$$

$$H_1 \rightarrow P_1 > P_2 \quad \text{onde}$$

P_1 proporção de pacientes com PBI^{127} menor do que o limite inferior de normalidade 95% nos MG +

P_2 proporção de pacientes com PBI^{127} menor do que o limite inferior de normalidade 95% nos MG -

VALORES AMOSTRAIS

$$p_1 = 8,9\%$$

$$p_2 = 3,7\%$$

Em nível de 5% H_0 não pode ser rejeitada, pois, a probabilidade de ser causal a diferença é aproximadamente de 19%.

O teste da diferença entre as proporções não permite que se rejeite ao nível de 5% a hipótese H_0 , pois a probabilidade de ser causal a diferença observada é, admitindo-se aquela hipótese, igual a aproximadamente 19%.

Cumprir notar que o percentual observado nos chagásicos foi nitidamente menor do que o que encontrado nos pacientes hospitalizados, o que faz supor a existência, nestes, de algum fator relacionado ou não com o mal de Chagas, que promove a maior frequência de valores menores do que os normais.

Como consequência disto, a diferença entre chagásicos e não chagásicos, embora com o sinal previsto, não alcançou magnitude suficiente para permitir que, com os tamanhos de amostras existentes, se alcançasse o nível de rejeição da hipótese H_0 .

Desta forma, torna-se necessário que se colijam mais dados, ou que se trabalhe em população de chagásicos cujas condições mais se assemelhem às observadas nos pacientes hospitalizados; para tanto, será necessário que se disponha de um grupo comparável de não chagásicos. Como este último grupo dificilmente poderia ser encontrado, por razões óbvias, parece mais razoável que se prossiga a investigação na mesma população já amostrada; dada a alta comparabilidade dos dois grupos nela presentes e a despeito da percentualidade menos elevada entre os chagásicos.

As considerações aqui tecidas com relação à iodo-proteinemia aplicam-se, conceitualmente, aos dados fornecidos pela captação do iodo radioativo.

Como complemento das provas realizadas nesta fase inicial da investigação, foi testada, nos portadores de captações de nível elevado, a reação à administração de triiodotironina na dose de 100 microgramas diários durante 10 dias (Werner). Todas as provas, realizadas

em chagásicos e em negativos, tiveram andamento análogo e consoante o esperado clinicamente, quer nos que apresentavam captação elevada por bócio endêmico, quer nos que acusavam valores altos na dependência de quadros tireotóxicos.

As provas de estímulo com tireotrofina hipofisária (TSH), acompanhadas quer pelo incremento da captação, quer pelo aumento da liberação hormonal apreciada pelo PBI^{127} , demonstraram que tanto os negativos, como os positivos com valores de PBI^{127} abaixo do limite inferior da normalidade 95%, responderam positivamente, atestando plena capacidade de reação dos sistemas responsáveis pela captação do iodo e pela liberação hormonal.

Na base dos dados até agora coligidos e dentro de um rígido critério de análise estatística devemos concluir que os grupos de chagásicos e de não chagásicos colhidos na população em estudo, não permitem confirmar a hipótese sugerida pelo estudo-piloto em pacientes hospitalizados em Ribeirão Preto. No entanto, foi possível surpreender no grupo positivo, que pela sua magnitude se apresenta demasiado pequeno, uma tendência dirigida no mesmo sentido da que deu origem à presente investigação. Os trabalhos continuam buscando analisar grupos amostrais maiores e, principalmente, mais próximos em suas grandezas.

Parce-nos lícito, porém, antecipar que a presença da moléstia de Chagas em nada interfere com a instalação do bócio endêmico nem com o instalar-se de quadros tireotóxicos, eis que as incidências nos dois grupos, nesse sentido, são inteiramente superponíveis. Desta forma, está afastada a idéia antiga de que o Chagas tivesse algo a ver com o bócio observado nas áreas de distribuição desta última endemia.

Caso venha a confirmar-se, em termos populacionais e em condições de perfeita comparabilidade, a maior incidência de valores baixos de PBI^{127} nos chagásicos crônicos, quer-nos parecer que o desvio deve estar ligado a um déficit de estímulo hipofisário, pois nesse sentido falam as respostas francas obtidas sistematicamente quando os pacientes são submetidos a TSH exógeno. A suposição da possibilidade de lesões chagásicas da região hipotálamo-hipofisária não deveria causar espécie dentro da conceituação patogênica geral defendida pela escola de Ribeirão Preto, com Körbele à testa. Com o objetivo de verificar este aspecto, estão sendo realizadas contagens de neurônios em cortes seriados da região hipotálamo-hipofisária de normais e de chagásicos.

REFERÊNCIAS

- (1) CHAGAS, C. *Imprensa Médica*, **17**, 154 (1909).
- (2) CHAGAS, C. *Arch. Soc. Med. Cirur.*, **1**, 255 (1910).
- (3) CHAGAS, C. *Rev. Med. São Paulo*, **13**, 163 (1910).
- (4) CHAGAS, C. *Imprensa Médica*, **19**, 276 (1911).
- (5) CHAGAS, C. *Rev. Med. São Paulo*, **14**, 337 (1911).
- (6) CHAGAS, C. *Rev. Med. São Paulo*, **15**, 337, (1912).
- (7) LEITE, A. D. *O Hospital*, **21**, 817 (1942).
- (8) de FREITAS, J. P. Tese de livre-docência apresentada à Faculdade de Medicina de São Paulo.
- (9) BARCKER, S. B. *J. Clin. Invest.*, **30**, 35 (1951).
- (10) NICOLAU, W. *Rev. Ass. Paul. Med.*, **58**, 217 (1961).
- (11) BARCKER, S. B. *J. Biol. Chem.*, **173**, 715 (1948).
- (12) CARR, E. A. *Science*, **111**, 552 (1950).