

CAUSAS DE EOSINOFILIA SANGÜÍNEA

Vicente Amato Neto (*) e Guido Carlos Levi (**)

Em tarefas diagnósticas relativas à febre de origem indeterminada e referentes a várias doenças transmissíveis, a evidência de eosinofilia sangüínea é circunstância que pode ser valiosa, representando subsídio muitas vezes bastante útil. Em face ao auxílio que essa alteração é capaz de propiciar, consideramos judicioso efetuar relação de causas de aumento da taxa de eosinófilos no sangue, incluindo comentários a propósito delas, aproveitando, paralelamente, informes decorrentes de nossas experiências pessoais sobre o assunto.

O eosinófilo é célula pertencente, como o neutrófilo, à série granulocítica; possui, porém, granulações mais grosseiras e, em virtude da coloração pela eosina, adquire aspecto característico.

Referiu Esselier que os granulócitos eosinófilos, em seu conjunto, constituem sistema celular independente e lembrou também, a respeito, que no decurso de agranulocitoses neutrófilas a inoculação de substâncias eosinotáticas pode motivar eosinofilia sangüínea.

De acôrdo com Thiers, os eosinófilos constituem de 1% a 3% do total de leucócitos do sangue, sendo de 100 a 300 e nunca superiores a 400 as cifras absolutas normais respectivas; Osgood aceita como números médios normais os seguintes: 2% a 4% e 150 a 240. Em geral, entretanto, os valores considerados válidos, com finalidades práticas, são as porcentagens de 1% a 4%; há eosinofilia relativa quando a taxa for superior a 5% e

a modificação absoluta está presente quando são encontrados mais do que 400 ou 500 células por mm³.

Os eosinófilos têm origem na medula óssea, conforme a evolução adiante assinalada: eosinoblastos, mielócitos eosinófilos, metamielócitos eosinófilos e elementos encontráveis no sangue periférico.

O período médio de vida dos eosinófilos é, para Thiers, de quatro horas a seis dias; Osgood admitiu que essa fase tem a duração de 8 a 12 dias, mas habitualmente ela é interpretada como correspondente a seis dias.

A origem não medular dos eosinófilos já mereceu cogitações. Foi lembrada porque na vigência de alguns estados patológicos, especialmente de natureza alérgica, ocorre eosinofilia tecidual, sem a semelhante alteração sangüínea. A fim de explicar essas condições, chegaram a ser citados dois mecanismos: a) diapedese de eosinófilos circulantes, que vão acumular-se em tecidos, atraídos por tropismo particular; b) elaboração local, a partir de outro tipo de célula. No entanto, a gênese medular é fundamental e acúmulos focais podem ser devidos a intenso quimiotatismo positivo, capaz de influir sobre eosinófilos sangüíneos.

Quanto às funções desempenhadas pelos eosinófilos, algumas têm sido apontadas como dignas de menção. Como polimorfonucleares, realizam diapedese mas são péssimos fagócitos. De maneira ignorada, seriam capazes de destruir substâncias tó-

(*) Livre-docente de Clínica de Doenças Tropicais e Infecciosas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Médico-chefe do Serviço de Doenças Transmissíveis do Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo. Professor de Doenças Transmissíveis da Faculdade de Medicina da Universidade de Campinas.

(**) Médico do Serviço de Doenças Transmissíveis do Hospital do Servidor Público Estadual de S. Paulo. Recebido para publicação em 3-10-69.

xicas ou estranhas ao organismo; o encontro dessas células, em número apreciável, em fluidos teciduais, na camada epitelial dos intestinos, no aparelho respiratório e na pele, reforça a convicção de que tal função desintoxicante seja real, convindo ainda lembrar que Bunting salientou que produtos provenientes da destruição de linfócitos agem especificamente como quimiotáxicos, em relação aos eosinófilos. Tarefa dessensibilizante também é atribuída aos eosinófilos, o que é sugerido pela distribuição que eles apresentam; êsses constituintes sangüíneos participariam de reações humorais de tipo imunológico e referentes à presença de elementos estranhos ao organismo e, em especial, às proteínas introduzidas pelas vias digestiva, parenteral, cutânea ou respiratória, convindo salientar que a reação eosinofílica notada após injeção de substâncias protéicas faz com que se considere viável a interferência das células em questão na desintegração e remoção dos elementos citados. Code e Vaughn consideram que os eosinófilos conduzem a histamina, a partir de locais onde estão presentes anormalidades de causas alérgicas, para outros territórios orgânicos, representados pela mucosa intestinal por exemplo, nos quais ela sofreria inativação, por participação da histaminase. Partiu de Ayres e Starkey a sugestão no sentido de considerar os cristais de Charcot-Leyden proteínas derivadas dos núcleos dos eosinófilos.

Diante do exposto é fácil perceber que a eosinofilia é expressão bastante característica de reações de caráter alérgico, estando regulada por sistema do qual participam a hipófise e as suprarrenais; no que diz respeito a processos infecciosos, regulação também ocorre e depende da influência dos seguintes fatores: reação de alarme, adrenalina, hipófise, ACTH, córtex das suprarrenais e corticóides. Sob êste último aspecto, como termo final, manifesta-se diminuição do número de eosinófilos no sangue circulante.

A penetração de substâncias eosinotáticas no organismo causa eosinofilia tecidual, a qual desencadeia eosinopenia inicialmente sangüínea e, depois, medular; esta última modificação determina excitação da mielopoiese eosinofílica, com consequente saturação no território onde está situado o estímulo e posterior eosinofilia

sangüínea, qualificada como “de excesso” e inibidora da referida mielopoiese, havendo então reequilíbrio.

Após essas sucintas considerações introdutórias, faremos menção, especificamente, às *causas de eosinofilia sangüínea*. Fatores desencadeantes dessa modificação, que encerra indiscutível interesse diagnóstico, estão adiante enumerados.

1) *Fisiológica* — É relacionada com menstruação, gravidez, parto, esforço físico, relação sexual e período digestivo.

2) *Constitucional* — Alterações duradouras, notadas em relação a indivíduos considerados não doentes e diante da ausência de motivos determinantes, são rotuladas como desse tipo. Evidentemente, correta interpretação dependerá de cuidadosas tarefas de exclusão.

3) *Neurovegetativas* — Situações nas quais há estimulação vagal direta ou vagotonia generalizada podem explicar a verificação de eosinofilia sangüínea.

4) *Devida a afecções alérgicas* — No decurso de crises de asma brônquica, Vallery-Radot notou eosinofilia sangüínea em 76% dos casos; referiu porém, que em ocasiões independentes das mencionadas crises, poucos asmáticos exibem a alteração. Na vigência de urticária é encontrável a modificação hematológica, de até 20% a 30%, mas habitualmente ela é moderada. Estudo concernente à enxaqueca não evidenciou correlação nítida entre essa modalidade de acometimento e eosinofilia e apreciações levadas a efeito por ocasião de crises raramente contrariaram essa verificação, de acôrdo com Bezançon e Bernard.

5) *Devida a agentes tóxicos ou medicamentosos* — Neste item cabe citar, entre outras, as influências de múltiplos fatores: cobre, chumbo, tálio, fósforo, benzol, anilina, arsênico, pilocarpina, iodeto de potássio, salicilato de sódio, antipirina, ácido pícrico, álcool, agentes vagotônicos representados por exemplo pela digital e pela acetilcolina, histamina, emetina, drogas balsâmicas, tuberculina, estreptomomicina e clorpropamida. Merecem menção especial a propósito dêste item os medicamentos à base de extratos hepáticos, que comumente determinam eosinofilias sangüíneas discretas ou intensas.

6) *Devida a afecções hematológicas* — Há eosinofilia sangüínea em alguns ca-

scs de leucemia mielóide crônica, podendo ser encontradas inclusive formas jovens no sangue periférico. Thiers considera que, nessas situações, os pacientes frequentemente encontram-se em fases avançadas da doença.

Eosinofilia pode ser notada no sangue de pacientes com policitemia, como parte do aumento global de diferentes elementos figurados.

Após esplenectomia, também é evidenciável eosinofilia sangüínea, estando o fato justificado, por Mays e Moncorps, pela correlação já constatada entre hipofunção esplênica e aumento do número de eosinófilos circulantes.

A anormalidade compõe o quadro hematológico da leucemia eosinófila aguda ou crônica. Mesmo à evolução de acometimentos de caráter agudo existe abundância de formas maduras, as quais chegam, às vezes, a predominar sobre as imaturas, em termos numéricos. Dameshek e Gunz chamaram a atenção para a possível ocorrência de casos de leucemia eosinófila aguda com percentagem normal ou apenas pouco elevada de eosinófilos no sangue, onde há proeminência de elementos imaturos; na medula óssea é viável que suceda circunstância idêntica, se bem que aí a tendência ao claro predomínio dos diferentes tipos de eosinófilos seja maior. É necessário frisar que leucemia eosinófila é afecção considerada rara e que precisa ser muito criteriosamente diagnosticada, após exclusão de diversas entidades mórbidas confundíveis e adoção de parâmetros rigorosamente válidos, tais como verificação de leucocitose com ou sem eosinofilia sangüínea persistente e progressiva, existência de aumento gradual da imaturidade dos eosinófilos, diminuição do número de elementos medulares normais e confirmação anátomopatológica.

7) *Devida a neoplasias, reticulocitoses e histiocitoses* — Afecções neoplásicas, pulmonares, ósseas, ovarianas ou que comprometem serosas, por exemplo, são motivadoras de eosinofilia sangüínea mas, a respeito, duas eventualidades precisam ser destacadas: as metástases hepáticas e a existência de necroses acentuadas, no tumor inicial ou em suas repercussões secundárias. Nessas situações há reabsorção de proteínas desintegradas e a eosinofilia pode corresponder a mau prognóstico.

ncfilia pode corresponder a mau prognóstico.

Marañon assinalou que eosinofilia é às vezes perceptível no sangue de pacientes com câncer infectado, de localização retal, ficando viável a confusão diagnóstica com disenteria amebiana.

Entre as reticulocitoses e as histiocitoses, algumas doenças, como a moléstia de Hand-Schuler-Christian, a micose fungóide, de determinadas histiorreticulocitoses e o linfogranuloma maligno, são citáveis como capazes de gerar eosinofilia sangüínea; a última mencionada é destacável sob tal ponto de vista, mas na verdade não causa a alteração constante ou costumadamente. Haveria eosinofilia, interpretada até mesmo como decorrente de estímulo vagal, em 20% dos casos de doença de Hodgkin, sendo que ela, em geral, não supera a taxa de 20%, referente aos diversos elementos figurados e leucocitários do sangue.

8) *Devida a irradiações* — No sangue de indivíduos tratados por meio de radioterapia, ocorre eosinofilia habitualmente duradoura e persistente e da ordem de 4% a 5%, às vezes atingindo níveis de 8%. Para Aubertin, em tais condições o hemograma revela leucopenia, com neutropenia e discreta eosinofilia; na vigência de anemia, indicativa de depressão medular, frequentemente é verificável também eosinopenia.

9) *Devida a afecções dermatológicas* — De intensidade variável, eosinofilia é perceptível como decorrência de múltiplas doenças cutâneas, como o pêfigo foliáceo, a psoríase, o prurigo, o impetigo, o eczema, a esporotricose e a blastomicose sul-americana. De acôrdo com a opinião de Rocco, a anormalidade sangüínea relacionada com o pêfigo foliáceo é constante e pronunciada e não mantém coerência com o período de duração do processo mórbido.

10) *Devida a afecções de glândulas endócrinas* — A evolução da doença de Addison é comum ser notada eosinofilia sangüínea, habitualmente de 5% a 15%, talvez devida a perturbações neurovegetativas (Marañon). Falta e Ferrata salientaram, porém, que ela não é sempre evidenciada. No sangue de pacientes, adultos ou crianças, com mixedema, há em algumas oportunidades discreta eosinofi-

lia e o mesmo sucede quanto à modalidade congênita desse processo mórbido. Outras endocrinopatias são causas, ocasionalmente, de eosinofilia: a forma vagotônica da doença de Basedow, a distrofia adiposa hipofisária e a acromegalia.

11) *Devida a afecções difusas do tecido conectivo* — Periarterite nodosa, febre reumática em atividade e dermatomiosite são doenças que podem determinar eosinofilia sangüínea e a primeira mencionada condiciona, freqüentemente, o aparecimento dessa alteração, que chega a assumir proporções significativas.

12) *Devida a afecções renais* — Eosinofilia sangüínea às vêzes vigente no decurso de nefroses indicaria atividade da doença e, também, paralelamente à diminuição do teor de complemento no soro, o caráter imunológico desse comprometimento renal. Glomerulonefrites difusas agudas estão ocasionalmente associadas a eosinofilias discretas, assim como nefrites intersticiais, devidas a reação de hipersensibilidade, com vasculite alérgica, e comumente desencadeadas pelo uso de drogas, como a fenacetina.

13) *Devida a afecções e condições diversas* — Neste item, consideramos interessante citar a eosinofilia relacionada com a miastenia, a osteomalácia, o raquitismo, a anoxemia experimental e as fases pós-infecciosas.

Após processos infecciosos, percepção de eosinofilia, acompanhada de linfocitose e de duração fugaz, representaria evidência de evolução favorável, especialmente se esteve presente anaesinofilia anterior.

14) *Devidas a infecções* — a) *Viroses* — No sangue de alguns doentes com infecções viróticas há eosinofilia, estando adiante consignados comentários a respeito: sarampo — na fase de incubação e às vêzes acentuada; varicela — de intensidade variável; parotidite epidêmica, herpes zoster e doença de Bornholm — geralmente discreta; hepatite infecciosa por vírus presente, em certas oportunidades, no período de cura.

b) *Protozooses* — No estágio agudo da doença de Chagas eosinofilia sangüínea é muito comum e mais freqüente, habitualmente, no final do primeiro mês em relação ao início das manifestações clínicas; não ultrapassa, em geral, a percentagem

de 20%. De acôrdo com a opinião de Ezequiel Dias, haveria também aumento do teor de eosinófilos no sangue de chagásicos em fase crônica com, inclusive, verificação da existência de mielócitos correspondentes na circulação periférica; tais fatos não são, entretanto, constatados de maneira rotineira ou constantemente.

A toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular, é também causa de eosinofilia sangüínea, geralmente não muito pronunciada.

Maeffer, Billet e Dopter referiram-se à ocorrência de eosinofilia sangüínea, até mesmo duradoura e persistente após a cura, em casos de disenteria amebiana.

Quanto à disenteria balantidiana, é lícito lembrar que, no decurso da mesma, a eosinofilia sangüínea pode constituir inconstante mas exclusiva característica pertinente ao hemograma.

Atias, ao abordar as relações entre eosinofilia sangüínea e enfermidades parasitárias, frisou que a isosporose é a única protozoose intestinal capaz de determinar essa alteração hematológica. Pesquisadores chilenos, entre os quais lembramos Jarpa, julgam que eosinofilia constante e acentuada faz parte do conjunto de elementos que compõem o conjunto de anormalidades clínico-laboratoriais constituintes da isosporose.

Chagas relatou que há diminuição do número de eosinófilos circulantes no início das ascensões térmicas em pacientes com malária e, pelo contrário, elevação no final dessas crises e nos períodos de apirexia. Para Schilling, no decorrer dessa infecção os teores de eosinófilos sangüíneos sofrem as mesmas alternâncias que os percebidas a propósito de doenças infecciosas febris em geral, havendo diminuições quantitativas por ocasião das elevações térmicas e normalizações ou aumentos nos intervalos de ausências de febre e nas épocas de convalescença.

De acôrdo com Knowles, deve ser encarada como viável a percepção de eosinofilia, inclusive muito nítida, no sangue de pessoas com calazar, independentemente da existência concomitante de helmintos.

c) *Micose* — Nos surtos de atividade da blastomicose sul-americana e ainda no decurso da modalidade cutânea dessa infec-

ção fúngica, pode ser notada discreta eosinofilia sangüínea; idêntico fato tem relação com a agressão esporotricótica da pele.

d) Espiroquetoses — Apenas a título de complementação, consideramos judicioso mencionar que o hemograma de indivíduos com infecções espiroquetóticas não mostra habitualmente, eosinofilia.

e) Infecções bacterianas — Eosinofilia é comum e muito exuberante no sangue de doentes com escarlatina, mas assume feição de anomalia moderada em casos de blenorragia, especialmente no que concerne a mulheres, e nos de hanseníase, sobretudo após fase alge prolongada de evolução.

15) *Devida a helmintoses* — No que diz respeito a este item, julgamos apropriado tecer, de início, algumas apreciações de caráter geral, antes de abordarmos aspectos específicos a diferentes helmintoses.

Após a infestação, tem lugar leucocitose, dependente de aumento do número de neutrófilos, e em seguida ocorre eosinofilia, que evidencia tendência no sentido de diminuição ou desaparecimento, com o passar do tempo.

Em algumas oportunidades, em termos tão somente didáticos, podemos salientar que o organismo como que se habitua aos parasitos, pois mesmo em face a reinfestações contínuas, são registradas eosinofilias menos intensas que as esperadas.

O tempo que medeia entre a infestação e o início do aparecimento da eosinofilia sangüínea não é uniforme e depende do período de desenvolvimento e tipo do ciclo evolutivo dos diferentes helmintos, por exemplo. Como ilustração, parece oportuno referir que, quanto à verminose devida ao *Ascaris lumbricoides*, ela surge no sexto dia, mais ou menos, enquanto que a relativa à ancilostomose é perceptível no vigésimo.

A natureza do parasito é realmente fator muito importante e destacável. Os que determinam agressões teciduais sem dúvida geram eosinofilias bem mais acentuadas que os que se localizam fundamentalmente na luz intestinal.

A intensidade do parasitismo indiscutivelmente constitui circunstância digna de

ênfase, mas condiciona a lembrança do fenômeno paradoxal de Schilling, que põe em foco a ausência de comportamento linear, uma vez que atingida determinada situação, a maior densidade parasitária pode corresponder diminuição da eosinofilia.

Ainda no âmbito destes comentários preliminares, convém não esquecer que infecções agudas concomitantes tendem a tornar menores eosinofilias pré-existentes e que drogas antiparasitárias ativas, sem nexos com suas estruturas químicas, determinam às vezes exacerbações eosinofílicas, antes de posteriores e comuns atenuações.

Adiante comentaremos o que em geral sucede, sob o ponto de vista da eosinofilia sangüínea, em relação a várias helmintoses: a) ascariidose — discreta e comumente inferior a 12% (Pessôa e Meira; Faiguenbaum e col.); b) enterobiose — moderada e habitualmente não superior a 10% (Pessôa e Meira; Costa e Coppo); c) estrogiloidose — no estágio crônico dessa verminose costumeiramente é da ordem de 15%; d) tricocelafose — na opinião de Becker e col. é pequena, mas Atias destacou que, em face a casos graves, chega a atingir níveis que suplantam a taxa de 30%; e) infestações por plateimintos — somente a devida à *Hymenolepis nana* motivaria a alteração, conforme salientou Atias, em contraposição ao que ocorre a propósito das doenças causadas por *Hymenolepis diminuta*, *Taenia solium* e *Taenia saginata*, convido lembrar que as percentagens atingíveis variam de 8% a 15% e dependem das idades dos pacientes (Pessôa e Corrêa); f) ancilostomose — de acordo com Faiguenbaum e Rieux é comum e oscilante entre 10% e 25%, sofrendo a influência de protozooses associadas, como a malária e o calazar, que atuam no sentido de diminuí-la (Mc Vail); g) esquistosomose mansônica — no período toxêmico é muito elevada e persistente, chegando, pelo contrário, a ser pouco expressiva em fases posteriores.

Parece necessário, nesta oportunidade, consignar o ponto de vista de Varleta e col, a respeito da cisticercose, que causaria apenas eosinofilia liquórica, no decorso de comprometimento do sistema nervoso, sem estar relacionada com idêntica anormalidade sangüínea.

A evolução da ascarirose, a intensidade máxima da eosinofilia sangüínea tem lugar, habitualmente, no vigésimo dia, mais ou menos; a alteração sofre clara atenuação ou até mesmo desaparece posteriormente, quando começa a eliminação de ovos de *Ascaris lumbricoides* pelas fezes. Quanto à ancilostomose, o início da eosinofilia é mais tardio, como já referimos; ao redor do trigésimo dia a anormalidade é geralmente máxima e, a partir do terceiro mês, quando surge a anemia, tende a diminuir e em algumas circunstâncias torna-se ausente, conforme mencionaram Boycott e Haldane. No que concerne à estrombiloidose, a eosinofilia sangüínea começa a ser notada no final do primeiro mês e costumeiramente é mais intensa por volta do quadragésimo dia, em relação à época na qual ocorreu a infestação.

As agressões teciduais motivadas por helmintos estão associadas, muito mais comumente, eosinofilias sangüíneas expressivas e acentuadas. Entre essas situações, é lícito destacar algumas: a distomatose hepática, a triquinelose, a ascarirose hepática de diferentes modalidades e devidas à passagem de larvas e à presença de granulomas ou abscessos, a hidatidose e os vários tipos de filarioses. Ainda em conexão com essas parasitoses que se acompanham de nítidos comprometimentos de tecidos, consideramos valioso lembrar duas circunstâncias: o possível encontro de formas jovens de eosinófilos, na circulação periférica de indivíduos com triquinelose e, também, a eventual ascensão da eosinofilia sangüínea em virtude de "descargas" de microfilárias no sangue.

Nas modalidades referidas como agudas ou larvárias de helmintoses, intensas eosinofilias sangüíneas são percebidas e isso tem sucedido, por exemplo, no que diz respeito à ascarirose, à estrombiloidose e à ancilostomose.

Outra causa notória de expressivas eosinofilias é a larva "migrans" visceral, condição clínica mais pertinente a crianças e atribuível à ingestão de ovos de nematóides do cão e do gato, denominados *Toxocara canis* e *Toxocara catti*. Como manifestações relacionadas com esse problema médico, ocorrem, entre outras, hepatomegalia, esplenomegalia, erupção cutânea, pneumonite e convulsão. As larvas d'esses

vermes são encontráveis em vários órgãos e os eosinófilos presentes no sangue podem exibir caracteres dignos de menção, pois, além de serem grandes, possuem citoplasma vacuolizado, no interior do qual ficam visíveis grânulos de dimensões variáveis e menos numerosos que os presentes em células normais.

Eosinofilia sangüínea discreta está associada à larva "migrans" cutânea, que é afecção determinada por vários agentes animados que lesam a pele e representados, inclusive, por larvas de helmintos, tais como o *Ancylostoma braziliense* e o *Ancylostoma caninum*. Quando ao processo está associado comprometimento pulmonar rotulável como síndrome de Loeffler, o número de eosinófilos no sangue é, então, geralmente bem maior.

16) *Devida a miases* — É de intensidade considerada como muito variável.

17) *Devida a diferentes condições clínicas* — Neste item efetuaremos comentários relativos a múltiplas situações, referidas como pneumopatia alérgica eosinofílica, pleurisia eosinofílica, ascite fugaz eosinofílica, síndrome da eosinofilia familiar, eosinofilia idiopática infecciosa, meningencefalite com eosinofilia recidivante e endocardite parietal fibroplástica.

A pneumopatia alérgica eosinofílica, claramente caracterizada por Mendes e col., manifesta-se mediante aparecimento de pneumonia de tipo intersticial, de esplenomegalia em algumas oportunidades e de elevada eosinofilia sangüínea. Diversas entidades são tidas como responsáveis por essa pneumopatia, merecendo citação as seguintes: síndromes de Loeffler, de Leitner e de Weingarten ou eosinofilia tropical, asma brônquica, collagenoses representadas pelo lupus eritematoso disseminado e febre reumática, presença de acarianos na árvore respiratória e acometimentos gerados por drogas ou por substâncias inaladas.

Infiltração pulmonar, em geral fugaz e evidenciada radiologicamente, acompanhada de eosinofilia sangüínea elevada, caracteriza o síndrome de Loeffler. A anomalia é comumente única e notada na região pulmonar média. Ao exame clínico habitualmente não são percebidas altera-

ções, mas é viável a verificação da presença de estertores crepitantes, como ainda a existência de febrícula e de tosse constitui circunstância registrável. A eosinofilia é máxima do oitavo ao décimo dias de doença, quando a imagem pulmonar constatada ao exame radiológico está em fase de desaparecimento. Este síndrome está vinculado à participação de uma parasitose, mais freqüentemente representada pela ascaridiose, se bem que várias outras helmintoses possam ser, também, relacionadas com êle. Entretanto, infecções microbianas, administrações de soros antitóxicos e reações alérgicas ao uso de medicamentos têm sido, por seu turno, consideradas como eventuais fatores determinantes. Para a devida elucidação do síndrome, abordagens de natureza parasitológicas devem ser sistematicamente realizadas; lembramos, porém, que elas podem resultar negativas, em face a ciclos helmínticos abortados ou à atuação de vermes incapazes de desenvolver-se na espécie humana.

Compõem o síndrome de Weingarten infiltrados pulmonares crônicos eosinofílicos, manifestações clínicas sugestivas de bronquite ou de caráter asmatiforme, evolução prolongada, episódios febris recidivantes, intensa prostração, leucocitose, acentuadíssima eosinofilia sangüínea, eventual melhora após terapêutica arsenical e insucesso medicamentoso mediante emprêgo de compostos piperazínicos. Essa síndrome foi rotulada por Weingarten como eosinofilia tropical, em virtude de fator de ordem geográfica. A afecção é de caráter alérgico e de etiologia incerta. Helmintoses, tais como a estrogoniloidose, a ascaridiose, a esquistossomose e a filariose já foram apontadas como os processos determinantes, como ainda a influência de acarídeos, do *Toxoplasma gondii* e agentes do gênero *Toxocara* chegou a ser mencionada. No determinismo do síndrome, implicações raciais, regionais e endocrinológicas, relativas às glândulas suprarrenais, mereceram paralelamente referências. Para Mohr, é mais adequado dar à eosinofilia tropical a denominação que põe em relêvo o nome de Weingarten.

Pleurisia eosinofílica é encontrável no decurso de acometimento asmático grave, do síndrome de Loeffler e de infecções

faringeanas pelo bacilo de Friedländer. A êsse processo estão relacionadas eosinofílias sangüínea discreta e pleural exuberante.

Ascite fugaz eosinofílica corresponde a processo abdominal agudo, muito doloroso, de etiologia não estabelecida e regressão rápida; recidivâncias são viáveis e, laboratorialmente, há eosinofílias sangüínea, ascítica e medular.

Existência de aumento do número de eosinófilos no sangue de vários membros de uma mesma família, sem que estejam presentes manifestações clínicas, é verificação enquadrável no síndrome de eosinofilia familiar, analisado, entre outros, por Bastai.

Síndrome febril, de etiologia até agora não determinada e composta de bronquite, exame radiológico do tórax normal, elevados números de eosinófilos no sangue e na medula óssea e discreto enfartamento ganglionar, hepatomegalia e esplenomegalia, pode ser rotulada como eosinofilia idiópática infecciosa. A evolução dêsse tipo de acometimento para a cura é espontânea.

Em alguns doentes ocorre meningoencefalite eosinofílica recidivante, relacionada com a participação de agentes alergizantes, como o *Angiostrongylus cantonensis*, como também à ingestão de peixes nos quais ictiotoxinas são abundantes.

Eosinofilia sangüínea é alteração às vezes percebida em pacientes com endocardite parietal fibroplástica de Loeffler, constituída por grave insuficiência cardíaca, taquicardia, sôpro sistólico apical, ritmo de galope, aumento da área cardíaca, hepatomegalia e estado de anasarca. O aumento do número de eosinófilos estaria vinculado à etiologia de natureza parasitária, sendo que filarioses ou doença de Chagas são condições a propósito lembráveis.

Ao término destas considerações, salientamos que não tivemos o intuito de apresentar revisão completa, exaustiva e definitiva sobre o assunto, mas apenas destacamos múltiplos aspectos relativos ao mesmo, em exposição que envolve designios sobretudo de ordem didática e parte das modestas experiências pessoais que acumulamos acêrca da matéria em aprêço.

**FEDERAÇÃO LATINO-AMERICANA
DE PARASITOLOGOS
(FLAP)**

SEGUNDO CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE PARASITOLOGIA
17 a 19 de setembro, 1970

CIDADE DO MEXICO

A Federação Latino-americana de Parasitólogos teve seu primeiro Congresso em Santiago do Chile em 1967 sobre a Presidência do Dr. Amador Neghme. Os novos diretores da Federação foram nomeados nesta oportunidade:

Presidente: Dr. Francisco Biagi, México
Vice-Presidentes: Dr. David Botero, Colômbia

Dr. Hugo Lumbreras, Peru

Secretário-Tesoureiro: Dr. Jorge Tay, México

Devido ao fato do Dr. Biagi estar no momento atual trabalhando na Organização Mundial de Saúde, Unidade de Enfermidades Parasitárias em Genebra, o Dr. David Botero, da Faculdade de Medicina, Universidade de Antioquia, Medellín, Colômbia, assumiu a presidência.

O próximo Congresso Latino-americano no México (17-19 de setembro de 1970) realizar-seá logo depois do segundo Congresso Internacional de Parasitologia em Washington (6 a 12 de setembro de 1970), para facilitar a assistência a ambos.

Tôda a correspondência e os resumos dos trabalhos devem ser dirigidos a:

Dr. Jorge Tay
Universidade Nacional de Mexico
Escuela de Medicina
Apartado: 20372
Mexico 20, MEXICO.

**II CONGRESSO BRASILEIRO DE
MICROBIOLOGIA**

Realizar-se-á em São Paulo, na Cidade Universitária — Conjunto das Químicas, de 27 a 30 de julho de 1970, o II Congresso Brasileiro de Microbiologia. É a seguinte a programação:

Simpósios

- Ensino e Microbiologia
Prof. AMADEU CURY
- Aspectos microbiológicos da Indústria de alimentos
Prof. PASCHOAL MUCIOLLO
- Ecologia microbiana
— Prof. WILSON CHAGAS DE ARAUJO
- Micotoxinas
Dr. ADHEMAR PURCHIO
- Poliomielite
Dr. ROBERTO ARAUJO MOURA
- Fisiologia e Bioquímica dos microorganismos
Prof. L. R. TRAVASSOS

Conferências

- Tumores e vírus
Dr. MÁRIO V. FERNANDES
- Imunologia dos Transplantes
Dr. NELSON F. MENDES
- Isolamento e Purificação de gens em bactérias
Dr. WALTER COLLI

Temas livres

Informações:

Dr. FLÁVIO ALTERTHUM
C.P. 30. 786 — SP —

FUNDAMENTOS BIOQUÍMICOS DA HEREDITARIEDADE

IV — Modo de Ação do Material Hereditário *

P. A. Otto **

b) Contrôles qualitativo da síntese protéica

Numa primeira fase da síntese protéica o DNA serviria como molde para a formação de uma substância de alto peso molecular denominada ácido ribonucleico mensageiro (mRNA).

A hidrólise do mRNA fornece as seguintes substâncias (fig. 20):

O mRNA consiste num encadeamento de 5'-ribonucleotídios (ácido 5'-adenílico, ácido 5'-citidílico, ácido 5'-guanílico e ácido 5'-uridílico). Não possui, como o DNA, uma estrutura dupla, sendo constituído somente por um filamento de açúcar-fosfato (RP_n), a cada molécula de açúcar se prendendo uma base nitrogenada (fig. 21):

Cada residuo de açúcar (D-ribose) liga-se a dois grupamentos fosfato através de seus átomos de carbono 3' e 5'; as pentoses ligam-se ao nitrogênio da posição 9 dos anéis purínicos ou ao nitrogênio da posição 3 dos anéis pirimidínicos através de seu átomo de carbono 1'. Ligações de

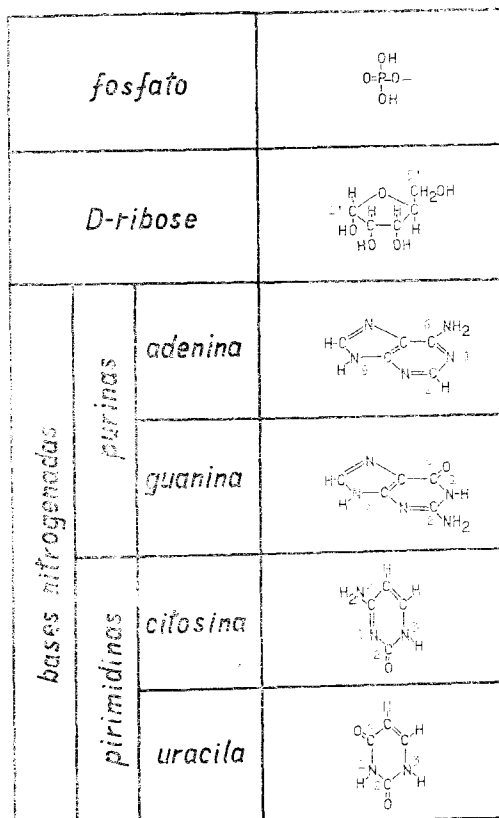


Fig. 20

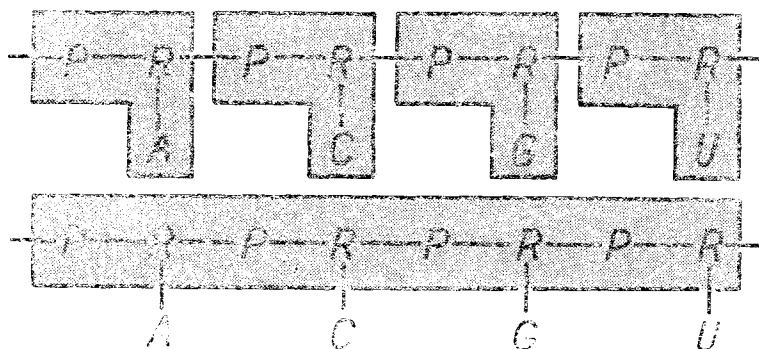


Fig. 21

(*) — Trabalho do Serviço de Pesquisas e Experimentação do Instituto Nacional do Câncer — Seção de Imunologia e Seleção de Animais de Laboratório (Chefe: Dr. Sylvio Thales Torres).
 (***) — Professor Conferencista de Genética da Faculdade de Ciências Médicas da U.E.G. — Médico do Serviço de Pediatria do Hospital de Aeronáutica do Galeão.

ressonância podem se estabelecer entre bases ou grupos de bases complementares da mesma cadeia polirribonucleotídica (o pareamento se dá de modo semelhante ao que ocorre entre as duas hemimoléculas do DNA, sendo que a uracila — análogo-estrutural precursor da timina — parecia com a adenina).

Numa fase imediatamente anterior à moldagem do mRNA pelo DNA, 5'-ribonucleotídeos existentes no núcleo da célula e sintetizados previamente por esta a partir de nutrientes são ativados sob a forma de 5'-trifosforribonucleosídeos na presença

de um sistema fornecedor de energia e de enzimas específicas.

Na fase de síntese propriamente dita do mRNA (Weiss, Stevens, Hurwitz, 1961), os 5'-trifosforribonucleosídeos são polimerizados sob a forma de 5'-ribonucleotídeos por uma enzima, a RNA-polimerase, servindo como molde para tal polimerização uma hemimolécula de DNA; essa hemimolécula de DNA origina uma molécula de mRNA que lhe é exatamente complementar em seqüência de bases.

Para exemplificar, tome-se o seguinte exemplo (fig. 22):

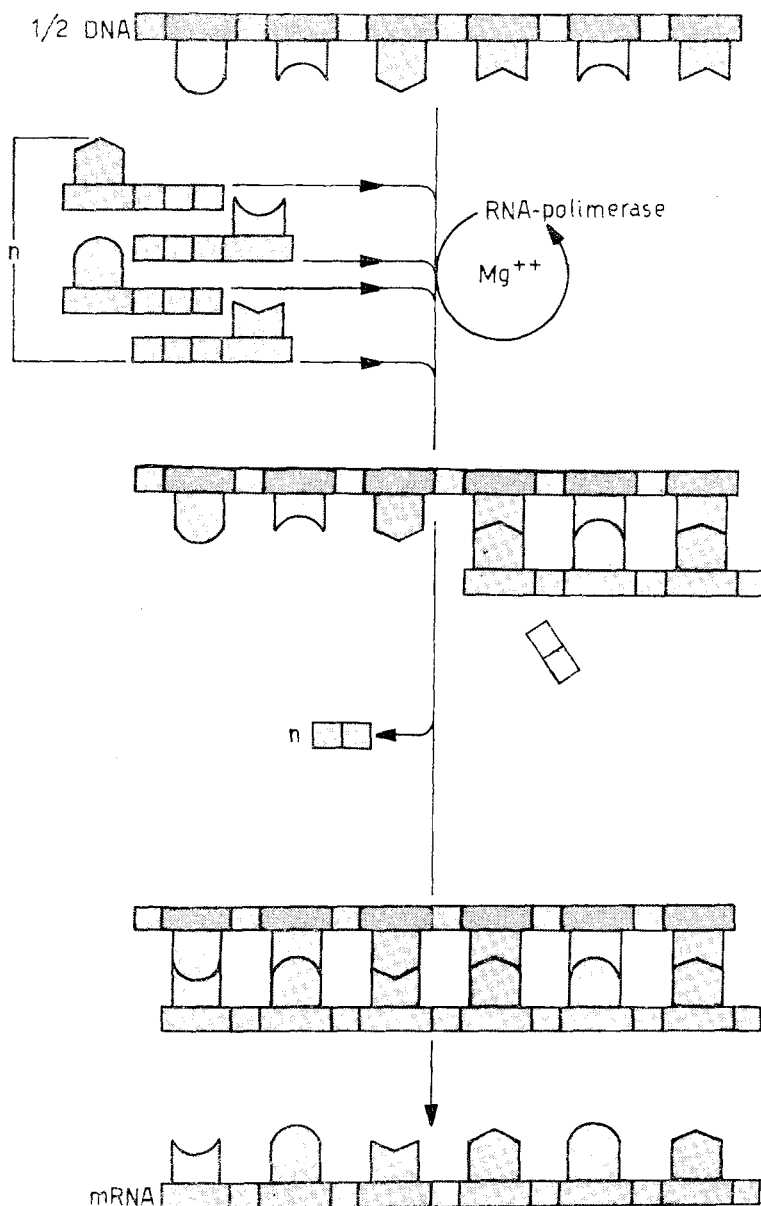


Fig. 22

Como se vê no esquema anterior, uma das metades do DNA serve como molde para a incorporação dos 5'-trifosforribonucleosídeos. A RNA-polimerase promove a condensação do primeiro grupamento fosfato de cada 5'-trifosforribonucleosídeo com a oxidrila do carbono 3' da pentose do trifosfonucleosídeo anterior já incorporado sob a forma de 5'-ribonucleotídeo, após as bases dos trifosfonucleosídeos haverem pareado com as bases complementares da hemimolécula do DNA. Os dois últimos grupamentos fosfato de cada trifosfonucleosídeo são liberados sob a forma de pirofosfato.

Na síntese *in vivo* somente uma hemimolécula do DNA serve como moldador para o mRNA, o que pode ser provado elegantemente pela seguinte experiência: rompendo-se a molécula do DNA de um determinado organismo pelo calor em dois filamentos e adicionando-se mRNA desse mesmo organismo, somente uma das metades do DNA se complexifica com o mRNA (híbridos mRNA-DNA) mediante o pareamento de bases complementares.

O mRNA obtido *in vitro* nesse sistema sintetizante DNA-dependente difere do mRNA obtido *in vivo* por possuir uma estrutura helicoidal semelhante à do DNA. Nas experiências de hibridização com o DNA que lhe serviu como template forma complexos com ambos os filamentos do DNA.

O mRNA possui um peso molecular que varia de 150.000 a 2.000.000, correspondente a uma seqüência de várias centenas de resíduos de nucleotídeos. O diâmetro de sua molécula varia de 10 a 15 Å e o seu comprimento total atinge valores geralmente acima de 1.000 Å. Possui uma constante de sedimentação geralmente menor que 30s e constitui, em bactérias, cerca de 5-10% do RNA total da célula.

A síntese *in vitro* do RNA foi obtida pela primeira vez em 1955 pela equipe de Ochoa, usando-se uma enzima extraída de bactérias *Azotobacter vinelandii*, a fosforilase polinucleotídica, enzima essa que dispensa um DNA-template e que utiliza 5'-difosfonucleosídeos. Essa enzima polimeriza não só misturas diferentes dos quatro 5'-difosfonucleosídeos como também difosfonucleosídeos de um só tipo. A função da enzima *in vivo* provavelmente está

relacionada com a degradação de polirribonucleotídeos, já que a reação é reversível.

Após haver sido sintetizado (na cromatina), o mRNA, cuja seqüência de bases seria complementar à apresentada pelo segmento de DNA que lhe orientou a síntese, unir-se-ia, no citoplasma da célula, aos ribossomas, grânulos de ribonucleoproteínas responsáveis pela síntese protéica.

Os ribossomas são estruturas globulares compostas de proteínas (40%) e RNA (60%). O RNA ribossômico de bactérias *E. coli*, cuja síntese é também dirigida por alguma região complementar de DNA, possui pesos moleculares de 500.000 ou 1.200.000 (constantes de sedimentação de 16s e 23s respectivamente) e constitui cerca de 85-90% do RNA total da célula (o mRNA constitui, como já foi dito, somente cerca de 5-10%, mas isto devido à sua instabilidade, já que a produção de mRNA e a de RNA ribossômico são quantitativamente semelhantes).

Os ribossomas ativos na biossíntese protéica em bactérias são os denominados ribossomas 70s, cujas unidades (30s e 50s) podem ser dissociadas mediante variação na concentração de íons Mg^{++} ; geralmente da síntese de uma única proteína participam não ribossomas simples, mas agregados ribossomais (polissomas ou polirribossomas) cujo meio de união seria um filamento de mRNA (fig. 23):

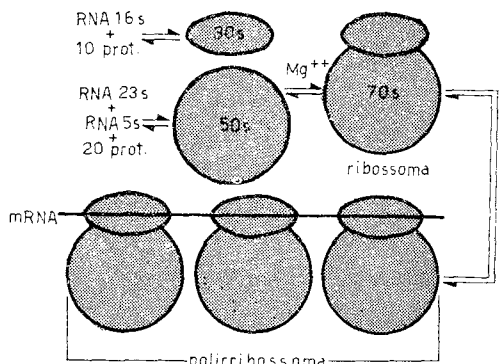


Fig. 23

Os ribossomas percorrem o filamento de mRNA, "lendo" o código expresso em seqüência de bases nitrogenadas, e traduzindo-o em seqüência de aminoácidos na molécula da proteína, cada ribossoma pro-

duzindo uma cadeia polipeptídica completa, mediante um sistema bastante complexo.

As bases do mRNA ligado aos ribossomos estabelecem, numa segunda fase da síntese protéica (a primeira fase compreenderia a moldagem dirigida do mRNA e sua migração para os ribossomos), ligações de ressonância com bases complementares de um outro tipo de RNA, o sRNA (RNA solúvel ou de transferência).

O sRNA é um ácido ribonucléico de baixo peso molecular (cêrca de 24.000) e constante de sedimentação 4s, contendo uma seqüência de cêrca de 70 resíduos de 5'-ribonucleotídios e constituindo cêrca de 5-10% do RNA total de células bacterianas. Diversas bases pouco comuns nos ácidos ribonucléicos têm sido encontradas freqüentemente no sRNA e provavelmente resultam de modificações induzidas enzimaticamente das quatro bases A, C, G e U após a formação da cadeia polirribonucleotídica (cujá síntese também é dirigida por alguma região genética complementar de DNA): pseudo-uridina, 6-metil-amino-purina, 5-metil-uracila (timina), etc.

Esse tipo de RNA caracteriza-se fundamentalmente por possuir uma seqüência terminal -C-C-A, cujo resíduo de ácido 5'

adenilico pode se prender a um aminoácido, através da condensação do grupamento oxidrilico da carboxila dêste com a oxidrila ligada ao carbono 3' da D-ribose. O tipo de aminoácido que se liga ao sRNA está na dependência de uma seqüência de nucleotídios (provavelmente três) em alguma parte da cadeia polirribonucleotídica. Para explicar a especificidade sRNA/aminoácido, Zubay, baseado no fato de que o sRNA possui uma estrutura (parcialmente) helicoidal, propôs que o sRNA funcional (sRNA capaz de se ligar a um aminoácido) resulta de um dobramento aproximadamente ao meio de uma cadeia polirribonucleotídica, ficando três nucleotídios de localização médio-catenar com as bases expostas e capazes de parear com as bases complementares do mRNA e de reconhecer o tipo de aminoácido que se liga ao resíduo terminal de ácido 5'-adenilico de sua cadeia. As demais bases ficariam inativadas por pontes de hidrogênio que se estabeleceriam entre as bases complementares da alça açúcar-fosfato e a cadeia fechar-se-ia mediante o pareamento da citosina do terceiro resíduo de nucleotídios da seqüência terminal -C-C-A com a guanina que faria parte do resíduo de nucleotídios terminal da outra extremidade da cadeia (fig. 24):

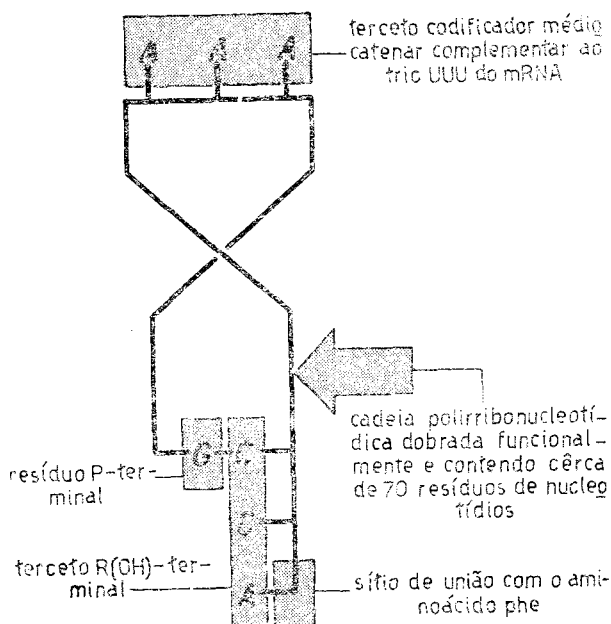


Fig. 24

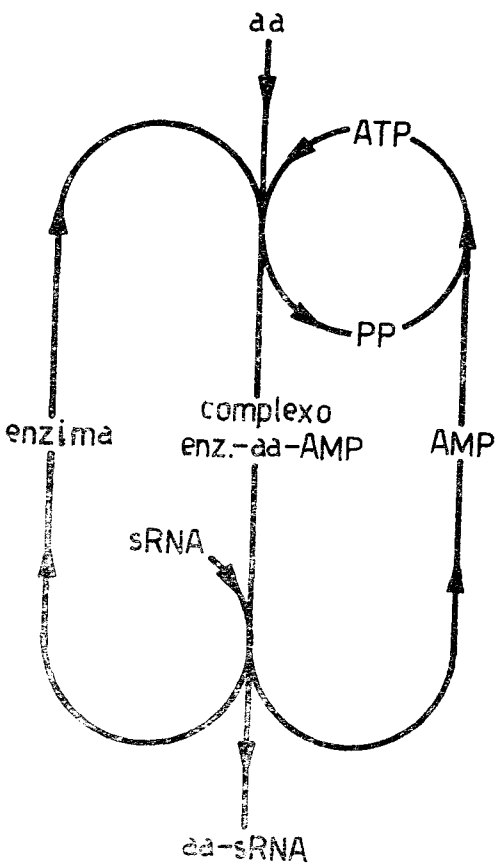


Fig. 25

A ligação do sRNA ao aminoácido dá-se através das seguintes reacções (fig. 25):

A enzima (aminoacil-RNA-sintetase) responsável pela ativação e pela transferência de aminoácidos é altamente específica não só para o tipo de aminoácido como também para o tipo de sRNA (um sRNA distinguir-se-ia fundamentalmente de outro pela seqüência de bases no *terceto funcional* situado hipoteticamente no meio da cadeia).

Estabelecidas as ligações entre os tercetos funcionais dos diversos sRNA (carregados cada um com um tipo de aminoácido) com as bases expostas do mRNA nos ribossomas, finalmente, numa terceira fase da síntese protéica, devido à ação da enzima peptídio-polimerase, ter-se-ia o encadeamento ordenado dos aminoácidos (formação das ligações carbamínicas, crescimento da cadeia polipeptídica e liberação da proteína em sua estrutura primária).

Estudos recentes sugerem que a formação do complexo (ribossoma-mRNA-sRNA/aa) é uma reação enzimática, sendo necessário, além da enzima, GTP (cujo papel nêsse mecanismo ainda permanece obscuro).

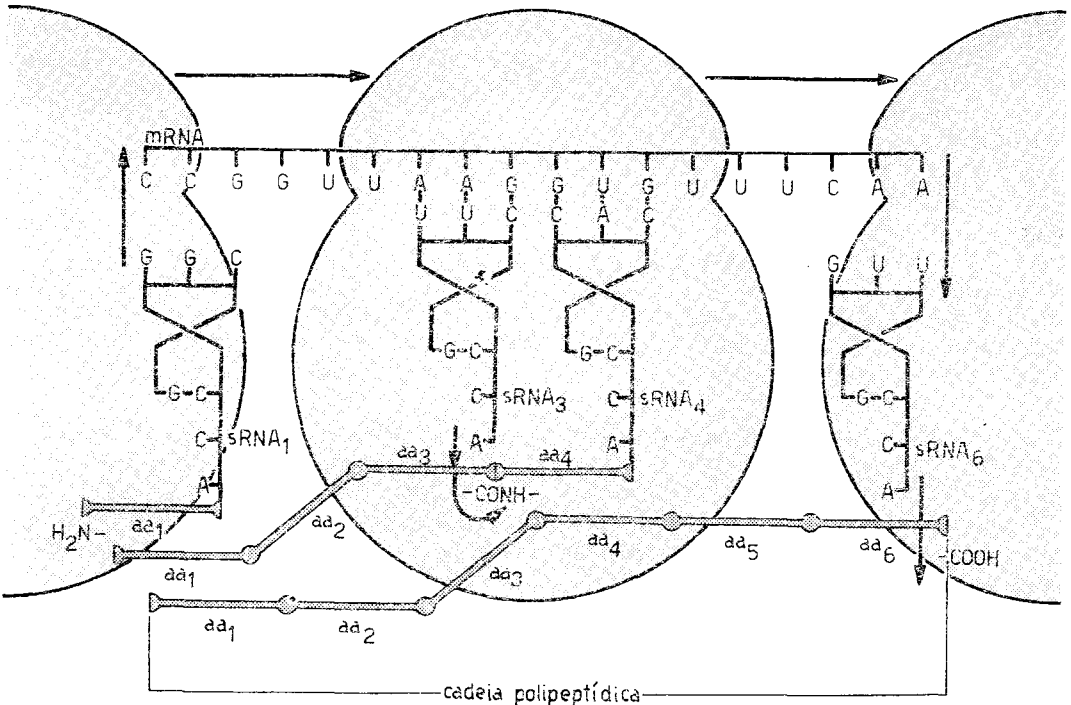


Fig. 26

O crescimento da cadeia polipeptídica dá-se a partir do aminoácido N-terminal, sendo o último aminoácido incorporado o C-terminal; a cadeia polipeptídica incompleta que se está formando permanece presa ao sRNA cujo aminoácido foi o último (n) a ser condensado até o momento em que o grupamento amínico do aminoácido seguinte (n+1) trazido por outro sRNA (n+1) se condensa com o grupamento carboxílico do aminoácido (n), quando então o sRNA (n) pode se soltar espontaneamente do complexo (mRNA-ribossoma), permanecendo a cadeia poli-

mRNA) adicionaram uma mistura dos ingredientes necessários para a síntese protéica: constituintes de *E. coli* obtidos por ultracentrifugação (frações contendo ribossomas, sRNA e enzimas), sistema fornecedor de energia (ATP, etc.), íons metálicos (Mg^{++} , K^+ , etc.), GTP e aminoácidos rotulados com C^{14} ; estudando depois a incorporação relativa dos aminoácidos marcados nas cadeias polipeptídicas obtidas, o código genético foi sendo decifrado, ao mesmo tempo que se reconhecia a igualdade 3 bases = 1 aminoácido na sua tradução (fig. 28):

mistura de difosforribonucleosídios \longrightarrow freqüência teórica dos tercetos

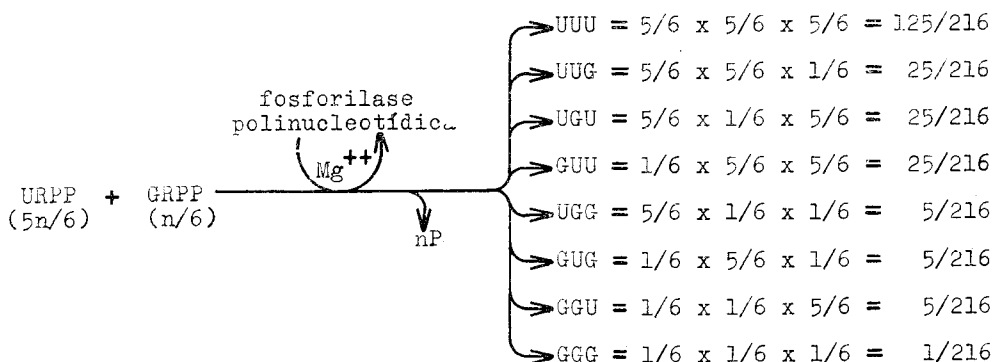


Fig. 27

peptídica presa agora ao sRNA (n+1); quando termina a leitura do código mRNA pelos sRNA (quando não há mais aminoácido para ser incorporado), é liberada a cadeia polipeptídica completa (fig. 26).

Polimerizando uma mistura de difosforribonucleosídios de proporções conhecidas, usando a enzima fosforilase polinucleotídica, as equipes de Nirenberg e Ochoa conseguiram sintetizar ácidos ribonucleicos cuja seqüência de bases podia ser determinada teoricamente. Por exemplo (fig. 27):

As cadeias polirribonucleotídicas sintetizadas *in vitro* (e que funcionam como

No exemplo citado anteriormente (síntese de um RNA formado pelo encadeamento de resíduos de ácido uridílico e ácido guanílico nas proporções de 5/6 e 1/6 respectivamente) foi observado que a incorporação relativa de fenilalanina era semelhante à freqüência UUU; UUG, UGU e GUU foram responsabilizados pela codificação dos aminoácidos cisteína, valina e leucina; UGG, GUG e GGU incorporavam glicina e triptofano; GGG não incorporava aminoácido algum.

A análise dos resultados obtidos com diferentes polímeros conduziu a uma decifração quase completa do código genético:

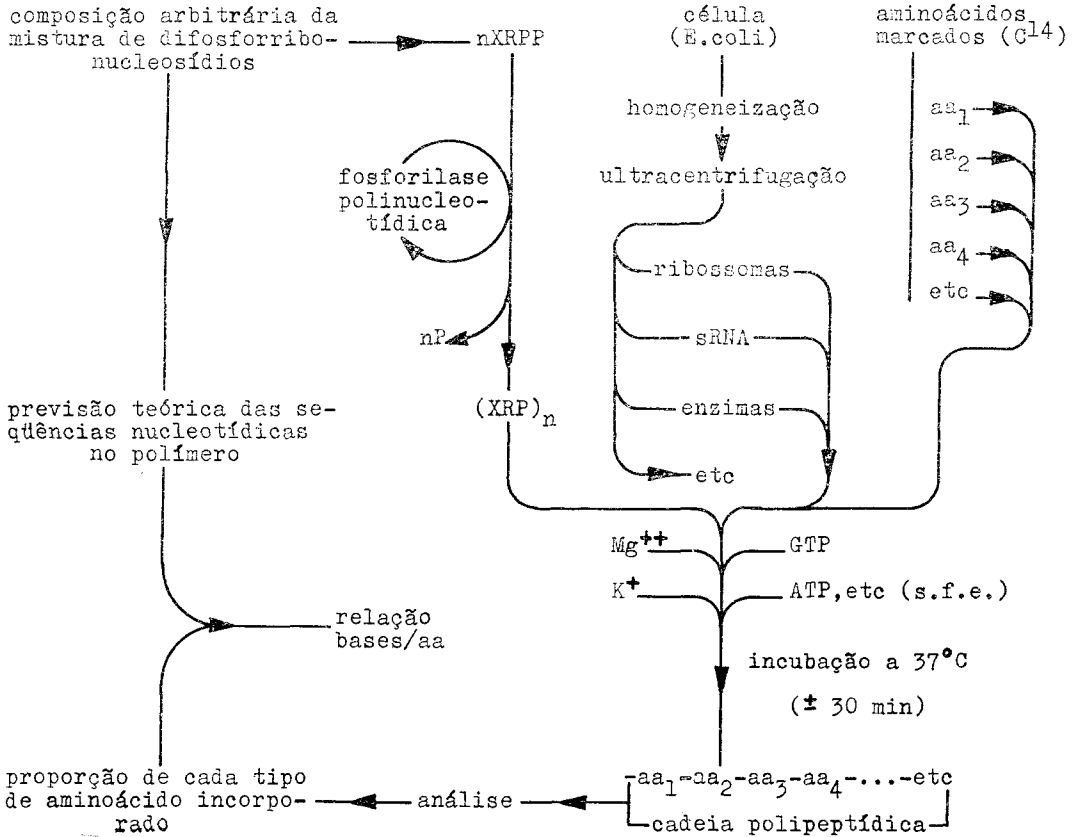


Fig. 28

aminoácidos	tercetos funcionais (mRNA)
arg	CUG CAG CCG
ala	GUC GAA GCC
asp	CUA GCA
apN	UAA CUA CAA
cys	GUU
glu	AUG AAG
gluN	UAC AAC
gly	GUG GAG GCG
his	AUC ACC
ileu	UUA AAU CAU
leu	UUC CCU UGU UAU
lys	AUA AAA
met	AGU
phe	UUU UCU
pro	CUC CAC CCC
ser	CUU ACG UCC
thr	UCA ACA CCA
try	UGG
tyr	AUU ACU
val	UUG

A ordem exata dos nucleotídios em cada terceto não é conhecida (exceto, obviamente, para UUU, AAA e CCC) e os resultados apresentados na tabela são apenas experimentais (Nirenberg et al., Roberts, Wahba et al.).

Como se vê, existem vários tercetos para cada aminoácido, o que não é de se estranhar muito, já que existem somente 20 aminoácidos codificados geneticamente e 64 tipos diversos de arranjos das quatro bases nitrogenadas, quando tomadas três a três:

AAA GAA CUC GAG UUC ACG CGA GUA
 AAC UAA ACC GCG UUG ACU CGU GUC
 AAG CCC GCC GUG UAU AGC CUA UAC
 AAU CCA UCC AGG UCU AGU CUG UAG
 ACA CCG GGG CGG UGU AUC GAC UCA
 AGA CCU GGA UGG AUU AUG GAU UCG
 AUA CAC GGC UUU CUU CAG GCA UGA
 CAA CGC GGU UUA GUU CAU GCU UGC

O processo de reconhecimento nem por causa disso deixa de ser específico: só não seria específico se existissem vários aminoácidos capazes de se combinarem com um único sRNA.

Um aspecto interessante que foi notado, na questão de existirem vários terços codificadores para cada tipo de aminoácido, é que tudo se passa como se o reconhecimento fôsse degenerado dentro de certos padrões: não importariam realmente os terços, mas sim duplas "modificadas" de nucleotídeos: por exemplo, em palavras de mRNA, o aminoácido ácido glutâmico equivale aos terços AAG ou AUG; é como se o que importasse realmente para reconhecer o aminoácido fôsse não a seqüência AAG ou AUG, mas somente a dupla "modificada" A.G.

As principais etapas da biossíntese protéica podem ser resumidas no seguinte esquema (fig. 29):

Foi dito no início do presente trabalho que o DNA era a substância responsável pelo aparecimento e pela transmissão dos caracteres biológicos na quase totalidade dos organismos vivos. Os organismos vivos onde o DNA não é o material genético são alguns vírus (mosaico do tabaco, poliomielite, etc.) que não o possuem, sendo nêles encontrado somente, além do envoltório protéico, um tipo de RNA denominado RNA viral, que funcionaria como mRNA para a síntese de cápsulas protéicas e que, na presença de uma enzima mediadora, seria capaz de originar, por um processo de moldagem, uma molécula de RNA complementar, molécula esta capaz por sua vez de servir como template para a produção de novas partículas do RNA viral.

Até que ponto o mecanismo químico do controle genético da síntese protéica pode ser generalizado, é meio arriscado preci-

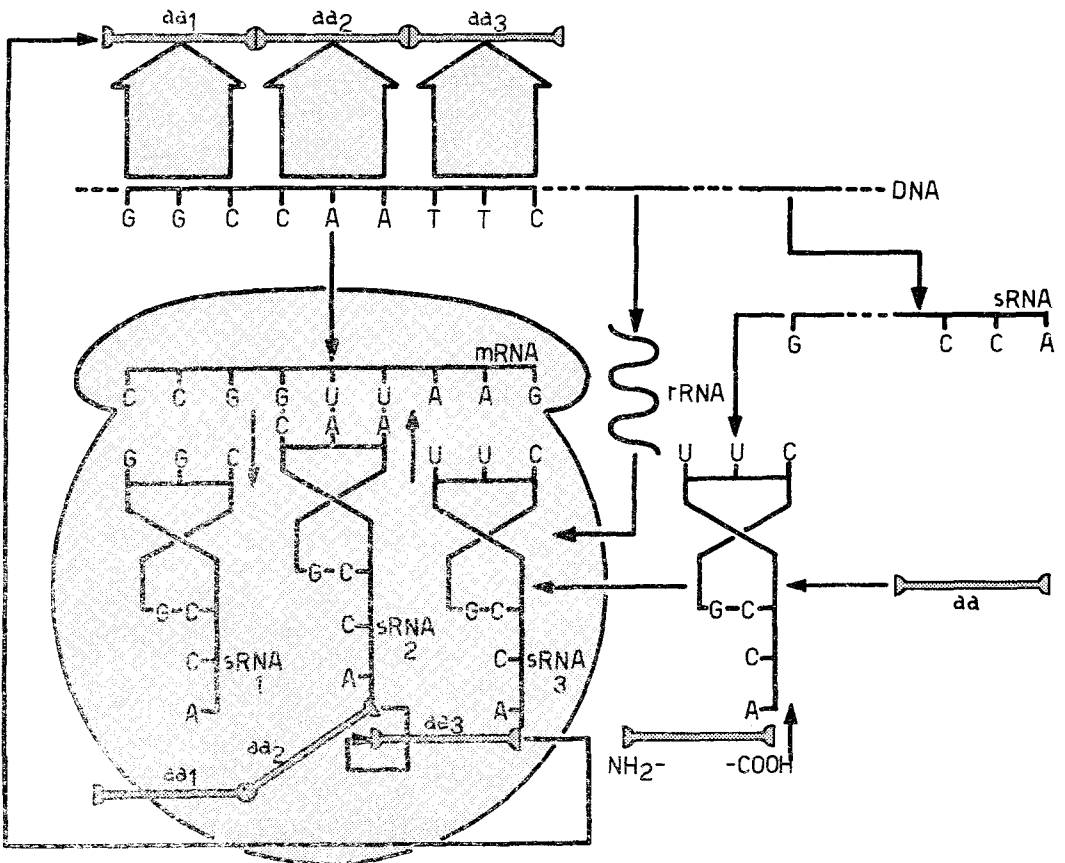


Fig. 29

sar, principalmente no que diz respeito às etapas intermediárias; em linhas gerais o mecanismo pelo qual se manifesta o fenômeno biológico seria universal, desde os vírus até os mamíferos: o RNA do vírus do mosaico do tabaco é capaz de dirigir, servindo como mRNA, a síntese da protei-

na viral no sistema acelular descrito por Nirenberg, que contém ribossomas, sRNA e enzimas de bactérias; ribossomas e mRNA de reticulócitos de coelhos são capazes de, utilizando enzimas e sRNA/aa de bactérias, sintetizar in vitro uma proteína bastante semelhante à hemoglobina.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — ARLINGHAUS, R., SHAEFFER, J., SCHWEET, R., — "Mechanism of Peptide Bond Formation in Polypeptide Synthesis", Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., 51: 1291-1299, 1964.
- 2 — CHAMBERLIN, M., BERG, P., — "Deoxyribonucleic Acid-Directed Synthesis of Ribonucleic Acid by an Enzyme from *Escherichia coli*", Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., 48: 81-94, 1962.
- 3 — CHAPEVILLE, F., LIPMANN, F., EHRENSTEIN, G. V., WEISBLUM, B., RAY, W. J., Benzer, S., — "On the Role of Soluble Ribonucleic Acid in Coding for Amino Acids", Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., 48: 1086-1092, 1962.
- 4 — DE ROBERTIS, E. D. P., NOWINSKI, W. W., SAEZ, F. A., — "Biología Celular", El Ateneo, Buenos Aires, 1965.
- 5 — DINTZIS, H. M., — "Assembly of the Peptide Chains of Hemoglobin", Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., 47: 247-261, 1961.
- 6 — EHRENSTEIN, G. V., LIPMANN, F., — "Experiments on Hemoglobin Biosynthesis", Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., 47: 941-950, 1961.
- 7 — GILBERT, W., — "Polypeptide Synthesis in *E. coli*. II. The Polypeptide Chain and s-RNA", J. Mol. Biol., 6: 389-403, 1963.
- 8 — GRUNBERG-MANAGO, M., OCHOA, S., — "Enzymatic Synthesis and Breakdown of Polynucleotides; Polynucleotide Phosphorylase", J. Am. Chem. Soc., 77: 3165-3166, 1955.
- 9 — GRUNBERG-MANAGO, M., ORTIZ, J. P., OCHOA, S., — "Enzymic Synthesis of Polynucleotides", Biochim. Biophys. Acta, 20: 269-285, 1956.
- 10 — HALL, B. D., SPIEGELMAN, S., — "Sequence Complementarity of T₂-DNA and T₂-Specific RNA", Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., 47: 137-146, 1961.
- 11 — HARTMAN, P. E., SUSKIND, S. R., — "Gene Action", Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs. 1965.
- 12 — HURWITZ, J., FURTH, J.J., — "Messenger RNA", Sci. Am., 206 (2): 41-49, 1962.
- 13 — LARA, F.J.S., MIRANDA, M., — "Bases Químicas da Hereditariedade", in Pavan, C., Cunha, A. B., "Elementos de Genética", Companhia Editora Nacional, São Paulo, 1966, Pp. 18-36.
- 14 — MAGALHÃES, L. E., — "A Ultra-Estrutura do Gene e o Código Genético", in Pavan, C., Cunha, A. B., "Elementos de Genética", Companhia Editora Nacional, São Paulo, 1966, Pp. 37-66.
- 15 — NIRENBERG, M. W., MATTHAEI, J. H., — "The Dependence of Cell-Free Protein Synthesis in *E. coli* upon Naturally Occurring or Synthetic Polyribonucleotides", Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., 47: 1588-1602, 1961.
- 16 — NIRENBERG, M. W., MATTHAEI, J. H., JONES, O.W., MARTIN, R.G., BARONDES, S.H., — "Approximation of Genetic Code Via Cell-Free Protein Synthesis Directed by Template RNA", Fed. Proc., 22: 62-74, 1963.
- 17 — NIRENBERG, M. W., — "The Genetic Code: II", Sci. Am., 208 (3): 80-94, 1963.
- 18 — NOVELLI, G. D., — "Protein Synthesis in Microorganisms", Ann. Rev. Microbiol., 14: 65-82, 1960.
- 19 — OCHOA, S., — "Synthetic Polynucleotides and the Genetic Code", Fed. Proc. 22: 62-74, 1963.
- 20 — RICH, A., — "Polyribosomes", Sci. Am., 209 (6): 44-53, 1963.
- 21 — ROBERTS, R. B., — "Alternative Codes and Templates", Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 48: 897-900, 1962.
- 22 — SPIEGELMAN, S., — "Information Transfer from the Genome", Fed. Proc., 22: 62-74, 1963.
- 23 — STEVENS, A., — "Net Formation of Polyribonucleotides with Base Compositions Analogous to Deoxyribonucleic Acid", J. Biol Chem., 236 (7): pp 43-45, 1961.

- 24 — TSUGITA, A., FRAENKEL-CONRAT, H., NIRENBERG, M. W., MATTHAEI, J. H., — "Demonstration of the Messenger Role of Viral RNA", Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., 48: 846-853, 1962.
- 25 — WAHBA, A. J., GARDNER, R. S., BASILIO, C., MILLER, R.S., SPEYER, J.F., LENGYEL, P., — "Synthetic Polynucleotides and the Amino Acid Code", Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., 49: 116-122, 1963.
- 26 — WARNER, J. R., KNOPF, P. M., RICH, A., — "A Multiple Ribosomal Structure in Protein Synthesis", Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 49: 122-129, 1963.
- 27 — WARNER, J.R., SOEIRO, R., — "The Involvement of RNA in Protein Synthesis", New Eng. J. Med., 276 (10): 563-570, 1967; New Eng. J. Med., 276 (11): 613-619, 1967; New Eng. J. Med., 276 (12): 675-680, 1967.
- 28 — WEISS, S. B., NAKAMOTO, T., — "Net Synthesis of Ribonucleic Acid with a Microbial Enzyme Requiring Deoxyribonucleic Acid and Four Ribonucleoside Triphosphates", J. Biol. Chem., 236 (3): Pp. 18-20., 1961.
- 29 — ZAMECNIK, P. C., — "Unsettled Questions in the Field of Protein Synthesis", Biochem. J., 85: 257-264, 1962.
- 30 — ZAMECNIK, P. C., — "The Mechanism of Protein Synthesis and Its Possible Alteration in the Presence of Oncogenic RNA Viruses", Cancer Res., 26 (1): 1-6, 1966.
- 31 — ZUBAY, G., — "Molecular Model for Protein Synthesis", Science, 140: 1092-1095, 1963.