

LEPROMINO-REAÇÃO E ALTERAÇÕES ELETROFORÉTICAS EM INDIVÍDUOS NÃO DOENTES DE LEPROSA E PORTADORES DE AFECÇÕES SISTÊMICAS (*)

ADHEMAR MÁRIO FIORILLO LUIZ MARINO BECHELLI**

São muito raros os trabalhos que procuram evidenciar as alterações eletroforéticas na lepra, em relação com os seus tipos clínicos ou com a lepromino-reação, o que se compreende pela dificuldade da realização da eletroforese.

SEIBERT e NELSON¹¹ (1948) fizeram a eletroforese, pelo método de Tiselius, em três casos de lepra lepromatosa avançada, tendo observado diminuição acentuada de albumina em todos os casos; por outro lado, tal como em doentes de tuberculose, havia aumento de alfa e gama globulina, mais acentuado do que entre aqueles pacientes.

HOSTER, BAPTISTA e VELLINI⁷ (1951) publicaram o trabalho mais completo sobre o assunto, com uma casuística volumosa, em se considerando as dificuldades do exame eletroforético. Êste foi feito no plasma de 24 doentes de lepra, dos diversos tipos clínicos, com o aparelho de Tiselius e solução tampão de barbiturato de sódio, de pH-8,6. Dividiram seus casos em três grupos, um formado pelos lepromatosos e dois outros por tuberculóides e "incaeracterísticos" (indeterminados); observaram aumento de gama globulina no primeiro grupo e perfis praticamente normais no segundo e no terceiro. Afóra as anormalidades da gama globulins, notaram pequenas alterações de menor importância nas outras frações. Entre os lepromatosos, apenas em um doente não aumentou a gama globulina. Esta tende a aumentar nos casos de lepra "indeterminada", com provável evolução para a lepra lepromatosa.

Mediante o uso da eletroforese, estudaram ARCUZI e INZERILLO² (1952) o sôro sanguíneo de 15 doentes de lepra e depois do tratamento com tiosemicarbazona. 9 eram do tipo nodular (lepromatosos), 2 do tipo nervoso (indeterminados ou tuberculóides?) e os outros 4 eram mistos (lepromatosos?). Antes do tratamento, o total de proteínas do sôro alcançava 7,37 g %. A albumina do sôro tendia a ser mais baixa que o normal. As globulinas alfa e beta mostraram pequeno aumento, enquanto a gama globulina estava constantemente aumentada. As globulinas beta e gama pareciam variar segundo o tipo de lepra. Depois do tratamento com tiosemicarbazona, o total de proteínas do sôro mostrou uma redução, a albumina um aumento, enquanto o conteúdo de globulina gama tinha se reduzido nitidamente; nas outras globulinas não houve modificação alguma. Concluem que as alterações reveladas a respeito das proteínas sanguíneas provêm de uma reação não específica, a qual se manifesta em crescente atividade, por parte das células retículo-endoteliais e que não está relacionada com a formação de anticorpos.

* Trabalho da Clínica de Moléstias Infectuosas (Serviço do Prof. J. Alves Meira) e da Clinica Dermatológica (Serviço do Prof. J. Aguiar Pupo) da Faculdade de Medicina de São Paulo e da Seção de Epidemiologia do Departamento de Profilaxia da Lepra de São Paulo. Apresentado ao VI Congresso Internacional de Leprologia, Madrid, outubro de 1953.

** Respectivamente, assistente da Clínica de Moléstias Infectuosas e docente-livre de Dermatologia e chefe da Seção de Epidemiologia do D. P. L.

PROVÁVEL EXPLICAÇÃO PARA AS ALTERAÇÕES ELETROFORÉTICAS OBSERVADAS NA LEPRO

De acôrdo com o trabalho de ARCUZI e INZERILLO² (1952), o aumento da gama globulina na lepra lepromatosa dependeria, provávelmente, de uma reação não específica por parte do SRE e que não estaria relacionada com a formação de anticorpos. Esta hipótese parece provável porque na lepra lepromatosa há pronunciado comprometimento dos órgãos da linhagem linfo-hematopoiética (gânglios, fígado, baço e medula óssea), do que poderia resultar aumento da gama globulina.

Parece-nos que na lepra lepromatosa as alterações eletroforéticas poderiam depender também — e talvez principalmente — de comprometimento hepático, existente em quase 100% dos portadores dêste tipo de moléstia (em 69 lepromatosos, que um de nós teve ocasião de necropsiar, foi evidenciada estrutura lepromatosa em 95,7% dos casos, com comprometimento do SRE-1944). Naturalmente, só com investigações posteriores se poderá comprovar o acerto ou não desta hipótese.

Na lepra tuberculóide o traçado eletroforético é normal porque os processos imunitários seriam relacionados e restritos aos tecidos, não tendo, por isso, expressão humoral. Com efeito, as diversas reações humorais são negativas neste tipo de lepra e a capacidade defensiva se revela pela intradermoreação de Mitsuda. Por outro lado, se existem processos viscerais na lepra tuberculóide — e agora vêm sendo evidenciados pela biopsia de fígado — eles seriam de pouca monta e com tendência para a involução, tal como as lesões cutâneas; daí não determinar aumento de gama globulina, como na lepra lepromatosa.

Ao lado dêstes trabalhos que procuram fixar as alterações eletroforéticas encontradas na lepra humana, é mister referir as investigações levadas a efeito para estudar o comportamento da reação de Mitsuda em indivíduos livres de lepra, mas portadores de outras afecções. Neste particular, ROTBERG⁸ (1937) praticou a lepromino-reação em indivíduos não doentes de lepra, mas debilitados por malária, tuberculose pulmonar, blastomicose e outras moléstias, tendo verificado numerosas e intensas respostas positivas, o mesmo tendo ocorrido em casos de lepra enfraquecidos por várias afecções intercorrentes; apenas em casos de tuberculose pulmonar em caquexia, ROTBERG e OLIVEIRA¹⁰ (1937) observaram lepromino-reações negativas com certa freqüência e sempre acompanhadas de anergia à própria tuberculina. E respostas positivas foram obtidas por CONVIT, AZULAY, FERNANDEZ e SALGADO⁴ (1944), ROTBERG, BECHELLI e KEIL⁹ (1948) em portadores de tuberculose, nos Estados Unidos.

Diante dêstes resultados, era de se esperar que também em nosso material se observassem lepromino-reações positivas, sendo interessante correlacionar o resultado das respostas ao antígeno lepromínico com as alterações eletroforéticas encontradas.

MATERIAL DE ESTUDO E TÉCNICA

Fez-se a eletroforese no sôro, em papel-filtro, pelo método de GRASSMANN, com tampão de barbiturato de sódio, de pH-8,6 e leitura fotométrica das faixas coradas pelo amido-schwartz 10 B, no aparelho de Elphor — Dr. Bender Dr. Hobein, Munique.

12 pacientes portadores de várias entidades clínicas foram submetidos ao exame eletroforético e à lepromino-reação de Mitsuda*.

* Agradecemos ao Sr. Abraão Rotberg, chefe da Secção de Alergia do Hospital das Clínicas e às suas auxiliares, Nilza Vale Belo e Terezinha Aparecida Salomão a prática da reação de Mitsuda em nossos doentes. O critério de leitura foi o adotado na II Conferência Pan-Americana de Lepra, Rio de Janeiro, 1946.

RESULTADOS

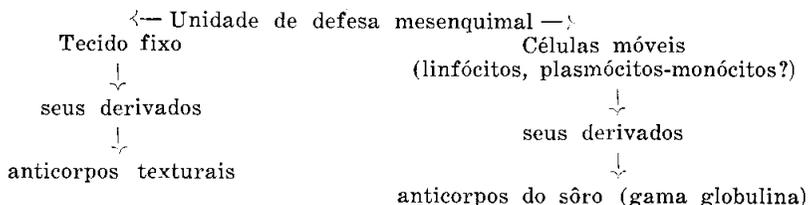
São reunidos no quadro anexo (n.º 1) e no seguinte (n.º 2)

QUADRO N.º 2

Eletroforese	Lepromino-reação					Total
	Negativa	Duvidosa	+	++	+++	
Normal 0						
Albumina abaixo do normal 12						
Globulinas:						
gama { pouco elevada			3		1	4
** { moderadamente elevada			2	4		6
{ muito elevada	1					1
beta { muito elevada	1					1
Total	2	0	5	4	1	12

COMENTÁRIOS

Antes de considerar os resultados obtidos em nosso material, será interessante, para melhor compreensão do assunto, tecer alguns comentários sobre o *conceito de alteração funcional comum do mesênquima*, baseados nas idéias de AEGERTER & LONG¹ (1949). Uma das funções mais importantes do mesênquima é a de defesa. O SRE e seus derivados são responsáveis pela formação de anticorpos circulantes, imuno-globulinas, que têm função de defesa, de maneira não esclarecida; também a formação de globulinas não é bem conhecida. Acentua ERICH que a produção de anticorpos e, portanto, de gama globulina, está intrinsecamente ligada aos linfócitos. Por outro lado, BJORNEBOE e col.³ fornecem dados experimentais que indicam a produção de anticorpos por plasmócitos. É provável que linfócitos e plasmócitos sejam os elementos celulares móveis ligados à produção de imuno-globulinas. Outros elementos fixos, derivados do mesênquima (fibroblastos, etc) apresentariam, provavelmente, alterações citoplasmáticas, como resposta a estímulo antigênico, produzindo derivados celulares, que seriam anticorpos tissulares, equivalentes ou análogos à gama globulina do soro. Assim, o mesênquima e seus derivados podem ser considerados como uma "unidade de defesa do organismo". No esquema abaixo está exposto este conceito:



** Gama globulina pouco elevada: teor inferior a 2 g 100/ml soro

Gama globulina moderadamente elevada: teor entre 2 a 3 g 100/ml soro

Gama globulina muito elevada: teor acima de 3 g 100/ml soro

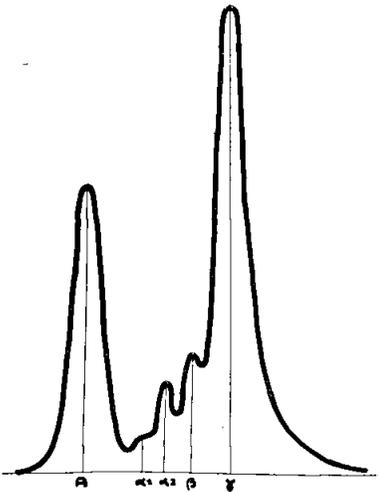
Este é um critério pessoal adotado no presente trabalho para objetivar a alteração da gama globulina.

VALDÊNIO C.

(17-6)

Leishmaniose Visceral

Lepromino-reação /-----/

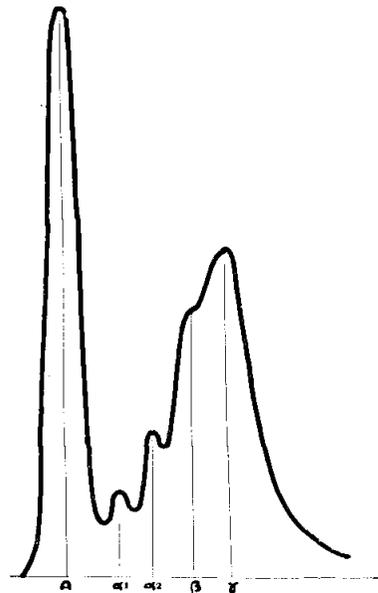


Aumento acentuado da gama globulina
 A — albumina
 alfa 1 — alfa 1 globulina
 alfa 2 — alfa 2 globulina
 beta — beta globulina
 gama — gama globulina

PEDRO B. S.

Esquistossomíase

Lepromino-reação ++

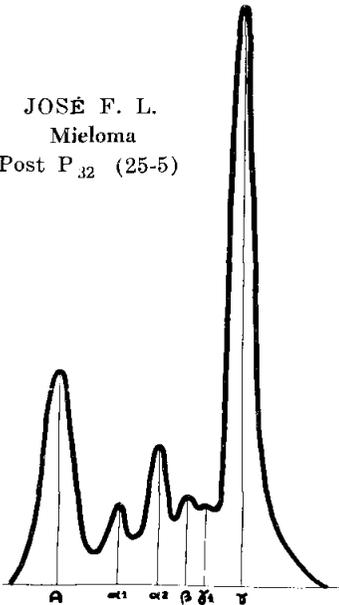


Aumento das beta e gama globulinas

JOSÉ F. L.

Mieloma

Post P₃₂ (25-5)

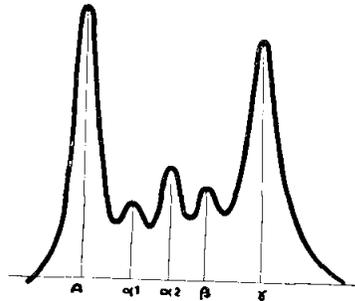


Aumento discreto da alfa 2 globulina; aumento acentuado da gama globulina

M. L. R.

L. e Visceral

Lepromino-reação ++



Aumento evidente das alfa 2 e gama globulina

A propósito dos *anticorpos e gama globulina*, releva notar que, em 1939, TISELIUS & KABAT¹³ mostraram que depois de imunização de coelhos e macacos com antígenos bacterianos e de coelhos com albumina de ôvo, houve aumento acentuado de gama globulina no perfil eletroforético do anti-sôro. Pôde ser demonstrado que quase todos os anticorpos específicos ficam situados na fração gama e que a absorção asses anticorpos pelos antígenos resulta em acentuada queda do teor da gama globulina, correspondendo, quantitativamente, à quantia de anticorpos removidos. Já se provou que todos os anticorpos têm mobilidade eletroforética equivalente à gama globulina ou à beta globulina ou a um componente de mobilidade intermediária entre beta e gama, que têm sido denominado de gama-1, gama-2, e beta-2 globulinas. O aumento da gama globulina, na maioria das infecções crônicas é fato assentado; êste aumento parece correr por conta de elevação de anticorpos específicos e "não específicos".

Por outro lado, certas infecções como a sífilis, produzem quantia tão pequena de anticorpos que não alteram o quadro eletroforético. Em algumas doenças crônicas não infecciosas, também pode existir aumento do teor da gama globulina; nelas há extensa destruição celular ou o desenvolvimento de granulomas proliferativos. O achado da gama globulina sugere a possibilidade de que se formem anticorpos tissulares homólogos aos tecidos destruídos; isto não está, ainda, esclarecido.

Após estas considerações, passamos a comentar os resultados obtidos em nosso material.

COMENTÁRIOS

Em todos os pacientes em que havia alteração eletroforética do soro, o teor da albumina estêve abaixo do normal. Do teor das globulinas, havia aumento da gama globulina em todos, exceto em um; êste aumento era muito alto apenas em um caso, atingindo teor superior ao da albumina; em nove era regularmente elevado e em um tinha valor pouco acima do normal.

A beta globulina esteve muito elevada em um doente (mieloma de beta globulina) e neste a reação de Mitsuda foi negativa.

A gama globulina estêve elevada em 11 pacientes, em virtude de:

1.º) *a alterações acentuadas do SRE:*

a) hemopatias (linfossarcoma, Hodgkin e plasmocitoma) (4 casos) ;

b) colagenose: lupo eritematoso com lesões viscerais (ausência de lesões cutâneas: "lupus sine lupus") (1 caso); e

c) leishmaniose visceral (1 caso);

ou então:

2.º) *a alterações hepáticas por granuloma esquistossomótico* (5 casos):

Nestes 11 pacientes com gama globulina elevada, a reação de Mitsuda foi:

1) negativa em	1 doente
2) + (fracamente positiva) em	5 doentes
3) ++ (moderadamente positiva) em	4 doentes
4) +++ (fortemente positiva) em	1 doente

Vê-se que o organismo, embora solicitado profundamente por afecções diversas — como evidenciadas no perfil eletroforético — mantém a capacidade de responder positivamente à lepromino-reação. Fica, assim, evidenciado que esta capacidade defensiva contra a lepra não parece sofrer, de modo sensível, a influência de outras afecções que solicitem os mecanismos de defesa, como, aliás, a simples feitura da reação de Mitsuda em diversas afecções já o demonstrara.

Tentando relacionar os fatos, temos: o aumento da gama globulina refletiria a produção de anticorpos pelo SRE, específicos, não específicos ou "textu-

rais-homólogos". A gama globulina muito elevada indicaria superestímulo do SRE para a produção de anticorpos em determinado sentido. Existiria polarização na produção de certos anticorpos em detrimento de outros? Estaria o mecanismo de defesa e de imunidade polarizado em um sentido, em detrimento de outro? Fatos experimentais e clínicos indicam o contrário: injetando-se, em seres humanos, 35 antígenos diversos, houve recuperação simultânea, imunológica, de 32 de seus anticorpos (TREFFERS¹⁴, 1962). Nossos pacientes, com entidades clínicas diversas, com superestímulo do SRE, evidenciado no valor elevado da gama globulina no perfil eletroforético, puderam responder positivamente à reação de Mitsuda.

Do exame da literatura e dos resultados que obtivemos, talvez chame a atenção o fato de que na lepra lepromatosa, com gama globulina aumentada, se tenha lepromino-reação negativa e que, em nossos doentes (sem lepra e com afecções diversas) com aumento da gama globulina, a lepromina seja positiva. Note-se, porém, que o aumento da gama globulina, em nossos casos, corre por conta de afecções que nada têm a ver com a lepra. A gama globulina muito elevada indicaria superestímulo do SRE para a produção de anticorpos em determinado sentido, em relação com a afecção presente. Vimos, a propósito, que não haveria a polarização na produção de certos anticorpos em detrimento de outros, conforme o demonstraram fatos clínicos e experimentais, inclusive os observados em nossos pacientes.

Vê-se que o organismo, embora solicitado profundamente por afecções diversas — como se nota no perfil eletroforético —, mantém a capacidade de responder positivamente à lepromino-reação. Fica, assim, evidenciado que esta capacidade defensiva contra a lepra não parece sofrer, de modo sensível, a influência de outras afecções que solicitem os mecanismos de defesa, como, aliás, a simples feitura da reação de Mitsuda em diversas moléstias já o demonstrara.

SUMÁRIO

Procuram os AA. correlacionar o resultado das respostas ao antígeno lepromínico com as alterações eletroforéticas encontradas em indivíduos não doentes de lepra e portadores de afecções sistêmicas. Foi feita a eletroforese no soro, em papel-filtro, pelo método de Gassman, com tampão de barbiturato de sódio, de pH 8,6 e leitura fotométrica das faixas coradas pelo "Amidoschwartz 10 B" no aparelho de Elphor — Dr. Bender e Dr. Hobein, Munique.

12 casos foram submetidos ao exame eletroforético e à lepromino-reação de Mitsuda.

Resultados: Em todos os pacientes em que havia alteração eletroforética do soro, o teor de albumina estava abaixo do normal. Do teor das globulinas, havia aumento da gama globulina em todos, exceto um. Este aumento era muito alto apenas em um caso, atingindo teor superior ao da albumina; em outro, elevava-se pouco acima do normal.

A beta globulina esteve muito elevada em um caso (mieloma de beta globulina e neste a reação de Mitsuda foi negativa).

Deve-se notar que a gama globulina esteve alta em 11 pacientes, em virtude: 1.º de alterações acentuadas do SRE: a) hemopatias (linfossarcoma, Hodgkin e plasmocitoma (4 casos); b) colagenose: lupo eritematoso com lesões viscerais (ausência de lesões cutâneas: "lupus sine lupus") (1 caso); e c) leishmaniose visceral (1 caso); ou então: 2.º em consequência de alterações hepáticas, por granuloma esquistosomótico: 5 casos.

Nestes 11 pacientes com gama globulina elevada, a reação de Mitsuda foi:

Negativa em	1 doente
+ (fracamente positiva) em	5 doentes
++ (moderadamente positiva) em	4 doentes
+++ (fortemente positiva) em	1 doente

Deduzem que o organismo, embora solicitado profundamente por afecções diversas — como se nota no perfil eletroforético — mantém a capacidade de responder positivamente à lepromino-reação. Fica, assim, evidenciado que esta capacidade defensiva contra a lepra não parece sofrer, de modo sensível, a influência de outras afecções que solicitem os mecanismos de defesa, como, aliás, a simples feitura da reação de Mitsuda em diversas afecções Já o demonstrara.

QUADRO N.º 1

Nome	Diagnóstico	Eletroforese					
		Reação de Mitsuda	Albumina	Globulinas			Gama
				Alfa 1	Alfa 2	Beta	
1) Maria L. R.	Lupus eritematoso	48 h. ++++ 30 d. +++	baixa	—	—	—	elevada
2) César T.	Linfosarcoma	48 h. + 30 d. +	baixa	—	elevada	—	pouco elevada
3) Olinda V.	Hodgkin	48 h. /—/ 30 d. +	baixa	—	—	—	elevada
4) José O. P.	Hodgkin	48 h. ± 30 d. ±	pouco baixa	—	—	—	pouco elevada
5) Miguel D. A.	Mieloma de beta globulina	48 h. /—/ 30 d. /—/	baixa	—	pouco elevada	elevada	—
6) Alenita V.	Mielo esclerose	48 h. + 30 d. +++	pouco baixa	—	—	—	pouco elevada
7) Jostas S.	Esquistossomiase	48 h. /—/ 30 d. ++	pouco baixa	—	—	pouco elevada	elevada
8) Pedro B. S.	Esquistossomiase	48 h. +++ 30 d. ++	pouco baixa	—	—	pouco elevada	elevada
9) Luis T. S.	Esquistossomiase	48 h. + 30 d. +	pouco baixa	—	—	pouco elevada	elevada
10) Carmelita O.	Esquistossomiase	48 h. /—/ 30 d. +	pouco baixa	—	—	pouco elevada	pouco elevada
11) Júlia S.	Esquistossomiase	48 h. /—/ 30 d. ++	baixa	—	—	pouco elevada	elevada
12) Valdêncio C.	Leishmaniose visceral	48 h. + 30 d. /—/	baixa	—	—	—	muito elevada

SUMMARY

The AA. studied the relation between the lepromin test and the electrophoretic analysis in 12 patients with systemic affections, excluding leprosy. Electrophoresis was done in the serum, with filter paper, by Gassmann's method, with sodium barbiturate buffer, pH 68,6 and photometric reading by "Amidoschwartz 10 B" in the apparatus of Elphor — Dr. Bender and Dr. Hobein, Munich.

In all patients with electrophoretic changes in the serum, the value of albumin was under the normal. Gamma globulins were increased in all patients but one; in one this increase was very pronounced, reaching value superior to that of the albumin: in another it was slightly higher than the normal.

Beta globulin was very high in one case (the patient had beta globulin myeloma and negative lepromin test).

In the 11 patients with elevated gamma globulin the Matsuda reaction was negative. In one, 1 + (slightly positive), in five, 2 + (moderately positive) in four and 3 + (strongly positive) in one.

The AA. conclude that the organism keeps the capacity of reacting positively to the lepromin test, though deeply solicited by different affections, as the electrophoresis has shown. So, this capacity of defense against leprosy does not seem greatly influenced by other affections in which there is the activity of the mechanisms of defense, as the study of the lepromin test in some diseases has already shown.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — AEGERTER, E. E. & LONG, J. H. — The collagen diseases. *Am. J. M. Sc.*, 1949:218 324-337.
- 2 — ARCUZI, F. & INZERILLO, R. — Proteínas sanguíneas em la lepra. *Acta Med. Ital.* 1952, 899. Resumo in *Bol. Ofic. San. Panam.*, 1953:34 (1) 72-73.
- 3 — BJORNEBOE, M., GORMSEN, H. & LUNDQUIST, F. — Further experimental studies on the role of plasma cells as antibody producers. *J. Immunol.*, 1947:55, 121-129.
- 4 — CONVIT, J., AZULAM, R. D., BERMUDEZ, D. & SALGADO, D. — The lepromin test in tuberculous persons in a non-endemic area. *Internat. J. Leprosy*, 1944:12 (N.º esp. 3) 60.
- 5 — ERICH, W. E. & HARRIS, T. N. — The formation of antibodies in the popliteal lymph nodes in the rabbits. *J. Exper. Med.* 1942-76, 335.
- 6 — GRASSMANN, W., HANNIG, K. & KNEDEL, M. — Ueber ein Verfahren zur Elektrophoretischen Bestimmung der Serumproteine auf Filtrierpapier. *Deutsche Med. Wchnschr.* 1951:76, 333-336.
- 7 — HOXTER, G., BAPTISTA, L. & VELLINI, L. L. — Estudos electroforéticos nas diversas formas clinicas da lepra. *Rev. Brasil. Leprol.*, 1951:19 (1) 27-40.
- 8 — ROTBERG, A. — Some aspects of immunity in leprosy and their importance in epidemiology, pathogenesis and classification of the forms of the disease. *Rev. Brasil. Leprol.* 1937:5 (N.º esp.) 45.
- 9 — ROTBERG, A., BECHELLI, L. M. & NEIL, H. — Reação de Mitsuda em área não leprogênica. *Congr. Internse. Lepra — Memoria (V — 1948)*, Habana, 1949, p. 586.
- 10 — ROTBERG, A. & OLIVEIRA, J. F. — A reação da lepromina na tuberculose. *Rev. Brasil. Leprol.* 1937:5 (N.º esp.) 287.
- 11 — SEIBERT, F. B. & NELSON, J. W. — Eletrophoresis of serum; serum proteins in tuberculosis and other chronic diseases. *Am. Rev. Tuberc.*, 1943:47, 66-67. Resumo in *Internat. J. Leprosy*, 1948:16 (96-97).
- 12 — SHIGEMATUS, S. & NAKAMURA, M. — Relations between the onset of murine leprosy and serum fractions. *Lepro*, 1951:20, 201-202.
- 13 — TISELIUS, A. & KABAT, E. A. — Eletrophoretic study of immune sera and purified antibody preparations. *J. Exper. Med.*, 1939:69, 119.
- 14 — TREFFERS, H. — *Bacterial and Mycotic Infection of Man*. Philadelphia, Lippincott, 1948, p. 183.