

POLISSACÁRIDES SÉRICOS NOS DIFERENTES TIPOS E FASES DA LEPROSA

CÂNDIDO SILVA * e MILAN TUMA **

Nos anos de 1948-50, F. Seibert e colaboradores^{4, 5, 6} publicaram trabalhos relatando a presença nos soros das pessoas tuberculosas de substâncias de natureza polissacarídica, que estariam ligadas aos processos imunológicos da tuberculose. Uma elevação acima de um certo nível dessas substâncias, significaria, tanto nas pessoas doentes, como nos animais de experimentação, um agravamento perigoso da doença, seguido, algumas vezes, do êxito letal. Pelos métodos electroforéticos foi comprovado que estas substâncias estariam ligadas à alfa 2 globulina. O método de dosagem utilizado foi o de triptofânio-ácido perclórico (TAP) de Seymour Cohen, sendo os resultados expressos em Unidades Klett.

Posteriormente, numerosos trabalhos sobre os polissacárides no soro foram realizados e publicados por vários investigadores, utilizando técnicas diferentes, inclusive para a dosagem dos diversos tipos de tais substâncias^{2,3}. Foi também estabelecido que elas se encontram ligadas às proteínas séricas e são, portanto, chamadas *glicoproteínas*. A fração protéica mais rica em polissacárides é a alfa globulina; as albuminas, proporcionalmente, contém a menor quantidade de polissacárides.

Na tuberculose, segundo os trabalhos de F. Seibert, os polissacárides parecem relacionar-se aos processos imunológicos. Como se sabe, na lepra existem duas formas polares diferentes uma da outra conforme o grau de resistência oferecida ao bacilo de Hansen pelo organismo humano. Por isto, julgamos importante verificar a possível existência de algum fator diferencial importante, por ventura relacionado com os polissacárides do soro. Além disso, há também grande interesse no estudo da patogenia das reações lepróticas, cujo esclarecimento seria de grande valor prático e doutrinário.

Considerações sobre a técnica. A técnica de ácido perclórico-triptofânio apresenta alguns inconvenientes, como frizaram Seibert e colaboradores^{4, 5, 6}, que não puderam determinar a natureza da substância em causa, motivo pelo qual expressaram os resultados em Unidades Klett, correspondendo cada Unidade a um ponto da escala do fotocolorímetro de Klett-Summerson. Neste nosso trabalho seguimos esta mesma orientação.

A técnica do ácido perclórico-triptofânio de Seymour Cohen¹, consiste na condensação de carboidratos com triptofânio em presença de ácido perclórico, desenvolvendo-se cor marrom avermelhada, proporcional à concentração de polissacárides, após aquecimento durante 10 minutos, no banho-maria fervente e filtração no papel Whatmann 42.

* Encarregado da Turma de Bacteriologia e Imunologia do Instituto de Leprologia (Chefe: Dr. João Baptista Risi).

** Assistente da Turma de Bacteriologia e Imunologia do I. L.

A despeito do mencionado inconveniente, foi realizado êste trabalho por esta mesma técnica, para não perder a possibilidade de comparar os resultados obtidos na lepra com os encontrados na tuberculose, sem querer, com isto, forçar o possível parentesco tão distante entre estas doenças.

MATERIAIS E MÉTODOS

Reagentes:

1 — Ácido perclórico c. p. 60%.

2 — Solução salina: 0,9% em água destilada.

3 — Triptofânio 0,25%: os cristais são colocados na solução de soda a 0,075N (20-25 cc para dissolver 250 mg de triptofânio). Esta solução é neutralizada com HClN e diluída a 100 cc com água destilada.

Técnica

1 — A 0,25 cc de soro juntar 0,75 cc de salina, 2 cc da solução de triptofânio e 3 cc de ácido perclórico 60%.

2 — Todos os tubos são agitados, cobertos com tampa de vidro e imersos simultaneamente por 10 minutos exatamente em um banho-maria fervente.

3 — Êles são então removidos simultaneamente do banho-maria, resfriados na água e deixados por 40 minutos com agitação ocasional, para provocar a completa precipitação.

4 — As soluções vermelho-marron turvas são então filtradas em papel Whatmann n.º 42 até clarearem.

5 — As soluções são então lidas no clorímetro Klett, usando filtro 50000 A contra o tubo contróle (feito com os reagentes ácido perclórico-triptofânio) aferido no zero. Uma vez que a côr natural dos soros difere consideravelmente, para evitar essa interferência, subtrai-se do valor do desconhecido o valor obtido com a solução de 0,25 cc do soro diluído em 5,75 cc de salina contra o contróle. Neste trabalho, no entanto, pequena modificação desta técnica foi usada por nós, a qual consistiu em fazer a leitura do desconhecido diretamente contra o soro diluído e não contra o contróle dos reagentes.

RESULTADOS

1 — *Pessoas sadias.* Foi feita a dosagem de polissacárides em 17 pessoas sadias, tôdas adultas, de ambos os sexos. Como se pode verificar na tabela n.º 1, foi encontrada a média aritmética de 88,58 Unidades Klett. Êste valor está acima do achado por F. Seibert, que era de 60 Unidades. A diferença poderia ser explicada em parte pela modificação da técnica acima mencionada, ou simplesmente pelo fato de se usar outro aparelho ou então pela diferença de condições climáticas do nosso ambiente. Entretanto, a dispersão dos valores, expressa em desvio padrão, encontrada no trabalho da F. Seibert e no nosso foi respectivamente de 12,9 e 12,8, quer dizer, praticamente igual. O valor médio encontrado em pessoa de sexo feminino foi um pouco superior à média geral (91,80), o que está, aliás, de acôrdo com os resultados encontrados por outros autores.

TABELA N.º 1

Polissacárides séricos dosados pelo método de TAP em pessoas normais

N.º de casos	Média aritmética	Valores mín. e máx.	Desvio padrão
17	88,58	74-110	12,8

2 — *Lepra tuberculóide*. Em 11 enfermos adultos de lepra tuberculóide encontramos valores que variavam entre 77 e 122 Unidades Klett (tabela n.º 2). A média aritmética encontrada foi de 98,18 Unidades, um pouco acima, portanto, da média normal. Esta amostra só tinha uma pessoa do sexo feminino. A taxa encontrada não teve relação alguma com o tempo do tratamento específico.

TABELA N.º 2

Polissacárides séricos dosados pelo método de TAP em doentes tuberculóides

N.º de casos	Média aritmética	Valores mín. e máx.	Desvio padrão
11	98,18	77-112	13,55

3 — *Lepra lepromatosa*. A nossa casuística se compõe de 37 doentes lepromatosos, internados no "Hospital Frei Antonio" e na Colônia Tavares de Macedo e alguns tratados no Dispensário do Instituto de Leprologia, com a doença em diversos estádios evolutivos e na ausência de sinais de reação leprótica. A média aritmética encontrada foi de 105,59 Unidades Klett (tabela n.º 3), sendo portanto muito discretamente superior à média dos doentes de lepra tuberculóide. A média dos 5 doentes com menos de 18 anos foi de 95,20 Unidades, quer dizer, inferior à média total e, quanto ao sexo a média dos 4 doentes do sexo feminino incluídos nesta relação foi de 124,50 Unidades. Com referência, portanto, ao sexo e à idade, as oscilações são as mesmas que se verificam entre indivíduos normais. No tocante à gravidade da lepra, nenhuma conclusão se pode tirar, pois não se verifica nesta amostra qualquer relação entre a taxa dos polissacárides e o aspecto, o número e/ou a presença dos bacilos de lepra nas lesões.

O tempo do tratamento específico antileprótico também parece não ter muita influência no valor dos polissacárides séricos na maioria dos casos. Contudo, em 4 doentes de lepra lepromatosa, nos quais se procedeu à dosagem de polissacárides antes de começar o tratamento, a média encontrada foi de 116,5 Unidades. Mas, o pequeno número de casos não permite nenhuma conclusão, sobretudo pelo fato de ter sido encontrada a taxa de apenas 76,0 em um deles.

TABELA N.º 3

Polissacárides séricos dosados pelo método de TAP em doentes lepromatosos

N.º de casos	Média aritmética	Valores mín. e máx.	Desvio padrão
37	105,59	76-137	14,73

4 — *Reação leprótica*. Como é do conhecimento geral, a reação leprótica apresenta-se sob formas muito variáveis quanto ao aspecto e à localização das lesões da pele, à participação ou não dos nervos, ao ataque aos órgãos internos e ao comprometimento do estado geral do doente, etc. Enquanto que algumas vezes a reação leprótica assume um aspecto multissintomático e comparável a um síndrome infecto-tóxico, outras vezes limita-se ao aparecimento de apenas sintomas ou sinais leves. Entre os 23 doentes em reação, nos quais procedemos à dosagem de polissacárides no sôro, 3 dêles acham-se em convalescença, 3 outros apresentavam o tipo subintrante e o restante estava em fase aguda de diversos aspectos e intensidade. Em alguns casos, dosamos os polissacárides durante a fase de reação e na ausência dela.

Como consta da tabela n.º 4, a média aritmética encontrada no conjunto dos 23 casos, foi de 159-13 Unidades, quer dizer, muito superior à encontrada em lepra lepromatosa sem reação. A média dos 3 casos convalescentes foi de 134,66 Unidades e dos de tipo subintrante 140,66 Unidades.

Na reação leprótica, os polissacárides do sôro aumentam proporcionalmente à intensidade do quadro e diminuem em paralelo com o apagamento dos fenômenos reacionais. A maior dispersão que se observa nos valores obtidos nesta amostra é, aliás, um reflexo dêste fato, pois que ela é constituída de soros colhidos em fases reacionais mais ou menos intensas.

TABELA N.º 4

Polissacárides séricos dosados pelo método de TAP nos doentes lepromatosos em reação

N.º de casos	Média aritmética	Valores mín. e máx.	Desvio padrão
23	159,13	128-194	18,55

O estudo dos informes bibliográficos mostra que nenhum Autor trouxe à luz a questão das origens dêsses polissacárides, salvo a menção à destruição de tecidos, lembrada para o caso de carcinomas e tuberculose avançada. Aliás, neste tocante, convém frizar, que foram feitas por Seibert⁵ numerosas tentativas de identificação dêsses carboidratos circulantes, por comparação espectrofotométrica com certas substâncias que pudessem provir de tecidos destruídos: ácido nucléico tímico puro e após digestão, ácido ribonucleico, adenosina, guanosina, fructose, fosfato-6-fructose, fosfogluconato ácido de bário, fosfogluconato de bário, sal de cálcio de ácido 2 cetogluconico e difosfoceto gluconato de bário. Há assim grande dificuldade intrínseca ao problema. Contudo, sabemos que

numerosas hipóteses poderão ser aventadas quanto à origem de tais substâncias, tais como a origem alimentar, bacteriana, endógena, ligada ao funcionamento de alguma glândula em condições anômalas, etc. No que diz respeito ao caso particular da reação leprótica, estamos empenhados em conseguir o registro mais completo possível de observações rigorosas e pormenorizadas, aliás, já em realização e de cujos resultados muito esperamos.

Em resumo, foi-nos dado observar que os polissacárides do sêro mostram-se ligeiramente aumentados na lepra tuberculóide em relação às pessoas normais; na lepra lepromatosa as taxas encontradas são, por sua vez, um pouco superiores às encontradas na lepra tuberculóide. Não parece haver relação entre o tempo do tratamento específico antileprótico e a taxa dos polissacárides no sêro. Na reação leprótica, os polissacárides do sêro aumentam muito e proporcionalmente à intensidade da reação.

RESUMO

Utilizando a técnica de Seymour Cohen, os Autores fizeram a dosagem de polissacárides em 17 soros normais, 11 soros de portadores de lepra tuberculóide e 60 soros de lepromatosos entre os quais 23 soros de pacientes em diferentes fases de reação leprótica. Tecem ligeiros comentários acerca da técnica empregada e das possíveis origens dos polissacárides circulantes. Concluem que os polissacárides séricos nos doentes de lepra apresentam-se ligeiramente aumentados em relação às pessoas normais, sendo pequena a diferença entre casos tuberculóides e lepromatosos. Entretanto, na reação leprótica, verifica-se aumento proporcional à intensidade do quadro sindrômico.

SUMMARY

The A.A. made the determination of the amount of polysaccharides in 17 normal sera, in 11 sera from cases of tuberculoid leprosy, and in 60 sera from lepromatous patients, 23 of them within different stages of leprosy reaction. The method of Seymour Cohen with tryptophane-perchloric acid was used throughout the work. The A.A. briefly discuss about the method, and about the probable origins of the circulating polysaccharides. They conclude that the amount of serum polysaccharides in cases of leprosy is slightly increased in relation to normal sera, meanwhile there is quite no difference between L and T leprosy. The polysaccharide content during leprosy reaction is largely increased and oscillate in parallel with the intensity of the syndrome.

BIBLIOGRAFIA

1. COHEN, S. — Observation on Estimation of Desoxyribose Nucleic Acid. *Journ. Biol. Chem.*, **156**:691-702, 1944.
2. GOA, J. — On Protein-Bound Carbohydrates in Human Serum. *Scand. J. Clin. & Lab. Inv.*, **7** (sup. 22), 1955.
3. MARTIRANI, L et al. — Determination of Polysaccharide Hexose and Nexosamines In Normal Human Sera. *J. Lab. and Clin. Med.*, **54**(5):773-778, 1959.
4. SEIBERT, F. et al. — Variation in Protein and Polysaccharide content of Sera in the Chronic Diseases. Tuberculosis, Sarcoidosis and Carcinoma. *J. Clin. Inv.*, **26**(1):90-92, 1947.
5. SEIBERT, F. B. et al. — A serum Polysaccharide in Tuberculosis and Carcinoma. *Arch. Bioch.*, **18**(2):279-295, 1948.
6. SEIBERT, F. B. — Significance of Changes In the Content of serum Polysaccharide during Sensitization and Development of Tuberculosis. *Amer. Rev. Tuberc.*, **62**(1-A):67-76, 1950.