

TÉSE

DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DA FACULDADE
DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE S. PAULO.
(Prof. Dr. L. da Cunha Motta)

Estudo da Reação à lepromina (Mitsuda) em Cães

HISTOPATOLOGIA. SIGNIFICAÇÃO (*)

J. LOPES DE FARIA

Livre docente e assistente.

(RESUMO)

Neste trabalho, inicialmente, o autor fez revisão dos conhecimentos sobre a reação à lepromina (Mitsuda) no homem. Desta análise acha merecer destaque: a demora da reação (módulo); no antígeno de Mitsuda, os bacilos são indispensáveis para o desenvolvimento da fase nodular; a sua obtenção pelas ceras do bacilo de Hansen e pelas frações do leproma a álcool-solúvel e a cloroformio-solúvel; pessoas normais, sem nenhum contacto anterior com leproso (de regiões não endêmicas de lepra) , apresentam esta reação nodular; a sua negatividade em crianças. Em seguida, assinala as tentativas malogradas de transmitir a lepra humana aos animais, as reações granulomatosas determinadas nos mesmos por frações do bacilo leproso e os resultados da reação à lepromina em animais. Depois, cuida da histopatologia da inflamação hiperérgica, destacando, em especial, a degeneração fibrinóide do conjuntivo, por causa do trabalho de BUNGELER e FERNANDEZ. Faz sobre esta degeneração, cuidadosa análise. Discute a patogênese causal do tubérculo e das estruturas tuberculóides, o mecanismo da necrose encontrada nos granulomas inflamatórios e a causa da presença no tubérculo e numerosos leucócitos polimorfonucleares (neutrófilos).

(*) Resumo e conclusões de nossa tese para o concurso à livre docência de Anatomia Patológica, defendida nesta Faculdade em 7-5-47.

Nota: No original constam ainda as indicações bibliográficas e as das figuras; aqui, porém, foram suprimidas.

Na outra parte do trabalho, o autor apresenta a sua parte experimental. Fez minucioso estudo macro e microscópico da reação à lepromina em 10 cães adultos de comunidades não leprosas. Usou como substâncias controles um extrato de pele normal (preparado segundo a mesma técnica da lepromina) e água fisiológica. Observou as reações, que se passaram, nos seguintes tempos: 5 minutos, 1, 24 e 48 horas; 4, 8, 15, 21, 30, 60 e 90 dias. A pápula dérmica inicial à lepromina aumentou um pouco (2,2 mm) dentro dos primeiros 5 minutos da injeção e cresceu mais ainda (15 mm), até a primeira hora, em metade dos animais: depois diminuiu cada vez mais de tamanho e desapareceu. As 24 e 48 horas houve o seu desaparecimento completo, ou ainda esteve presente sob forma de nítida pápula eritematosa, inferior a 10 mm de diâmetro (exceto uma única reação num cão com 10,5 mm). Depois do desaparecimento da pápula de injeção, ficou o local inoculado sem nenhuma manifestação macroscópica (período de latência), até o aparecimento do nódulo, com exceção de 2 cães (n.os 46 e 47) nos quais se encontravam, precedendo-o, eritema e pápula eritematosa. Todos os cães apresentaram reação tardia, surgida entre 7 e 21 dias, cujo nódulo variou de tamanho entre 16,2 mm e 10 mm de diâmetro, ulcerando-se em todos os animais e permanecendo até o 94.º dia. Em dois cães (n.os 50 e 51), o extrato de pele normal desencadeou discreta reação nodular.

Histologicamente, houve de início (entre uma e 48 horas), reação inflamatória exsudativa, aguda, difusa, intensa, ou moderada, onde predominaram os polimorfonucleares neutrófilos com raros eosinófilos, tornando-se purulenta e micro-abscedativa às 24-48 horas. A mobilização macrofágica foi nítida já às 6 horas de evolução, e de grau acentuado às 48 horas. A fagocitose de bacilos ácido-resistentes (b.ar.) foi pequena nas reações de 1 hora e intensa nas de 48 horas. No período de latência (variando entre 4 e 15 dias), o local injetado apresentou discreta infiltração celular difusa (dérmica), formada principalmente de macrófagos (histiócitos e monócitos), contendo bacilos a.r. íntegros e em desintegração. Nesse tempo as células histiocitárias mostraram citoplasma basófilo, vacuolado (provavelmente por lípidos libertados dos bacilos fagocitados e por degeneração da própria célula) e alterações degenerativas do núcleo, até o seu desaparecimento. Depois os histiócitos organizaram-se em nódulos de estrutura tuberculóide (células epitelióides, com raras células gigantes tipos Langhans e corpo estranho) cujo aparecimento pode ser verificado já no 4.º dia de reação. Os bacilos a.r. foram encontrados somente nos granulomas tuberculóides mais jovens, sendo demonstráveis até aos 35 dias após a injeção.

Foi muito evidente na reação granulomatosa a Infiltração por leucócitos neutrófilos, que foram raros nos granulomas em formação e muito abundantes nos já constituídos, tornando o seu centro purulento e micro-abscedado. Os nódulos de células epitelióides foram observados até o 94.º dia de reação. A proliferação do tecido conjuntivo e a deposição de colágeno, entretanto, era notada já aos 15 dias de evolução da reação. Não encontrou a degeneração ou necrose fibrinóide do conjuntivo em nenhuma fase da reação. Chamou a atenção para os aspectos das figuras 21-23, 25, 26, 28, 30, 31 pois outro pesquisador poderia interpretar estes achados como aquela alteração.

O extrato de pele normal desencadeou, inicialmente (entre uma e 24 horas), reação inflamatória semelhante à da lepromina, porém de menor grau. Posteriormente, dois cães apresentaram discreta reação nodular, de estrutura tuberculóide.

Em seguida, o autor discute os seus resultados. Concorde com WADE que o aumento da pápula de injeção à lepromina, ocorrido dentro da primeira hora, seja inespecífico. Acha que, apesar da explicação de WADE — desenvolvimento da alergia após a introdução da lepromina — para a reação nodular do cão ser aceitável, parece-lhe mais provável admitir que esta reação dependa da resistência natural do cão à introdução do material estranho (lepromina), independente de mecanismo antígeno-anticorpo, e que sejam os lípidos libertados dos bacilos de Hansen, os principais estimuladores da reação produtiva. O afluxo de leucócitos neutrófilos na reação tardia atribua às substâncias irritantes libertadas dos bacilos. Acredita que haja os seguintes fatos em apoio a sua interpretação: produção, em animais normais, de granulomas de estrutura tuberculóide com os lípidos dos bacilos ácido-resistentes; reação tardia semelhante à da lepromina pela cêra dos bacilos de Hansen, pelas frações do leproma a álcool e a clorofórmio-solúveis, e à própria lecitina. Ressalta que, nestes estudos com as frações lipídicas (dos bacilos ácido-resistentes), precisa-se levar em conta, além da dose destas substâncias, a maneira em que estão combinadas no corpo bacilar. Pensa que, pelo resultado negativo (falta de nódulo tardio) da reação à lepromina em animais, não se possa concluir, sem demais considerações (idade dos animais, alterações histopatológicas depois da introdução da lepromina), que o animal não seja resistente à transmissão da lepra humana; é possível que neles não haja necessidade de reação granulomatosa, com exteriorização macroscópica (nódulo), para a eliminação do material estranho (lepromina). Acha que nas tentativas de transmissão da lepra aos animais seja necessário usar como controles inoculações de bacilos mortos, pois em muitas ex-

periências, já realizadas, em que os autores acreditaram ter tido êxito, o mesmo resultado seria obtido se fossem usados bacilos mortos. Para o autor, a reação à lepromina (Mitsuda) em pessoas normais deve ter a mesma significação e o mesmo mecanismo que nos cães. Interpreta a reação inflamatória tuberculóide dos cães, ao extrato de pele normal, do mesmo modo que a sua reação à lepromina, acreditando, ser principalmente o colágeno o excitador desta reação. Também em doentes de lepra tuberculóide (trabalho em preparação), observou reação nodular (tardia) ao extrato de pele normal.

Promete discutir em trabalho ulterior, o que lhe parece mais provável quanto ao mecanismo da reação tardia à lepromina em doente de lepra.

CONCLUSÕES

1. Cães adultos de comunidades não leprosas apresentam reação tardia, nodular, à lepromina (Mitsuda), positiva e reação precoce negativa.
2. Sua estrutura histológica é tuberculóide.
3. Esta reação tardia nos cães não é, para o autor, de natureza alérgica.
4. Para o mesmo, ela resulta da resistência natural desses animais à introdução da lepromina (material estranho) e é causada, principalmente, pelos lípidos dos bacilos de Hansen.
5. Acha que, pelo resultado positivo (nódulo tardio), ou negativo (ausência de nódulo tardio), da reação à lepromina em animais, não se possa concluir, sem demais estudos, que o animal seja, ou não, resistente à infecção leprosa. Nesses estudos (mantida constante a quantidade de 0,1 ml. de lepromina), precisa-se levar em conta a idade dos animais e as alterações histopatológicas (das reações) em tempos sucessivos, após a Injeção da lepromina.
6. Também um extrato de pele normal, obtido segundo a técnica de preparação da lepromina (Mitsuda), desencadeia no cão, raramente, pequena reação cutânea nodular, de estrutura tuberculóide.

LEPROMIN REACTION IN DOGS HISTOPATHOLOGY. SIGNIFICATION.

SUMMARY

In this paper, the author first revised what is known about lepromin (Mitsuda) reaction in man. From his review he believes worth-mentioning: the delay in the reaction (nodule); in Mitsuda's antigen, bacilli are indispensable for the development of the nodular phase; the production of late reaction with the waxes of Hansen's bacilli and alcohol-soluble and chloroform-soluble le-

prona fractions; normal persons without any previous contact with lepers (from now-endemic leprosy regions), present the nodular reaction; its negativity in children. Next he points out the unsuccessful attempts to transmit human leprosy to animals. Then lie studies the histopathology of the hyperergic inflammation, emphasizing the fibrinoid degeneration of the connective tissue, because of Büngeler and Fernandez's paper. He analyses the causative pathogenesis of the tubercle and tuberculoid structures, the mechanism of the necrosis found in inflammatory granulomas and also why the tubercle is invaded by such a great number of neutrophil leukocytes.

In the other part of the paper, the author reports his experiments. He made careful macroscopic and microscopic studies of lepromim reaction in ten adult dogs from non leprosy communities. He used, as control substances, a normal skin extract (prepared by the same technic of lepromin) and saline. He examined the reactions which take place within: 5 minutes; 1, 24 and 48 hours; 4. 8, 15, 21, 30, 60 and 90 days. The initial dermic papule (injection papule) to lepromin increased a little (2,2 mm) within the first five minutes and kept growing (1,5 mm more) until the first hour in half of the animals; then it decreased more and more and disappeared. There was either complete disappearance in 24 or 48 hours, or it was still present as a clear cut erithematous papule, smaller than 10 mm in diameter (except for only one case with 10,5 mm). After the disappearing of the injection papule, the inoculated place was without any macroscopic sign (latency period) till the nodule appeared, exception made of two dogs (n.° 46 and n.° 47) in which it was found, before it, erithematous papule. All dogs presented late reactions between 7 and 21 days; the nodule size varied from 16,2 mm to 10 mm, underwent ulceration in all animals and lasted until the 94th days. In two dogs (n.° 50 and n.° 51) the normal skin extract started a slight nodular reaction.

Histologically, there was at first (between one and forty-eight hours) exsudative, acute, diffuse, intense or slight, reactions with predominance of neutrophil leukocytes and scarce eosinophils, becoming flegmonous and abscedative within 24 hours, and lasting 48 hours. The macrophagi mobilization was already noticeable within 6 hours and intense within 48 hours. The acidfast bacilli phagocitosis was little in the one hour reaction and intense in the 48 hours ones. In the latent period (varying from 4 to 15 days), the injected area presented slight diffuse cellular infiltration (dermic), made up mainly of macrophagi (histiocytes and monocytes) containing complete and destroyed acid - fast bacilli. By that time the

histiocytes showed basophil vacuolated cytoplasm (probably due to lipids from destroyed bacilli and degeneration of the cell itself) with degenerative changes in the nucleus and its disappearing. Then the histiocytes organised themselves in nodules of tuberculoid structure (epithelioid cells with rare giant-cells Langhans type and foreign bodies), already present in the fourth day reaction. The acidfast bacilli were only found in the young tuberculoid granulomas, being demonstrable until 35 days after the injection.

In the granulomatous reaction it was apparent the neutrophil leukocytes infiltration which was scarce in the early granulomas, and very abundant in the completely formed ones, the center of which was filled with pus, forming micro-abscesses. The epithelioid cells nodules were seen until the 94th reaction day. However the proliferation of the connective tissue and the formation of collagenous fibers was already noticed within 15 days evolution of the reaction. He didn't find the degeneration or the connective tissue fibrinoid necrosis in any stage of the reaction.

The normal skin extract produced at first (between one and twenty-four hours) an inflammatory lepromin-like reaction, but less intense. Later on, two dogs showed slight nodular reaction, with tuberculoid structure.

Next, the author discusses his results. He agrees with Wade, in that the increase of lepromin injection papule, which took place within the first hour, is non-specific. He believes that in spite of Wade's explanation for the dog's nodular reaction — development of allergy after the injection of lepromin being generally accepted it seems more likely to him that this reaction depends on the dog's natural resistance to the foreign material (lepromin) introduction, regardless of the antigen-antibody mechanism, and that the lipides, freed from Hansen's bacilli, are the main stimulators of the productive reaction. The efflux of neutrophil leukocytes in the late reaction is ascribed to irritating substances from the bacilli. He believes that the following facts support his views: the production in normal animals of the tuberculoid structure granulomas with the lipides of acid-fast bacilli; late reaction, similar to the lepromin reaction, caused by Hansen's bacilli wax, by alcohol and chloroform-soluble leproma fractions and by lecithin itself.

He points out that, in working on lipides fractions (from the acid-fast bacilli) to produce granulomata, one must consider not only the amount of these substance but also how they are associated in the bacillus body. He thinks that, by the negative results (lack of late nodule) of the lepromin reaction in animals, one can not conclude without further considerations (age of the animals,

histopathologic changes after lepromin inoculation) that the animal is not resistant to human leprosy transmission; it is possible that such animals don't need to develop a prunomatous reactions, with macroscopic exteriorization (nodule), for eliminating the foreign material (lepromin). He thinks that in the attempts to transmit leprosy to animals, it is necessary dead bacilli inoculations as controls, for in many experiments already made in which the workers believed to be successful the same results would be accomplished if it were used dead bacilli. For the author, lepromin reaction (Mitsuda) in normal persons must have the same meaning and same mechanism, it has in dogs. He interprets the normal skin extract tuberculoid (inflammatory) reaction in dogs as equivalent to its lepromin reaction and believes the collagen is the main starter of this reaction.

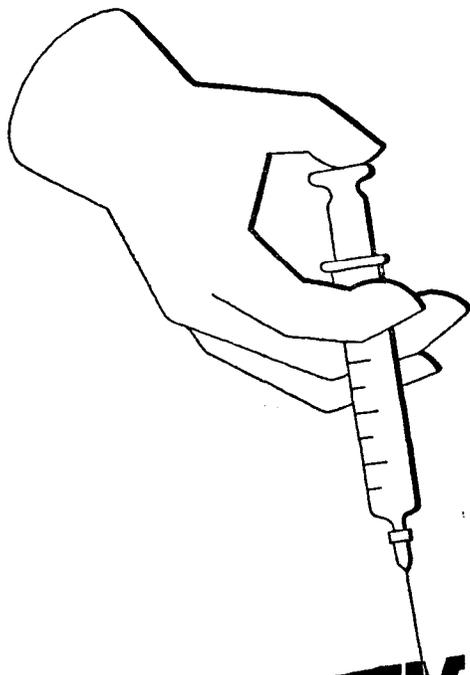
He also noticed nodular reaction (late) to normal skin extract in lepers (paper in preparation) with tuberculoid leprosy.

He promises to discuss in a further paper, what it seems to him to be the most likely mechanism of lepromin late reaction in lepers.

CONCLUSIONS

- 1— Adult dogs from non leprosy communities present late, nodular, lepromin positive reaction and early negative reaction.
- 2 — Its histologic structure is tuberculoid.
- 3 — The author does not think this late reaction in dogs to be allergic in nature.
- 4 — He believes it to result from the natural resistance these animals present against lepromin (foreign substance) inoculation and to be mainly caused by the lipides of Hansen's bacilli.
- 5 — He thinks that the positive result (late nodule) or negative one (absence of late nodule) of lepromin reaction in animals, does not allow conclusions, without further studies, that the animal is or is not resistant to leprosy infection. In these studies (keeping constant the 0,1 ml lepromin amount) one must take into account the age of the animals and the histopathologic changes (of the reactions) in successive occasions, after lepromin injections.
- 6 — Also a normal skin extract, obtained after lepromin (Mitsuda) preparation technic, seldom causes in the dog, slight nodular cutaneous reaction of tuberculoid structure.

PREVENÇÃO DO CHOQUE CIRÚRGICO



SYNCORTYL

Acetato de desoxicorticosterona

Syncortyl 2 — 2 mg. por ampola
Syncortyl 5 — 5 mg. por ampola
Syncortyl 10 — 10 mg. por ampola

*

Doença de Addison
Astênias e Miastenias
Intoxicações
Estados de Choque
Doenças Infectuosas

LABORATÓRIOS SILVA ARAUJO-ROUSSEL S. A.

RIO

São Paulo — Rua Bittencourt Rodrigues, 180 — Caixa Postal, 439

