

ESTUDO HISTOLÓGICO DAS LESÕES DE LEPRO MURINA EM INVOLUÇÃO

W. A. HADLER *

Sôbre a lepra murina existem numerosos trabalhos que descrevem, com detalhes, as lesões histo-patológicas correspondentes aos períodos evolutivo e de estado, não havendo, no entanto, qualquer menção aos aspetos involutivos, os quais, a nosso ver, são de real importância. A interpretação dos resultados de quimioterapia experimental (efetuada em ratos inoculados com o *M. lepraemurium*) baseia-se, em grande parte, nos achados anátomo-patológicos,; daí se depreende a necessidade do conhecimento dos quadros microscópicos tanto no período evolutivo e de estado, como no de regressão da moléstia.

Quando ratos inoculados com o *M. lepraemurium* são submetidos, por tempo prolongado, à ação de uma substância quimioterápica ativa frente à moléstia, sobrevivem alterações estruturais das lesões leprosas; estas passam a apresentar aspetos histológicos particulares, dos quais constam o que denominamos transtornos regressivos, uma vez que estão relacionados com a involução das lesões.

MATERIAL E MÉTODO

O material utilizado para o estudo dos fenômenos regressivos consta de ratos, com idade, peso e raça idênticos, inoculados sempre nas mesmas condições experimentais; a inoculação foi feita por via peritoneal, seguindo-se técnica já descrita¹. Os animais foram submetidos a tratamentos por substâncias diversas, durante períodos mais ou menos longos. Analisou-se a alteração estrutural, quando presente, tendo-se feito um estudo sistemático em relação ao tempo de tratamento e à substância empregada.

Todo o material obtido através da necrópsia foi prèviamente fixado em formol isotônico a 10%, incluído em parafina e corado pelos métodos da H.E. e Ziehl-Neelsen modificado². Os órgãos mais freqüentemente atingidos pelas lesões de lepra murina (gânglios linfáticos, peritônio, fígado, baço, pulmões e medula óssea) foram os estudados.

* Secção de Patologia Experimental do Serviço de Pesquisas Científicas do Departamento de Profilaxia da Lepra e da Fundação Paulista Contra a Lepra, São Paulo, Brasil.

RESULTADOS

O emprêgo de substâncias quimioterapeuticamente ativas frente ao *M. lepraemurium* determina, primeiramente, alterações no decurso da lepra do rato, o qual apresenta-se diverso do natural. O ritmo de evolução torna-se mais lento, havendo prolongamento do *período evolutivo*; além disso, as lesões não atingem o *período de estado*, em virtude de se instalarem alterações regressivas, cujo aspeto morfológico possui muitos pontos de contato com as lesões de lepra humana em regressão.

As alterações involutivas atingem a célula leprosa e repercutem, com maior ou menor intensidade, sobre a arquitetura geral das lesões. O processo inicia-se, na generalidade dos casos, pela zona periférica e progride centripetamente até atingir as áreas *mais* centrais; em vista desse fato, é na zona marginal que vamos encontrar modificações estruturais mais pronunciadas.

A célula leprosa apresenta, no período regressivo, vacúolos citoplásmicos facilmente visíveis pela coloração da H.E., os quais a princípio são de reduzidas dimensões e em pequeno número; de início nem todas as células são atingidas. Com o evoluir do processo os vacúolos tornam-se mais numerosos e maiores; porém, como a distribuição das células comprometidas pela micro-vacuolização não é uniforme no interior das lesões, verificam-se áreas fortemente comprometidas, ao lado de outras menos atingidas (fotomicrografias 1 e 2).

Como conseqüência desse fenômeno há redução do volume celular; o citoplasma não mais se apresenta abundante e túrgido como nas lesões em período de estado. Certas vezes, a redução é bastante intensa, permanecendo apenas delgadas trabéculas citoplásmicas que servem de septos aos vacúolos.

Em concomitância com a redução de volume, os limites citoplásmicos tornam-se menos nítidos e precisos; há tendência à formação de massas celulares multinucleadas, ou de células gigantes, cuja irregularidade morfológica é acentuada, possuindo, às vezes,, exageradas dimensões. Tais elementos são mais comuns que os gigantocitos de tipo Langhans (fotomicrografia 9).

O núcleo também sofre alterações degenerativas no período involutivo; a rede cromática fragmenta-se, formando grânulos grosseiros, ou tênue poeira basófila; há elementos com picnose nuclear. A medida que os fenômenos regressivos atingem as áreas mais centrais das lesões, as alterações nucleares se pronunciam em intensidade e quantidade, observando-se,, mais freqüentemente, cromatólise e cariólise. Em virtude desses fatos observam-se massas citoplásmicas anucleadas, sem limites precisos e atingidas pela micro-vacuolização (fotomicrografia 2).

A partir de determinada época, isto é, quando os fenômenos involutivos atingem grande intensidade (lesões em regressão avançada), com menor freqüência verificam-se degenerações nucleares, as quais, quando existem, são observadas em áreas restritas das lesões; devido a esse fato e co-

mo a redução do volume citoplásmico é progressiva, os núcleos dispõem-se mais próximos uns dos outros, nas lesões que se apresentam nessa fase involutiva (fotomicrografias 9 e 12).

Todos êsses fenômenos provocam modificações na arquitetura geral das lesões em regressão. A estrutura torna-se mais compacta, surgindo áreas claras entre as células leprosas, nas quais são observados alguns linfócitos e raros neutrófilos; há dissociação celular, que condiciona aspeto de desorganização. Por esse motivo, as lesões em involução guardam certa semelhança com as que se apresentam no *período evolutivo* do decurso natural da moléstia; porém, nestas últimas há sinais evidentes de atividade, verificados através do aspeto geral, do número e disposição dos bacilos e da reação dos elementos do S.R.E. em suas proximidades (ao contrário, em redor das lesões em regressão há ausência de entumescimento e de proliferação dos elementos histiocitários, apresentando-se o sistema reticular com aspeto estático).

Devido à redução volumétrica das lesões em involução, é freqüente o encontro de um halo claro periférico, o qual possui amplitude variável e nem sempre é completo; certas vezes o referido halo é formado pela contiguidade de cavidades vacuolares (fotomicrografias 9 e 10).

Apesar do processo involutivo das lesões de lepra murina ser sucessivo, para comodidade didática poderemos fixar, esquematicamente, três fases (ou períodos), quais sejam: *inicial*, *média* e *avançada* (ou final). Deve-se notar que essa divisão serve apenas para fixar momentos histológicos da involução. Como não há uniformidade na regressão das várias lesões e, como em um mesmo animal e em um mesmo órgão podem ser assinaladas lesões em fases diversas de regressão, os períodos fixados não dizem respeito, diretamente, ao grau involutivo da moléstia.

Na *fase inicial* apenas na zona marginal das lesões observam-se transornos regressivos, os quais são de pequena intensidade; a baciloscopia mostra número relativamente grande de bacilos, 10 a 40% dos quais estão atingidos por alterações morfológicas (fotomicrografia 1).

Na *fase involutiva de grau médio* há comprometimento da zona central, sendo nítida a desorganização arquitetônica e relativamente frequentes as células multinucleadas e os gigantócitos (fotomicrografias 2 a 6). Pelo exame baciloscópico verifica-se que há pequeno número de bacilos, dos quais 50-100% apresentam-se alterados morfológicamente (deve-se notar que, quanto menor é a quantidade de *M. lepraemurium* nas lesões, maior é a intensidade das alterações morfológicas).

O aspeto estrutural observado na *fase avançada da regressão* revela a intensidade do processo; as lesões são formadas por pequeno número de células, cujo citoplasma se apresenta reduzido e atingido por micro-vacuolização; a desorganização arquitetônica é evidente. Convém assinalar que neste período não é freqüente a presença de células multinucleadas e de gigantócitos, porém, tais elementos são assinalados, algumas vezes, dando ao quadro histológico aspeto particular (fotomicrografias 9 e 10). As lesões são pauci ou abacilares, predominando as granulações ácido-resistentes.

O processo involutivo termina com o desaparecimento das lesões, o qual, na maioria das vezes, se dá sem permanecerem resquícios cicatriciais. Apenas em raros casos observa-se verdadeira cicatrização das lesões progressas, podendo-se assinalar depósito de substância hialina ou, mais raramente, de sais de cálcio, no interior do nódulo fibroso cicatricial. Na generalidade, as lesões de lepra murina regridem sem deixar vestígios; pode-se observar nos órgãos mais atingidos, como o fígado por exemplo, discreta desorganização da arquitetura histológica normal, traduzida por irregularidade de tamanho e forma dos lóbulos hepáticos.

DISCUSSÃO

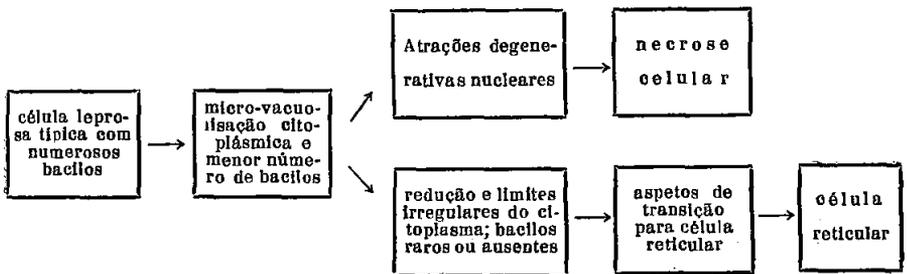
Nas lesões lepromatosas de lepra humana, quando sobrevêm transtornos regressivos, são observadas alterações histológicas e principalmente citológicas. Segundo os trabalhos de Rath de Souza & Alayon ⁴ e Rath de Souza & Souza Lima⁵, há micro-vacuolização citoplásmica de intensidade variável, cujos vacúolos, de aspeto diverso do observado nas células leprosas no período de estado (células de Virchow), determinam características morfológicas particulares; o núcleo, também afetado, geralmente é picnótico.

As alterações citológicas observadas nas lesões de lepra murina em período involutivo são semelhantes às observadas na lepra humana. A célula leprosa sofre processos regressivos, constituídos por micro-vacuolização citoplásmica e figuras degenerativas nucleares; além disso, há modificações na arquitetura das lesões, as quais podem ser bastante pronunciadas.

Em concomitância com os transtornos regressivos verificam-se alterações da morfologia bacilar; -êsses fatos correm paralelamente, sendo o paralelismo observado na generalidade dos casos, com raras exceções, o que nos faz supor a existência de relação entre os transtornos degenerativos da célula leprosa e as modificações morfológicas dos bacilos. Na fase inicial da regressão as alterações bacilares são assinaladas apenas na zona periférica das lesões e caracterizam-se pela presença de bacilos curtos e de granulações ácido-resistentes, predominando, porém, os elementos morfológicamente íntegros. De conformidade com a intensidade da involução histológica observam-se variações não somente da porcentagem de bacilos com morfologia alterada, como, também, do grau das referidas alterações. Nas lesões em avançado período involutivo há, geralmente, ausência de elementos ácido-resistentes; porém, podem ser assinalados raros grânulos com essas características tintoriais. O número de bacilos é inversamente proporcional à intensidade das alterações morfológicas. (*)

(*) Deve-se notar que nas lesões de lepra murina em período de estado hó, normalmente, pequena porcentagem de bacilos com alterações morfológicas (Marchoux 3).

Sob o ponto de vista anátomo-patológico, a regressão das lesões de lepra murina está na dependência, principalmente, de processos degenerativos que atingem a célula leprosa, os quais terminam, na maioria das vezes, pela necrose e conseqüente destruição (êsse é o destino da maioria das células). Porém, em alguns elementos as alterações morfológicas são de tipo diverso e não têm caráter degenerativo. Nas lesões em fase avançada de involução há células com citoplasma de forma irregular e volume reduzido; o aspecto nuclear está modificado, tanto no que diz respeito à forma (mais alongados), como à estrutura (mais compacta), comparado com o das células leprosas não afetadas pelos fenômenos regressivos. Nesses elementos as alterações degenerativas são de pequena intensidade. Com o evoluir do processo êles cada vez mais se assemelham às células histiocitárias do estroma do órgão lesado, tanto na morfologia como na disposição. Em algumas lesões, cujos fenômenos regressivos são intensos, observam-se áreas periféricas quase que totalmente formadas por células dêsse tipo (fotomicrografia 11). Em virtude de haver todas as formas de transição entre a célula leprosa típica, de um lado e a célula reticular, de outro, julgamos que a célula leprosa pode, com o involuir da lesão, voltar a fazer parte do estroma reticular do órgão lesado, de onde, aliás, se originara. A observação continuada dos preparados histológicos dá margem a êsse ponto de vista, pois verifica-se uma seqüência nas alterações celulares nos fenômenos regressivos, que pode ser assim esquematizada:



Deve-se notar que esses fatos apenas são verificados na fase avançada do período involutivo, quando as lesões apresentam reduzidas dimensões e são constituídas por pequeno número de células.

Portanto, durante o período de regressão, a célula leprosa pode sofrer fenômenos degenerativos que culminam com a necrose e conseqüente destruição; aliás, êsse é o destino da maioria das células. Por outro lado, em alguns elementos as alterações morfológicas são de tipo diverso: êles sofrem transformações nucleares e citoplásmicas de modo a assumirem "caracteres dos elementos histio-reticulares. Como predomina a destruição celular, à medida que se intensifica o processo involutivo as lesões tendem à redução progressiva de volume.

SUMMARY

The cytological and histological aspects showed by the involutive stage of the murine leprosy lesions has been considered and analysed, in rats inoculated with *M. lepraemarium* by the peritoneal route and treated by some chemiotherapeutie agents (*).

Under this condition there are alterations in the leprous cells and consequently in the general structure of the lesions. The cytological alterations has degenerative character (cytoplasmic micro-vacuolization; cromatolysis, cariolysis and picnosis of nucleons) and at the end of the process we can see frequently cellular necrosis. The alterations of general structure are determined by the cytological degenerative process which constitute less compact and disorganized lesions.

The involution of lesions is continous; but in the scope to simplify the understanding, it has been considered three different degrees of involutive stages: *initial* (early), *medial* and *final*.

At first (inicial degree) the involutive alterations of lesions are observed in the marginal area only; in the medial degree the central area is compromised too and in the final degree there are evidents structural alterations and the lesions diminish to little sizes. At the end of involutive process the lesions disappear without sign of cicatricial residue; only in rare cases a little fibroblastic cicatricial nodule remain.

In connexion with the histological alterations of involutive character there are numerical and morphologic alterations of bacilli.

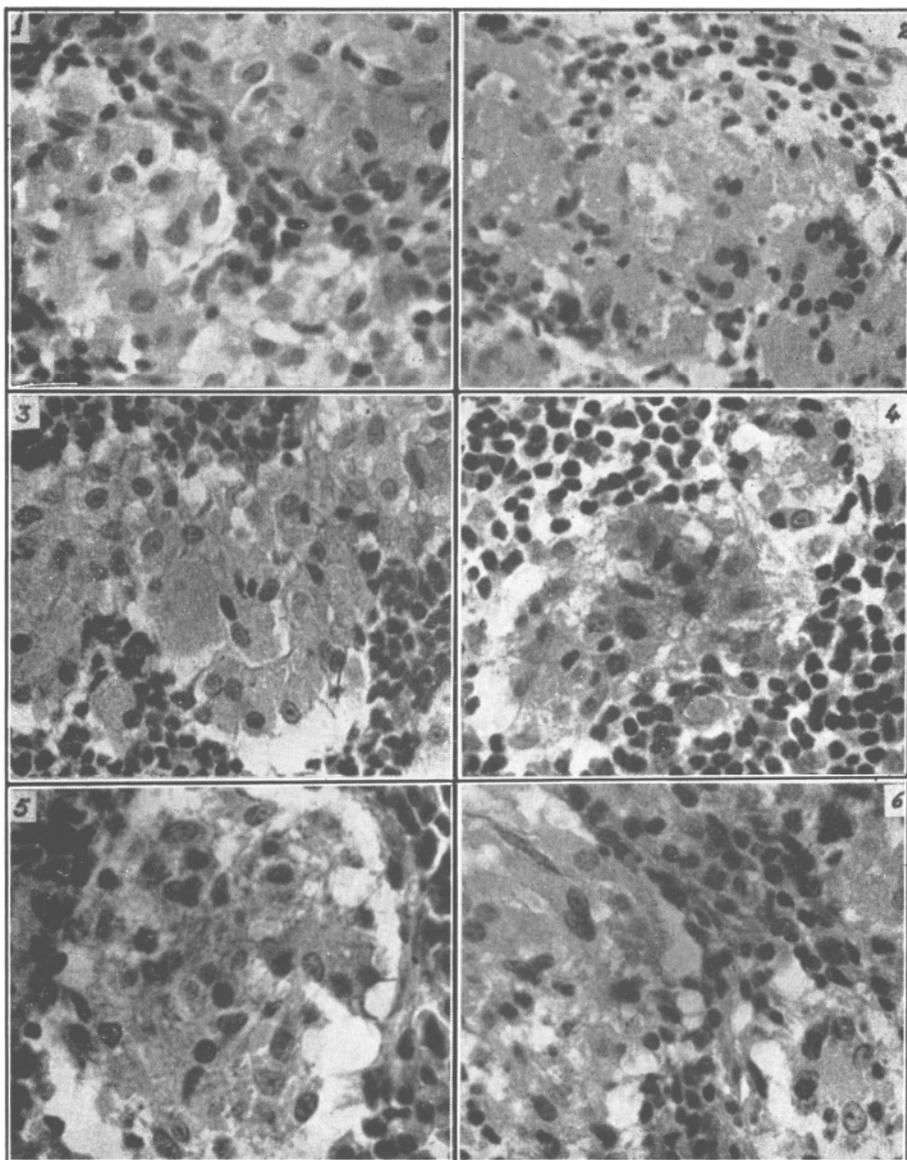
The microscopical aspects of involutive murine leprosy lesions are very resembling to the human leprosy beings in the same condition.

In the involutive stage the most part of leprous cells become degenerated and disappear (cellular necrosis); a few number of then, in another side, there are not destroyed by necrosis but show cytologic alterations taking the characters of R.E.S. cells. The observation of the records show all intermediated degrees between the typical leprous cells at one side and the normal reticular cell in the other side; thereby we believe that some leprous cells in the involutive stage, are able to show the R.E.S. cells aspect and can evolve again to the reticulum of organ (stroma).

LITERATURA CONSULTADA

1. Hadler, W. H. & Mauri, A. C. — Lepra murina: Estudo patogênico-evolutivo no rato inoculado por via peritonial Rev. Brasil. Leprol., 16:139, 1948.
2. Faraco, J. — Bacilos de Hansen e cortes de parafina: método complementar para pesquisa de bacilos de Hansen em cortes de material incluído em parafina. Rev. Brasil. Leprol., 6:177, 1938.
3. Marchoux, E. — La lèpre des rats. Presse Medicale, 21:201, 1914.
4. Rath de Souza, P. & Alayon, F. L. — Sobre a presença de lipídeos nas lesões cutâneas de lepra. Rev. Brasil. Leprol., 10:371, 1942.
5. Rath de Souza, P. & Souza Lima, M. — Sobre o mecanismo de ação terapêutica dos derivados sulfônicos na lepra lepromatosa. Rev. Brasil. Leprol, 18:59, 1950.

(*) In the particular case of this study we have used the histological records of animals feeding the 4,4'-diamino-diphenyl-sulfone and some others drugs with or without chemotherapeutic action.

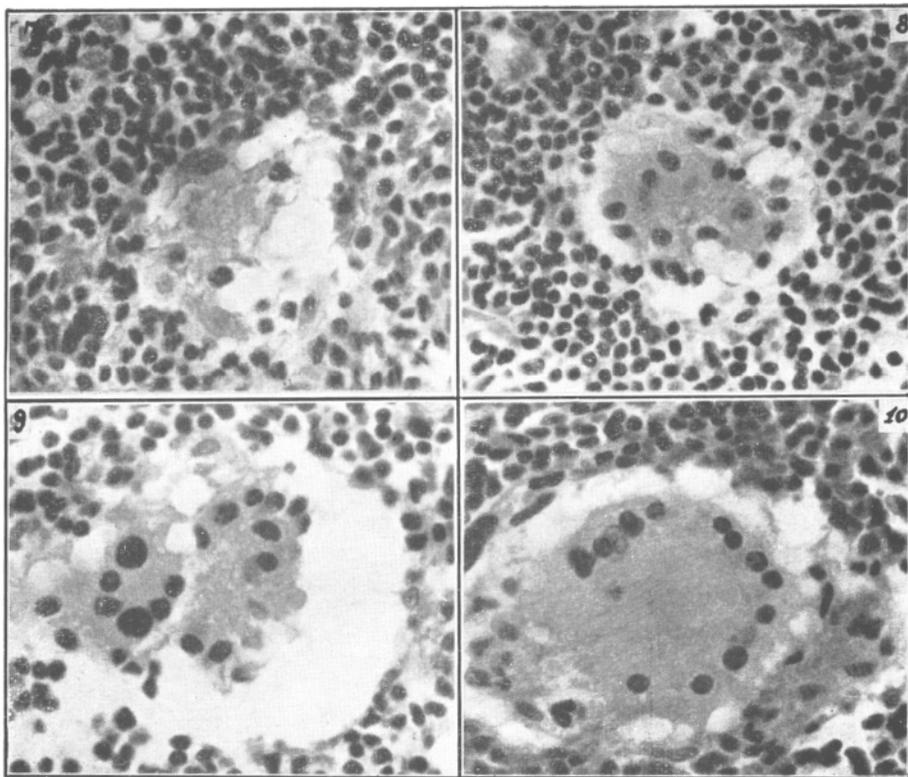


Fotomicrografias ns. 1 — 2 — 3 — 4 — 5 e 6. Col. H.E.; 450 x.

1 — Gânglio linfático; lesão em fase inicial de regressão; microvacuolização citoplásmica na zona periférica; pequena alteração da estrutura geral.

2 — 3 — 4 e 5 — Gânglio linfático; lesões em fase média de regressão; microvacuolização também na zona central; fenômenos degenerativos nucleares; áreas citoplásmicas anucleadas; células gigantes.

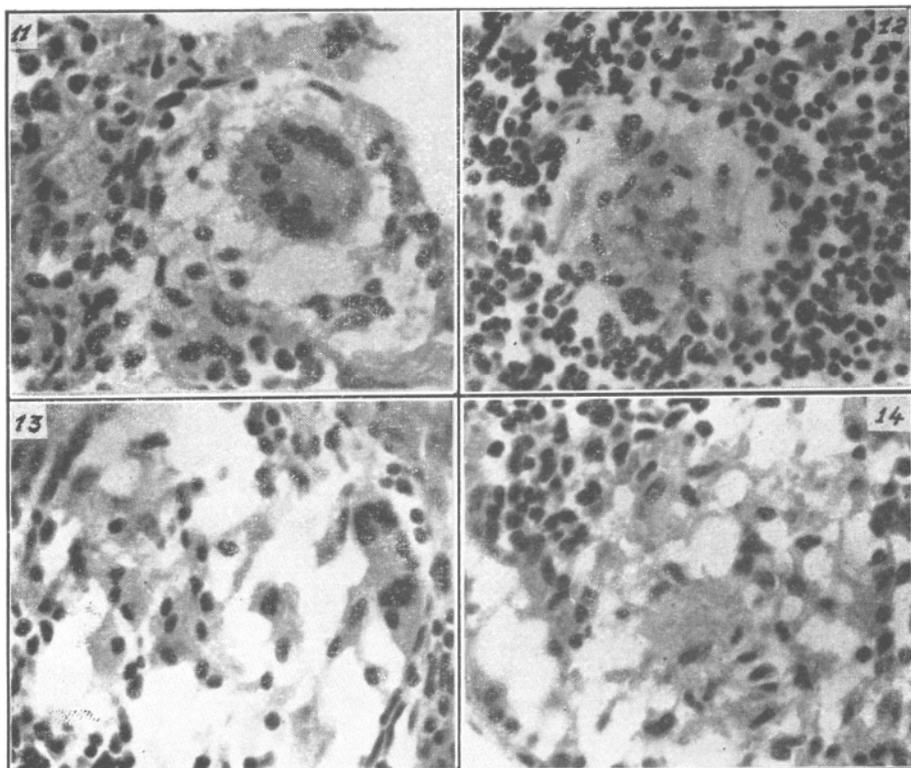
6 — Epíplon; lesão em fase média de regressão, com intensa desorganização da estrutura geral.



Fotomicrografias ns. 7 — 8 — 9 e 10. Col. H.E.; 450 x. Gânglio linfático. Lesões em fase avançada de regressão.

7 e 8 — Aspecto histológico mais comum; lesões de pequenas dimensões, abacilares; ausência de células gigantes.

9 e 10 — Presença de células gigantes; notar o halo claro periférico e o pequeno número de células leprosas.



Fotomicrografias ns. 11 — 12 — 13 e 14. Col. H.E.; 450 x.

Lesões em fase avançada de regressão; observar a transformação morfológica das células leprosas, as quais assumem os caracteres de elementos do S.R.E.

11 — Pulmão; notar, no halo que circunda a célula gigante, a disposição celular.

12 — 13 e 14 — Gânglio linfático; observar o aspecto morfológico do citoplasma e do núcleo; comparar com as fotomicrografias ns. 1 a 6.