

ALGUMAS OBSERVAÇÕES BIO-QUÍMICAS E SEROLÓGICAS NA LEPROSIS TUBERCULÓIDE

MOACIR DE SOUSA LIMA
Chefe do Laboratório de Microbiologia do S. P. L

"Jamais seria feita coisa alguma se o homem fosse esperar poder fazê-la tão bem, que ninguém pudesse encontrar qualquer defeito.

(JOHN HENRY NEWMAN).

A falta aqui entre nós, de médias normais para os indivíduos sãos; uma padronização dos métodos adotados e finalmente a falta de uniformidade nos regimes e meios de vida, são as dificuldades encontradas pelos que desejam fazer um trabalho de bioquímica.

Quanto aos métodos, utilizei-me dos métodos denominados de clínicos, que nem sempre são os mais precisos, mas, que dão sempre indicações úteis e são sempre os mais práticos.

Quanto às médias normais, não me sendo possível adotar as determinadas por autores brasileiros, adotei as indicadas pelo Dr. LEÔNIDAS CORONA, Professor de Bio-Química de uma Universidade do Chile. As médias estabelecidas por CORONA, sempre o foram pelos métodos clínicos.

Substâncias minerais.

a) CALCIO:

Médias normais (Método de KRAMER E TISDALL).

Cálcio Total — 100 mgrs. por mil.

Cálcio Iônico — 15 a 20 mgrs. por mil de soro.

O estudo das *calcemias* na leprosis tuberculóide ainda não está completo. Fiz cerca de 85 dosagens, encontrando dentro dos limites normais 24 casos ou 27 To 29 casos abaixo desse limite, ou 34 To, e 32 casos acima dele, ou ainda 37,5 %.

b) CLORETOS:

Cloremia normal (Método de VOLHARD, adaptado ao sangue por LAUDAT).

Cloro globular — 1,80 grs. por mil.

Cloro plasmático — 3,60 por mil.

$$\text{Índice clorêmico} \frac{\text{CI. globular.}}{\text{CI. plasmático.}} = 1,50$$

Na lepra tuberculóide, não há modificação na cloremia. Em cerca de 50 exames, sempre encontrei as constantes normais: nestes resultados não estão computados os indivíduos que apresentavam uma doença intercorrente ou reação leprótica.

c) RESERVA ALCALINA:

50 a 60 vol. de CO² por 100 de plasma. (Met. de VAN SLYKE).

Em 20 dosagens encontrei na lepra tuberculóide, um mínimo de 48,1 vol. de CO² por 100 de plasma e um máximo de 68,3.

Não há, portanto, alteração na reserva alcalina.

PROTEÍNAS:

Proteínas totais — 7,5 a 8,5 grs. % (método de KAYSER).

Sôro albumina — 5,0 a 5,0 grs. % (método de HOWE).

Sôro globulinas — 2,0 a 2,5 grs. % (Método de HOWE).

$$\text{Índice protéico} \frac{\text{alb.}}{\text{glob.}} = 1,8 \text{ a } 2.$$

As proteínas totais em tôdas as formas de lepra se conservam normais ou ligeiramente aumentadas, entretanto, a sôro-albumina apresenta notavelmente diminuída e as globulinas muito aumentadas. A relação albumina/globulina denominada índice proteico, que normalmente é de 1,8 a 2, fica menor que a unidade, é o que se denomina de índice protéico invertido.

Na lepra tuberculóide, a inversão do índice protéico é maior que na lepra lepromatosa. Nos casos de lepra lepromatosa com tratamento, há um aumento da sôro albumina, e o índice protéico aproxima-se do normal, nas formas tuberculóides, mesmo com um tratamento intensivo não se nota este aumento da albumina.

As sôros globulinas podem ser separadas em duas frações: a euglobulina e a pseudo-globulina, por precipitação com sulfato de amônio. A euglobulina é precipitada com 25% da solução saturada

e a pseudo-globulina, é precipitada com 35% dessa mesma solução. Em cerca de 15 casos de lepra tuberculóide procurei dosar estas duas porções das globulinas; em 10 casos, a quantidade de pseudo-globulina era bem maior que a euglobulina, nos cinco restantes a quantidade de euglobulina era superior a pseudo-globulina.

O número de casos observados é pequeno ainda e não autoriza a tirar qualquer conclusão. Esta dosagem não é fácil, parecendo-me difícil introduzi-la na rotina.

EUWIN BECHER e outros atribuem às globulinas, especialmente a pseudo-globulina o papel de fixador dos corpos imunizantes. Segundo estes autores a quase totalidade das antitoxinas, aglutininas, precipitinas e lisinas combinam com as globulinas e sempre que no sangue aumentam estes anticorpos, observa-se aumento das globulinas.

Considerando os leprólogos, a forma tuberculóide como uma forma benigna de lepra, é interessante verificar se o aumento das globulinas corre por conta de um maior aumento de anticorpos específicos.

É difícil atualmente responder a esta questão, entretanto, alguns fatos conhecidos parecem demonstrar que o grande aumento das globulinas na lepra tuberculóide não é a expressão de uma maior imunidade nesta forma.

As formas lepromatosas avançadas, com Mitsuda negativo e reação de Rubino positiva (reação que prova a existência de aglutininas específicas) apresentam um aumento de globulinas bem inferior ao aumento encontrado na forma tuberculóide.

A quantidade de globulinas no soro de doentes com lepra tuberculóide não está em correspondência com a intensidade da reação de Mitsuda. Muitos casos de lepra tuberculóide com Mitsuda fortemente positivo (++++) apresentam um teor de globulinas menor que outros com Mitsuda levemente positiva (++) , mas observei que quando as globulinas passam de 4 grs. e o índice protéico é menor que 0,50, a reação de Mitsuda é positiva. Esta conclusão está baseada em número relativamente pequeno de observações, podendo ser modificada quando um número maior de casos for estudado.

O desequilíbrio protéico não é específico da lepra, não servindo portanto para o seu diagnóstico, mas, a determinação das globulinas e principalmente da pseudo-globulina permite auxiliar a classificação da forma da lepra; prevê a positividade ou negatividade da reação de Mitsuda e como mais adiante será exposto, dirá se as reações sorológicas de desvio do complemento serão positivas ou negativas na forma tuberculóide.

LIPIDES:

Lípides totais, (plasma humano normal em jejum) — 0,grs. 500 %
(Met. nefelométrico BLOOR).

Colesterol total, 0,grs. 150 (Mét. URBACK com fotômetro PULFRICH).

Ácidos gordurosos totais, 0, grs. 350 (MAYER E SACHAUFFER).

Coefficiente lipocítico. 0,40 a 0,50.

Os lípides totais em tôdas as formas de lepra estão aumentados. Em cêrca de 50 dosagens, encontrei um mínimo de 0,600 grs. % e um máximo de 0,970 grs. %. Não me foi possível observar diferenças entre a quantidade de lípides nas formas lepromatosas e as tuberculóides.

Os ácidos gordurosos totais também apresentam aumentados em tôdas as formas de lepra.

Os lípides no organismo, são oxidados e depois desdobrados em substâncias com menor número de C. Essas oxidações e desdobramentos são feitos por fermentos especiais, as estearases ou lipases.

Um aumento de lípides acarreta um aumento de lipase. ROGER & POMARETH, afirmam que as lipases atacando as substâncias lipóides dos bacilos de Hansen, facilitam a sua fagocitose. No leprosário de Miuli, em Tarlu (Diretor Dr. PALDROCK), foi introduzida a determinação da lipase sanguínea, como rotina, para verificação do tratamento.

Infelizmente, devido a circunstâncias independentes da minha vontade, a determinação da lipase foi feita, por um processo antiquado (emulsão de óleo de ricino) e em um número pequeno de casos de lepra tuberculóide (10). Todos apresentavam um aumento de lipase sanguínea.

O colesterol total nas formas lepromatosas, às vexes está diminuído, às vexes aumentado, na forma tuberculóide está sempre aumentado.

Em 50 dosagens de colesterol total, na lepra tuberculóide, encontrei um mínimo de 0,153 % a um máximo de 0,276. Terá alguma significação Este aumento do colesterol?

CHAUFFARD e sua escola admitem que nas infecções agudas, a hipocolesterolemia corresponde ao periodo de menor resistência do organismo contra a infecção e a hipercolesterolemia da convalescença a um aumento da mesma resistência. LAVERGNE E KISSEL, pensam que a curva do colesterol nas infecções agudas nada tem que ver com a maior ou menor resistência do organismo, mas é urna consequência da febre.

LAURET & DUTRENIT, acham que na tuberculose evolutiva há uma hipocolesterolemia; quando o doente tende para melhoria, a colesterina tende ao normal e chega mesmo acima do normal.

GOMES & LEITÃO, acham que a lepra diminui a colesterina sanguínea e a gravidade clínica está na razão inversa de sua taxa.

A favor da teoria que o colesterol está em estreita relação com a imunidade, fala o fato de que na lepra tuberculóide, lepra benigna, o colesterol está sempre aumentado, porém GIRARD assinala a possibilidade de aumentar a taxa de colesterol do sangue pelo cloridrato de *cholina* sem verificar alteração na evolução da moléstia. Atualmente, faço minhas as conclusões de LEFROU & P. BONNET: "A colesterolemia é muito influenciada por numerosos fatores, que ainda ignoramos, para tirar deduções de suas variações".

A relação entre colesterol e ácidos gordurosos totais, denominada por MAYER SCHAEFFER de coeficiente lipocítico é na lepra tuberculóide sempre abaixo do normal, porque o aumento da taxa, colesterol não segue o mesmo ritmo que o aumento da taxa de ácidos gordurosos.

SOROLOGIA

As reações sorológicas usadas na lepra para diagnóstico podem ser classificadas:

1.º — Reações de precipitação: KLAENER, formol-gelificação, DURANT, MAFETY, etc.

2.º — Reações de fixação de complemento: Reação de EITNER, R. DE GOMES, WITERBSKY, R. DE LLERAS ACOSTA, R. DE WASSERMANN.

3.º — Reação de aglutino-sedimentação: R. DE RUDINO.

As reações do primeiro grupo são imprecisas e tôdas estão ligadas ao aumento das globulinas. Atualmente não são empregadas.

As reações do segundo grupo, reações de desvio de complemento, quando descritas pela primeira vez, trazem sempre a esperança de se ter encontrado uma reação para o diagnóstico precoce da lepra, mas verificações posteriores, quando não lançam o descrédito, diminuem enormemente a sua importância.

Reação de WASSERMANN usando como antígeno, o antígeno de BORDET e o antígeno de NOGUCHI, é positiva em 60 % dos casos de lepra. Na forma tuberculóide esta positividade não passa de 26 %.

A reação de EITNER, usa como antígeno uma solução aquosa de tubérculo; acompanha em geral, a reação de WASSERMANN.

A sua positividade não vai além de 28 % na forma tuberculóide. Reação de GOMES, usa antígeno o streptotrix de DEYCKE desengordurado, apresenta uma positividade de 60 % na lepra tuberculóide.

Reação LLERAS ACOSTA, não foi feita no Laboratório do Serviço de Profilaxia da Lepra por falta de antígeno, mas PAULO C. R. PEREIRA, em trabalho publicado na Revista Brasileira de Leprologia S. Paulo, 1938: VI- (3), 315, dá uma percentagem 81,88 de positividade para casos não bacilíferos.

Reação de WITEBSKY, usa como antígeno uma suspensão em beuzol de b. tuberculoso, depois do tratamento pela piridina. É a reação usada atualmente.

RABELO JÚNIOR & J. C. MACHADO, afirmam que a reação de WITEBSKY é positiva na forma lepromatosa; a sua positividade na forma tuberculóide é pequena (26,20 %), podendo portanto servi. como auxiliar de diagnóstico na lepra tuberculóide. Em 117 reações de WITEBSKY feitas em indivíduos com lepra tuberculóide, devidamente comprovada pelo Dr. LAURO DE SOUSA LIMA (exame clínico, estrutura histológica e reações de MITSUDA francamente positivas), encontrei 59 reações positivas e 58 negativas, pouco mais de 50% de reações positivas.

Atualmente, ignora-se por completo a natureza química das substâncias que se denominam anticorpos: LEONIDAS CORONA, fez experiências para verificar qual o grupo das proteínas que estava ligado aos anticorpos sifilíticos, chegando à conclusão que estes anticorpos estão ligados às globulinas e mais particularmente às pseudoglobulinas, pois a porção do sôro sanguíneo que continha as pseudoglobulinas dava as mesmas reações que o sôro integral.

A técnica usada por CORONA, foi a seguinte: as globulinas foram precipitadas do sôro sanguíneo com uma solução saturada de sulfato de amônio. O precipitado foi novamente dissolvido em sôro fisiológico. Tratando-se esta solução de globulina por uma solução de sulfato de amônio (35% de sol. saturada), consegue-se precipitar a pseudo-globulina, ficando dissolvida a euglobulina. Repeti as experiências de CORONA, chegando as seguintes conclusões:

1.º — Tôdas as reações de desvio de complemento positivas na lepra, correm por conta de anticorpos ligados a pseudo-globulina.

2.º — Quando a porção de pseudo-globulina é muito grande, o sôro apresenta reações de desvio de complemento positivas, qualquer que seja a natureza do antígeno, quer se use o antígeno de WITEBSKY ou CALMETTE ou NOGUCHI.

3.º — Estes anticorpos não são específicos da lepra, mas idênticos aos encontrados em tôdas as moléstias que aumentam as sôro-globulinas especialmente a pseudo-globulina.

A pseudo-globulina na lepra tuberculóide, por mecanismo desconhecido, às vezes, é em maior quantidade que a euglobulina, às vezes em quantidade menor, daí a razão, das reações do desvio do

complemento ora positivo ora negativas. Nos 15 casos de lepra tuberculóide em que separei as euglobulinas da pseudo-globulina, 10 deles apresentam a pseudo-globulina em quantidade muito maior que a euglobulina. Êstes 10 sôros deram as reações do desvio de complemento positivas: Reações de WASSERMANN, WITEBSKY, EITNER, GOMES, e etc..

A reação de aglutino-sedimentação; a reação de RUBINO é na opinião dos autores, uma reação específica devido a existência de aglutininas específicas para a lepra. Estas aglutininas específicas não têm relação com outros anticorpos existentes no sôro; BIER e ARNOLD, fazendo a absorção aglutininas ainda obtinham reações de WITEBSKY positivas.

A quinta conclusão que êstes autores tiraram em seu trabalho é a seguinte:

"5. Por meio de experiência de absorção com glóbulos formulados, demonstra-se que a aglutinina leprosa não tem nada a ver com os anticorpos que fixam o complemento em presença do antígeno tuberculoso de WITEBSKY".

Infelizmente estas aglutininas específicas leprosas aparecem nas formas lepromatosas e em geral, nas formas lepromatosas avançadas.

A reação de RUBINO, na forma tuberculóide dá urna percentagem de positividade mínima: em 112 casos de lepra tuberculóide obtive apenas 22 positivas ou sejam 19,6%.

Não houve discussão