

COMUNICAÇÕES

IMUNOPATOLOGIA DO BAÇO NA LEISHMANIOSE VISCERAL

Edgar M. Carvalho, Argemiro D'Oliveira Junior e Aristides C. Queiroz

Depressão da imunidade celular^{2 8} e hiperglobulinemia⁸ são achados freqüentes na leishmaniose visceral. Numa tentativa de correlacionar os dados histológicos dos órgãos linfóides com as anormalidades imunológicas descritas nestes pacientes, foi procedido exame histopatológico do baço de 15 pacientes que faleceram com o diagnóstico de leishmaniose visceral, e estes dados foram comparados com os achados clínicos, laboratoriais e imunológicos.

O diagnóstico da leishmaniose visceral foi confirmado em todos os casos pela demonstração de leishmânia em material obtido da medula óssea. Estes 15 casos foram submetidos à autopsia completa com exame sistemático, macro e microscópico, de todos os órgãos, no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Professor Edgard Santos, em Salvador, Bahia. Os fragmentos do baço para exame histopatológico foram fixados em formol a 10%, incluídos em parafina, seccionados com a espessura de 5 micrômetros e corados pelos métodos da hematoxilina e eosina. Os dados referentes ao peso do baço e à presença de doença associada foram obtidos dos protocolos de necropsia. Os prontuários clínicos foram também revistos com a finalidade de se obterem os dados referentes a idade, sexo, bem como achados clínicos e laboratoriais.

Em dois destes casos foi realizada determinação da população de linfócitos no sangue periférico. Para realização destes testes, células mononucleares foram obtidas de sangue heparinizado por meio de centrifugação por gradiente de densidade usando meio de separação de linfócitos (Bionetics Laboratories). Após lavagem e depleção dos macrófagos, através da capacidade de aderência destas células à superfície plástica, foi feita determinação de linfócitos T e de linfócitos B, respectivamente, pela capacidade de ligação a hemácias de carneiro e por detecção de

imunoglobulina de membrana através da imunofluorescência indireta, por técnicas já previamente descritas^{6 10}.

Os principais achados clínicos e o estudo histopatológico do baço são mostrados na Tabela 1. Dez dos 15 pacientes eram do sexo masculino, e a idade variou de 2 a 30 anos com mediana de 9. A duração da doença variou de 1 a 18 meses (média e desvio-padrão = $9 \pm 4,7$). Todos os pacientes apresentavam anemia e leucopenia quando da internação, e a albumina sérica estava abaixo de 2,5 g/dl em 14 dos 15 casos. A globulina sérica estava aumentada em todos os casos, tendo variado de 3,8 a 9 g/dl (média e desvio-padrão = $6 \pm 1,6$). Aumento do tamanho e do peso do baço foi observado em todos os casos. A avaliação histopatológica revelou atrofia dos folículos linfóides em 10 casos, com acentuada redução dos centros germinativos, que às vezes estavam ausentes. Contrastando com estes achados, constatou-se hiperplasia dos folículos linfóides em 4 casos, enquanto que em um caso estas estruturas estavam dentro dos limites normais. Redução do número de linfócitos nas áreas periarteriolas foi achado constante e mais significativo no presente estudo, sendo observado em 14 dos 15 baços estudados. Os componentes celulares da polpa vermelha do baço estavam representados por plasmócitos e células fagocíticas. Focos de plasmocitose foram observados em todos os casos. Nas células fagocíticas tanto pode ser observada a presença de material hialino intracelular como, em alguns casos, a presença de eritrócitos fagocitados.

Com a finalidade de avaliar se poderia haver uma associação entre o aspecto do folículo linfóide e a idade dos pacientes, duração da doença e níveis de globulina sérica, os 15 casos foram divididos em dois subgrupos, sendo um constituído pelos 10 casos que apresentavam folículos linfóides atrofícos e outro constituído de 5 casos nos quais os folículos linfóides eram hiperplásicos ou normais. No grupo com folículos atrofícos a mediana da idade foi 10, a média e desvio-padrão da duração da doença foi 10 meses \pm

Laboratório de Imunologia e Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Professor Edgard Santos - UFBA.

Recebido para publicação em 6/9/84.

Tabela 1 – Correlação entre duração da doença, globulina sérica e aspectos histopatológicos do baço em portadores de leishmaniose visceral.

Idade/Sexo	Duração da doença (meses)	Globulina g/dl	Aspecto do folículo linfóide	Redução de linfócitos periarteriolares	Plasmocitose	Fagocitose
4/M	1	5,4	normal	+++	+++	+++
5/F	2	3,8	hiperplásico	ausente	++	++
4/F	3	7,1	atrófico	+++	+++	+++
30/M	6	8,0	atrófico	+	++	++
24/M	6	9,5	hiperplásico	+++	+++	+++
19/M	7	7,0	atrófico	++	+++	+++
10/M	7	6,5	atrófico	++	++	++
18/M	8	3,8	atrófico	+++	+++	+++
3/F	12	5,3	hiperplásico	++	+++	+++
2/F	12	5,5	hiperplásico	++	+	—
10/M	12	6,0	atrófico	+++	+++	+++
5/F	12	5,2	atrófico	+++	+++	—
22/M	12	8,3	atrófico	+++	+++	+++
9/F	12	7,1	atrófico	+++	+	+
8/M	18	4,6	atrófico	++	+++	+++

4,3, e a média das globulinas séricas foi 6 g/dl \pm 1,4. No grupo com folículo normal ou hiperplásico a mediana de idade foi 4, a média de duração da doença foi 7 meses \pm 5,3, e a média das globulinas séricas foi 6 g/dl \pm 2,1. Em dois casos (n^{os} 1 e 8) marcadores de superfície foram utilizados para quantificar os linfócitos T e linfócitos B. Em um caso (n^o 4) o percentual de linfócitos T foi de 75% com valor absoluto de 1 231 células por mm³ e o percentual de linfócitos B, 7% com valor absoluto de 133 células por mm³. No caso n^o 7 o percentual de linfócitos T foi de 50% (620 células/mm³) e o de linfócitos B, 6% (297 células/mm³). Comparando estes resultados com os valores obtidos de controles normais em nosso laboratório⁴, pode ser visto que, enquanto em um paciente o percentual de linfócitos T estava dentro dos limites normais, no outro era inferior à média menos dois desvios-padrão, comparado ao de indivíduos saudáveis. Em ambos os pacientes foi documentada depleção de linfócitos em áreas periarteriolares.

Depleção linfocitária em áreas T dependentes foi um achado observado na quase totalidade dos casos de leishmaniose visceral no presente estudo. Esta observação confirma os achados prévios de Veres *et al.*⁹, em pacientes – com leishmaniose visceral – na Índia. Todavia, enquanto em 15 dos 20 casos estudados por Veres *et al.*⁹ o período de duração da doença

era longo, o estado nutricional era precário e o diagnóstico de leishmaniose visceral só foi documentado no estudo *post mortem*, no presente trabalho a depleção de linfócitos em áreas periarteriolares foi documentada mesmo nos casos nos quais a doença tinha um curto período de evolução. Depleção linfocitária em áreas T dependentes são documentadas em animais timectomizados após o nascimento⁷ e após a administração de soro antilinfócitos¹. Ambas as possibilidades não se aplicam ao que ocorre na leishmaniose visceral. Anormalidades do timo não têm sido descritas nesta protozoose e desde que a restauração da resposta imunitária celular ocorre após terapêutica da leishmaniose visceral² é improvável que um defeito no timo seja a causa da ocorrência da depleção linfocitária. A documentação, por outro lado, de que o soro de pacientes com leishmaniose visceral não inibe a formação de rosetas de linfócitos T² e de que anticorpos antilinfocitários não estão presentes em pacientes com leishmaniose visceral (observação pessoal) não apóiam a idéia de que anticorpos antilinfócitos sejam relacionados com a depleção linfocitária nas áreas periarteriolares. Como a leishmaniose visceral é uma doença na qual o agente infectante persiste no hospedeiro por um longo período de tempo, é possível que a estimulação constante de linfócitos, mediada pelos vários antígenos de parasito, termine por induzir uma tolerância imunológica e, por conse-

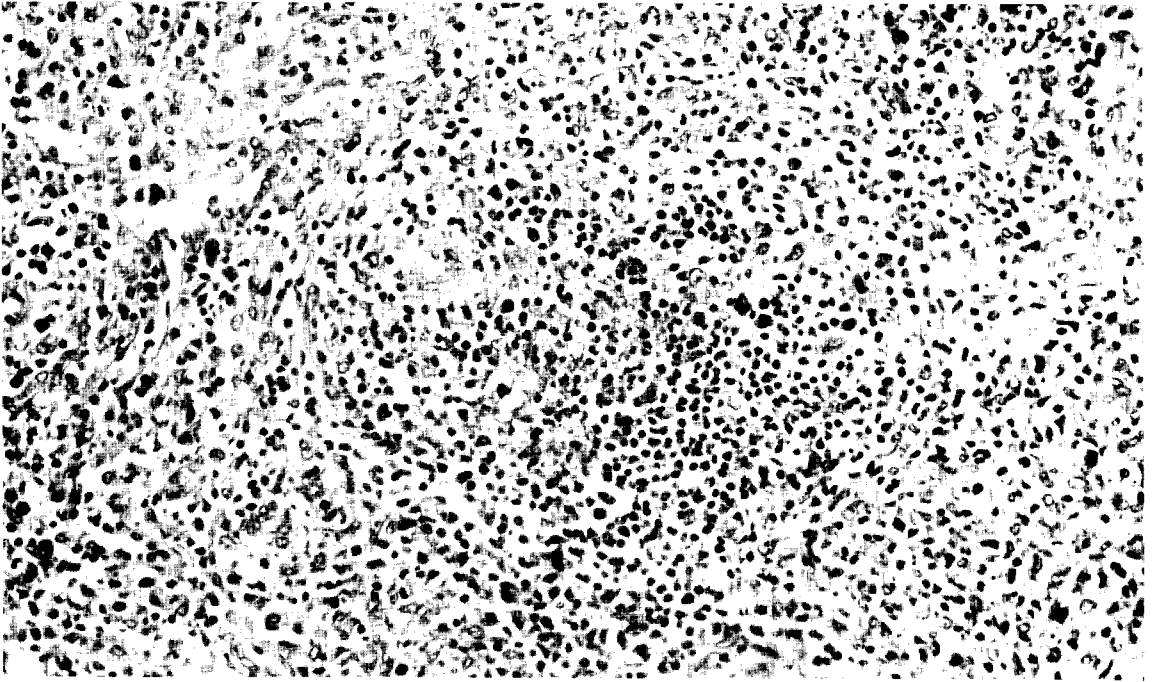


Fig. 1 – Corte de baço mostrando acentuada atrofia de folículo linfóide. Hematoxilina e eosina. x 200.

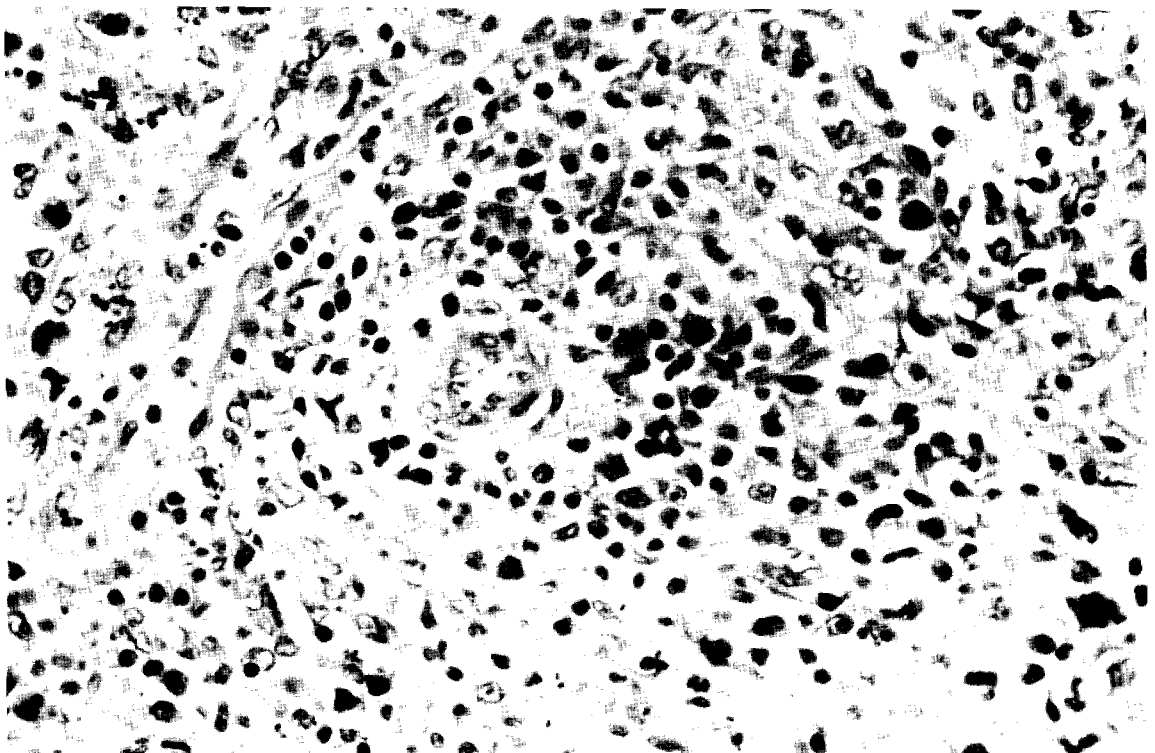


Fig. 2 – Acentuada redução de linfócitos da região periarteriolar na parênquima esplênica. Hematoxilina e eosina. x 400.

guinte, uma diminuição de linfócitos em áreas T dependentes. Alternativamente, a diminuição de linfócitos poderia estar relacionada com a desnutrição⁵, ou com a presença de substâncias séricas que suprimem a proliferação linfocitária³.

Os achados histológicos do baço na leishmaniose visceral são compatíveis com as diversas anormalidades da imunidade celular observadas nestes pacientes. O fato de que, tanto no paciente que tinha linfócitos T diminuídos no sangue periférico como no paciente que tinha preservado o número de linfócitos T, havia depleção de linfócitos em áreas T dependentes do baço, sugere que as anormalidades neste órgão precedem ou são mais evidentes do que as observadas no sangue.

O aspecto dos folículos linfóides, áreas onde predominam os linfócitos B, situou-se em dois extremos: tanto sendo observada atrofia como hiperplasia folicular. A possibilidade de que em uma fase inicial da leishmaniose visceral houvesse hiperplasia dos folículos linfóides e que com o decorrer da doença surgisse atrofia é viável, desde que em 3 dos 5 casos nos quais o folículo linfóide estava normal ou hiperplasiado, a duração da doença foi igual ou inferior a 6 meses, enquanto que somente em 2 dos 10 casos nos quais a atrofia foi documentada o período de doença foi inferior a 6 meses.

Hiperglobulinemia foi documentada em todos os casos e não houve associação entre os níveis de globulina e o aspecto do folículo linfóide. Todavia, hiperglobulinemia correlacionou-se bem com a intensa plasmocitose observada no baço destes pacientes. É importante que, a despeito da plasmocitose no baço, os linfócitos B no sangue periférico de 2 pacientes com leishmaniose visceral estavam em níveis normais. Esta dissociação entre o que ocorre em um órgão linfóide e o sangue periférico é um dado importante, desde que as células sanguíneas são as utilizadas para a avaliação imunológica na espécie humana. Neste caso, o estudo da imunidade poderia nem sempre refletir o que ocorre nos órgãos linfóides ou nos locais onde o agente infectante é abundante, como é o caso da leishmânia no baço.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bryceson ADM & Turk JL. The effect of prolonged treatment with antilymphocyte serum on the course of infection with BCG and *Leishmania enrietti* in the guinea-pig. *Journal of Pathology* 104: 153-165, 1971.
2. Carvalho EM, Teixeira R, Johnson WD Jr. Cell mediated immunity in American Visceral Leishmaniasis. Reversible immune suppression during acute infection. *Infection and Immunity* 22: 649-656, 1981.
3. Carvalho EM & Bacellar O. Lymphocyte reactivity to mitogens in American Visceral Leishmaniasis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 16: 35-41, 1983.
4. Carvalho EM & Bacellar O. Quantificação das populações de linfócitos em sangue periférico humano: Reconsideração a respeito das técnicas utilizadas. *Revista Médica da Bahia* 27: 9-12, 1983.
5. Keusch GT, Wilson CS, Waksal SD. Nutrition, host defenses and the lymphoid system. *Advances in Host Defense Mechanisms* 2:275-359, 1983.
6. Lobo PT. & Horwitz DA. An appraisal of Fc receptors on human peripheral blood B and T lymphocytes. *Journal of Immunology* 117: 939-943, 1974.
7. Metcalf D. The effect of thymectomy on the lymphoid tissue of the mouse. *British Journal of Haematology* 6: 324, 1970.
8. Rezai HR, Ardehali SM, Amirhakimi G & Kharazmi, A. Immunological features of kala-azar. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 27: 1079-1083, 1978.
9. Veres B, Omer A, Satir AA & Al Hassan AM. Morphology of the spleen and lymphnodes in fatal visceral leishmaniasis. *Immunology* 33: 605-610, 1977.
10. WHO-IARC Workshop. Special technical report. Identification, enumeration and isolation of B and T lymphocytes from human peripheral blood. *Scandinavian Journal of Immunology* 3: 521-532, 1974.