

ESTUDO DAS PROTEÍNAS SÉRICAS NA BLASTOMICOSE SUL-AMERICANA *

A. M. Fiorillo **, L. Takaoka *** e L. A. R. Fernandes ****

Os autores estudaram o quadro serico protéico de sete pacientes com Blastomicose Sul-Americana, utilizando a eletroforese em papel, a separação cromatográfica em coluna de Sephadex G-200 e a imuno-eletroforese em agar. Os pacientes apresentavam lesões pulmonares, com ou sem adenopatia, ou apenas adenopatia localizada ou generalizada e esta acompanhada ou não de lesões do tubo gastro-intestinal, reveladas pelo Rx.

Chegaram à conclusão de que a Blastomicose determina elevação do teor das imunoglobulinas do tipo IgG e IgM e não do IgA. Sugerem que as imunoglobulinas do tipo IgG se elevam com a formação de granulomas e reparação fibrótica, além de refletirem a resposta imune específica do processo em fase crônica, enquanto que as do tipo IgM aumentam de teor na fase aguda ou de agudização da doença, quando os fenômenos de exsudação e necrose se tornam bem evidentes.

INTRODUÇÃO

Estudos iniciais, pormenorizados, das proteínas do soro na Blastomicose Sul-Americana foram realizados por Del Negro e Fiorillo, em 1954 (2). Verificações relacionadas a muco-proteínas e anticorpos específicos foram feitas por Fava Netto, Ferri e Lacaz em 1959 (5). Barbosa, em sua tese de 1968 (1), re-estudou o quadro protéico em um número grande de pacientes, utilizando-se da separação eletroforética em papel. As alterações encontradas pelos autores mais recentes não trouxeram esclarecimentos maiores quanto ao com-

portamento das imunoglobulinas do sistema gama (IgG, IgA e IgM), nas diferentes fases de evolução dessa doença. Utilizando uma metodologia mais delicada, procuramos estudar as modificações dessas globulinas em diferentes modalidades clínicas da Blastomicose.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo preliminar consta de achados correspondentes a sete de nossos pacientes com Blastomicose Sul-Americana, internados no Serviço de Moléstias Infecciosas da Faculdade de Medicina de Ri-

* Trabalho do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Serviço de Doenças Infecciosas e Tropicais).

** Professor Adjunto do Departamento de Clínica Médica da F.M.R.P. (Chefe do Serviço).

*** Residente de Clínica Médica.

**** Auxiliar de Ensino do Departamento de Clínica Médica da F.M.R.P.

beirão Preto. Os doentes foram escolhidos de maneira a apresentarem quadros clínicos variáveis, para que pudéssemos correlacionar as alterações das globulinas com as várias modalidades de patologia. O diagnóstico foi comprovado pelo achado do parasito em material de biópsia ou em produtos patológicos como escarro ou secreção de gânglios fistulizados ou abcedados. Foram realizados também exames complementares numerosos, incluindo os radiológicos, a fim de caracterizarmos os diferentes aspectos clínicos ou, então, excluir doenças concomitantes que pudessem interferir em nossas conclusões.

Estudo das proteínas séricas. Para o estudo das proteínas executamos a dosagem do teor total, a separação pela eletroforese em papel, a imuno-eletroforese em agar e a separação em coluna de Sephadex G-200. Os valores normais correspondem aos obtidos de 10 indivíduos sadios.

Dosagem das proteínas totais. As proteínas totais do soro e das frações separadas em coluna foram dosadas pelo método do biureto de Lowry (6).

Separação das imunoglobulinas. As imunoglobulinas foram separadas em coluna de Sephadex G-200* de acorção com o método de Fahey e Terry (4) modificado. A coluna tinha as dimensões de 2,5 x 80,0 cm; a eluição foi executada NaCl-0,3 M. As frações, em volume de 5,9 ml, foram recolhidas em coletor automático e a distribuição das proteínas no eluato foi determinada com o auxílio de espectrofotômetro**, a 280 m μ . As curvas de densidade ótica têm as características apresentadas nas figs. de 1 a 7. Foram feitos "pools" das frações P₁, P₂, P₃, P₄ e P₅, conforme indicação das figuras citadas.

Identificação das frações. As frações citadas acima foram concentradas por pervaporação no vácuo, antes de serem identificadas. A identificação dos componentes de cada fração separada pelo Sephadex foi realizada através da imuno-eletroforese em agar pelo micro-método de Scheideger (7), utilizando-se anti-soros específicos anti IgA e IgM de procedência holandesa***.

As frações separadas pelo Sephadex G-200 mostraram, como componentes predominantes, as globulinas IgG no "pool" 2 e as globulinas IgM no "pool" 1 (Figs. 8, 9 e 10).

RESULTADOS

Os resultados globais, obtidos pela separação eletroforética em papel e pela coluna de Sephadex estão lançados na Tabela I. O instantâneo clínico e protéico correspondente a cada paciente, em época oportuna, está registrado nos Quadros de 1 a 7.

O paciente O.C.G. (Quadro 1) apresentava doença ganglionar, com infartamento cervical e abdominal, mas sem manifestações clínicas para o lado do aparelho digestivo e pulmão. O estudo protéico revelou aumento de globulinas γ ; a imuno-eletroforese e separação pelo Sephadex demonstraram que as γ globulinas aumentadas eram do tipo IgG. Clinicamente, o paciente apresentava doença não generalizada.

O paciente D.F.L. (Quadro 2) apresentava alterações pulmonares de tipo fibrótico e lesões cutâneas pouco intensas e extensas; clinicamente podemos classificá-lo como doente em fase crônica. A análise protéica demonstrou aumento de globulinas α 2 e discreta elevação do teor das γ globulinas, de tipo IgG.

O paciente O.C. (Quadro 3) apresentava alterações pulmonares de tipo residual, fibrótico e micro-adenopatia cervical. O estudo protéico revelou discreto aumento de globulinas α 2 e γ , com elevação da fração IgG.

O paciente L.D.B. (Quadro 4) apresentava adenopatia generalizada, inclusive de abdome, alterações pronunciadas do tubo digestivo, e esplenomegalia, indicando doença em fase ativa, de exsudação. O quadro protéico revelou aumento das globulinas α 2 e γ ; o aumento de γ correspondia à elevação das globulinas IgG e IgM.

O paciente A.F. (Quadro 5) era portador de adenopatia generalizada, periférica e abdominal, de alterações da mucosa intestinal (jejuno e íleo) e discreta esplenomegalia. No total, seu aspecto clínico era semelhante ao do paciente anterior. O quadro protéico revelou aumento das

* Sephadex G-200, Pharmacia-Uppsala, Sweden.

** Espectrofotômetro Gilford — Modelo 240.

*** Central Laboratorium Van de Bloed transfusedient, Amsterdam.

TABELA I

Teor protéico, em mg%, das frações separadas por eletroforese em papel e por coluna de Sephadex G-200. Os valores normais para o Sephadex correspondem às médias obtidas de 10 indivíduos.

Nome	ELETROFORESE					SEPHADEX G-200				
	A	α_1	α_2	β	γ	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅
O.C.G.	2410	430	690	600	4470	201	2588	3927	1127	703
D.F.L.	3280	340	1340	920	2520	488	2769	2359	1399	1384
O.C.	3320	410	970	810	2590	480	3060	1016	1505	2037
L.D.B.	2380	820	1100	660	3280	612	1924	193	950	2491
A.F.	2410	420	1250	750	3500	791	2410	1255	742	3346
M.I.A.C.	2400	560	800	720	3520	820	3009	1595	1388	2400
W.S.	3540	630	1000	1500	2820	1124	2326	1096	1083	1266
Normal	3500	200	300	600	1000					
	5200	500	800	1000	1800	361	1310	778	753	2903

globulinas α_2 e γ ; destas, a elevação correspondia a das IgG e IgM.

O paciente M.I.A.C. (Quadro 6) apresentava adenopatia cervical e lesões cutâneas úlcero-vegetantes, extensas e intensas, além de esplenomegalia. Não apresentava, ao Rx, lesões pulmonares ou intestinais. O quadro protéico mostrou aumento das globulinas γ ; destas, a elevação correspondia ao aumento das IgG e IgM.

O paciente W.S. (Quadro 7) apresentava alterações evidentes da mucosa intestinal e calcificação de gânglios mesentéricos ao Rx; além disso, adenopatia cervical exuberante. O quadro protéico revelou aumento de α_2 e γ globulinas; destas, a elevação correspondia a das IgG e IgM.

DISCUSSÃO

No quadro histopatológico da Blastomiose Sul-Americana encontramos exsudatos inflamatórios, necroses e reparação fibrótica; a morfologia da lesão primária é a do granuloma, com os parasitos em seu interior. O componente exsudativo-necrótico tem correspondente, no quadro sérico protéico, no elevado teor de muco-

proteínas (5), no aumento da velocidade de hemossedimentação (1, 3, 5) e na elevação das α_2 globulinas, pois cerca de 60% da composição destas são constituídas de glicoproteínas (2, 3).

O estímulo do mesênquima, com formação de granulomas, determina modificações no teor das γ globulinas séricas. A formação de anticorpos específicos, de tipo IgG e IgA elevam os valores das imunoglobulinas correspondentes do soro; globulinas de tipo IgG poderiam representar anticorpos específicos, 7S, ou para-proteínas; globulinas de tipo IgM representariam anticorpos 19S, ou para-proteínas. Os achados de nossos pacientes, correlacionados com o exame clínico e com os exames complementares de laboratório, demonstraram que as alterações de tipo exsudativo - necrótico, principalmente ganglionar, determinam elevação do teor das α_2 globulinas. Por outro lado, a elevação das γ globulinas corresponde à atividade granulomatosa e à atividade imunogênica específica. Trabalhos em andamento procuram esclarecer que papel têm os anticorpos específicos, nas variações do teor das imunoglobulinas IgG, IgA e IgM, nas várias modalidades clínicas e em diferentes fases de atividade dessa doença.

O.C.G. — 21 anos

RX pulmão — n.d.n.

RX intestinos — n.d.n.

Gânglios — adenopatia cervical e de mediastino (RX)
abdominal.

Fígado |——| Baço |——|

Imunoeleetroforese

IgG — aumentada

IgA — normal

IgM — normal

QUADRO 1

	mg%		
Eleetroforese	A	α_1	α_2
	2410	430	690
Sephadex G 200	P ₁	P ₂	P ₃
	201	2588	3927

Obs.: n. d. n. = nada digno de nota

; adenopatia

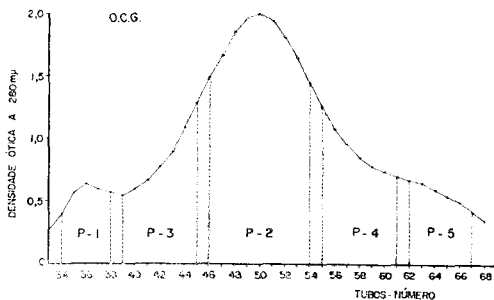
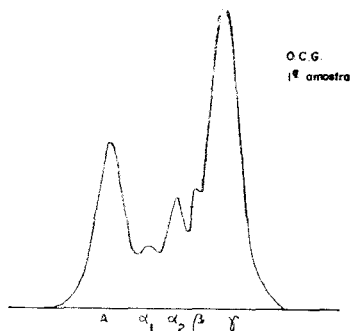


Fig. 1 — Separação das proteínas do soro por eletroforese em papel (superior) e em Sephadex (inferior).

β γ

600 4470

P₄ P₅

1127 703

D.F.L. — 32 anos

RX pulmão — micronodulações + fibrose e enfisema.

Gânglios — adenopatia superficial, discreta. Lesões cutâneas úlcero-vegetantes.

Fígado — 1 dedo. Baço [—]

Imunoeletroforese

IgG — aumentada

IgA — normal

IgM — normal

QUADRO 2

	mg%				
Eletroforese	A	α_1	α_2	β	γ
	3280	340	1340	920	2520
Sephadex G 200	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅
	488	2769	2359	1399	1384

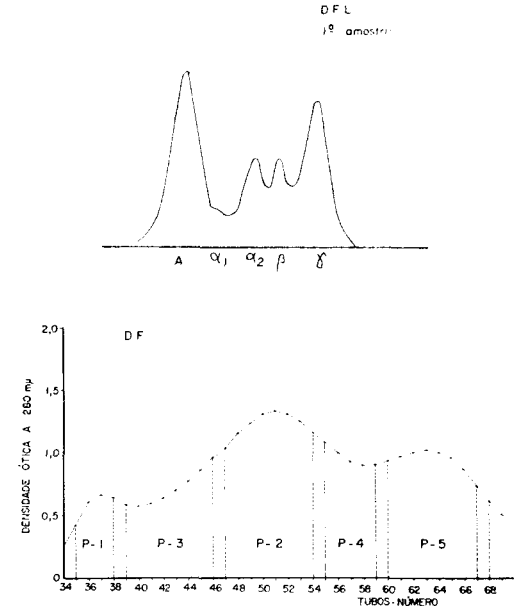


Fig. 2 — Separação das proteínas do soro por eletroforese em papel (superior) e em Sephadex (inferior).

O.C. — 31 anos

RX pulmão — micronodulações; fibrose para-hilar.

RX intestinos — n.d.n.

Gânglios — micro-adenopatia.

Fígado ——— *Baço* ———

Imunoeletroforese

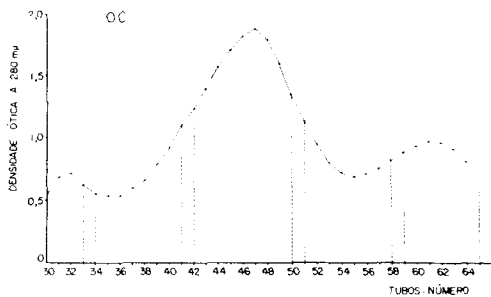
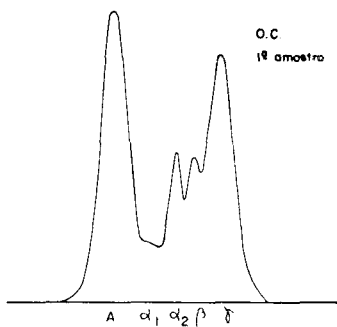
IgG — aumentada

IgA — normal

IgM — normal

QUADRO 3

	mg%		
Eletroforese	A	α_1	α_2
	3320	410	970
Sephadex G 200	P ₁	P ₂	P ₃
	480	3060	1016



β γ

810 2500

P₄ P₅

1505 2037

Fig. 3 — Separação das proteínas do soro por eletroforese em papel (superior) e em Sephadex (inferior).

L.D.B. — 13 anos

RX pulmão — micronodulações difusas.

RX intestinos — enterite (alterações da mucosa); alterações do ceco.

Gânglios — adenopatia generalizada, provavelmente abdominal.

Fígado — 3 dedos Baço — 2 dedos

Imunoelectroforese

IgG — aumentada

IgA — normal

IgM — aumentada

QUADRO 4

	mg%				
Electroforese	A	α_1	α_2	β	γ
	2380	820	1100	660	3280
Sephadex G 200	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅
	612	1924	193	950	2491

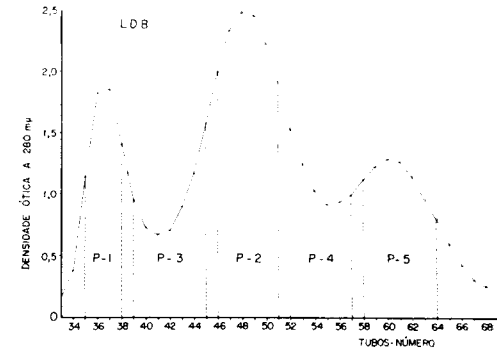
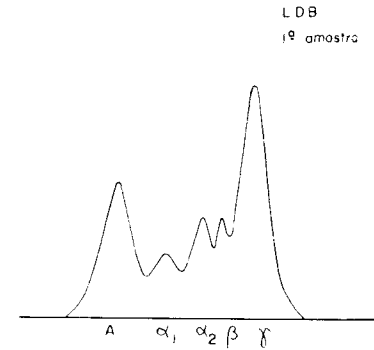


Fig. 4 — Separação das proteínas do soro por electroforese em papel (superior) e em Sephadex (inferior).

A.F. — 20 anos

RX pulmão — n.d.n.

RX intestinos — alterações de jejuno (enrijecido) e ileo, em sua mucosa.

Gânglios — adenopatia generalizada, periférica e abdominal.

Fígado —; Bazo — percutível.

Imunoeletroforese

IgG — aumentada

IgA — normal

IgM — aumentada

QUADRO 5

	mg%				
Eletroforese	A	α_1	α_2	β	γ
	2410	420	1250	750	3500
Sephadex G 200	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅
	791	2410	1255	742	3346

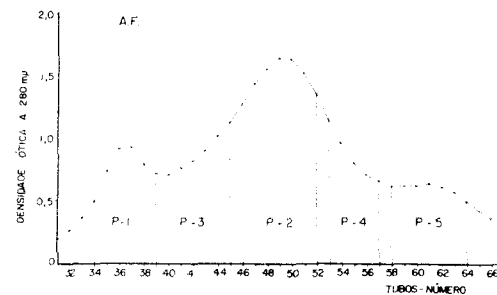
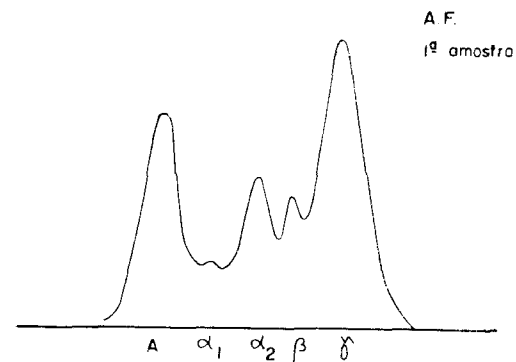


Fig. 5 — Separação das proteínas do soro por eletroforese em papel (superior) e em Sephadex (inferior)

QUADRO 6

M.I.A.C. — 30 anos

RX pulmão — n.d.n.

RX intestinos — n.d.n.

Gânglios — adenopatia cervical, discreta. Lesões cutâneas mais ou menos extensas úlcero-vegetantes.

Fígado — 3 dedos Baço — 2 dedos

Imunoelektroforese

IgG — aumentada

IgA — normal

IgM — aumentada

Elektroforese	mg%				
	A	α_1	α_2	β	γ
	2400	560	800	720	3520
Sephadex G 200	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅
	820	3099	1595	1388	2400

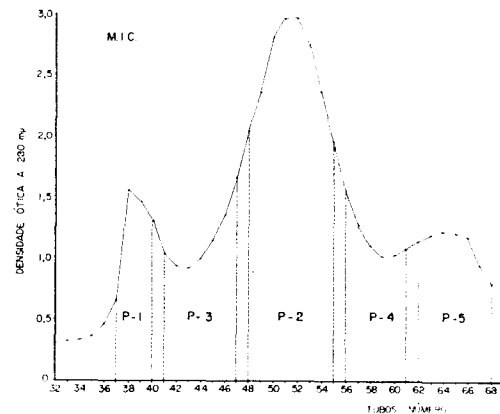
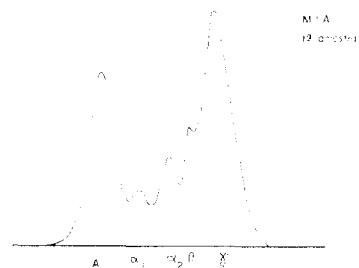


Fig. 6 — Separação das proteínas do soro por eletroforese em papel (superior) e em Sephadex (inferior).

W.S. — 20 anos

RX pulmão — n.d.n.

EX intestinos — enterite, com alterações evidentes da mucosa; calcificação de gânglios mesentéricos.

Gânglios — adenopatia exuberante, cervical.

Fígado — Baço

Inunoelectroforese

IgG — aumentada

IgA — normal

IgM — aumentada

QUADRO 7

Eletroforese	mg%				
	A	α_1	α_2	β	γ
	3540	630	1000	1500	2820
Sephadex G 200	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅
	1124	2326	1096	1083	1266

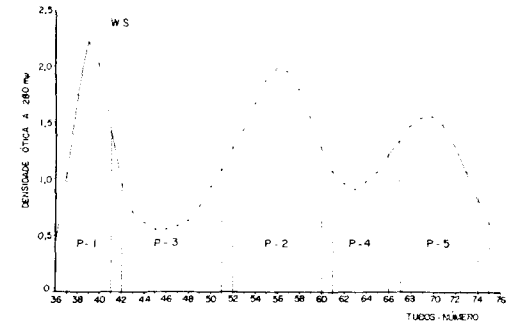
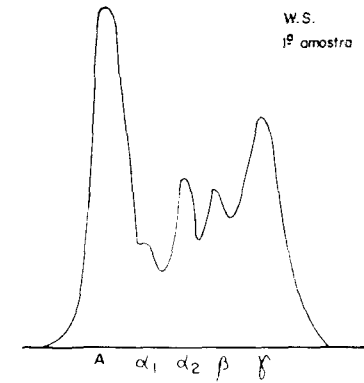


Fig. 7 — Separação das proteínas do soro por eletroforese em papel (superior) e em Sephadex (inferior).

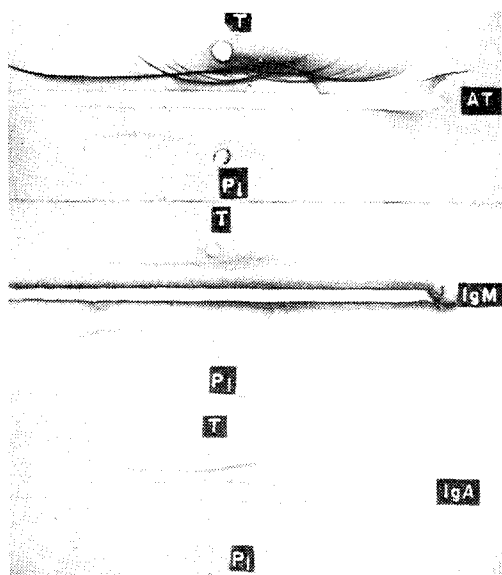


Fig. 8 — Imunoelektroforese do soro total (T) e do Pool-1 com soro anti-total (AT), anti-IgM e anti-IgA. Presença de IgM e α_2 macroglobulinas e ausência de IgA.

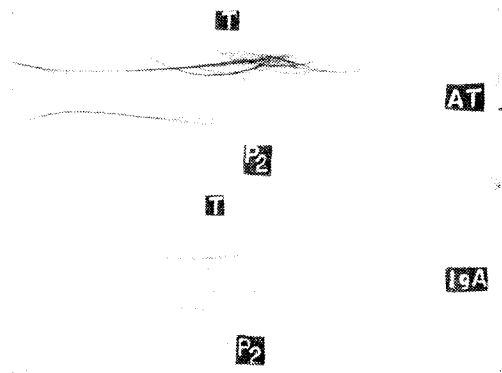


Fig. 9 — Imunoelektroforese do soro total (T) e do Pool-2, com soro anti-total (AT) e anti-IgA. Presença de IgG, IgA e traços de α e β globulinas.

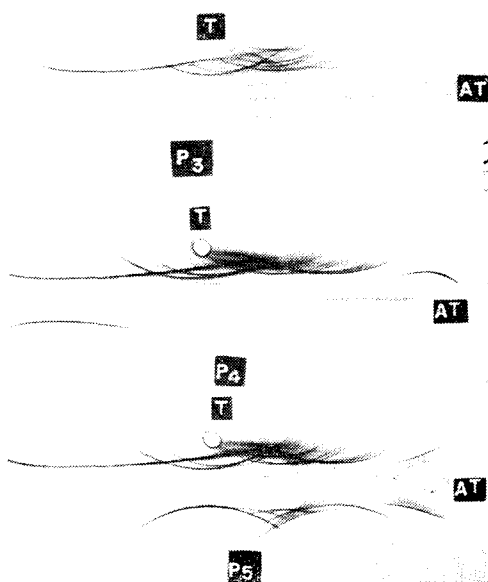


Fig. 10 — Imunoelektroforese do soro total (T) e dos Pools 3, 4 e 5, com soro anti-total (AT). Presença de globulinas α em $P_{3\alpha}$ de IgG, α e esboço de albumina em $P_{4\alpha}$ e de albumina, α e β globulinas em $P_{5\alpha}$.

SUMMARY

The authors employed serum paper electrophoresis, immunoelectrophoresis in agar and fractionation on Sephadex G-200 column, to study the serum proteins in 7 patients with South American blastomycosis. Some patients had pulmonary lesions which were associated or not with enlargement of lymph nodes, others presented localized or generalized enlargement of lymph nodes. In these patients with generalized enlargement of lymph nodes, they found or not lesions of intestinal tract demonstrated through X-ray. They conclude that immunoglobulins G and M are increased in South American blastomycosis.

The authors suggest that immunoglobulin G is increased whether by chronic granulomatous infection or when this disease progress to fibrosis; it is also related with specific immune response. An increase in immunoglobulin M in the acute phase or recurrence of the disease is demonstrated when there are necrosis or exsudation.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARBOSA, W. — Blastomicose Sul-Americana. Contribuição ao seu estudo no Estado de Goiás. Tese de Docência-Livre. Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás, 1968.
2. DEL NEGRO, G. & FIORILLO, A. M. — O diagrama eletroforético na blastomicose sul-americana (nota prévia). Rev. Paul. Med., 45: 146, 1954.
3. DEL NEGRO, G. — Contribuição para o estudo clínico da blastomicose sul-americana (Doença de Lutz-Splendore-Almeida). Prêmio Carlos Chagas. Acad. Nac. Med. 1955.
4. FAHEY, J. L. & TERRY, E. W. — Ion exchange chromatography and gel filtration. In Weir, D. M. — Handbook of Experimental Immunology, Blackwell, Oxford, 1967.
5. FAVA NETTO, C., FERRI, R. G. & LACAZ, C. S. — Poteinograma e algumas "provas da fase aguda do sorro" na Blastomicose sul-americana. Estudo comparativo com as reações de fixação de complemento e de precipitação. Med. Cir. Farm., 277: 157, 1959.
6. LOWRY, O. H., ROSENBOUGH, N. J., FARR, A. L. & RANDALL, R. J. — Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265, 1951.
7. SCHEIDEGER, J. J. — Une micro-méthode de l'immuno-électrophorèse. Internat. Arch. Allergy & Appl. Immunology, 7: 103, 1955.
8. SCHMIDT, B. J. & HOXTER, G. — Estudos eletroforéticos em 16 casos de blastomicose sul-americana. Rev. Paul. Med., 55: 434, 1959.