

O LABORATÓRIO NAS COLAGENOSSES *

OSWALDO KESSLER LUDWIG **

Para que possamos justificar as alterações sanguíneas, que se procuram investigar no laboratório, em quadros patológicos como estes de que nos estamos ocupando, necessitamos fazer, ainda que sumariamente, algumas considerações de ordem geral.

Assunto novo, e, por isso mesmo cheio de incertezas e controvérsias, obriga que citeemos os mais doutos. Visto que nossa pouca experiência sobre o assunto não nos permite fazer conjeturas, utilizamos mais a casuística e os achados alheios que os nossos próprios. E isso somos ainda forçados a fazer de forma condensada, pela escassez do tempo, de forma que ainda mais se reduzem as possibilidades de uma exposição clara e detalhada do tema.

Como já é do conhecimento de todos vários critérios foram apresentados para reger o agrupamento das diversas entidades mórbidas que devem constituir a doença difusa do colágeno.

Quanto à nós, preferimos o estabelecimento de um critério nosológico que, si peca pela exigência, terá a vantagem de dar mais nitidez e precisão de limites ao conceito de colagenose. Esse critério é eclético e inclui considerações relativas a:

- 1.º — Aspétos clínicos determinados
- 2.º — Alteração fibrinóide generalizada
- 3.º — Etiologia desconhecida ou discutível
- 4.º — Feitio reacional com características alérgicas
- 5.º — Resposta terapêutica ao cortisone e
- 6.º — Alterações protêicas.

Esse último item é o que mais contribue para a fundamentação da parte que aqui nos cabe desenvolver, que é a relativa ao aspecto laboratorial das colagenoses. Por isso vamos dedicar-lhe algumas considerações básicas. Antes, porém, citeemos as palavras de EHRICH, que embora consideradas impróprias para definir colagenose, dão bem a idéia de seu fundamento patogenético e concluem pela mesênquimopatia.

“O denominador comum das diversas colagenoses reside em sua patogênese, ou, dito com mais exatidão, na produção a partir das células plasmáticas, de gammaglobulinas anormais, que determinam uma lesão difusa do mesênquima.”

A explicação bioquímica da patogenia das colagenoses está ainda nos primeiros passos e são frequentes as divergências entre os autores.

Aceitamos, porém, que parte da razão cabe a Ehrich e que as disgammaglobulinemias tomam parte nesses processos.

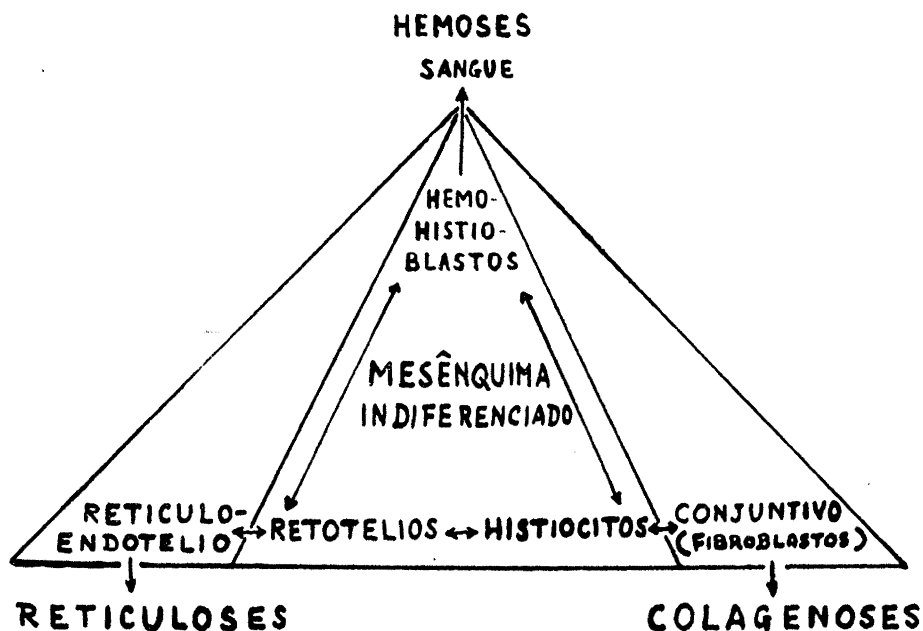
E' preciso não esquecer, porém, que si, como quer Ehrich, gammaglobulinas anômalas são responsáveis pela precipitação dos mucopolisacarídeos ao nível da substância fundamental do conjuntivo, alterando o colágeno, no fundo, o *primum movens* de tudo é a própria célula mesênquimática, única responsável pela produção tanto quantitativa como qualitativa dessas mesmas gammaglobulinas.

O mesênquima deve ser considerado, pois, como ponto de origem e ponto terminal dos processos fisiopatológicos que evoluem com alterações típicas da matéria colágena. Nele se encerra o círculo vicioso das colagenoses.

A colagenose é pois uma méra consequência de uma mesênquimatose primitiva.

(*) Apresentado na 1.ª Jornada de Medicina Interna (Santa Maria — R. G. S.) — Relator do tema.

(**) Instrutor da Cadeira de Patologia Geral — Diretor do Laboratório das Clínicas.



Da observação dessas interações de setores mesenquimáticos, da reversibilidade entre os tipos celulares funcionais, e, das ligações que tornam possível a interpretação de certas alterações sanguíneas concomitantemente com colagenoses e reticuloses, se pôde concluir:

- as alterações no conjuntivo (formado por parcial diferenciação do mesênquima) representam disfunção nos elementos que lhe dão origem.
- pôde-se bem justificar as alterações sanguíneas que decorrem da patologia do mesênquima em geral ou de um dos setores dele dependente.

Sabendo-se que, no tecido conjuntivo, o fibroblasto elabora a substância fundamental e fibras, podemos compreender que as modificações do colágeno dependem por sua vez de alteração no fibroblasto, que já representa a disfunção do próprio mesênquima.

A alteração fibrinóide generalizada que é um dos itens para o agrupamento das entidades que estamos estudando, é decorrente da precipitação dos mucopolissacarídeos ácidos da matriz por uma proteína alcalina anormal, que preferimos interpretar não como anormal no sentido de proteína heteróloga, mas como um

“arranjo molecular”, semelhante ao que sucede nos anti-corpos incompletos.

Necessita, a referida precipitação, da concomitância de desequilíbrios no mecanismo enzimático (hialuronídase-anti-hialuronídase) que regula o estado de polimerização do ácido hialurônico e dos condroitinosulfatos.

As anti-hialuronídeses nos interessam para o estudo das colagenoses, pois elas, quando inespecíficas, estão elevadas em todas as doenças do grupo, enquanto que as específicas em relação ao estreptococo, só estão aumentadas, em geral, na M. R. e em alguns casos de A. R.

Considerando a participação de resposta alérgica predominante neste grupo de doenças, bem como, a ligação etiológica, de pelo menos parte do grupo, com o estreptococo hemolítico A, podemos estudar a participação de mecanismos de ordem imunológica através a verificação do aumento de títulos de anti-corpos, tais como:

— as anti-estreptolisinas O e S, em especial a O que apresenta títulos elevados na M. R. em atividade e em 50% dos casos de A. R.

— a anti-estreptoquinase, demonstrada, por Quinn e Liao, em título aumentado nos sêros de pacientes de M. R. e não em casos de A. R.

— a aglutinina anti-estreptocócica, que os mesmos autores demonstraram em alto título na M. R. e na A. R. e em baixo título nas atrites não reumatismais.

— A globulina que reage com sal quaternário de amônio

— a proteína C reativa

— a heparina

— as hexosaminas

e os polisacarídeos não glucosamínicos, reagentes inespecíficos, têm sido dosados com a finalidade de acompanhar a marcha da M. R. e da A. R.

Estes elementos imunológicos que citamos resumidamente, já que não pertencem à rotina clínica, devem, no entanto, ser conhecidos dos que desejarem fazer pesquisa em relação à este assunto.

Ainda no campo da imunologia, devemos fazer referência especial à anticorpos que, também dependendo da produção de gamma-globulinas anômalas, fazem traço de união entre as colagenoses e as chamadas doenças por auto-imunização. São as aglutininas e hemolisinas que, por aglutinarem e hemolisarem eritrócitos, destroem também leucócitos e plaquetas, explicam a participação, em casos de doenças difusas do colágeno, de anemias, granulocitopenias e purpuras trombocitopênicas, quer em forma isolada, quer em combinação, chegando a apresentar o quadro da pancitopenia.

As alterações protéicas no sangue, mais ou menos semelhantes e constantes nas colagenoses em geral, são representadas por:

— diminuição da albumina

— aumento da globulina — alfa 2

— aumento do fibrinogênio

— e aumento da gamma-globulina, com alteração qualitativa (disgamma-globulinemia).

Essas disproteinemias justificam o aumento da velocidade de sedimentação eritrocitária, bem como a positividade de reações de floculação, observados em todos esses processos mórbidos.

Si bem seja verdadeiro que, estas alterações não tenham especificidade, o fracionamento protéico pela eletroforese (proteino-grama), nos pode orientar em casos de aspecto clínico especial, no sentido diagnóstico e evolutivo, assim como o hemograma também nos orienta, pelas variações leucocitárias que obedecem a leis gerais de respostas de tipo inespecífico,

mas de caráter peculiar á processos infecciosos, alérgicos ou tóxicos.

Até aqui citamos elementos laboratoriais que, mais ou menos, se relacionam a todo o grupo de doenças em estudo.

Vejam, agora, a contribuição do laboratório em relação a cada tipo de colagenose em especial.

Na **ESCLERODERMIA**, além das alterações proteicas já referidas para o grupo, pôde-se verificar um aumento da creatinúria, uma redução na excreção dos 17-ceto-esteróides e uma diminuição dos linfócitos e da proteína no liquor.

Na **DERMATOMIOSITE**, a cooperação do laboratório é ainda mais pobre, pois se resume nas alterações proteicas.

Na **PERIARTERITE NODOSA**, idem, podendo ser valorizada a eosinofilia.

Já na **MOLESTIA REUMATISMAL** dispomos de elementos diagnósticos e que foram antes relatados. São as titulações de anti-estreptolisinas e anti-estreptoquinase.

No estudo da evolução, bem como das respostas terapêuticas, nos utilizamos correntemente — e esses elementos são soavelmente conhecidos — do:

Hemograma — Neutrocitose — desvio p. E. — Monocitose — Redução ou aumento dos acidófilos-Anemia.

Eritrosedimentação

Exame de urina

Na **ARTRITE REUMATÓIDE**, também dispomos de um elemento de certa valia para o diagnóstico. É a titulação da aglutinina contra o estreptococo, já referida. A leucopenia habitual nas formas crônicas de colagenoses, é às vezes substituída pela linfocitose, quando nos encontramos frente á formas de A. R. tipo **Styll** e **Chaufard**. Os **TROMBOCITOS** sofrem, às vezes, redução durante o tratamento.

O **Test de Thorn** é utilizável para a verificação de resposta terapêutica ao **ACHT**, **Butazolidina**, **Irgapirin**, etc.

No **LUPUS ERÍTEMATOSO** — É nesta entidade que o mesênquima está mais comprometido, e isto explica as maiores alterações hematológicas:

Anemia

Leucopenia predominante — desvio
p. E.

Trombocitopenia

Medula óssea

Plasmocitose

Impedimento maturativo
tipo hiperesplenismo

A reação de Wassermann póde ser inespecificamente positiva. O mesmo sucede com as reações de floculação.

Deixamos, intencionalmente, para o final, o estudo da célula L. E., por ser um dos elementos de aquisição mais recente, e que tem despertado um grande interesse dado seu valor no diagnóstico do Eritematoses maligno.

A descoberta feita por HARGRAWES em 1946, trabalhando com medula óssea, e sua publicação com Richmond e Morton, em 1948, veio trazer ao clínico um meio seguro de diagnóstico do Lupus eritematoso disseminado.

Neste trabalho são descritas duas variedades de células: a Tart (pastel) e a L. E.

A célula Tart foi encontrada na medula óssea em casos de linfoblastoma, carcinoma metastático e outros de natureza obscura.

Trata-se de uma célula inespecífica, sem expressão diagnóstica, cujo reconhecimento só nos interessa afim de que possamos evitar erros na identificação da C. L. E.

E' um histiócito de aspeto monocitóide, contendo um segundo núcleo que se cora em vermelho púrpura pelo Wright, conservando estrutura nuclear.

A célula L. E. é um granulócito neutrófilo maduro, tendo, englobada, em seu citoplasma, uma massa homogênea, arredondada, com coloração menos intensa, porém semelhante á do núcleo neutrófilo, e não se distinguindo nela estrutura cromatinica.

Julgam os autores que a C. L. E. resultaria, ou de fagocitose de material nuclear livre, ou de autólise de lobos nucleares. Seria um fenômeno lítico-fagocitário.

Hargrawes demonstrou que estas massas amorfas reagem como material nuclear diante das técnicas de col. específicas (Feulgen).

O mesmo autor descreveu a aglutinação de neutrófilos em torno de uma massa livre á ser fagocitada, o que mereceu a denominação, em sua homenagem, de "fenômeno de Hargrawes", e que Haserick e Bortz denominaram de "roseta".

Sundberg e Lick, observaram, por vez primeira, tanto o fenômeno como a célula, trabalhando com crême leucocitário de sangue periférico.

Haserick, verificou que o fenômeno em roseta aparece entre 5 e 6 minutos de incubação da mistura de crême leucocitário com plasma lúpico e que a célula só aparece entre 12 e 13'.

Concluiu que a célula deve ser resultante do fenômeno.

Haserick e Lewis, imunizando coelhos com gamma-globulina de indivíduos normais e de doentes de L. E., obtiveram um soro anti-globulina-gamma.

Realizando "in vitro" a pesquisa do fenômeno e da célula, verificaram que interpondo o soro anti-globulina-gamma de indivíduo normal, o processo não era impedido. Entretanto, com o soro anti-globulina-gamma de lupus, não mais conseguiram resultado positivo, e concluíram que deve haver um fator ligado á gamma-globulina lúpica, que seria o responsável pelo aparecimento das células L. E., uma vez que o anti-fator não permite mais o aparecimento delas.

Rebuck e Berman conseguiram experimentalmente reproduzir esses elementos (fen. e cél.) introduzindo plasma lúpico na pele de voluntários.

Desenvolveu-se a cél. L. E.

Este trabalho teve como finalidade demonstrar a identidade entre C. L. E. e os corpúsculos hematoxinófilos.

Lee, Michael e Vural, estudando a composição das massas amorfas com col. de Feulgen, verde de metila e com absorção de luz monocromática, demonstraram tratar-se de ácido desoxiribonucléico parcialmente despolimerizado.

Zamenhoff e Chargff interpretam a despolimerização do ácido desoxiribonucléico ou pela potencialização de uma despolimérise, ou pela inativação de um inibidor deste enzima.

Pelas colorações de Mac Manus e Hotchkiss verifica-se a presença de muco ou glicoproteína nas massas amorfas, donde se poderia concluir pela participação, nelas, de restos citoplasmáticos pro-

venientes de granulócitos neutrófilos, uma vez que, das células sanguíneas, somente os neutrófilos responderiam à técnica de col. de Mac Manus (Ritter e Oleson).

Técnica

Existem inúmeras variantes de técnica para a pesquisa da célula L. E.. Não poderíamos descrever-las todas neste curto prazo.

A técnica de escolha até o momento é a da incubação, durante 30 - 40', à 37°C de uma mistura de plasma do doente, obtido pela heparinização, com creme leucocitário de indivíduo bom "reator", isto é, indivíduo cujos neutrófilos têm boa capacidade de reagir, já que Abujamra, em São Paulo, mostrou que existem neutró-

filos com graus variáveis de sensibilidade para o fenômeno. Devem ser analisadas várias lâminas, bem como a repetição da pesquisa por várias vezes, insistindo na positividade sempre que o quadro clínico sugerir.

A ESPECIFICIDADE da C. L. E. deve ser respeitada, apesar de terem sido encontradas ocasionalmente em outras entidades mórbidas, bem como, provocadas por artifícios.

A SENSIBILIDADE é menor, uma vez que, casos há, confirmados pela necrópsia, em que não foram encontradas C. L. E. em várias tentativas, assim como, em certas etapas evolutivas de remissão espontânea ou terapêutica, possa negar-se a pesquisa.