

ANTICORPOS ANTI-RETICULINA EM SOROS DE CAMUNDONGOS ALBINOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS POR *SCHISTOSOMA MANSONI* *

Mirthes UEDA **
Pedro Paulo CHIEFFI ***
Roberto A. Pinto PAES ***
Paulo M. NAKAMURA **
Roselisa da Silva GORDINHO ****

RIALA6/548

UEDA, M.; CHIEFFI, P.P.; PAES, R.A.P.; NAKAMURA, P.M. & GORDINHO, R.S. — Anticorpos anti-reticulina em soros de camundongos albinos experimentalmente infectados por *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 42(1/2): 63-66, 1982.

RESUMO: Determinou-se a freqüência de anticorpos anti-reticulina no soro de camundongos experimentalmente infectados por *Schistosoma mansoni*, procurando avaliar o seu surgimento e o grau de reatividade conforme o tempo de infecção, através de reação de imunofluorescência indireta em cortes de rim humano. Entre 50 camundongos infectados por *S. mansoni*, 48 (96%) apresentaram reação positiva de intensidade variável; em 31 (64,5%) notou-se reação de intensidade fraca e em 17 (35,5%) a intensidade foi considerada forte. Entre 10 camundongos do grupo controle, não infectado, não se encontrou nenhuma reação positiva para anticorpos anti-reticulina. No grupo de camundongos infectados notou-se tendência a maior grau de reatividade entre os animais com infecção crônica, reforçando a hipótese de que existe relação entre alterações mensenquimais em doenças crônicas e a presença de anticorpos anti-reticulina.

DESCRIPTORIOS: esquistossomose mansônica; anticorpos anti-reticulina na esquistossomose mansônica; camundongos albinos, anticorpos anti-reticulina no soro, freqüência.

INTRODUÇÃO

A presença, no soro de seres humanos, de anticorpos que reagem contra estruturas do tecido conjuntivo foi assinalada pela primeira vez por SEAH *et alii*⁹, em pacientes com doença celíaca e dermatite herpetiforme. Quase ao mesmo tempo, ALP & WRIGHT¹ descreveram este mesmo tipo de anticorpo, denominado "anti-reticulina", em soros de pacientes com doença de Crohn.

Em 1974, COSSIO *et alii*² descreveram, no soro de pacientes chagásicos, a existência de anticorpos que reagem contra estruturas vasculares, endoteliais e intersticiais de tecidos de camundongos, identificando-os pela sigla E.V.I. e, em publicações posteriores^{3, 6}, atribuíram importância diagnóstica a este achado.

Em nosso meio⁷, demonstrou-se que a existência deste tipo de anticorpos e de determinados padrões de fluorescência em tecidos não

* Realizado na Seção de Sorologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Instituto Adolfo Lutz, e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, SP.

**** Da Faculdade de Ciências Médicas da SCMSP.

são achados exclusivos da infecção chagásica, ocorrendo em mais de 70% dos soros de pacientes com esquistossomose crônica.

No presente trabalho estuda-se a frequência de anticorpos anti-reticulina em soros de camundongos experimentalmente infectados por *Schistosoma mansoni*, procurando determinar-se a duração do período de infecção tem influência em seu surgimento e grau de reatividade.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se 65 camundongos albinos, cepa A/SN, machos, com aproximadamente dois meses de idade, divididos em dois lotes. No primeiro lote, constituído por 55 animais, procedeu-se à infecção por *S. mansoni*, por via percutânea, empregando-se 50 cercárias por camundongo. O segundo lote, composto de 10 animais, constituiu o grupo controle, não infectado. No grupo infectado 5 camundongos morreram durante o experimento, sem poderem ser utilizados; no grupo controle não ocorreu óbito.

Em ocasiões diferentes, entre o 35.^o e o 280.^o dias após infecção, sangraram-se, por punção cardíaca, camundongos de ambos os lotes.

Os soros dos camundongos foram examinados, para pesquisa de anticorpos anti-reticulina, empregando-se técnica de imunofluorescência indireta em cortes de rim humano de 4 micrômetros de espessura, obtidos em criostato, conforme descrito por JOHNSON & HOLBOROW⁵. O fragmento de tecido renal humano

utilizado foi obtido por biópsia, para pesquisa de imunocomplexos em glomérulos, com resultado negativo e aspecto histológico normal.

Os soros foram testados com diluição a 1:10 e para a demonstração dos anticorpos anti-reticulina empregou-se soro de coelho antigamaglobulina total de camundongo, conjugado com isotiocianato de fluoresceína (Instituto Adolfo Lutz). A leitura da reação foi feita com microscópio Zeiss com epi-iluminação, munido de lâmpada de halogênio de 100 watts e 12 volts, com filtros excitador FITC e barreira BG 53.

As reações foram lidas, em experimento cego, por três examinadores diferentes e, quando positivas, o resultado era expresso em cruzes, procurando-se avaliar a intensidade de fluorescência. Considerou-se fraca a fluorescência quando a média das leituras dos três examinadores se manteve entre uma e duas cruzes; acima de duas cruzes a fluorescência foi considerada forte.

RESULTADOS

Entre os 50 soros de camundongos infectados por *S. mansoni* que chegaram a ser examinados, em apenas dois não se demonstrou a presença de anticorpos anti-reticulina. Nos 10 soros de camundongos não infectados, em nenhuma ocasião se detectaram anticorpos anti-reticulina.

A tabela abaixo mostra os resultados obtidos com os camundongos do grupo infectado, conforme o tempo de infecção.

TABELA

Anticorpos anti-reticulina em soros de camundongos experimentalmente infectados por Schistosoma mansoni, conforme tempo de infecção

Tempo de infecção (dias)	Camundongos infectados (n. ^o)	Soros positivos (n. ^o)	Soros negativos (n. ^o)
35 a 50	6	6	—
60 a 70	12	11	1
80 a 100	15	15	—
160	6	5	1
280	11	11	—
Total	50	48	2

Quando se considerou a intensidade de fluorescência verificou-se que, dos 48 soros positivos, 31 (64,5%) reagiram de forma fraca e 17 (35,5%) apresentaram reatividade forte. Ao distribuir os casos de reatividade fraca e forte conforme o tempo de infecção, notou-se que,

em sua maioria, os soros com reatividade forte pertenciam ao grupo de camundongos com 280 dias de infecção. A figura abaixo indica as variações na intensidade de fluorescência dos soros positivos para anticorpos anti-reticulina, conforme o tempo de infecção por *S. mansoni*.

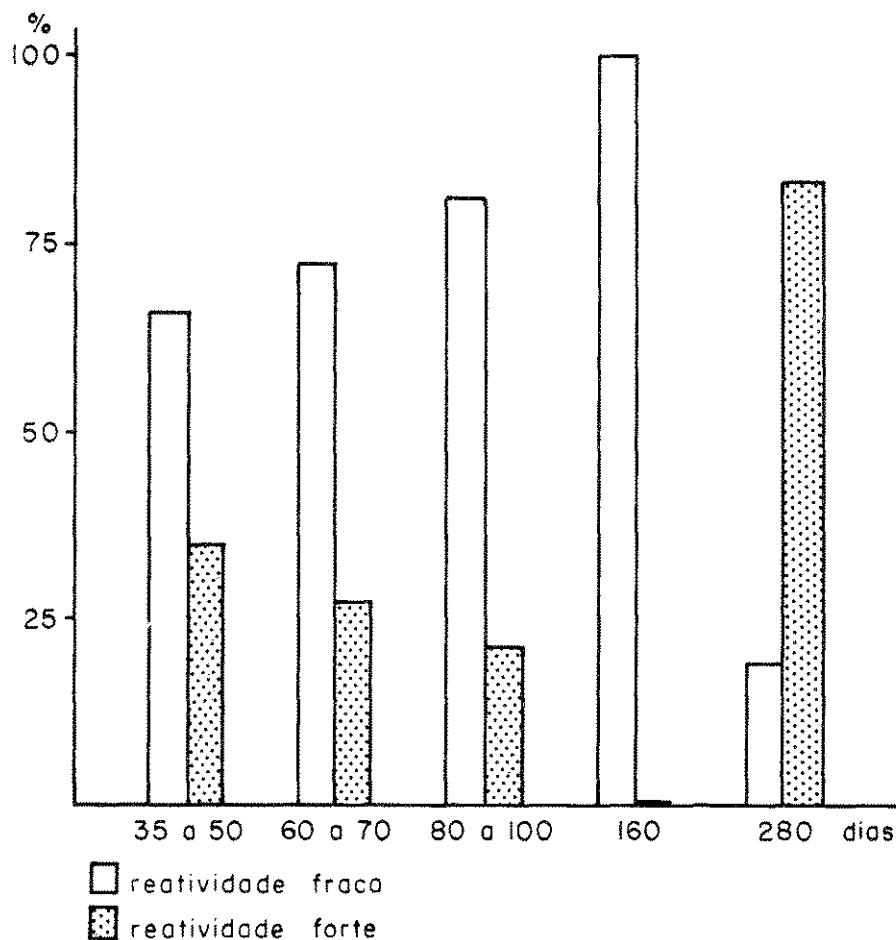


FIGURA — Grau de reatividade de soros positivos para anticorpos anti-reticulina, conforme tempo de infecção.

DISCUSSÃO

Em trabalho anterior⁷ já se demonstrara que soros de pacientes esquistossomóticos reagem freqüentemente com estruturas reticulínicas de diversos órgãos, apresentando um padrão de fluorescência semelhante aos tipos R₁, R₂ e R₃, descritos por RIZZETTO & DONIACH⁸. Em consequência, PAES *et alii*⁷ concluíram que a presença de anticorpos anti-reticulina pode resultar de alterações no mesênquima em casos de afecções crônicas, não devendo ser considerada patognomônica de qualquer entidade etiológica.

Procurando investigar melhor esta questão em casos de esquistossomose mansônica, obtivemos, no presente trabalho, resultados que corroboram a hipótese de que anticorpos anti-reticulina não representam achado específico ao qual se deva atribuir valor no diagnóstico etiológico, ao contrário do que pensam outros autores^{3, 4, 6}.

Nossos resultados mostram que 96% dos camundongos infectados por *S. mansoni* apresentam anticorpos anti-reticulina. Embora nas fases iniciais da infecção já se tenha percebido a existência de soros com grau mais

elevado de reatividade, esta torna-se mais forte nos camundongos submetidos a infecção crônica (ver figura), indicando relação entre o tempo de infecção, intensidade de lesão e o

grau de reatividade. Este achado reforça a hipótese de que a presença de anticorpos anti-reticulina pode-se associar a alterações mesenquimais em doenças crônicas.

RIALAG/548

UEDA, M.; CHIEFFI, P.P.; PAES, R.A.P.; NAKAMURA, P.M. & GORDINHO, R.S. — Anti-reticulin antibodies in sera from white mice experimentally infected with *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 42(1/2):63-66, 1982.

ABSTRACT: The rate of occurrence of anti-reticulin antibodies in sera from *S. mansoni*-experimentally infected albino mice was investigated, in order to evaluate its arising and reactivity intensity, according to the infection period of time. Indirect immunofluorescence technique on criostat sections of unfixed snap-frozen human kidney was employed. Forty-eight (96%) of 50 mice with *S. mansoni* infection exhibited positive reactions in variable intensity; 31 (64.5%) sera showed faint staining while brighter staining was shown by 17 (35.5%). Among 10 non-infected mice group, there was virtually no staining. Among the infected mice group, a greater reactivity was observed in chronically infected mice, supporting the hypothesis of a relationship between mesenchymal alterations and the presence of anti-reticulin antibodies.

DESCRIPTORS: Manson's schistosomiasis; antibodies, anti-reticulin antibodies in Manson's schistosomiasis; mice, white, anti-reticulin antibodies in sera, frequency.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALP, M.H. & WRIGHT, R. — Auto-antibodies to reticulin in patients with idiopathic steatorrhea, coeliac disease, and Crohn's disease, and their relation to immunoglobulins and dietary antibodies. *Lancet*, 2: 682-5, 1971.
2. COSSIO, P.M.; DIEZ, C.; SZARFMAN, A.; KREUTZER, E.; CANDIOLO, B. & ARANA, R.M. — Chagasic cardiopathy. Demonstration of a serum gammaglobulin factor which reacts with endocardium and vascular structures. *Circulation*, 49:13-21, 1974.
3. COSSIO, P.M.; LAGUENS, R.P.; DIEZ, C.; SZARFMAN, A.; SEGAL, A. & ARANA, R.M. — Chagasic cardiopathy. Antibodies reacting with plasma membrane of striated muscle and endothelial cells. *Circulation*, 50:1252-9, 1974.
4. HUBSCH, R.M.; SULZER, A.J. & KAGAN, I.G. — Evaluation of an autoimmune type antibody in the sera of patients with Chagas' disease. *J. Parasit.*, 62:523-7, 1976.
5. JOHNSON, G.D. & HOLBOROW, E.J. — Immunofluorescence. In: WEIR, D.M. (ed.) *Handbook of experimental immunology*. 2th ed. Oxford. Blackwell, 1973. p. 18.1-18.20.
6. KHOURY, E.L.; COSSIO, P.M.; SZARFMAN, A.; MARCOS, J.C.; MORTEO, O.G. & ARANA, R.M. — Immunofluorescent vascular pattern due to EVI antibody of Chagas' disease. *Am. J. clin. Path.*, 69: 62-5, 1978.
7. PAES, R.A.P.; UEDA, M. & GORDINHO, R.S. — Anticorpos anti-reticulina na esquistossomose crônica. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39:121-5, 1979.
8. RIZZETTO, G.D. & DONIACH, D. — Types of "reticulin" antibodies detected in human sera by immunofluorescence. *J. clin. Path.*, 26:841-51, 1973.
9. SEAH, P.P.; FRY, L. HOFFBRAND, A.V. & HOLBOROW, E.J. — Tissue antibodies in dermatitis herpetiformis and adult coeliac disease. *Lancet*, 1:834-6, 1971.

Recebido para publicação em 6 de abril de 1982.