

LINFÓCITOS T, B NO SANGUE PERIFÉRICO DE DOENTES COM HEPATITE AGUDA *

Adele Caterino de ARAÚJO **
Irene Walter de FREITAS **
Augusta Kiyomi TAKEDA **

RIALA6/569

ARAÚJO, A. C.; FREITAS, I. W. & TAKEDA, A. K. — Linfócitos T, B no sangue periférico de doentes com hepatite aguda. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44:29-33, 1984.

RESUMO: Foi determinado o número de linfócitos T, B e linfócitos T, formadores de roseta estável, a 37 °C, num grupo de 140 doentes com diagnóstico clínico e laboratorial de hepatite aguda, atendidos no ambulatório do Hospital Emílio Ribas, São Paulo-SP, Brasil, no período de outubro de 1981 a maio de 1982. As provas sorológicas para pesquisa de antígenos e/ou de anticorpos para os vírus da hepatite A e B revelaram que 37,8% dos doentes apresentavam hepatite A, 50,7% dos doentes, hepatite B, e 11,5%, sorologia negativa para os vírus da hepatite A e B, tendo sido classificados como portadores de hepatite de causa indeterminada. O número de linfócitos nesses doentes foi determinado no dia do diagnóstico clínico, após 60 e 360 dias. Quanto ao número de linfócitos T, estes se mostraram aumentados na maioria dos doentes, durante todo o estudo, retornando a valores normais após 60 e 360 dias apenas nos doentes com hepatite de causa indeterminada. Em relação aos linfócitos B, estes estavam normais na maioria dos doentes, independentemente da época e tipo de hepatite. Para os linfócitos T, formadores de roseta estável, a 37 °C, não ocorreram variações significativas na maioria dos doentes, durante todo o estudo. A tentativa de se correlacionarem níveis de linfócitos com tipo e forma de hepatite é discutida no trabalho.

DESCRITORES: hepatites; hepatites A, B; linfócitos B, T na hepatite, frequência.

INTRODUÇÃO

A hepatite, sendo uma doença infecciosa, tem merecido atenção especial das autoridades sanitárias do País. Vários surtos epidêmicos têm ocorrido em creches, escolas, quartéis e até mesmo em cidades. Outros setores que sofrem conseqüências dessa doença são as unidades de hemodiálise e os bancos de sangue. Dentre as vias de contaminação, sabemos que, além da transmissão fecal-oral e parenteral, ocorre também transmissão materno-fetal e sexual.

Dependendo do vírus que infecta o organismo hospedeiro, RNA ou DNA, teremos os

dois tipos mais comuns de hepatite, A ou B. Outro tipo de hepatite muito estudado tem sido o da hepatite não A, não B, onde não são encontrados marcadores sorológicos nem para o vírus da hepatite A nem para o vírus da hepatite B, e onde se descarta também a possibilidade de ser uma hepatite por citomegalovírus, Epstein-Barr vírus, ou mesmo por droga.

Os mecanismos envolvidos na imunopatogênese dos vários tipos de hepatite têm sido estudados, sendo que na hepatite A não se discutem muitos detalhes, por apresentar ela geralmente evolução rápida, com bom prognóstico, e desenvolver anticorpos protetores.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

Em 1972, DUDDLEY *et alii*⁸ conseguiram propor um modelo para explicar as várias formas da hepatite B: portadores assintomáticos, portadores de hepatite B aguda, portadores de hepatite B crônica, e hepatite B fulminante, correlacionando fatores de virulência do vírus da hepatite B e os mecanismos de defesa do hospedeiro, frente a tal invasão.

Segundo CHISARI *et alii*⁴, o vírus da hepatite B não é citopático para o hepatócito infectado. Os antígenos envolvidos na imunopatogênese desse tipo de hepatite seriam o antígeno HBs e o antígeno lipopolissacarídeo. Os mecanismos de imunidade celular e humoral seriam os responsáveis pelas lesões que ocorrem no fígado, sendo que o linfócito T ou a própria célula K desenvolveriam a função de célula destruidora, através da liberação de linfocinas ou por mecanismos de citotoxicidade (DUDDLEY *et alii*⁸).

GALILI *et alii*⁹ observaram que dentre as diferentes subpopulações de linfócitos T havia uma subpopulação capaz de formar rosetas E, estáveis a 37°C, e que desempenhava atividade supressora. Dessa forma, verificou-se que em doentes portadores de hepatite B essa subpopulação de linfócitos era importante na evolução para a cura ou cronicidade.

Baseados nessas informações, nesse trabalho foi feito um estudo seqüencial de 140 doentes com hepatite aguda, com a finalidade de se determinar o número de linfócitos imunologicamente competentes B, T, e T formadores de roseta E, estável a 37°C, nos vários tipos: hepatite A, hepatite B e hepatite de causa indeterminada, nas formas aguda e crônica.

MATERIAL E MÉTODOS

Dentre os doentes que procuraram o ambulatório do Hospital Emílio Ribas, São Paulo, SP, Brasil, no período de outubro de 1981 a maio de 1982, com suspeita de hepatite, 140 com diagnóstico clínico e laboratorial característico de hepatite aguda foram selecionados para o estudo.

O diagnóstico da hepatite B foi feito pela detecção do antígeno HBs no soro, através da técnica de radioimunoensaio em fase sólida e da reação de hemaglutinação passiva reversa, e pela detecção de anticorpos IgG anti-HBc, por radioimunoensaio*.

Para o diagnóstico da hepatite A foram pesquisados anticorpos IgM no soro, pela técnica de radioimunoensaio**.

Quando os marcadores sorológicos acima citados não foram encontrados nos doentes estudados, estes foram qualificados como portadores de hepatite de causa indeterminada. Para estes não foram pesquisados citomegalovírus e Epstein-Barr vírus.

Amostras heparinizadas de sangue foram colhidas no dia do diagnóstico clínico e após

60 e 360 dias, e usadas para a contagem de leucócitos totais, contagem específica de leucócitos, contagem de linfócitos T e B, e contagem de linfócitos T formadores de roseta E, estável a 37°C.

Para a determinação do número de linfócitos T e B foi usada a técnica da roseta conjunta E-Zymosan-Complemento, segundo KAJADACSY-BALLA & MENDES¹¹ & CAMPBELL *et alii*³, adaptada pelo Laboratório de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz.

Após a separação das células mononucleares em gradiente de densidade de Ficoll-Hypaque, densidade 1.076 segundo BOYUM² as células foram ajustadas à concentração de 3×10^6 cel./ml de solução salina tamponada de Hanks, e a elas adicionadas hemácias de carneiro e complexo ativado Zymosan-complemento. A leitura foi feita após incubação por 18 horas, a 4°C, pela contagem de 100 células, considerando-se linfócitos T aqueles que apresentaram três ou mais hemácias de carneiro aderidas a sua superfície, e linfócitos B, aqueles que apresentaram três ou mais partículas de Zymosan aderidas. Os valores finais resultaram da média de três contagens de cada preparação, e foram expressos em números absolutos calculados a partir dos resultados do leucograma.

Foram considerados valores normais para linfócitos T aqueles compreendidos entre 500 — 1.400 linfócitos/mm³ de sangue e, para linfócitos B, os compreendidos entre 85 — 346 linfócitos/mm³ de sangue.

A contagem de linfócitos T formadores de roseta E, estável a 37°C, por 30 minutos, feita segundo GALILI *et alii*¹⁰, foi expressa em porcentagem de linfócitos com três ou mais hemácias de carneiro, aderidas à sua superfície.

Foram considerados valores normais aqueles que não excederam 10%, segundo WANSBROUGH-JONES *et alii*¹³.

RESULTADOS

Nos 140 doentes estudados, em 53 (37,8%) deles foram encontrados os marcadores sorológicos para hepatite A, em 71 (50,7%) foram encontrados marcadores para hepatite B, e em 16 (11,5%) não foram encontrados marcadores sorológicos para hepatite A ou B.

A porcentagem de retorno dos doentes para repetição dos testes e acompanhamento clínico, feito após 60 e 360 dias do diagnóstico, foi de 72,85% e 37,85%, respectivamente.

A figura 1 mostra a distribuição das hepatite A (HAV), B (HBV), e indeterminada (HI), segundo a idade, onde 74,1% dos doentes com idade inferior a 15 anos apresentaram hepatite pelo vírus A. Para as hepa-

* Conjunto de reagentes CORAB, Abbott Lab., North Chicago, Ill., E.U.A.

** Conjunto de reagentes HAVAB — M, Abbott Lab., North Chicago, Ill., E.U.A.

tites B (HBV), e de causa indeterminada (HI), 97,2% e 93,7% dos doentes, respectivamente, tinham idade superior a 16 anos.

As variações no número de linfócitos T, B, e linfócitos T formadores de roseta E estável são apresentadas na figura 2.

Quanto ao número de linfócitos T, estes estavam aumentados na HAV, HBV e HI, em respectivamente 71,7%, 57,7% e 62,5% dos doentes no dia do diagnóstico. Após 60 dias, os linfócitos T permaneceram aumentados em 77,5%, 63,5% e 30,5% dos doentes e, aos 360 dias do diagnóstico, continuavam aumentados em 62,5% dos doentes com HAV, 57,1%

dos doentes com HBV e 33,3% dos doentes com HI.

Em apenas 4,3% dos doentes com HBV no dia do diagnóstico, e em 2,5% e 3,8% dos doentes com HAV e HBV após 60 dias do diagnóstico foram encontrados números de linfócitos T diminuídos.

Os linfócitos B estavam em número normal em 53,3% dos doentes com hepatite A, em 75,5% dos doentes com hepatite B, e em 83,3% dos doentes com hepatite de causa indeterminada. Estes linfócitos estavam em número diminuído em 8,9% na HAV e 9,8% na HBV, no dia do diagnóstico.

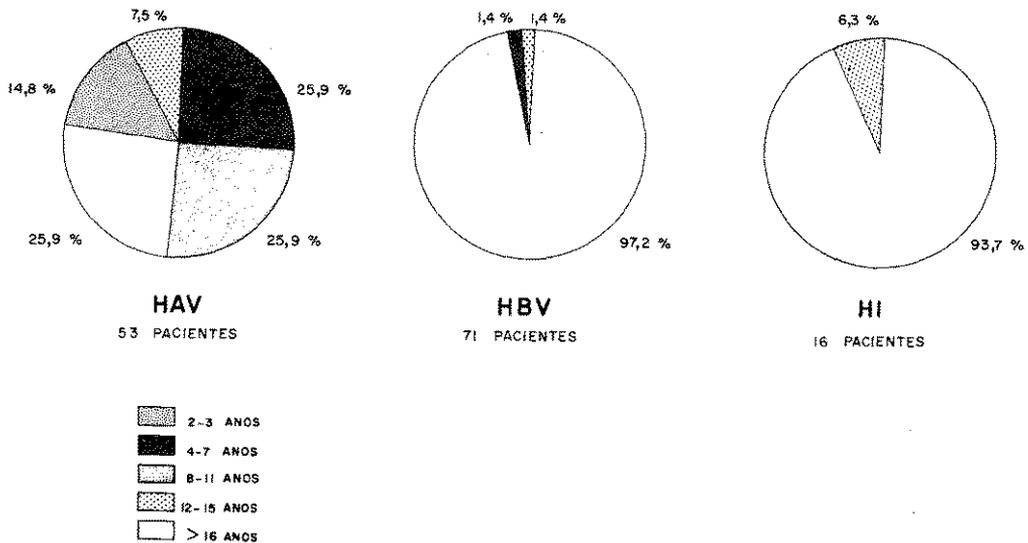


FIGURA 1 — Incidência de hepatite A (HAV), hepatite B (HBV) e hepatite de causa indeterminada (HI), de acordo com a faixa etária.

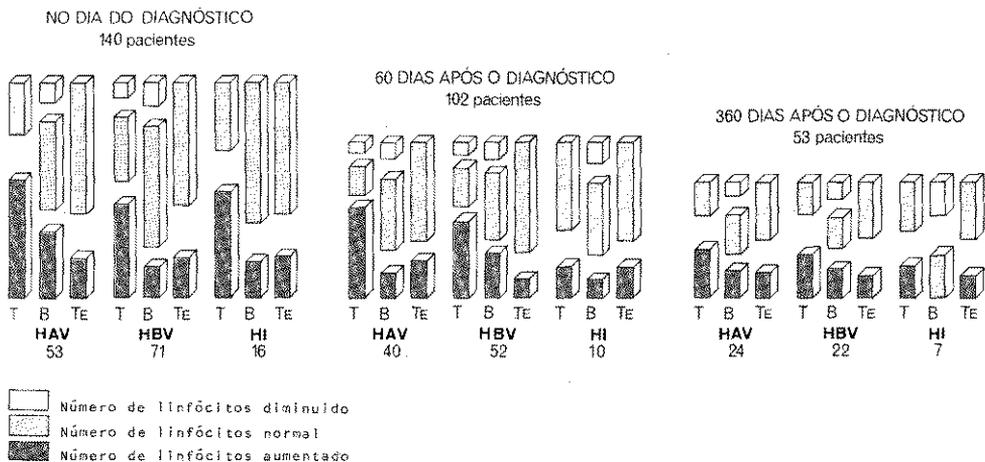


FIGURA 2 — Variação no número de linfócitos T, linfócitos B, e linfócitos T formadores de roseta estável, expressa em valores aumentados, normais e diminuídos, entre os doentes com HAV, HBV e HI.

Não houve alterações significativas deste quadro, com exceção dos doentes com hepatite de causa indeterminada que mostraram número de linfócitos B diminuído em 11,1% e 42,9% dos doentes, após 60 e 360 dias.

Quanto ao número de linfócitos T formadores de roseta E, estável a 37°C, não foram encontradas alterações significativas durante todo o estudo, sendo que a maioria dos doentes com HAV, HBV e HI tinham essas células em número inferior a 10%.

DISCUSSÃO

Por ser a hepatite A transmitida preferencialmente por via fecal-oral, o acometimento de crianças em idade escolar é mais freqüente. Nesse estudo foi verificado maior incidência de hepatite A em doentes com idade inferior a 15 anos, enquanto na hepatite B e na hepatite de causa indeterminada ocorreu o inverso.

Quanto à percentagem de retorno, acreditamos ter sido esta satisfatória, uma vez que todos os doentes estudados evoluíram para a cura e, naturalmente, após um ano da doença muitos não retornaram.

No presente trabalho, os resultados do número de linfócitos T discordam dos de De HORATIUS *et alii*⁷, COLOMBO *et alii*⁵ e THOMAS *et alii*¹² que encontraram número de linfócitos T reduzido na hepatite B aguda que voltou à normalidade com a cura, e número de linfócitos T reduzido na hepatite B crônica persistente. Por outro lado, D'AMELIO *et alii*⁸ encontraram número normal de linfócitos T e B na hepatite B aguda, crônica ativa e crônica persistente.

Estudos feitos por D'AMELIO *et alii*⁸ mostraram número de linfócitos B normal em doentes com hepatite B aguda ou crônica,

enquanto COLOMBO *et alii*⁵ encontraram número de linfócitos B aumentados em doentes com hepatite B crônica ativa. ALDERSHVILLE *et alii*¹ encontraram número de linfócitos B normais nos vários tipos de hepatite, concordando em parte com os resultados obtidos neste estudo.

Em 1976, GALILI *et alii*¹¹, estudando marcadores de membrana e cultura mista de linfócitos, verificaram que a subpopulação de linfócitos T capaz de formar roseta E, estável a 37°C, desempenhava função supressora. WANSBROUGH-JONES *et alii*³ encontraram essa subpopulação de linfócitos T em valores superiores a 10% dos linfócitos totais em doentes com hepatite B aguda e crônica, mas que não apresentavam o antígeno HBs no soro. Por outro lado, em pessoas normais e em doentes com hepatite crônica, porém com antígeno HBs no soro, esses linfócitos ocorreram em número inferior a 10% da população total de linfócitos.

GALILI *et alii*⁹ também encontraram maior número de linfócitos formadores de roseta E, estável a 37°C, em doentes com hepatite crônica ativa.

Neste trabalho não foi possível correlacionar o número de linfócitos formadores de roseta E, estável a 37°C, com o tipo ou forma de hepatite, uma vez que os resultados obtidos foram similares para hepatite A, hepatite B e hepatite de causa indeterminada, e nenhum doente evoluiu para cronicidade.

Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. Paulo Augusto Ayrosa Galvão, Diretor Técnico do Hospital Emílio Ribas, a autorização para a realização do presente trabalho, e aos médicos Dra. Tuba Milstein e Dr. Vasco Carvalho Pedroso de Lima, pela seleção dos doentes.

RIALA6/569

ARAÚJO, A. C.; FREITAS, I. W. & TAKEDA, A. K. — Levels of peripheral T and B lymphocytes in acute hepatitis. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44:29-33, 1984.

ABSTRACT: The number of T lymphocytes, B lymphocytes and T lymphocytes forming E rosette stable at 37°C was determined in a group of 140 patients with clinical and laboratory diagnosis of acute hepatitis attended in a hospital for infectious diseases of the City of São Paulo between October 1981 and May 1982. Serological tests for antigens and/or antibodies for hepatitis A and B viruses disclosed that 97.8% of the patients had A hepatitis and 50.7% had B hepatitis, while 11.5% were negative for hepatitis A or B and were thus considered as undetermined hepatitis. The number of lymphocytes was determined on the day of clinical diagnosis and later at 60 and 360 days. The number of T lymphocytes was increased in most patients with hepatitis A or B but returned to normal levels 60 or 360 days in the patients with undetermined hepatitis. B lymphocytes were normal in the majority of patients, irrespective of time or hepatitis type. No significant alteration of T lymphocytes forming E rosette stable at 37°C was observed in most patients during the whole period of study. Some interpretations are made of the relationships between lymphocyte levels and the type and form of acute hepatitis.

DESCRIPTORS: hepatitis; hepatitis, A, B; B lymphocytes in hepatitis, frequency; T lymphocytes in hepatitis, frequency.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALDERSHVILE, J.; DIETRICHSON, O.; HARDT, F. & NIELSEN, J. O. — Circulating T and B lymphocytes and immunoglobulin containing cells in the liver in chronic active liver disease. *Acta path. microbiol. Scand. (Sect. C)*, 85:26-32, 1977.
2. BÖYUM, A. — Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 21(suppl. 97):1-109, 1968.
3. CAMPBELL, A. R.; WALLER, C.; WOOD, J.; AYNLEY-GREEN, A. & YU, V. — Lymphocyte subpopulations in the blood of newborn infants. *Clin. exp. Immunol.*, 18:469-82, 1974.
4. CHISARI, F. V.; ROUTENBERG, J. A.; ANDERSON, D. S. & EDINGTON, T. S. — Cellular immune reactivity in HBV — induced liver disease. In: VYAS, G. N., COHEN, S. N. & SCHMIDT, R., ed. — *Viral hepatitis*. Philadelphia, Franklin Institut press, 1978. p. 245-57.
5. COLOMBO, M.; VERNACE, S. J. & PARONETTO, F. — T and B lymphocytes in patients with chronic active hepatitis (CAH). *Clin. exp. Immunol.*, 30:4-9, 1977.
6. D'AMELIO, R.; CIARLA, M. V.; PANDOLFI, F.; PANICHI, G.; SPOSITO, M. & AIUTI, F. — T and B lymphocytes in the liver and peripheral blood of subjects with acute and chronic hepatitis. *Z. Immunitätsforsch.*, 155:338-45, 1979.
7. DE HORATIUS, R. J.; STRICHLAND, R. G. & WILLIAMS, R. C., JR. — T and B lymphocytes in acute and chronic hepatitis. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 2:353-60, 1974.
8. DUDLEY, F. J.; GIUSTINO, V. & SHERLOCK, S. — Cell-mediated immunity in patients positive for hepatitis-associated antigen. *Br. med. J.*, 4:754-6, 1972.
9. GALILI, U.; ELIAKIM, M.; SLAVIN, S. & SCHLESINGER, M. — Lymphocyte subpopulations in chronic active hepatitis: Increase in lymphocytes forming stable E-rosettes. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 4:538-44, 1975.
10. GALILI, U. & SCHLESINGER, M. — Subpopulations of human thymus cells differing in their capacity to form stable E-rosettes and their immunologic reactivity. *J. Immunol.*, 115:827-33, 1975.
11. GALILI, U. & SCHLESINGER, M. — The formation of stable E-rosettes by human T lymphocytes activated in mixed lymphocyte reactions. *J. Immunol.*, 117:730-5, 1976.
12. THOMAS, H. C.; FRENI, M.; SANCHEZ-TAPIAS, J.; DE VILLIERS, D.; JAIN, S. & SHERLOCK, S. — Peripheral blood lymphocyte populations in chronic liver disease. *Clin. exp. Immunol.*, 26:222-27, 1976.
13. WANSBROUGH-JONES, M. H.; SCULLARD, G. H.; NICHOLSON, A.; EDDLESTON, A. L. W. F. & WILLIAMS, R. — Lymphocytes forming stable E-rosettes in acute and chronic hepatitis. *Clin. exp. Immunol.*, 35:390-6, 1979.

Recebido para publicação em 17 de dezembro de 1983.

