

## COMPLEMENTO HEMOLÍTICO TOTAL E OS COMPONENTES $C_3$ E $C_7$ EM PACIENTES DE PARACOCCIDIOIDOMICOSE (\*)

Maria Auxiliadora Guerra RIBEIRO (1) e Celeste FAVA NETTO (2)

### RESUMO

Foram titulados o complemento hemolítico total e o componente  $C_7$  e dosado o componente  $C_3$  em 22 soros de pacientes com paracoccidioidomicose, 20 do sexo masculino e 2 do feminino, com idades entre 8 e 68 anos. Todos apresentavam a forma disseminada da moléstia e tiveram a comprovação do diagnóstico clínico através de exames micológicos e imunológicos. O complemento hemolítico total variou entre 128 e 394 unidades (CH50) por ml de soro, com média ( $\bar{X}$ ) de 269,55 unidades/ml. O componente  $C_7$  variou entre 128 a 4096, em título expresso como a recíproca da diluição do soro. O componente  $C_3$  variou entre 74 e 183 mg/100 ml de soro, com média ( $\bar{X}$ ) de 118,14 mg/100 ml. Os resultados obtidos nos pacientes de paracoccidioidomicose foram analisados estatisticamente, através do test "t" de Student para o complemento hemolítico total e componente  $C_3$  e pelo método do Qui-quadrado (em correção de Yates) para o componente  $C_7$ , comparando-os com os resultados obtidos em 30 indivíduos normais adultos, examinados concomitantemente. Tal análise permitiu concluir que nos pacientes de forma disseminada da paracoccidioidomicose o complemento hemolítico total e o componente  $C_7$  se encontravam dentro dos limites normais e o componente  $C_3$  se apresentava aumentado.

### INTRODUÇÃO

Considerando-se a frequência de trabalhos científicos que cuidam da titulação do complemento hemolítico total e/ou de seus componentes nas moléstias infecciosas agudas<sup>7,9,18,16</sup> é de se admirar que atenção idêntica não tenha sido dispensada às moléstias infecciosas crônicas. Dentre estas a Hanseníase tem merecido algum destaque<sup>8,14</sup>.

No referente às micoses profundas o sistema complemento tem merecido pouca atenção. Em particular, no que se refere à paracoccidioidomicose, não encontramos, na literatura que consultamos, qualquer pesquisa sobre o complemento hemolítico total e/ou seus componentes. Existem pesquisas que tratam da ativação do

sistema complementar através da via alternativa<sup>2</sup>.

Tomando-se em consideração o que foi referido acima, julgamos interessante publicar nossos resultados, sobre as titulações do complemento hemolítico total e do componente  $C_7$  e da dosagem do componente  $C_3$  realizadas no soro de pacientes com paracoccidioidomicose disseminada.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Soros

Foram estudados 22 casos de pacientes de paracoccidioidomicose, 20 do sexo masculino e

(\*) O presente trabalho constitui parte da Tese de Doutorado da Profa. Maria Auxiliadora Guerra Ribeiro, apresentada ao Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 1977

(1) Professor Adjunto de Microbiologia e Imunologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

(2) Professor Titular de Microbiologia e Imunologia da Universidade de São Paulo

2 do feminino, com idades situadas entre 8 e 68 anos. Dezesesseis pacientes eram procedentes do Hospital das Clínicas e 6 eram pacientes de ambulatório que se encontravam sob os cuidados de vários médicos. Todos os pacientes apresentavam a forma disseminada da moléstia, segundo os critérios de avaliação clínico-imunológica e tiveram a comprovação do diagnóstico clínico através de exames micológicos e imunológicos.

### Complemento hemolítico total

Foi titulado em unidades 50% de hemólise, segundo a técnica de Wadsworth, Maltaner & Maltaner, conforme padronizada por FAVA NETTO & col.<sup>4</sup>.

### Componente $C_7$

Foi titulado pela técnica de lise reativa como descrita inicialmente por THOMPSON & LACHMANN<sup>17</sup> com pequenas modificações. Em resumo, o método consiste em: a) pesquisa de soros "reatores", o que foi realizado entre pacientes portadores de paracoccidiodomicose; b) ativação dos soros reatores com zymosan; c) preparo da fração euglobulina, contendo  $C_{56}^-$ , a partir dos soros "reatores"; d) determinação da diluição ótima do "reator"  $C_{56}^-$  a ser utilizado na titulação de  $C_7$ , e) titulação de  $C_7$  pelo método de lise reativa.

### Componente $C_3$

Sua dosagem foi realizada pela técnica de imunodifusão radial de MANCINI & col.<sup>12</sup> com utilização de soro anti- $C_3$ , preparado e titulado no Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

### Análise estatística

Empregou-se o teste "t" de Student para o complemento total e componente  $C_3$  e o método do Qui-quadrado para o componente  $C_7$ .

## RESULTADOS

A Tabela I apresenta os resultados obtidos nas titulações do complemento hemolítico total e do componente  $C_7$ , na dosagem de  $C_3$  e da pesquisa da atividade "reatora" no soro de 30 indivíduos normais.

Verifica-se pela Tabela I que o complemento hemolítico total em 30 indivíduos adultos normais, 17 do sexo feminino e 13 do masculino, variou entre 169 e 334 unidades (H50) por ml de soro, média ( $\bar{X}$ ) de 250,10 U/ml, desvio padrão da média (d) igual a 8,28 e desvio padrão (s) igual a 45,37.

O componente  $C_3$  variou entre 70 e 163 mg/100 ml de soro, média ( $\bar{X}$ ) igual a 103,73 mg/100 ml, desvio padrão da média (d) igual a 3,52 e desvio padrão (s) igual a 19,29.

Os títulos para o componente  $C_7$  variaram entre 512 e 2.048, sendo que dos 30 casos 27 demonstraram títulos de 1:1024 e 1:2048 podendo ser considerados como os valores normais de  $C_7$ . Somente um soro, dos 30 indivíduos normais, demonstrou atividade reatora.

Na Tabela II estão os resultados das titulações do complemento hemolítico total e de  $C_7$ , das dosagens de  $C_3$  e da pesquisa da atividade reatora no soro de 22 pacientes de paracoccidiodomicose. O complemento hemolítico total variou entre 128 e 394 unidades (H50) por ml de soro, média ( $\bar{X}$ ) de 269,55 unidades/ml, desvio padrão da média (d) igual a 18,06 e desvio padrão (s) igual a 84,73. O componente  $C_3$  variou entre 74 e 183 mg/100 ml de soro, média ( $\bar{X}$ ) igual a 118,14, desvio padrão da média (d) igual a 6,01 e desvio padrão (s) igual a 28,20. O componente  $C_7$  apresentou títulos que variaram entre 128 e 4.096, sendo que, os títulos, na sua maioria, apresentaram valores considerados normais: 7 com títulos de 1.024 e 7 com títulos de 2.048. Três apresentaram títulos considerados elevados e 5 títulos considerados diminuídos. A atividade reatora foi demonstrada em 4 casos.

A análise estatística, pela comparação dos resultados obtidos no grupo de pacientes de paracoccidiodomicose com os do grupo normal demonstrou: a) para o complemento hemolítico total, valores situados dentro da normalidade; b) para o componente  $C_7$ , valores situados dentro da normalidade e c) para  $C_3$ , valores significativamente elevados na probabilidade de 0,05 (5%).

## DISCUSSÃO

O aparecimento da atividade "reatora" no soro foi atribuída por THOMPSON & LACHMANN<sup>17</sup> e LACHMANN & THOMPSON<sup>10</sup> a uma

T A B E L A I

Resultados da titulação do complemento total (C total), dos componentes  $C_3$  e  $C_7$  e pesquisa da atividade reatora ("R"), em soros de INDIVÍDUOS NORMAIS

Identificação	Idade	Sexo	C total unidades CH50/ml	$C_3$ mg/100 ml	$C_7$ unidades *	"R"
1. I.M.S.	48	F	334	163	1024	—
2. A.M.	35	M	332	121	2048	—
3. M.J.S.M.	26	F	323	112	512	--
4. L.C.V.	24	M	313	129	2048	—
5. V.S.V.	44	M	297	97	2048	—
6. D.B.G.	47	M	294	113	2048	+
7. S.M.S.	21	F	287	104	2048	—
8. W.G.	29	M	278	112	512	—
9. C.R.P.	25	F	276	113	1024	—
10. J.A.G.	30	M	276	102	1024	—
11. H.S.V.	58	F	267	125	1024	—
12. M.S.F.M.	30	F	259	91	2048	--
13. E.M.H.	21	F	258	102	1024	--
14. S.R.S.	26	M	255	91	1024	—
15. V.L.G.C.	26	F	253	82	1024	—
16. C.F.N.	55	M	252	90	2048	--
17. A.K.G.	25	F	249	116	1024	—
18. S.R.L.	24	F	246	87	2048	--
19. L.F.A.	17	F	240	70	2048	—
20. M.A.S.	25	F	228	97	1024	—
21. J.R.S.	24	M	217	96	1024	—
22. M.A.G.G.	31	F	206	94	2048	—
23. F.M.C.	40	F	206	83	2048	—
24. R.M.Y.	36	M	206	102	1024	—
25. P.H.Y.	31	M	203	129	2048	—
26. I.M.R.	22	F	201	104	2048	—
27. J.L.C.	31	M	193	129	512	—
28. E.A.	30	M	193	95	2048	—
29. N.M.R.	28	F	193	83	1024	—
30. M.L.S.	24	F	169	80	1024	—

\* Recíproca da diluição.

concentração relativamente aumentada de  $C_{56}$  sobre  $C_7$ , BOYER & col.<sup>1</sup> demonstraram atividade reatora no soro de um paciente com deficiência genética de  $C_7$ . No entanto, SCHUTTE & col.<sup>13</sup> encontraram níveis elevados de  $C_7$  em 4 pacientes que desenvolveram atividade "reatora" em seus soros após se submeterem à anestesia e cirurgia. Nossos dados demonstraram que a atividade reatora apareceu com maior frequência nos portadores de paracoccidiodomicose (18%) que nos indivíduos normais (3,3%). Por outro lado, em 50% destes casos o componente  $C_7$  poderia ser considerado diminuído enquanto que nos outros 50% os valores de  $C_7$  se encontravam dentro da normalidade. Assim, parece que o aparecimento da atividade reatora nem sempre está vinculado à diminuição de  $C_7$ .

No referente ao complemento hemolítico total, nossos resultados, obtidos em indivíduos normais, não reproduziram, exatamente, aque-

les verificados por FAVA NETTO & col.<sup>4</sup> e reproduzidos por LLACH<sup>11</sup>. Assim, conforme as determinações da média ( $\bar{X}$ ) feita por SINGER & col.<sup>15</sup> a partir dos dados de FAVA NETTO & col.<sup>4</sup>, para homens e mulheres em conjunto, a média ( $\bar{X}$ ) foi de 264,65 unidades (H50)/ml de soro com desvio padrão da média (d) igual a 9,39. Ora, os dados, que obtivemos para o grupo de normais na presente pesquisa, demonstraram média ( $\bar{X}$ ) de 250,10U/ml o que a situa um pouco abaixo do valor esperado. Tal achado poderá ser atribuído à predominância de mulheres sobre os homens no grupo ora experimentado.

No referente aos valores de  $C_3$ , os nossos resultados reproduziram os encontrados por LLACH<sup>11</sup> devendo-se assinalar que eles são menores que os encontrados por FOX & col.<sup>6</sup>, KOSMIDIS & LEADER-WILLIAMS<sup>9</sup>, SOERENSEN & col.<sup>16</sup> e SHWE<sup>14</sup>.

T A B E L A II

Resultados da titulação do complemento hemolítico total (C total), dos componentes  $C_3$  e  $C_7$  e da atividade reatora ("R"), em soros de pacientes com PARACOCIDIODOMICOSE

Identificação	Idade	Sexo	C total unidades CH50/ml	$C_3$ mg/100 ml	$C_7$ unidades *	"R"
1. A.R.	41	M	394	183	1024	—
2. R.R.	68	M	381	140	128	+
3. L.B.S.V.	34	M	381	113	4096	—
4. S.C.	45	M	372	183	1024	—
5. S.L.	40	M	366	136	512	—
6. S.S.	66	M	353	136	4096	—
7. A.D.A.	49	M	344	104	4096	—
8. M.J.P.	50	M	304	130	512	—
9. A.G.L.	48	M	296	129	2048	—
10. P.G.S.	48	M	289	117	2048	—
11. I.C.V.	46	M	286	138	128	+
12. D.P.O.	46	M	265	113	1024	+
13. M.C.T.	43	F	249	90	2048	—
14. J.R.L.	38	M	243	130	1024	—
15. J.F.O.	35	M	208	104	1024	—
16. O.O.	8	F	199	110	2048	—
17. A.P.P.	24	M	186	95	512	—
18. B.D.S.	39	M	180	90	2048	—
19. M.F.S.	39	M	177	74	2048	—
20. P.L.V.	44	M	167	104	2048	+
21. J.S.R.	47	M	162	90	1024	—
22. V.F.O.	23	M	128	90	1024	—

\* Recíproca da diluição.

Quanto ao componente  $C_7$  do complemento os resultados que obtivemos em indivíduos normais nos impressionaram pela sua homogeneidade.

Verificamos durante a execução das pesquisas, que a titulação de  $C_7$  pela técnica empregada, oferecia dificuldades. Assim, foi necessária a inclusão de soro padrão, cujo valor em  $C_7$  já era conhecido em cada experiência.

Só foram aceitos os resultados das experiências em que havia a reprodução do título do soro padrão. Em várias ocasiões as titulações foram rejeitadas por não haver reprodutibilidade do título do soro padrão. Numerosas experiências foram por nós realizadas com a finalidade de esclarecer o fator ou fatores que causavam tais dificuldades sem que tivéssemos conseguido nosso objetivo.

### SUMMARY

#### Paracoccidiodomycosis: total complement, $C_3$ and $C_7$ determinations

The total hemolytic complement,  $C_3$  and  $C_7$  components were determined in the sera of 22

paracoccidiodomycotic patients, 20 males and 2 females, with ages between 8 and 68 years. All of them presented the disseminated form of the disease and had the clinical diagnosis confirmed by mycologic and immunologic examinations.

The total hemolytic complement range was of 128 to 394 units (CH50) per ml, mean ( $\bar{X}$ ) of 269,55 units per ml of serum. The  $C_7$  titer was between 128 to 4096, when expressed by the reciprocal of the serum dilution. Component  $C_3$  was between 74 and 183 mg/100 ml, mean ( $\bar{X}$ ) of 118,14 mg/100 ml of serum.

Statistical analysis using the Student "t" test for total hemolytic complement and the  $C_3$  component and the Qui-square (with Yates correction) for the  $C_7$  component, was performed by comparing these results with those concomitantly obtained in a group of 30 normal individuals. The conclusion was that, in paracoccidiodomycotic patients, total hemolytic complement and the  $C_7$  component were normal while the  $C_3$  component was elevated ( $p = 0.05$ ).

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BOYER, Y. T.; GALL, E. P.; NORMAN, M. E.; NILSSON, U. R. & ZIMMERMAN, T. S. — Hereditary de-

- iciency of the seventh component of complement. *J. Clin. Invest.* 56: 905-913, 1975.
2. CALICH, V. L. G.; KIPNIS, T. L.; MARIANO, M.; FAVA NETTO, C. & SILVA, W. D. — The activation of the complement System by *Paracoccidiodis brasiliensis* in vitro: its opsonic effect and possible significance for an in vitro model of infection. *Clin. Immunol. Immunopath.* 12: 20-30, 1979.
  3. DIAMOND, R. D.; MAY, J. E.; KANE, M.; FRANK, M. M. & BENNETT, J. E. — The role of late complement components and the alternate complement pathway in experimental cryptococcosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)* 144: 312-315, 1973.
  4. FAVA NETTO, C.; MANISSADJIAN, A.; PENNA, H. A. O.; CORRADINI, H. B. & RUIZ JUNIOR, G. — O complemento do soro humano em indivíduos normais. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 8: 37-40, 1966.
  5. FILLIPPI, J. — Contribuição ao estudo do complemento total e da fração  $C_3$  na doença meningocócica. [Tese de Livre-Docência]. Curitiba, Universidade Federal do Paraná, 1977.
  6. FOX, R. A.; DUDLEY, F. Y. & SHERLOCK, S. — The serum concentration of the third component of complement  $\beta_2C/\beta_2A$  in liver disease. *Gut* 12: 574-578, 1971.
  7. GUNN, W. C. — The variation in the amount of complement in the blood in some acute infectious diseases and its relation to the clinical features. *J. Path. Bact.* 19: 155-181, 1914-15.
  8. KLIEMANN, T. A. E. — Estudo do complemento sérico e da IgA salivar em hansenianos. [Tese de Doutorado]. São Paulo, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 1975.
  9. KOSMIDIS, J. C. & LEADER-WILLIAMS, L. K. — Complement levels in acute infectious hepatitis and serum hepatitis. *Clin. Exp. Immunol.* 11: 35-45, 1972.
  10. LACHMANN, P. J. & THOMPSON, R. A. — Reactive lysis: the complement mediated lysis of unsensitized cells. II. The characterization of activated reactor as  $C_{50}$  and the participation of  $C_8$  and  $C_9$ . *J. Exp. Med.* 131: 643-657, 1970.
  11. LLACH, H. F. — Quantificação do fator  $C_3$  do complemento humano por técnica de "imunoplate" em soros normais e patológicos, 1970. Relatório apresentado ao Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
  12. MANCINI, C.; CARBONARA, A. V. & HEREMANS, J. F. — Immunochemical quantification of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry* 2: 235-254, 1965.
  13. SCHUTTE, M.; DICAMELLI, R.; MURPHY, P.; SADOVE, M. & GEWURZ, H. — Effects of anesthesia, surgery and inflammation upon host defense mechanisms. I. Effects upon complement system. *Int. Arch. Allergy* 48: 706-720, 1975.
  14. SHWE, T. — Serum complement ( $C_3$ ) in leprosy. *Leprosy Rev.* 42: 268-272, 1972.
  15. SINGER, L. M.; YOSHINARI, N. H.; GUERRA, M. A. T. & FAVA NETTO, C. — Estudo paralelo do complemento e da imunoconglutina do soro humano em indivíduos normais. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 15: 14-19, 1973.
  16. SOERENSEN, R.; CARMONA, A.; MELENDEZ, M. & VELASCO, M. — Determination de niveles de complemento ( $C_3$ ) en hepatitis aguda y hepatopatias cronicas. *Rev. Med. Chile* 99: 638-640, 1971.
  17. THOMPSON, R. A. & LACHMANN, P. J. — Reactive lysis: the complement mediated lysis of unsensitized cells. I. The characterization of the indicator factor and its identification as  $C_7$ . *J. Exp. Med.* 131: 629-641, 1970.
  18. TOWNES, A. S. — Topics in clinical medicine complement levels in disease. *Johns Hopkins Med. J.* 120: 338-343, 1966.

Recebido para publicação em 26/1/1981.