

## IMUNO-COMPLEXOS NA ESQUISTOSSOMOSE

### II — Dosagem radio-imunológica da ligação do Clq-I<sup>125</sup> ao IC

Ferrucio SANTORO, Daniel BOUT e André CAPRON

#### RESUMO

Imuno-complexos (IC) circulantes foram dosados nos soros de 56 pacientes infectados por *S. mansoni*. A quantidade de IC foi significativamente superior nas formas sub-clínicas e hepatintestinais do que nas formas hepatoesplênicas. Correlação satisfatória foi observada entre as técnicas utilizadas (dosagem radio-imunológica da ligação do Clq-I<sup>125</sup> ao IC, precipitação ao P.E.G. e Fixação do C').

#### INTRODUÇÃO

O aparecimento de complexos Ag-Ac nos pacientes portadores de doenças infecciosas ou desordens imunopatológicas, corresponde geralmente a uma agravação do quadro clínico.

Na esquistossomose mansônica e em particular nos doentes portadores de forma hepatoesplênica, a presença de IC foi evocada por numerosos Autores, após a evidenciação de depósitos granuloses ao nível renal<sup>1, 2, 5, 6, 19, 21</sup> contendo IgG, IgM e a fração C<sub>3</sub> do C'<sup>21</sup>.

Estas observações foram confirmadas graças aos trabalhos experimentais realizados essencialmente no camundongo e no hamster infectado por *S. mansoni*<sup>13, 16</sup>.

Por outro lado, a detecção de antígenos circulantes, cuja especificidade parasitária foi demonstrada na esquistossomose humana<sup>10</sup> e experimental<sup>3, 12, 15</sup>, constitui mais um elemento a favor da existência de IC Circulante.

A evidenciação e dosagem desses IC por método sensível de rotina, deverão constituir-

se em progresso na vigilância da evolução clínica da esquistossomose.

Recentemente, em trabalho realizado pelos Autores, foi possível relacionar o poder anti-complementar dos soros com a fixação do C' dos IC precipitados em polietileno-glicol (P.E.G.) dos mesmos soros<sup>20</sup>. A caracterização de alguns dos constituintes dos IC circulantes em doentes infectados por *S. mansoni*, foi também realizada<sup>4</sup>.

No presente trabalho, propomo-nos a dosar os IC circulantes na esquistossomose mansônica humana, utilizando por um lado o teste radio-imunológico da ligação ao Clq-I<sup>125</sup><sup>17</sup>, por outro, a precipitação ao P.E.G.<sup>11</sup> e a fixação do C' sobre os IC Precipitados em P.E.G.<sup>20</sup>.

#### MATERIAL E MÉTODOS

##### Soros

Utilizaram-se soros de 56 doentes portadores de esquistossomose por *S. mansoni*, parasitológica e imunologicamente confirmados

Service d'Immunologie et de Biologie Parasitaire de la Faculté de Médecine — 59000 LILLE (France) e Laboratório Central Gonçalo Moniz — 40000 Salvador — Bahia

Endereço: Ferrucio SANTORO: Service d'Immunologie et de Biologie Parasitaire — Faculté de Médecine — Place de Verdun — 59000 LILLE (France)

pela presença de ovos nas fezes e pelas técnicas de imunoeletroforese e hemaglutinação passiva. Os doentes eram todos originários do Estado da Bahia, Brasil, e as formas clínicas foram classificadas segundo os critérios descritos por PRATA & col.<sup>18</sup>. Para simplificar o estudo, os 40 doentes portadores de forma benigna (sub-clínica e hepatintestinal) foram agrupados e separados das 16 formas graves hepatoesplênicas.

Utilizaram-se como controles, soros humanos normais (SHN) de 14 indivíduos indenes, sem qualquer infecção parasitária.

#### Antígenos

Extratos antigênicos de *S. mansoni*, foram preparados segundo os métodos anteriormente descritos<sup>8</sup> e empregados na dosagem dos anticorpos.

#### Métodos

O método de precipitação em P.E.G.<sup>11</sup>, foi utilizado após algumas modificações efetuadas essencialmente na concentração do P.E.G. (3%), no tempo de precipitação (2 horas) e na velocidade de centrifugação (2.500 g). O precipitado obtido foi tratado segundo os Autores<sup>20</sup> e medido pela densidade ótica (D.O.) a 280 nm e pela reação de fixação do C' sobre placas descritas por WASSERMAN & col.<sup>23</sup> e utilizada no estudo do poder anti-complementar na hepatite viral<sup>22</sup> e na esquistossomose mansônica<sup>20</sup>.

A dosagem radio-imunológica que utiliza o Clq marcado por I<sup>125</sup>, fez-se segundo NYDEGGER & col.<sup>17</sup> e LAMBERT & HOUBA<sup>14</sup>.

Os métodos de imunoeletroforese<sup>8</sup> e hemaglutinação<sup>9</sup> foram utilizados para a dosagem dos anticorpos nos pacientes.

## RESULTADOS

Realizou-se a dosagem dos IC circulantes em 56 esquistossomóticos e 14 controles. Foi utilizado de maneira comparativa, o método radio-imunológico da ligação ao Clq-I<sup>125</sup>, a leitura da densidade ótica (D.O.) e a fixação do C' sobre os precipitados em P.E.G. a 3%. Estes resultados estão resumidos na Tabela I. Podemos notar: 1.º a correlação satisfatória existente entre os três métodos empregados; 2.º a elevada frequência dos IC circulantes na esquistossomose. Com efeito, em todas as técnicas empregadas, mais de 60% dos doentes apresentaram taxas significativamente superiores àquelas observadas nos controles ( $P < 0,001$ ); 3.º a correlação existente entre a taxa dos IC estimada pelos três métodos, e a forma clínica da doença. É interessante constatar e confirmar o observado anteriormente<sup>20</sup>, isto é, que a média dos valores obtidos nos doentes portadores de forma hepatoesplênica (HE) foi significativamente inferior à observada nas formas benígnas (SC + HI) ( $p < 0,01$ ) (Diagrama A).

## DISCUSSÃO

Os resultados que acabamos de relatar, merecem alguns comentários.

TABELA I

Dosagem dos I.C.

Pacientes	Número de casos	Teste Clq-I <sup>125</sup>	D.O.	Fixação do C'
SHN	14	8,3 ± 2,3	0,13 ± 0,04	1,5 (0,7)
SC + HI	40	15 ± 6,1	0,45 ± 0,19	24 (5,8)
HE	16	11,6 ± 3,3	0,32 ± 0,09	4 (2,9)

( ) desvio-padrão

Será interessante assinalar em primeiro plano, a ótima correlação aparente dos resultados fornecidos pelos três métodos utilizados. O interesse da utilização de uma ou outra destas técnicas, deve ser considerado de diversas maneiras.

É incontestável que o método baseado na fixação do Clq ao IC, possui a vantagem da especificidade da ligação do primeiro constituinte do C' ao fragmento Fc de um anticorpo ligado a complexo. Entretanto, é interessante notar que as técnicas de precipitação em P.E.G. e a fixação do C', fornecem informações concordantes sobre a presença ou ausência de IC circulante na esquistossomose. Por isso mesmo, a utilização destes métodos merece ser encarada para fins de triagem em clínica humana devido a grande simplicidade que apresentam, quando comparados à técnica descrita por NYDEGGER<sup>17</sup>.

A fixação do C', em particular, é de realização simples, é uma técnica de rotina, e sobretudo pouco onerosa.

Os resultados obtidos revelaram, por outro lado, uma correlação interessante entre a presença dos IC circulantes e a forma clínica da infecção. Convém assinalar que esta mesma observação foi encontrada em nosso

trabalho inicial<sup>20</sup>. Desta feita, em um maior número de casos e com técnicas mais específicas, foi-nos possível constatar que efetivamente, os esquistossomóticos portadores de formas hepatesplênicas apresentam um teor médio de IC circulante inferior àquele observado nas sub-clínicas e hepatintestinais.

Se nos referimos à evolução da esquistossomose mansônica, podemos constatar que a presença abundante de IC circulante precede a instalação da forma hepatesplênica, ao curso da qual observam-se exclusivamente os depósitos glomerulares.

Várias hipóteses podem ser consideradas para se interpretar estas observações e suas possíveis conseqüências na patogenia das manifestações observadas na fase hepatesplênica da parasitose.

Anteriormente CAPRON & col.<sup>7</sup> demonstraram que a taxa de anticorpos presentes nos esquistossomóticos hepatesplênicos era em média superior aos das formas sub-clínicas ou hepatintestinais.

A taxa de anticorpos dosada pelas técnicas de hemaglutinação passiva (HMG) e imunoeleforese (IEF) dos doentes estu-

DIAGRAMA A: TAXA DOS IC. NOS INDIVÍDUOS SADIOS E NOS GRUPOS DOS DOENTES

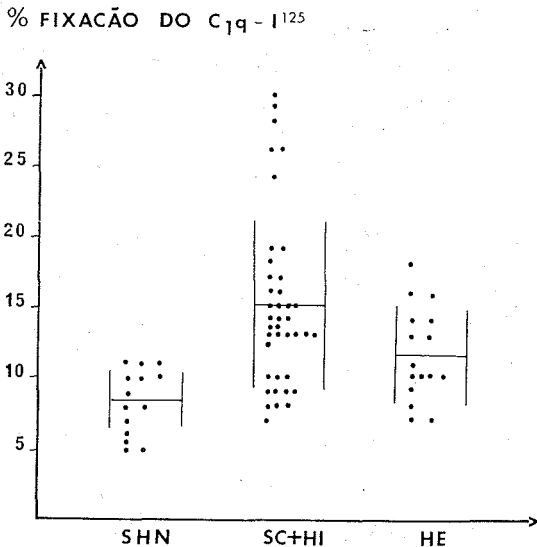


TABELA II

Estudo comparativo das taxas de anticorpos e I.C.

Pacientes	Número de casos	Anticorpos		Imuno-complexos		
		I.E.F. n.º de arcos	H.M.G. titulos	Teste Clq-I <sup>125</sup>	D.O.	Fixação do C' titulos
SC + HI	40	3,4 ± 2	93 (2,3)	15 ± 6,1	0,45 ± 0,19	24 (5,8)
HE	16	6 ± 2,4	723 (3)	11,6 ± 3,3	0,32 ± 0,09	4 (2,9)

( ) desvio-padrão

dados neste trabalho comparada aos dados fornecidos pelas diferentes dosagens dos IC circulantes (Tabela II) mostra que efetivamente, existe uma relação inversamente proporcional entre a presença de anticorpos e IC circulantes.

A partir destes dados, foi então possível supor que a importante produção de anticorpos precipitantes na fase hepatoesplênica da doença, favorece o depósito dos IC circulantes em diversos órgãos, e em particular ao nível renal. Esta hipótese merece ser verificada em um maior número de doentes.

Parece-nos, em conclusão, que a esquistossomose humana constitui certamente um modelo de escolha para o estudo dos IC circulantes e seu papel na imunopatologia da infecção. Vários métodos permitem, atualmente, não somente evidenciá-los, mas ainda caracterizar seus componentes imunoglobulínicos e antigênicos<sup>4</sup>.

Se por um lado a especificidade do método que utiliza o Clq marcado nos parece evidente, de outro, a simplicidade das técnicas de precipitação em P.E.G. e sobretudo a fixação do C' permite sua recomendação para fins de vigilância clínica e triagem.

Convém encarar para o futuro a confirmação dos dados que mostramos neste trabalho em relação aos IC e às formas clínicas da doença. Se estas observações forem confirmadas, um grande passo terá sido no

estudo dos IC na esquistossomose e principalmente na compreensão da patogenia visceral dessa parasitose.

#### SUMMARY

#### *Immune complexes in schistosomiasis. II — Radioimmunological quantitation by binding to radiolabelled Clq-I<sup>125</sup>*

Circulating immune complexes were demonstrated in the sera of 56 patients infected with *Schistosoma mansoni*. The mean level of immune complexes was significantly higher in sub-clinic or hepato-intestinal forms than in hepatosplenic forms of the disease.

A satisfactory correlation was observed between the three techniques used for the detection of the immune complexes (P.E.G. precipitation, labelled Clq and complement fixation).

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos Fabienne Derbaudrenghien e Jean-Paul Lejeune pela ajuda preciosa na realização deste trabalho.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, Z.A. & QUEIROZ, A. C. de — Lesões renais na esquistossomose hepatoesplênica. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 10:36-40, 1968.

SANTORO, F.; BOUT, D. & CAPRON, A. — Imuno-complexos na esquistossomose. II — Dosagem radio-imunológica da ligação do Clq-I<sub>125</sub> ao IC. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 18: 293-297, 1976.

2. ANDRADE, Z.A.; ANDRADE, S.G. & SADI-GURSKY, M. — Renal changes in patients with hepatosplenic schistosomiasis. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 20:77-79, 1971.
3. BERGGREN, W.L. & WELLER, T.H. — Immuno-electrophoretic demonstration of specific circulating antigen in animals infected with *Schistosoma mansoni*. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 16:606, 1967.
4. BOUT, D.; SANTORO, F. & CAPRON, A. — Imuno-complexos na esquistossomose. III — Caracterização das imunoglobulinas e dos antígenos implicados no I.C. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* (Em publicação).
5. BRITO, T. de; GUNJI, J.; CAMARGO, M. E.; PENNA, D.O. & SILVA, L.C. da — Advanced kidney disease in patients with hepatosplenic manson's schistosomiasis. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12:225-235, 1970.
6. BRITO, T. de; BONI, D. de; LOPES, J.D. & SILVA, L.C. da — Kidney biopsy in human schistosomiasis: an ultrastructural study. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 11: 62-64, 1969.
7. CAPRON, A.; VERNES, A.; BIGUET, J.; ROSE, F.; CLAY, A. & ADENIS, L. — Les précipitines sériques dans les bilharzioses humaines et expérimentales à *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium* et *S. japonicum*. *Ann. Parasit. Hum. Comp.* 41:123-126, 1966.
8. CAPRON, A.; BIGUET, J.; VERNES, A. & AFCHAIN, D. — Structure antigénique des helminthes. Aspects immunologiques des relations hôte-parasite. *Path. Biol.* 16:121, 1968.
9. CAPRON, A.; WATTRE, P.; CAPRON, M. & LEFEBVRE, M.N. — Le diagnostic biologique moderne des parasitoses humaines. *Rev. Prat.* 22:27, 1972.
10. CARLIER, Y.; BOUT, D.; BINA, J.C.; CAMUS, D.; FIGUEIREDO, J.F.M. & CAPRON, A. — Immunological studies in human schistosomiasis. I — Parasitic antigen in urine. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 24:949-954, 1975.
11. CREIGHTON, W.D.; LAMBERT, P.H. & MIESCHER, P.A. — Detection of antibodies and soluble antigen — antibody complexes by precipitation with polyethylene glycol. *J. Immunol.* 111:1219-1223, 1973.
12. GOLD, R.; ROSEN, F.S. & WELLER, T.H. — A specific circulating antigen in hamsters infected with *Schistosoma mansoni*. Detection of antigen in serum and urine, and correlation between antigenic concentration and worm burden. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 18:545, 1969.
13. HILLYER, G.V. & LEWERT, R.M. — Studies on renal pathology in hamsters infected with *Schistosoma mansoni* and *S. japonicum*. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 23:404-406, 1974.
14. LAMBERT, P.H. & HOUBA, V. — Immune complexes in schistosomiasis. Meeting of investigators on the immunology of schistosomiasis (WHO). Nairobi (Kenya), 11-17 December, 1974.
15. NASH, T.E.; PRESCOTT, B. & NEVA, F. A. — The characteristics of a circulating antigen in schistosomiasis. *J. Immunol.* 112:1500, 1974.
16. NATALI, P.G. & CIOLI, D. — Immune complexes nephritis in mice infected with *Schistosoma mansoni*. *Fed. Proc.* 33:757-759, 1974.
17. NYDEGGER, U. E.; LAMBERT, P.H.; GERBER, H. & MIESCHER, P.A. — Circulating immune complexes in the serum in systemic lupus erythematosus and in carriers of hepatitis B antigen. Quantitation by binding to radiolabelled Clq. *J. Clin. Inv.* 54:297, 1974.
18. PRATA, A. & BIAN, J.C. — Development of the hepatosplenic form of schistosomiasis. *Gaz. Med. Bahia* 68:49-51, 1968.
19. QUEIROZ, F.P.; BRITO, E.; MARTINELLI, R. & ROCHA, H. — Nephrotic syndrome in patients with *Schistosoma mansoni* infections. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 22:622, 1973.
20. SANTORO, F.; BOUT, D.; WATTRE, P. & CAPRON, A. — Imuno-complexos na esquistossomose. I — Utilização da fixação do complemento para sua detecção. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 18:152-156, 1976.
21. SILVA, L.C. da; BRITO, T. de; CAMARGO, M.E.; BONI, D. de; LOPES, J.D. & GUNJI, J. — Kidney biopsy in the hepatosplenic form of infection with *S. mansoni* in man. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 42:907, 1970.
22. THIRY, L.; CLINET, G.; TOUSSAINT, C. & VEREERSTRAETEN, P. — The use of complement fixation tests to detect Australia antigen-antibody complexes and antibodies to a tween antigen. *Vox. Sang.* 24: 36, 1973.
23. WASSERMAN, E. & LEVINE, L. — Quantitative micro-complement fixation and its use in the study of antigenic structure by specific antigen-antibody inhibition. *J. Immunol.* 87:290, 1961.

Recebido para publicação em 14/7/1975.