



ALGUNS DADOS RELATIVOS À CITO-QUÍMICA
LEUCOCITÁRIA NA ANCILOSTOMÍASE

CARLOS TRINCÃO, FRANCISCO PARREIRA, EGÍDIO GOUVEIA
e ALMEIDA FRANCO



Separata dos ANAIS DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL, Volume X, N.º 2

Junho de 1953

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL
CADEIRA DE HEMATOLOGIA E PROTOZOOLOGIA
PROF. CARLOS TRINCÃO

ALGUNS DADOS RELATIVOS À CITO-QUÍMICA LEUCOCITÁRIA NA ANCILOSTOMÍASE

CARLOS TRINCÃO, FRANCISCO PARREIRA, EGÍDIO GOUVEIA
e ALMEIDA FRANCO

Exceptuando o estudo que LARIZZA e VENTURA fizeram das variações das peroxidases leucocitárias na ancilostomíase, nenhum outro trabalho conhecemos relativo a variações quantitativas dos componentes leucocitários numa doença que, além de reproduzir o quadro da anemia hipocrômica essencial, se acompanha duma eosinofilia acentuada que fornece abundante material para o estudo das várias reacções cito-químicas nestes granulocitos.

Julgamos por isso que poderia ter interesse estudar nesta doença as variações quantitativas dos polissacáridos dos lípidos, das peroxidases e da fosfatase alcalina, repetindo quanto às terceiras, o trabalho dos AA. italianos citados.

Polissacáridos — Os recentes progressos no estudo da cito-química vieram confirmar a presença de polissacáridos nos leucocitos, já averiguada desde 1909 por EHRLICH e LAZAMS, servindo-se de processos mais grosseiros. Das modernas técnicas para a caracterização intra-celular dos polissacáridos, merece ser destacado, pelos resultados que tem dado nas mãos de já numerosos investigadores, o de HOTCHKISS, em que aqueles hidrocarbonados são oxidados em polialdeídos pelo ácido periódico, depois do que os grupos aldeídicos se combinam com o reagente de SCHIFF.

Não são apenas os polissacáridos que dão a reacção de HOTCHKISS, mas das várias substâncias coráveis por este método, só aqueles são dissolvidos pela saliva, o que permite facilmente caracterizá-los.

Trabalho da Missão de Estudo à Guiné (1951-52). Agradecem-se à Missão de Estudo e Combate à Doença do Sono da Guiné, as facilidades concedidas para a sua realização.

Os trabalhos de WACHSTEIN, de WISLOCKI, RHEINGOLD e DEMPSEY, de GIBB e STOWELL, de STORTI e de FERRARA e CONSOLI, provam a existência de polissacáridos nos granuloblastos e granulocitos neutrófilos, desde o promielocito, ao granulocito adulto, aumentando de concentração à medida que estas células amadurecem.

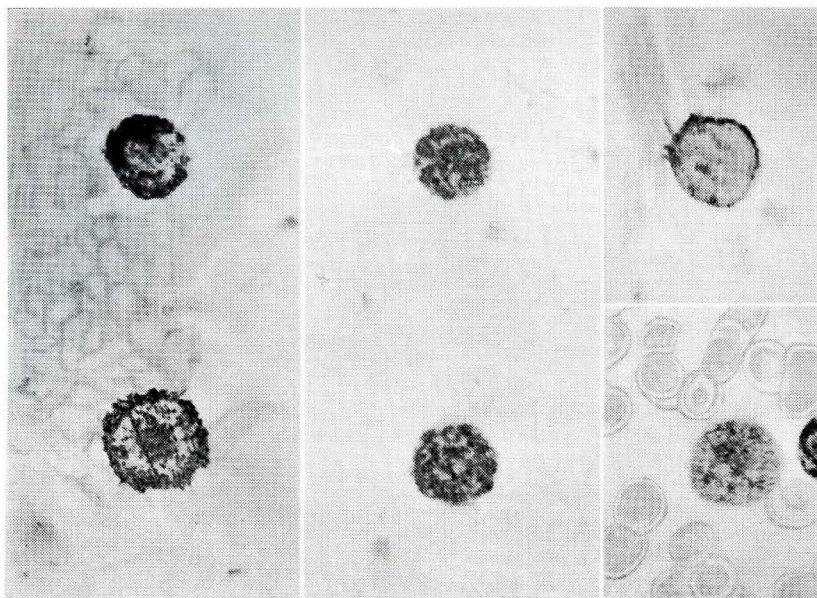
Segundo WACHSTEIN, 90% dos polinucleares neutrófilos adultos dão a reacção, parecendo ao A. que, nas leucocitoses, a quantidade de glicogénio leucocitária é maior. ROBINEAUX, BAZIN e DELAUNAY, associando os doseamentos microquímicos às técnicas histo-químicas, demonstraram que, enquanto os leucocitos normais contêm 5,7 γ de glicogénio em cada 10^6 , os leucocitos nos exsudados inflamatórios contêm 1,5 a 2,5 vezes aquela quantidade.

Quanto aos eosinófilos, nem dão reacção tão intensa como os neutrófilos, nem toda a ela é atribuível à presença de polissacáridos, como o demonstra a digestão pela saliva (WISLOCKI, RHEINGOLD e DEMPSEY e STORTI) e pela hialuronidase (STORTI).

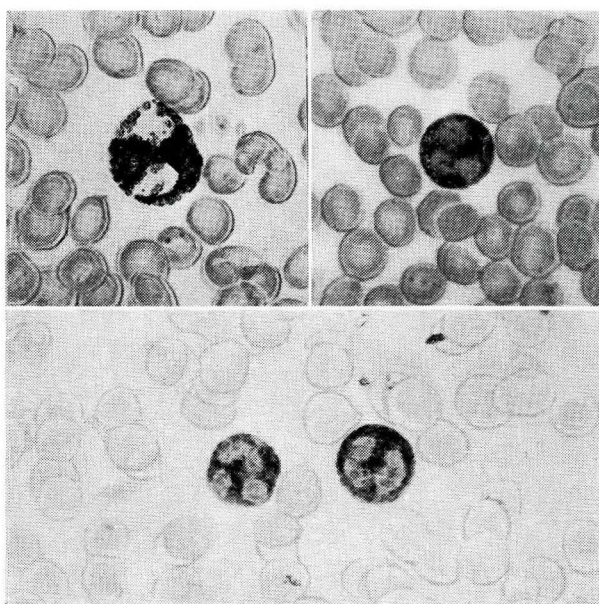
Observando os granulocitos neutrófilos de 6 doentes de ancilostomíase, verificámos que, em todos os casos, sempre davam a reacção de HOTCHKISS. Procurámos classificar quantitativamente os resultados em ++ e +, conforme a cor das massas de glicogénio era carmim vivo, ou apenas rosada, encontrando as seguintes percentagens dos dois tipos de reacção:

	+	++
Caso 20	43	57
» 21	32	68
» 22	29	71
» 23	35	65
» 24	19	81
» 25	30	70
Média	31,3	68,7

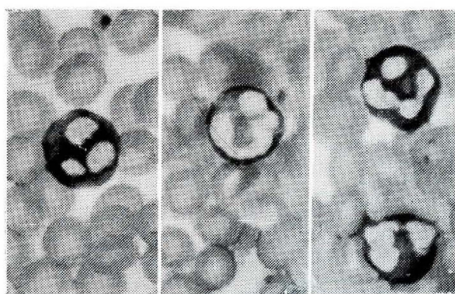
Parece deduzir-se daqui que, na ancilostomíase, a sobrecarga de glicogénio dos granulocitos neutrófilos não está diminuída, antes, pelo contrário, parecendo aumentada em relação aos dados de WACHSTEIN para casos normais.



1. Col. das peroxidases



2. Col. pelo Sudan Negro B



Col. de Hotshkiss



1



2



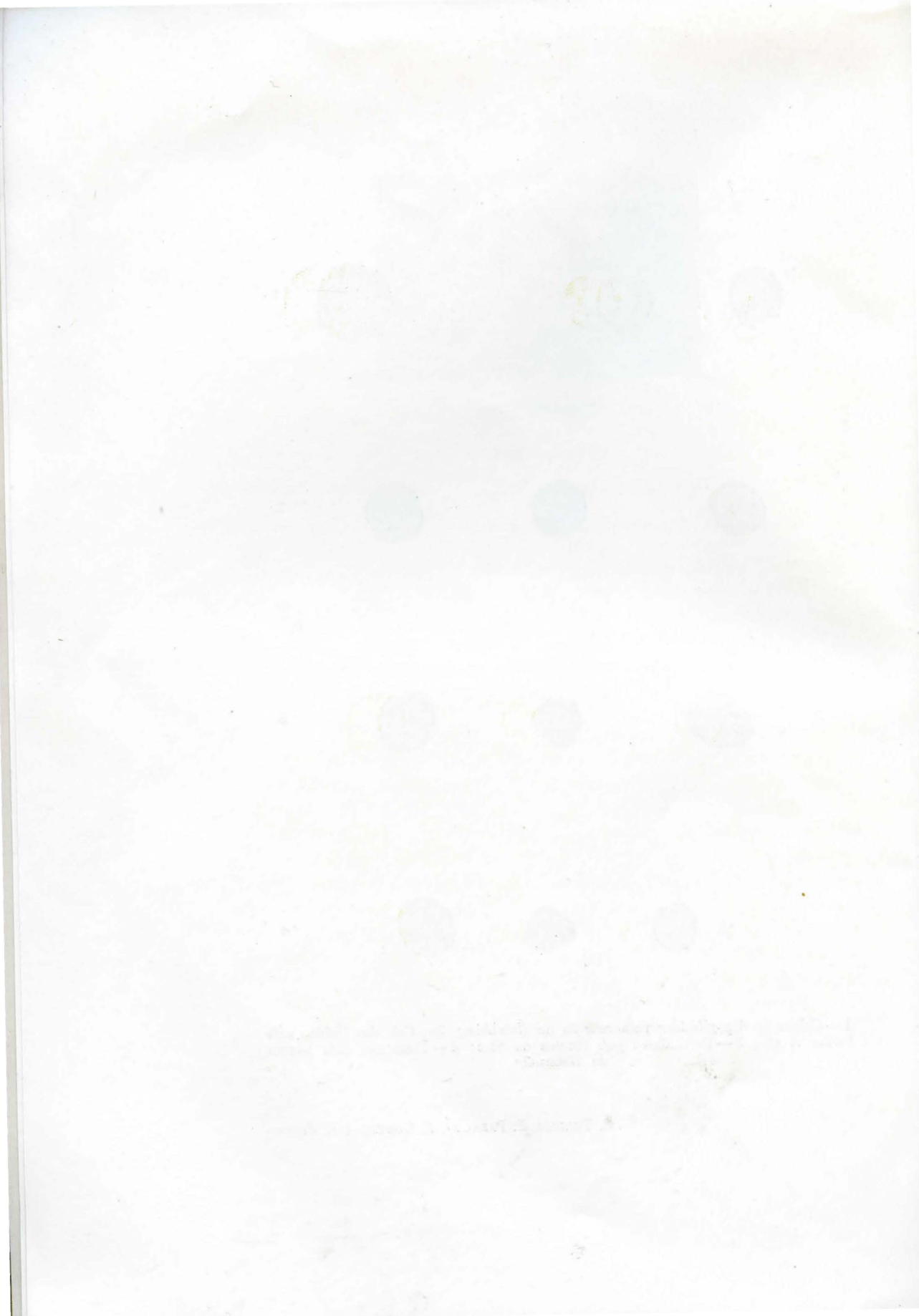
3



4

1—Coloração dos glícidos pela reacção de Hotchkiss; 2—Col. dos lípidos pelo Sudan Negro; 3—Peroxidases pela técnica de Sato; 4—Fosfatases pela técnica de Wachstein

C. TRINCÃO, F. PARREIRA, E. GOUVEIA e A. FRANCO



Quanto aos granulocitos eosinófilos, relativamente numerosos no sangue destes doentes, nunca deram reacção tão intensa, todos se apresentando com grânulos menos nítidos e corados de rosa pálido.

Lípidos — Depois que LISON descobriu a possibilidade de corar os grânulos lipídicos das células pelo sudan negro B, a técnica foi aperfeiçoada de modo a poder aplicar-se aos leucocitos. Destes, tanto os granulocitos, como os monocitos têm granulações lipídicas no citoplasma que são distintas das que se coram pelos métodos de MAY-GRÜNWARD GIEMSA e derivados. O aspecto das granulações é diferente nos neutrófilos e nos eosinófilos, pois nestes últimos os grânulos apresentam-se com um centro descorado e um aro fortemente corado de negro.

No estudo dos lípidos leucocitários dos doentes de ancilostomíase, fizemos a coloração dos esfregaços pela técnica descrita por BAILLIF e KIMBROUGH e a classificação quantitativa pelo critério proposto por STORTI e PERUGINI:

Tipo 0: Células totalmente desprovidas de grânulos.

Tipo +: Células com pouquíssimas granulações (10-15).

Tipo ++: Células com grupos isolados de granulações.

Tipo +++: Células muito ricas de granulações.

Tipo ++++: Células completamente crivadas de granulações.

Os quadros seguintes dão os resultados das nossas observações quanto aos granulocitos neutrófilos e eosinófilos:

POLINUCLEARES NEUTRÓFILOS

	0	+	++	+++	++++
Caso 5	0	0	2	8	90
» 6	0	0	0	10	90
» 20	0	0	0	2	98
» 21	0	0	1	5	94
» 22	0	0	1	7	92
» 23	0	0	0	5	95
» 24	0	0	0	2	98
» 25	0	0	1	7	92
Média	0	0	0,6	5,7	93,7
Normal	0	0	0	1 a 19	81 a 99

POLINUCLEARES EOSINÓFILOS

	0	+	++	+++	++++
Caso 5	0	0	0	20	80
» 6	0	0	0	16	84
» 20	0	0	0	18	82
» 21	0	0	0	15	85
» 22	0	0	0	17	83
» 23	0	0	0	19	81
» 24	0	0	0	16	84
» 25	0	0	0	17	83
Média	0	0	0	17,2	82,8
Normal	0	0	0	18	82

Em relação aos granulocitos neutrófilos verificámos o aparecimento relativamente frequente de células do tipo ++, embora em pequena percentagem. STORTI e PERUGINI não encontraram tais células nos indivíduos normais.

As granulações lipídicas dos granulocitos eosinófilos comportam-se normalmente, de acordo com os dados de STORTI e PERUGINI.

Peroxidasas — As peroxidases são fermentos de natureza ferro-proteica que poderiam estar diminuídos numa situação de carência marcial tão intensa como a determinada pela ancilostomíase.

COMI e SPIGLIATI, em 5 casos de anemia hipocrômica, encontraram 1 com peroxidases leucocitárias normais, 3 com peroxidases diminuídas e 1 com reacção totalmente negativa.

LARIZZA e VENTURA apenas encontraram diminuição das peroxidases leucocitárias em 1 único de 10 casos de ancilostomíase. Os AA. estudaram o efeito das provas de carga intravenosa com ferro, sobre as granulações peroxidásicas dos leucocitos, verificando que esta prova determina um aumento notável de tais granulações, evidente já na primeira hora e que atinge o seu máximo na segunda, ou na terceira, para voltar ao nível inicial cerca da oitava hora. No acme da prova, 90% dos polinucleares neutrófilos dão reacção máxima, apresentando-se recheados de granulações muito grossas que tapam por completo o citoplasma. Nos indivíduos nor-

mais, a administração de preparados de ferro por via intra-venosa não provoca esta reacção.

Os resultados que obtivemos, em 8 doentes de ancilostomíase, fazendo a reacção das peroxidases com a técnica de SATO e classificando a reacção em máxima, média e mínima, conforme LARIZZA e VENTURA, consoante os grânulos ocupam todo o citoplasma do leucocito, são menos numerosos e evidentes, ou são poucos, foram os seguintes:

	Reacção máxima Porcentagem	Reacção média Porcentagem	Reacção fraca Porcentagem
Caso 5	54	36	10
» 6	56	40	4
» 20	49	46	5
» 21	68	26	6
» 22	43	42	15
» 23	74	22	4
» 24	33	52	15
» 25	25	18	7
Média	56,5	35,3	8,2

Tal como LARIZZA e VENTURA, não encontramos assim, variações apreciáveis das peroxidases leucocitárias na ancilostomíase.

Fosfatase alcalina — Começaremos por notar que, segundo os dados de WACHSTEIN, os granulocitos eosinófilos não revelam actividade fosfatásica, de modo que, em deontes com eosinofilia, como é o caso das vítimas da ancilostomíase, a elevada percentagem dos polinucleares eosinófilos, na fórmula leucocitária, só pode influir baixando o número dos granulocitos fosfatase positivos. Esta afirmação de WACHSTEIN, porém, está em desacordo com a de TAKAMATSU, MINAMI e NANJO que, na leucémia eosinófila, viram estes granulocitos ricos de fosfatase alcalina.

Por sua vez, BECK e VALENTINE, que dosearam a fosfatase alcalina dos leucocitos por processo micro-químico, viram, em 2 casos de eosinofilia, actividades fosfatásicas dos leucocitos correspondentes respectivamente a 44,4 e 18,2 mgr. de fósforo, por hora e por 10^{10} glóbulos brancos. A actividade fosfatásica normal dos leucocitos, consoante os mesmos AA., é de 13,4 a 58 mgr. de fósforo, por hora e por cada 10^{10} leucocitos, como uma média de 25,8 mgr. Parece assim não se confirmar a asserção de WACHSTEIN.

Em 6 doentes de ancilostomíase, verificámos, pela técnica de WACHSTEIN, as seguintes percentagens de leucocitos fosfatase positivos:

	Percentagem
Caso 20	92
» 21	81
» 22	89
» 23	88
» 24	90
» 25	87
Média	87,5

Visto que, segundo os dados de WACHSTEIN, a percentagem de leucocitos fosfatase positivos em indivíduos normais, oscila entre 7 e 91%, com uma média de 41% e que, de harmonia com PLUM, as percentagens da actividade fosfatásica dos leucocitos, também nos indivíduos normais, variam entre 18 e 50%, com uma média de 30%, podemos afirmar que, na ancilostomíase, se verifica um aumento nítido da percentagem de leucocitos com fosfatase alcalina, comparável ao que outros AA. têm observado nos estados infecciosos, e que os granulocitos eosinófilos são certamente dotados de actividade fosfatásica, aliás as percentagens de polinucleares fosfatase positivos seriam muito mais baixas.

RESUMO

Os AA. estudaram as variações qualitativas de polissacáridos, lípidos, peroxidases e fosfatase alcalina nos leucocitos de doentes de ancilostomíase.

A carga de polissacáridos e lípidos é aparentemente normal, assim como as peroxidases, parecendo nítido o aumento da fosfatase alcalina.

RÉSUMÉ

Les auteurs ont étudié les variations qualitatives des contenus de polysaccharides, lipides, peroxydases et phosphatase alcaline des leucocytes des malades d'ankylostomíase.

La charge des polyssaccharides et de lipides est apparemment normale ainsi que les peroxydases; seules les phosphatases alcalines nous paraissant augmentées.

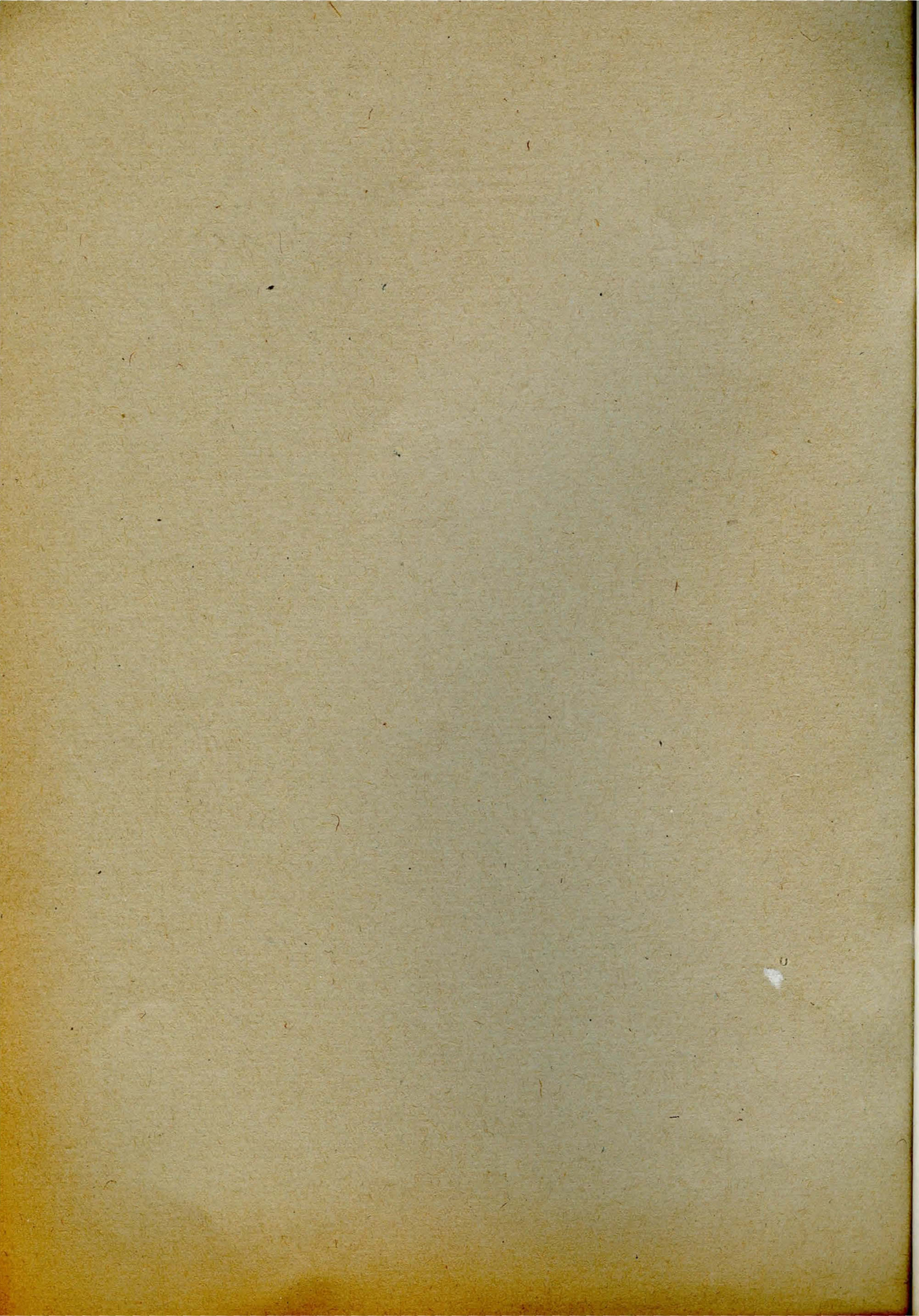
SUMMARY

The writers investigated qualitatively the variations in the polyssacharide, lipid, peroxydase and alkaline phosphatase content of leukocytes in hookworm anemia.

No gross variations from the normal have been detected regarding polyssacharides, lipids and peroxydases, but the alkaline phosphatase seems to be increased.

BIBLIOGRAFIA

- BAILLIF, R. N. e KIMBROUGH, C.—J. Lab. & Clin. Med., 32: 155, 1947.
BECK, W. S. e VALENTINE, W. N.—Ibid., 38: 245, 1951.
COMI, G. e SPIGLIATI, P.—Riv. Clin. Med., 47: 226, 1947.
EHRlich e LAZAMS — Cit. por Gibb. e Stowell.
FERRARA, A. e CONSOLI, G.—Progr. Med., 8: 204, 1952.
GIBB, R. P. e STOWELL, R. C.—Blood, 4: 569, 1949.
HOTCHKISS, R. D.—Arch. Biochem., 31: 131, 1948.
LARIZZA, P. e VENTURA, S.—«L'Anemia da Anchilostoma», ed. Tipografia del Libro, Pavia, 1950.
LISON, L.—C. R. Soc. Biol., 115: 202, 1934.
PLUM, C. M.—Acta Haematol., 4: 73, 1950.
ROBINEAUX, R., BAZIN, S. e DELAUNAY, A.—Comptes Rendus du Troisième Congrès de la Société Européenne de Hématologie, ed. E. M. E. S., Roma, 1952.
STORTI, E.—Ibid.
STORTI, E. e PERUGINI, S.—Studia Ghisleriana, St. Med. Biol., S. III, 1: 313, 1949.
TAKAMATSU, H., MINAMI Y. e NANJO, K.—Biochem. Ztschr., 301: 23, 1939.
VALENTINE, W. N. e BECK, W. S.—J. Lab. & Clin. Med., 8: 39, 1951.
WACHSTEIN, M.—Ibid., 31: 1, 1946.
WACHSTEIN, M.—Blood, 3: 54, 1949.
WISLOCKI, G. B., RHEINGOLD, J. J. e DEMPSEY, E. W.—Ibid., 4: 562, 1949.



OFICINAS GRÁFICAS
CASA PORTUGUESA
RUA DAS GÁVEAS, 103
L I S B O A