

Estudo sôbre a célula leprosa do rato

por

Hermínio Linhares

Foi VIRCHOW (17) quem primeiro fez um estudo minucioso sôbre as células leprosas. A origem dêstes elementos foi por muito tempo discutida, mas atualmente parece fora de dúvida que êles pertencem ao sistema retículo endotelial.

GUJO (4) inoculou carmim e azul Tripan na pele atingida pela lepra e viu que as células leprosas tomavam o corante. Juntamente com CHUMA (2,5) injetou, em nodulos leprosos cutâneos, carmim e tinta da China e a maioria das células componentes do leproma tomou os corantes, vendo-se nelas grânulos de corante e bacilos. HERXHEIMER (7), em seu clássico trabalho sôbre a célula leprosa, diz que elas provêm de elementos do sistema retículo endotelial; RIECKE (13) concorda com aquele autor, mas acrescenta que células endoteliais também podem conter bacilos, sem contudo se transformarem em células leprosas. TIMOFEJEWSKY (15) demonstrou que, em cultura de tecido leproso, apenas os macrófagos continham microorganismos, enquanto os fibrocitos se mantinha livres; êle teve a impressão de que os bacilos não exerciam ação tóxica sôbre as células.

Na lepra murina, STEFANSKY (14) descreveu as células como elementos de aspecto endotelial e MARCHOUX e SOREL (10) dizem que o bacilo é um parasito das células mesodérmicas nas quais se multiplica com extraordinária abundância. OLIVER (11) inoculou azul Tripan por via subcutânea em ratos prèviamente infetados e verificou que a célula leprosa era derivada de histiocitos. Nos cortes corados pela fucsina, os bacilos eram encontrados nos histiocitos, os quais tomavam coloração vital. HENDERSON (6) também observou, na pele e gânglios de ratos infetados e inoculados com azul Tripan, que as células que recebem o corante são as mesmas que fagocitam os bacilos. As únicas áreas nas quais os corantes e os bacilos não estavam associados, eram nos nodulos lepromatosos densos em que o corante foi aparentemente incapaz de penetrar. LOWE (9) chegou aos mesmos resultados. PINKERTON e SELLARDS (12), fazendo um estudo sôbre a citologia da lepra murina, concluem que as células leprosas são derivadas, na grande maioria, das células mesenquimais pertencentes ao sistema retículo endotelial. AFANADOR (1)

inoculou tinta da China na veia de ratos e 24 horas depois administrou pela safena 0,3 cc de emulsão de leproma murino. 'Ele verificou que a fixação dos bacilos era mais lenta nêstes animais do que em normais; o fígado era o órgão que fixava mais germes; houve eliminação de bacilos pelos rins e intestinos, a qual era maciça mas durando apenas dois dias nos ratos que sofreram bloqueio, ao passo que nos controles durou 10 a 12 dias, sendo porém discreta.

Após termos descrito a anatomia patológica da lepra murina, resolvemos estudar a origem da célula leprosa, do mesmo modo que os autores anteriores. Para tanto, separamos um lote de 11 ratos, — os quais se apresentavam em estado adiantado da doença — e o dividimos em dois grupos.

No primeiro, composto de 5 animais, foi usado litio carmim. Dissolvemos 2,5 gs. de carmim Grüber em uma solução aquosa saturada, a frio, de carbonato de litio e aquecemos em banho maria; filtramos sempre no momento de usar. Tais ratos foram inoculados quatro vêzes, com intervalos de 2 a 3 dias; na primeira vêz com 1 cc subcutâneo, não muito distante do tumor, na segunda e terceira vez com 0,5 cc intraperitoneal e na quarta com 0,3 cc no coração. Três foram sacrificados 3 dias após a última inoculação; os esfregaços, corados pelo Ziehl-Neelsen, demonstravam grande número de bacilos no tumor, gânglios, pele e mesmo nos órgãos internos. Outro foi sacrificado no quarto dia e o último no quinto, apresentando também ambos, uma grande infecção generalizada.

Para o segundo lote preparamos, em solução fisiológica, uma suspensão a 1% de azul pirrol. Aí as inoculações variaram: 2 ratos receberam 1 cc de azul por via intraperitoneal no primeiro dia; mais duas inoculações com 0,5 cc pela mesma via com intervalo de 2 a 3 dias, e por fim 0,3 cc intracardiaca. Dois outros foram inoculados, na primeira vêz, com 1 cc por via subcutânea, sendo as vêzes subsequentes idênticas ao processo anterior. Por fim 2 ratos foram inoculados dentro da massa tumoral axilar com 1 cc do corante durante seis dias consecutivos. Quando sacrificados, de modo idêntico ao primeiro grupo, todos mostraram um processo infeccioso generalizado.

Colhemos pedaços de tumor, pele, gânglios e órgãos internos, os quais foram fixados em Zenker sem ácido acético e em formol a 10%. Foram feitos cortes por congelação e inclusão em parafina. Usamos os seguintes processos de coloração: Ziehl-Kringmüller, Hematoxilinaeosina, tricrômico de Masson (substituindo o azul por verde luz), método de MALLORY (fucsina-azul de metileno), vermelho escarlata e coloração pela brasilina.

As lesões encontradas foram idênticas às já descritas por nós (8) e agora nos deteremos nos novos achados, fazendo uma descrição em conjunto pois, tanto para o litio carmim como para o azul pirrol, os resultados são os mesmos.

No tecido subcutâneo, onde se veem massas de células leprosas formando nodulos maciços, as partículas de corante são sempre pouco abundantes e se encontram apenas nas células da periferia dos nodulos. Parece que as grandes células leprosas, com núcleo excêntrico, às vezes picnótico, tendo no protoplasma um grande número de bacilos, perdem o poder fagocitário. Entretanto, aquelas isoladas com pequeno número de bacilos ainda conservam o poder fagocitário englobando as partículas de corante. Quando se faz a coloração pelo método de Ziehl, observam-se então, dentro do citoplasma, pequeninos grânulos azuis, no caso do pirrol e bacilos em vermelho formando um contraste nítido. Bacilos encontrados extracelulares são provavelmente devido à ruptura das células leprosas. Com a coloração vital verifica-se que os mesmos elementos que englobam os bacilos são os que apresentam os grânulos de corante. Os histiocitos do tecido conjuntivos frouxo apresentam o citoplasma reticulado e os elementos são mais nítidos do que nos fibrocitos. Eles têm tamanho variável e núcleo em geral excêntrico. São os elementos mais abundantes e mais importantes nos granulomas pois vão transformar-se, uma vez tendo fagocitado bacilos, em células leprosas, mononucleadas, de citoplasma abundante, espumoso, com malhas de estrutura irregular. Nos casos mais antigos estes histiocitos transformam-se em células epitelióides, grandes, poliédricas, com protoplasma abundante, núcleo grande, vesiculoso, claro, o qual geralmente contém um ou mais grânulos de cromatina; têm às vezes vários núcleos, sendo então denominadas células epitelioides gigantes. Hoje acredita-se que as células gigantes, tipo Langhans, ovóides, com núcleos periféricos, sejam devidas a um crescimento exagerado das células epitelióides, multinucleadas, nas quais os núcleos tendem a se acumularem na periferia, ou podem ser explicadas pela fusão de diversas células.

Os mesmos fatos observados por OLIVER (11) foram verificados por nós. Quando é feita inoculação subcutânea, nos locais afastados do granuloma, vê-se grande número de histiocitos com grânulos no seu protoplasma. Já nas circunvizinhanças da lesão leprosa, os histiocitos com alguns bacilos no seu protoplasma, se apresentam com algumas transformações que os mudarão em células leprosas. O bacilo uma vez englobado não sofre um processo destrutivo e, pelo contrário, parece que o citoplasma é um ótimo meio de cultura, havendo proliferação abundante, transformando a célula num grande depósito de bacilos que comprimem o núcleo, distendem as paredes de células e provocam a ruptura. Nos histiocitos com poucos bacilos, que conservam ainda suas características básicas, isto é, a capacidade de fagocitar, vêem-se também grânulos de corante. À medida que os bacilos aumentam, que no exame microscópico mais nos aproximamos da massa granulomatosa, o número de grânulos diminui, sendo quasi impossível evidenciá-los em plena

massa do leproma, onde as células, praticamente perderam todo o poder fagocitário. Há sempre uma relação entre corante, isto é, o número de grânulos

bacilo

de corante no citoplasma é inversamente proporcional ao número de bacilos; quanto maior o número dos bacilos menor o de corante.

Com a coloração pela brasilina forma-se um belo contraste entre a célula em vermelho-alaranjado e os grânulos de azul pirrol.

Em preparados coroados pelo vermelho escarlata, para verificação de gordura, vê-se que as células leprosas contém lipoides, o aspecto da coloração amarelo-acastanhado sendo muito semelhante ao observado na lepra humana; as veses as células tomam a cor amarela clara, dando a impressão de se tratar de ácido graxos e gorduras neutras. Já havíamos averiguado por exames micropolariscópicos de cortes de tumores e inexistência de lipóides birefringentes (16).

Não conseguimos evidenciar processos de mitose nas células leprosas e a formação lenta dos nodulos sugere que o processo localizado aumenta gradativamente pela chegada de histiocitos móveis que englobarão os bacilos livres oriundos da ruptura de células. Entretanto, *Pinkerton* e *Sellards* (12) com o peso de sua autoridade, dizem que com a progressão das lesões formam-se novas células leprosas, não apenas dos elementos mesenquimatosos locais, mas também por divisão mitótica das células leprosas pre-existentes, de modo que o processo é até certo ponto semelhante ao de um neoplasma; as células leprosas são encontradas em mitose com frequência suficiente para sugerir que os bacilos, ou algum produto de seu metabolismo, estimulam a divisão celular.

Os histiocitos móveis, uma vez tendo englobado bacilos, parece que perdem sua mobilidade, transformando-se em células leprosas.

Se bem que os bacilos possam ser encontrados ocasionalmente em elementos celulares não pertencentes ao sistema retículo endotelial, como nós mesmo assinalamos, em células da camada de Malpighi ou em elementos de tecido conjuntivo fixo e células endoteliais dos vasos sanguíneos, não há entretanto transformação em células leprosas e o número de bacilos no citoplasma é sempre reduzido e não se encontram grânulos de corante.

A célula leprosa do rato tem certa semelhança com a descrita por *Witchow* para os casos humanos; o citoplasma é volumoso, com o aspecto mais grosseiro do que na lepra; às vezes, como na lepra humana, há poucos vacuolos ou apenas um grande ocupando a maior parte do citoplasma. Em ambas nunca o núcleo é inválido podendo se apresentar entumescido, claro, geralmente excêntrico com um a dois nucleolos.

A maior diferença observada entre as duas células não é propriamente em sua estrutura, mas na disposição dos bacilos, que raramente se agrupam, na lepra dos ratos, com o aspecto uniforme e característico da lepra humana; é verdade que muitas vezes chamamos de globias os grupamentos intracelulares dos bacilos nas células leprosas do rato, mas estas, pela disposição desordenada dos bacilos são com facilidade distinguidas das típicas globias da lepra humana, apresentando-se sobre a forma de roseta, descritas em detalhes por Cowdry e Ravold (3).

Nos gânglios linfáticos também foi possível observar os grânulos de corante nas células reticulares e às vezes o corante e os bacilos juntos num mesmo elemento. São células que se transformam nas células leprosas ganglionares.

Nos órgãos internos como pulmão, fígado, baço, os resultados são sempre idênticos, isto é, verifica-se que as células com capacidade fagocitária para os grânulos de litio carmim e azul de pirrol são as únicas que englobam os bacilos, havendo nelas multiplicações e reunião de vários elementos constituindo nodulos leprosos. Parece-nos que estas células contendo bacilos perdem rapidamente o poder fagocitário sendo muito mais fácil, por exemplo, encontrar-se células de Kupffer sómente com grânulos ou sómente com bacilos, de que ambos ao mesmo tempo.

SUMÁRIO

Onze ratos com lepra murina em periodo muito adiantado, foram inoculados várias vezes com litio carmim e azul pirrol. Foi possível evidenciar nestes onze ratos que as células que englobam as partículas do corante, na coloração vital, eram as mesmas que continham os bacilos. Vêem-se mesmo num único elemento celular os grãos de corante e os bacilos. Em cortes da pele é possível observar-se a transformação dos histiocitos do tecido conjuntivo frouxo em células leprosas. Em órgãos internos examinados, sempre se verificou que a célula leprosa provinha de um elemento do sistema retículo endotelial e grânulos de corante juntamente com bacilos foram encontrados nas células do retículo-endotélio do baço, medula óssea gânglios linfáticos, células de Kupffer e histiocitos do pulmão.

SUMMARY

Eleven infected rats with murine leprosy were inoculated several times with lithiocarmine and pyrrole blue. One can see that the same cells which phagocytize the dye granules, in vital staining, were the same which contained bacilli. One can observe in the cell both dye particles and staining bacilli to-

gether. It is possible to see the transformation of the histiocytes into lepra cells. In inner organs examined we have always ascertained that the lepra cell was derived from an element of the reticuloendothelial system and the dye particles and bacilli were seen in the cells of reticulo-endothelium of the spleen, bone marrow, lymph nodes, Kupffer cells and lung histiocytes.

B I B L I O G R A F I A

1. AFANADOR, A.
1934. Inoculation du bacille de Stefansky dans les veines des rats bloqués. *Compt. rend. Soc. biol.*, 116 : 1260-1261.
2. CHUMA, M. e GUJO, K.
1923. Eine histologische Untersuchung über das Leprom mittels Vitalfärbung. *Virchow's Archiv*, 240 : 469-482.
3. COWDRY, E. V. e RAVOLD, A.
1938. Rosettes in rat leprosy. *Puerto Rico. J. Pub. Health Trop. Med.*, 14: 3-10.
4. GUJO, K.
1921. Leprazellen und vitale Färbung. *Tokio Iji Shimshi*, n.º 2241 : 795-802.
5. GUJO, K. e CHUMA, M.
1921. Histologische Studien über Lepragewebe mittels vitaler Färbung. *Osaka Igaku Kwai Zasshi*, 20 : 1124-1232.
6. HENDERSON, J. M.
1928. A contribution to the pathology of cutaneous rat leprosy. *Ind. J. Med. Res.*, 16 : 1-6.
7. HERXHEIMER, G.
1923. Über die Leprazellen. *Virchow Arch.*, 245 : 403-447.
8. LINHARES, H.
1942. Contribuição ao estudo da patologia da lepra murina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 37 : 543-581.
9. LOWE, J.
1934. Studies in rat leprosy. *Ind. J. Med. Res.*, 22 : 187-198.
10. MARCHOUX, E. e SOREL, F.
1913. La lepre des rats. *Lepra Bibliot. Internat.*, 13 : 171-206.
11. OLIVER, J.
1926. The origin of the lepra cell. *J. Exp. Med.*, 43 : 233-239.

-
12. PINKERTON, H. e SELLARDS, A. W.
1938. Histological and cytological studies of murine leprosy. Amer. J. Path., 14 : 435-442.
 13. RIECKE, H. G.
1928. Über einen Fall von Lepra tuberosa mit besonderer Beteiligung der Kehlkopfs und über die Beziehungen zwischen Leprazelle und Reticuloendothel. Beit. z. path. Anat., 80 : 201-216.
 14. STEFANSKY, W. K.
1903. Eine lepraähnliche Erkrankung der Haut und der Lymphdrüsen bei Wanderratten. Centblt. f. Bakt., 33 : 481-487.
 15. TIMOFEJEWSKY, A. D.
1929. Explantationsversuche von leprösen Gewebe. Arch. f. Exp. Zellforschung, 9 : 182-202.
 16. VILLELA, G. G. e LINHARES, H.
1943. Lipídeos na pele de ratos com lepra murina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 38 : 61-64.
 17. VIRCHOW, R.
1864-65. Die krankhaften Geschwülste, vol. 2.