

IMUNOGLOBULINAS NA FASE CRÔNICA DA DOENÇA DE CHAGAS ¹

GILBERTO DE FREITAS * SYLVIO CELSO GONÇALVES DA COSTA ** NEIZE DE MOURA PEREIRA * LIÈGE GALVÃO QUINTÃO **** JOSÉ GOMES DE SOUZA *******

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ - Brasil

SUMÁRIO: De um grupo de 112 casos crônicos de Doença de Chagas recebidos, foi possível selecionar 32 casos dotados de dados clínicos e testes de diagnóstico completos que permitiram uma avaliação da resposta imunitária humoral em face de quadros clínicos e cardiológicos bem definidos. Observou-se um ligeiro aumento dos níveis de IgG, sem que houvesse significância destes resultados quando feita a comparação com um grupo de habitantes da região de Bambuí, cujos testes, empregados normalmente para diagnóstico da Doença de Chagas, foram negativos. Este grupo, que foi considerado como o "normal" da região, não apresentava nenhuma sintomatologia e, tanto quanto foi possível observar, gozava bom estado de saúde.

Os níveis de IgM e IgA apresentavam-se dentro da faixa de normalidade, enquanto os títulos de anticorpos heterófilos, ficaram entre 1/56 e 1/112. Na correlação que se tentou estabelecer entre anticorpos heterófilos e cardiopatias chagásicas constatou-se não existir, aparentemente, relação entre concentração e cardiopatia.

1 Recebido para publicação em 1.º de outubro de 1975.
Trabalho do Convênio UnB - IOC (FOC) realizado com a ajuda financeira do CNPq - Projeto n.º 10.932/73.

* Professor Titular da Universidade de Brasília.
** Chefe da Seção de Protozoologia - Pesquisador do IOC e CNPq.
*** Bolsista do Conselho Nacional de Pesquisa.
**** Pesquisador do Instituto Oswaldo Cruz e CNPq.
***** Chefe do Setor de Análises Clínicas do Hospital Evandro Chagas - Instituto Oswaldo Cruz.

ESTÁ de certa forma em bom desenvolvimento o conhecimento acerca da Imunologia da Tripanosomiase africana, que sob o ponto de vista humoral se caracteriza por apresentar altos níveis de imunoglobulinas, particularmente IgM cujos níveis podem alcançar 5x os valores normais. Na Tripanosomiase americana, ao contrário, os conhecimentos no campo da imunologia são carentes em muitos aspectos e merecem estudos sistemáticos em muitas áreas. A análise das imunoglobulinas na fase crônica (Lelchuk & col. 1970), mostra IgA e IgM em níveis normais e um ligeiro, mas significativo, aumento de IgG, enquanto IgM apresenta-se normalmente elevado na fase aguda. Estes resultados, entretanto, contrastam com aqueles obtidos por Canese (1972), que obteve níveis comparativos com aqueles da Tripanosomiase africana.

Como a maioria dos casos crônicos analisados por Lelchuk & col. (1970) não apresentava anormalidade clínica e foram diagnosticados durante os exames de rotina para doadores de sangue, achamos oportuno a análise deste problema num grupo de chagásicos da região endêmica de Minas Gerais que fica sob controle do Posto de Bambuí do Centro Clínico da Fundação Oswaldo Cruz e que permite a análise de casos cuja evolução clínica foi acompanhada em todo o seu desenvolvimento.

Estamos dando ênfase aos anticorpos heterófilos que apresentam títulos elevados na fase aguda (Muniz e Freitas, 1944, Lelchuk & col. 1970) e caem na fase crônica. A reação heterófila é atribuída por muitos autores à ação dos antígenos de superfície que constituem o objeto principal das pesquisas do Laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Soro:

Recolhemos o soro de 112 pacientes de diferentes localidades da região de Bam-

buí e seus arredores, e as amostras foram mantidas a baixa temperatura por poucas semanas. Os soros controles foram obtidos de um grupo de pessoas da região de Bambuí, cujos testes sorológicos foram negativos para Doença de Chagas, e que não apresentava sintomatologia para outras enfermidades, cuja idade era superior a 20 anos. O diagnóstico sorológico para doença de Chagas foi realizado por um dos autores no Instituto Oswaldo Cruz, tendo sido empregado o teste de Hemaglutinação e a reação de Fixação de complemento, empregando-se neste caso o antígeno obtido por congelamento e descongelamento. O xenodiagnóstico foi realizado pela equipe do Posto de Bambuí da Fundação Oswaldo Cruz. Em alguns casos empregou-se imunofluorescência.

Determinação das Imunoglobulinas:

Os valores de IgG, IgM e IgA foram determinados pela técnica da Imunodifusão radial utilizando-se os Discos Tri-Partigen, padronizados e comercializados pelo Laboratório Hoescht do Brasil.

Os valores encontrados foram comparados estatisticamente pelo teste "t" de Student. Antes da análise estatística transformamos os valores em logaritmos (log mg/100ml), pois desta maneira as concentrações de imunoglobulinas se distribuem de forma aproximadamente Gaussiana. São transcritos aqui, entretanto, os valores não transformados, visto que a análise dos valores transformados é coincidente com a análise dos resultados não transformados, fato já observado também por Johansson (1967).

Dosagem dos Anticorpos Heterófilos:

Na determinação dos títulos das hemaglutininas heterófilas foi utilizada a técnica de Paul Bunnell-Davidshon (1937), sendo a leitura realizada 45 minutos após retirada da geladeira, evitando assim a interferência de crioaglutininas.

RESULTADOS

As médias das concentrações de IgG, IgM e IgA em soros de doentes de Chagas

quando comparadas às médias dos controles normais da mesma região (Tabela I), não mostram diferença significativa (análise estatística aplicando-se teste "t" de Student utilizando-se log mg/100ml para normalizarmos a distribuição dos valores).

A TABELA II apresenta os resultados obtidos no exame de 32 pacientes chagásicos crônicos sob controle periódico no Posto de Bambuí, alguns deles com mais de 20 anos de acompanhamento e cujos testes de diagnósticos estão na referida Tabela. Além dos níveis de Imunoglobulinas, a Tabela contém os títulos de Anticorpos Heterófilos e os resultados Eletrocardiográficos da maioria dos doentes.

A TABELA III contém os resultados da dosagem das Imunoglobulinas em um grupo de habitantes da região considerados "não chagásicos" por não possuírem sintomas e apresentarem todos os testes de diagnóstico para Doença de Chagas negativos.

A dosagem de anticorpos Heterófilos apresentou títulos variáveis de 1/14 a 1/224 (Tabela II) não sendo possível correlacionar causa-efeito na patologia da miocardite chagásica crônica (dados revelados por E.C.G.) quando enfatizado o título elevado de anticorpos heterófilos.

DISCUSSÃO

Diferentes autores têm procurado estabelecer comparações entre a pato-

logia da Doença de Chagas com a de outras entidades nosológicas como a sífilis pela semelhança de evolução em fase primária, secundária e terciária ou com a Leishmaniose pela sua fase intracelular e por ser causada por um organismo filogeneticamente próximo. Estas comparações visam obter dados que contribuem para esclarecer, por analogia, aspectos obscuros da Tripanosomíase americana, conforme foi recentemente enfatizado numa reunião sobre a Imunologia da Doença de Chagas, publicada pela OMS (1974). Nenhuma doença, entretanto, foi tão comparada com a Doença de Chagas quanto à Tripanosomíase africana, certamente muito mais pela afinidade genérica de seu agente etiológico, que pelas semelhanças clínicas ou patológicas.

Está bem estabelecido que a Tripanosomíase africana desenvolve níveis elevados de IgM (Lumsdem, 1965, Courtois & col. 1966, Cunnigham, 1967, Mattern, 1964, Ogilvie, 1970, Onyango, 1972), enquanto na Doença de Chagas os aumentos são pouco significativos, embora tenhamos encontrado na literatura resultados controversos. Assim, Magnani & col. (1973), encontraram IgM anti-*T. cruzi* em 61 de 71 pacientes crônicos com títulos acima de 1:50

TABELA I

	N.º de casos	Ig G (mg/100ml)	Ig M (mg/100ml)	Ig A (mg/100ml)
DOENTES CHAGÁSICOS	32	1712 ± 653	190 ± 85	170 ± 71
CONTROLES NORMAIS	12	1647 ± 552	196 ± 94	216 ± 55

Valores médios de IgG, IgM e IgA (mg/100ml) e desvio padrão em soros de pacientes com Doença de Chagas e em Controles Normais.

TABELA II
DOENTES CHAGÁSICOS

	N.º	Reação Hemaglutinação	R. F. C.	Imunoglobulinas (mg/100 ml)			Anticorpos heterófilos	Eletrocardiograma
				IgG	IgM	IgA		
1	14.725		pos.	1924	114	103	1/28	BRD Extra-sístole Ventricular isolada. Fibrilação septal.
2	14.748		pos.	1740	125	145	1/112	Taquicardia sinusal.
3	14.628		pos.	1390	279	298		Bradycardia sinusal 52 p.m. Extra-sístole Ventricular.
4	14.803	pos.	pos.	969	54	62	1/56	Dentro dos limites de normalidade.
5	14.702		pos.	1770	194	205	1/112	Dentro dos limites de normalidade.
6	14.633		pos.	2200	156	250	1/28	Períodos de fibrilação. Flutter auricular. BCRD. Alteração de PR e T.
7	14.813		pos.	1230	235	139	1/14	Desvio para a esquerda de QRS.
8	14.863		pos.	2240	346	242	1/56	Em 1952 PR longo; 1969 Alteração difusa e ventricular; 1973 Atrofia muscular.
9	14.854	pos.	pos.	2440	89	205	1/56	Volt. QRS.
10	14.856	pos.	pos.	1730	114	212	1/28	BCRD; HVAE.
11	14.862	pos.	pos.	1300	149	82	1/112	P — Q longo.
12	14.722	pos.	pos.	1660	149	242		BCRD; HVAE.
13	14.646		pos.	2130	202	332	1/56	—
14	14.681	pos.	pos.	2350	270	145		A.V. 1.º grau. Alteração primária de T. fibrilação aurículo-septal.
15	14.683		pos.	1390	218	151	1/56	Dentro dos limites de normalidade.
16	14.783	pos.	pos.	620	62	48		—
17	14.693		pos.	2400	307	139	1/28	Provável alteração auricular (alteração difusa QRS)
18	14.694	pos.	pos.	1740	156	132		BIRD; Taquicardia sinusal.
19	14.915		pos.	1900	202	27	1/56	Dentro dos limites de normalidade.
20	14.773	pos.	pos.	2120	125	184		—
21	14.767	pos.	pos.	1500	264	234	1/56	Dentro dos limites de normalidade.
22	14.906	pos.	pos.	1660	80	191		—
23	14.778	pos.	pos.	1420	248	151	1/112	BIRD; Taquicardia sinusal.
24	14.883	pos.	pos.	1160	212	151	1/14	—
25	15.463	pos.	neg.	4190	261	157		Taquicardia sinusal (100 p/min.) baixa voltagem QRS; alteração primária extra-sístole de repolarização ventricular. Baixa voltagem de P. (fenômeno dielétrico?).
26	14.459	pos.	pos.	830	207	126		BIRD.
27	14.917	pos.	pos.	740	176	310		—
28	15.120	pos.	pos.	2340	110	164		Provável crescimento ventricular esquerdo.
29	14.882	pos.	pos.	1420	154	115		—
30	14.881	pos.	pos.	1180	100	212		—
31	14.858	pos.	pos.	1240	420	126	1/224	Dentro dos limites de normalidade.
32	14.990	pos.	pos.	1970	283	170		—

TABELA III
CONTROLES NEGATIVOS PARA CHAGAS

N.º de Ordem	N.º	Idade	Residência	Xeno-diagnóstico	R. F. C.	Reação c/ Antígeno Metílico	Imunoglobulina (mg/100 ml)		
							IgG	IgM	IgA
1	14.902	22a	BambuÍ	Neg.	Neg.		1380	227	151
2	14.907	17a	BambuÍ	Neg.	Neg.		1730	183	274
3	14.908	24a	BambuÍ	Neg.	Neg.		1120	163	109
4	14.904	42a	BambuÍ	Neg.	Neg.		990	114	205
5	14.884	39a	Altolândia	Neg.	Neg.		1690	100	184
6	14.893	19a	C. Alegre	Neg.	Neg.		2120	171	258
7	14.905	37a	BambuÍ	Neg.	Neg.		2190	207	164
8	14.909	23a	Itaporanga	Neg.	Neg.		1160	238	235
9	14.897	6a	P. da Caatinga	Neg.	Neg.		860	171	258
10	14.898	63a	Palmital	Neg.	Neg.		2740	480	247
11	14.741					Neg.	2190	149	307
12	14.720					Neg.	1591	149	205

e Canese (1972) empregando a imunodifusão radial encontrou aumentos significativos nos níveis de IgG, IgA e IgM quando comparou estes níveis com os de 22 indivíduos normais. Estes resultados não estão concordantes com aqueles obtidos por Lelchuk (1970), Ostman & col. (1975) e Marsden & col. (1970) que encontraram valores normais de IgM em pacientes crônicos e um pequeno, porém, significativo aumento de IgG (Lelchuk & col. 1970). Na fase aguda da Doença de Chagas, entretanto, Lelchuk (1970) e Vattuone (1973) encontraram um aumento pequeno, porém significativo nos níveis de IgM e IgG. Estes resultados foram confirmados por Camargo & Amato Neto (1974) empregando a técnica de imunofluorescência em 20 casos agudos, quando obtiveram títulos de 1:40 a 1:2.560, não observando aumento nos casos crônicos latentes ou em pacientes com envolvimento cardíacos ou digestivos.

Os resultados por nós encontrados em um grupo de pacientes chagásicos crônicos sob controle periódico do Posto de Bambuí, mantido pelo Instituto Oswaldo Cruz para estudo da Doença de Chagas, mostram que os anticorpos da classe IgA, IgG e IgM não apresentam alterações significativas quando comparados com um controle da região sabidamente não chagásico. Não se encontrou por outro lado, correlação na elevação dos títulos dos anticorpos heterófilos e cardiopatias chagásicas.

A utilização da imunofluorescência para determinação de anticorpos da classe IgM específicos para *T.(S.) cruzi*, torna-se um teste importante para a epidemiologia desta doença e esclarecimento de surtos como o ocorrido na cidade de Teutônia (Nery Guimarães & col. 1968), em que houve dificuldades na identificação de casos agudos.

SUMMARY

Since divergent results were obtained by different authors about immunoglobulins concentration in sera from acute and chronic cases of Chagas disease, the problem was submitted to statistical approach in field conditions in the endemic zone of Bambui, state of Minas Gerais, Brazil. Positive cases were considered in all individuals presenting evidences in parasitological, immunological or electrocardiographical examination living exactly in the same conditions, but without any evidence of infection under the same criteria. The sample consisted of 32 chronic cases and no significant difference in the immunoglobulins levels were detected in chronic cases of Chagas disease as compared with the control group. Heterophili antibodies are being determined in chronic cases and apparently there is no relationship between its concentration and pathogenic effects.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CAMARGO, M.E. & AMATO NETO, V., 1974, Anti-Trypanosome cruzi IgM antibodies as serological evidence of recent infection. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 16(4): 200-202.
2. CANESE, A., 1972, Serum Immunoglobulins and C'3 in Chagas Disease. *J. Protozool.*, 19:35 (suplemento).
3. CAPPUCINELLI, P., MARTINETTO, P., FRENTZEL-BEYME, R.R. & SENA, L., 1971, Immunoglobulins and Parasitic infections. I - Levels of IgG, IgA, IgM and IgD in Different Protozoal and Helminthic Infections in man. *Giornale di Bacteriol. Virol. Immunol.* (5-8): 155-161.
4. CUNNINGHAM, P., BAILEY, N.M., KIMBER, C.D., 1967, The estimation of IgM

- in dried blood, for use as a serening test in the diagnosis of human trypanosomiasis in Africa. *Trans. Roy Soc. Trop. Med. Hyg.*, 61(5): 688-695.
5. GOES, P. & BRUNO LOBO, M., 1950, Sobre o comportamento do anticorpo heterólogo ocorrente na Doença de Chagas. *Arch. Bras. Med.*, 40(9/10): 307-317.
 6. GRAY, A.R., 1967, Some principles of the immunology of trypanosomiasis. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 37: 177-193.
 7. HOUBA, V., BROWN, K.N. & ALLISON, A.C., 1969, Heterophile antibodies M-antiglobulins and Immunoglobulins in experimental Trypanosomiasis. *Clin. Exp. Immunol.* 4: 113-123.
 8. JOHANSSON, S.G., 1967. Raised levels of a New Immunoglobulin Class (IgND) in Asthma The *Lancet* II (7523): 951-953.
 9. LELCHUK, R., DALMASSO, A.P. INGLESE, C.L. ALVAREZ, M., & CERISOLA, J.A., 1970, Immunoglobulin studies in serum of patients with american trypanosomiasis (Chagas'Disease). *Clin. Exp. Immunol.*, 6: 547-555.
 10. LUMSDEN, W.H.R., 1965, The estimation of IgA immunoglobulin in serum in the diagnosis of human trypanosomiasis WHO/FAO Tryp. ing. 1:65.
 11. LUMSDEN, W.H.R., 1967, Trends in research on the Immunology of trypanosomiasis. *Bull. Wild. Hlth. Org.*, 37: 167.
 12. LUMSDEN, W.H.R., 1972, Trypanosomiasis. *British Med. Bull.*, 34-38.
 13. MAGNANI, M.A.C., FERRIOLI, F. & SIQUEIRA, A.F., 1973, Imunoglobulinas específicas em soros de chagásicos crônicos verificadas por reações de Imunofluorescência indireta. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 15: 72-75.
 14. MARSDEN, P.D., SEAH, S.K.K., MOTT, K.E., PRATA, A. & PLATT, H. 1970, Immunoglobulins in Chagas disease. *J. Trop. Med. Hyg.*, 73(7): 157-161.
 15. MATTERN, P., 1964, Techniques et intérêt epidemiologique du diagnostic de las Trypanosomiasis humain africain par la recherche de la — Macroglobuline dans le sang et dans le L.C.R. *Ann. Inst. Pasteur*, 107(3): 415-421.
 16. MUNIZ, J. & FREITAS, G., 1944, Contribuição para o diagnóstico da Doença de Chagas pelas reações de imunidade. I — Estudo comparativo entre as reações de aglutinação e de fixação do complemento. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 41(2): 303-333.
 17. NERY GUIMARAES, F., SILVA, N.N., CLAUSELL, D.T., MELLO, A.L., RAPONE, T., SNELL, T. & RODRIGUES, N., 1968, Um surto epidêmico de doença de Chagas de provável transmissão digestiva, ocorrido em Teutônia (Estrela, Rio Grande do Sul). *O Hospital*, 73(6): 1767-1804.
 18. OGILVIE, B.M., 1970, Immunoglobulin responses in parasitic infection. *J. Parasitol.*, 56(4), section II (3): 525-534.
 19. W.H.O. Memorandum, 1974, Immunology of Chagas's disease, *Bull. W.H.O.*, 48: 459-472.
 20. OSTMAN, H., OLELERICH, S. & LEDEKER, I., 1973. Immunologische Untersuchungen mit *T. Cruzi* dem Erreger der ChagasKrankheit. *Z. Tropenmed, Parasit.* 24:72.
 21. PEREIRA, J.M., CONSTANCIO, W.F., CALLADO, A.N., LAJCHTER, D. & POVOA, H., 1971, Serum levels of immunoglobulins in Brazilian people. *Acta Biol. Med. Germ.*, 27-1005.
 22. SALUM, J., LACAZ, P.S., BORGES, C., ROSSI, A., & REZENDE, J.M., 1959, Eletroforese das proteínas séricas na fase aguda da Doença de Chagas. *Rev. Goiana Med.*, 5: 13-21.

23. STREJAN, G., 1965, Antibody heterogeneity to *T. cruzi*. *Experiência*, 21(7): 399.
24. VATTUONE, N.H., SZARFMAN, A. &

GONZALEZ CAPPA, S.M., 1973, Antibody response and Immunoglobulin levels in Humans with acute or chronic *Trypanosoma cruzi* infections (Chagas Disease). *J. Trop. Med. Hyg.* 76(2): 45-47.