

ESTUDO PRELIMINAR SÔBRE A LOCALIZAÇÃO RENAL DE COMPLEXOS ANTÍGENO-ANTICORPO EM RATOS INFECTADOS COM PLASMODIUM BERGHEI *

Carlos Eduardo Tosta **

São apresentados os resultados preliminares de um estudo evolutivo da localização renal de complexos antígeno-anticorpo solúveis em ratos infectados com P. berghei. Embora no 2.º dia o animal já apresentasse parasitos circulantes e no 6.º dia fôsse demonstrado anticorpos circulantes, sômente no 12.º dia ficou caracterizada a presença simultânea de antígeno e anticorpo, por imuno-fluorescência, nos glomérulos e arteriolas renais, correspondendo a uma queda do nível sérico de complemento. No 16.º dia o depósito glomerular era mínimo e o complemento retornou a níveis considerados normais.

Após um confronto com os dados obtidos em outros trabalhos o A. sugere que o P. berghei possa apresentar uma ação patogênica para o hospedeiro através da formação de complexos Ag-Ac embora acentuando a necessidade de estudos adicionais.

INTRODUÇÃO

A deposição de complexos antígeno-anticorpo (Ag-Ac) em estruturas vasculares e sua posterior lesão constitui um mecanismo de hipersensibilidade comum a diversas condições clínicas como o lupus eritematoso disseminado, a glomerulonefrite e a doença do soro, entre outras. Por razões hemodinâmicas próprias, e não por uma afinidade especial da membrana basal (1) o rim é o órgão que mais sofre a ação lesiva destes complexos.

Em doenças infecciosas, análogamente, um mesmo mecanismo poderia estar presente resultando da reação de antígenos secretados pelos microrganismos ou liberados em decorrência de sua lise, com anticorpos específicos do hospedeiro.

A maior incidência de síndrome nefrótica em habitantes de áreas endêmicas de malária na África vem merecendo a atenção de diversos pesquisadores. A possibilidade de um mecanismo imunológico, sugerida pela demonstração de anticorpos maláricos na urina desses pacientes(5) e pela ausência de parasitos no local das lesões renais(4) foi reforçada pela demonstração de depósitos glomerulares de gamaglobulina e de complemento (C') (2) e pela presença de complexos Ag-Ac circulantes associada à alteração do nível sérico de complemento(8). Contudo, só recentemente, foi caracterizada a presença simultânea no glomérulo de antígeno plasmódico, gamaglobulina e complemento, sugerindo a ação patogênica do *P. malariae* através da formação de complexos

* Trabalho da Clínica de Doenças Infecciosas e Parasitárias da F.M. da U.F.R.J. e do Instituto Brasileiro de Tropicologia Médica, Cx. Postal 1859, Rio de Janeiro.

** Bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

Ag-Ac(15). Também experimentalmente foram evidenciados, por imunofluorescência, os três componentes de complexos patogênicos (Ag-Ac-C') no rim de *Macaca mulatta* durante a infecção por *Plasmodium cynomolgi*(7).

Relatamos nesta nota os resultados preliminares de um estudo evolutivo da deposição de complexos Ag-Ac em rins de ratos infectados com *P. berghei*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram inoculados sete ratos albinos, do sexo masculino, de 3 meses de idade, de linhagens consanguíneas e mantidos nas mesmas condições ambientais e de alimentação. Utilizou-se uma cêpa de *Plasmodium berghei* proveniente da Divisão de Zoologia do Instituto Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro) e mantida em nosso laboratório por repiques semanais em camundongos Swiss-55. As inoculações foram feitas por via intraperitoneal com 0,25ml de sangue diluído em salina (1:4) contendo um mínimo de 40% de hemácias parasitadas. Três animais morreram na fase aguda da doença. Os demais foram sacrificados no 2.º, 6.º, 12.º e 16.º dia de infecção, após controle de parasitemia. Os órgãos foram divididos sendo uma parte fixada em formol para estudo histológico e a outra congelada em mistura de gêlo-sêco + acetona e cortada em criostato (sessões de 4 μ de espessura).

Utilizou-se para a dosagem do complemento hemolítico no soro um micrométodo adaptado da técnica de Kwapinski (*in Kwapinski & Snyder* (6)), e para a avaliação do título de anticorpos circulantes empregou-se o método de imunofluorescência, indireto, preconizado por Voller(12). Os anticorpos depositados nos tecidos foram demonstrados por tratamento com gamablobulina fluorescente anti-rato e os antígenos pelo método indireto de imunofluorescência.

RESULTADOS

Embora o número reduzido de animais analisados não permita uma avaliação cronológica precisa, os dados obtidos são sugestivos da ação de complexos Ag-Ac.

No 2.º dia de infecção, quando a parasitemia era mínima (380 parasitos/mm³) e o nível de complemento sérico dentro dos limites normais (96%), não foram demonstrados anticorpos circulantes nem qualquer alteração renal. No 6.º dia, correspondendo a uma elevação da parasitemia ocorreu intensa anticorpogênese esplênica demonstrada por imunofluorescência e os anticorpos circulantes alcançaram o título de 1:320. Nesta ocasião, demonstrou-se nos glomérulos um depósito mínimo de material fluorescente de provável origem plasmódica e o complemento sérico não apresentava alterações significativas (Fig. 1). Já no 12.º dia, relacionada a uma queda do nível sérico do complemento para 60% (segundo Tosta(9), os valores normais para ratos jovens, hígidos estão compreendidos entre 80 e 96%) (Fig. 2), evidenciou-se a presença simultânea de anticorpos (Fig. 3) e de antígeno plasmódico (Fig. 4) nos glomérulos e arteríolas renais (Fig. 5), quando o título de anticorpos circulantes era de 1:1280. No 16.º dia, os depósitos renais eram mínimos, o complemento se elevou para 80% embora o animal apresentasse plasmódios no sangue circulante e o título de anticorpos se mantivesse no nível anterior.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Como demonstraram Germuth & McKinnon(3) os complexos Ag-Ac apresentam ação patogênica quando formados em ligeiro excesso de antígeno para que sejam suficientemente pequenos para serem solúveis e, portanto, circulantes mas também suficientemente grandes para serem capazes de reagir com o complemento que, através de uma ação quimiotáxica(14), levaria ao acúmulo de polimorfonucleares no local, com posterior lesão de estrutura. Tanto o excesso de anticorpos como de antígeno pode impedir o desenvolvimento da lesão(1), tendo mesmo Valdes & cols.(10) comprovado a possibilidade de regressão das lesões renais por depósito de complexos solúveis através da administração de excesso de antígeno.

Estes dados poderiam ser transpostos para o estudo da malária. O material antigênico capaz de formar complexos, secre-

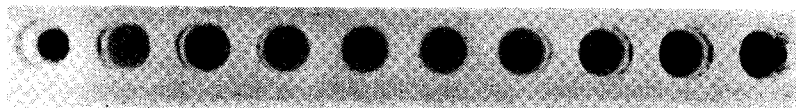


Fig. 1 — Rato no 6º dia de infecção. Complemento hemolítico apresentando níveis normais no soro (94%).



Fig. 2 — Rato no 12º dia de infecção. Complemento hemolítico apresenta uma queda significativa (60%).

tado pelo plasmódio ou decorrente de sua degradação, estaria em relação direta com o grau de parasitemia, podendo ser indicado por ela. Assim justifica-se a ausência de complexos patogênicos na fase inicial da infecção, quando há um grande predomínio de antígeno e o excesso de anticorpo, a partir do 12.º dia, alterando o equilíbrio anterior, poderia ser o responsável pela menor evidência de complexos no 16.º dia, idéia que é reforçada pela elevação do nível de complemento sérico.

A disposição difusa e o aspecto finamente granular do material fluorescente depositado no glomérulo (Fig. 3) possuem características comparáveis aos padrões obtidos por outros autores em casos de glomerulonefrite por depósito de complexos solúveis(10) e o achado de acentuada fluorescência na camada elástica interna de arteríolas renais é explicado pelo depósito "in loco" de complexos Ag-Ac já que esta estrutura age, como acontece com a membrana basal dos glomérulos, como superfície filtrante(1).

Poderíamos concluir que os dados apresentados são favoráveis à hipótese de que o *P. berghei* pode exercer uma ação patogênica através da formação de complexos Ag-Ac solúveis necessitando-se, porém, estudos adicionais.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos Professores J. Rodrigues Coura, Paulo F. A. Lopes e Car-

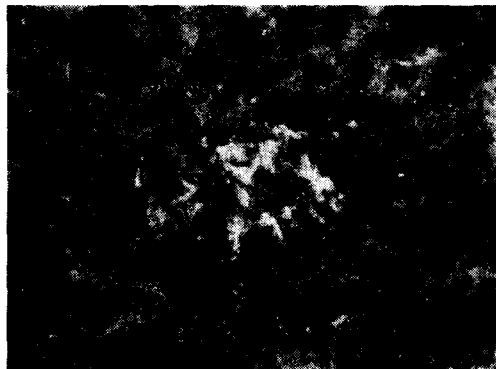


Fig. 3 — Glomérulo de animal sacrificado no 12º dia de infecção apresentando depósitos de anticorpos fluorescentes de distribuição difusa e aspecto finamente granular.

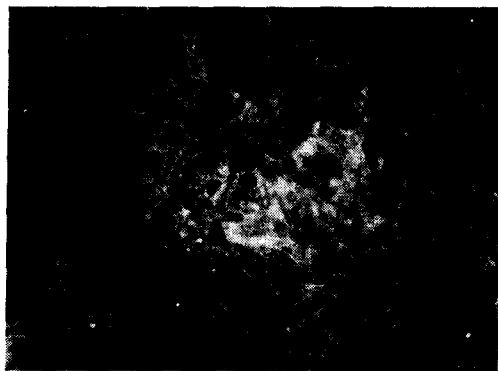


Fig. 4 — Mesmo animal apresentando material antígeno demonstrado pela técnica de imunofluorescência indireta.

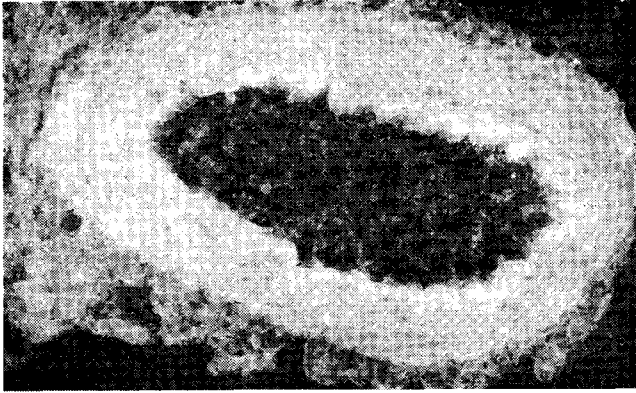


Fig. 5 — Arteriola renal apresentando material antigênico (IF indireta) em sua parede e mais acentuadamente na limitante elástica interna. Com a técnica empregada para demonstração de anticorpos obteve-se o mesmo padrão de fluorescência.

los E. Serpa a orientação e o apoio, ao Dr. Jorge E. Atkins da O.P.A.S. o auxílio na obtenção de material bibliográfico, ao Dr. Nelson Coelho Pereira a ajuda cons-

tante na execução do trabalho e ao Sr. Jorge dos Remédios pelo material fotográfico.

SUMMARY

This report is the result of a preliminary study of the demonstration of antigen-antibody complexes in the kidney of albino rats infected with Plasmodium berghei. Although the presence of parasites in the peripheral blood was demonstrated on the 2nd day of infection and the circulating antibodies on the 6th day by the fluorescent antibody technique, it was only on the 12th day that there were found deposits of antigen and antibody in the glomeruli and on the internal elastic lamina associated with a decrease of the level of the hemolytic complement in the serum. On the 16th day the glomeruli presented a minimum deposit and the complement reached normal levels.

The author suggests that P. berghei can act as a pathogen to the host by means of formation of soluble antigen-antibody complexes. However, this subject needs additional study.

BIBLIOGRAFIA

1. COCHRANE, C. G. & DIXON, F. J. — Cell and tissue damage through antigen-antibody complexes in Textbook of Immunopathology (edited by P. A. Miescher and H. J. Müller-Eberhard) pp. 94-110, 1968. Grune & Stratton, New York and London.
2. DIXON, F. J. — Mil. Med. 131:1233, Citado por Ward & Kibukamusoke 1969.
3. GERMUTH, F. G. & MCKINNON, G. E. — Studies on the biological properties of antigen-antibody complexes. I. Anaphylactic shock induced by soluble antigen-antibody complexes in unsensitized normal guinea pigs. Bull. Hopkins Hosp. 101: 13, 1957.
4. KIBUKAMUSOKE, J. W. & HUTT, M. S. R. — Histological features of the nephrotic syndrome associated with quartan malaria. J. Clin. Path. 20: 117, 1967.
5. KIBUKAMUSOKE, J. W. & WILKS, N. E. — The appearance of malaria antibodies in the nephrotic urines. East African Med. J. 42: 203, 1965.

6. KWAPINSKI, J. B. & SNYDER, M. L. — The Immunology of Rheumatism. Appleton — Century, Crofts. New York, 1962.
7. O. M. S. — Immunología del Paludismo. Informe de un Grupo Científico de la Organización Mundial de la Salud n.º 396, 1968.
8. SOOTHILL, J. F. & HENDRICKSE R. G. — Some immunological studies of the nephrotic syndrome of Nigerian children. *Lancet* Sept. 23-629, 1967.
9. TOSTA, C. E. — Dados a serem publicados.
10. VALDES, A. J., SENTERFIT, L. B., POLLACK, A. D. & GERMUTH, F. G. JR. — The effect of antigen excess on chronic immune complex glomerulonephritis. *Johns Hopkins Med. J.* 124: 9, 1969.
11. VERNIER, R. L. — Glomerulonephritis in *Textbook of Immunopathology* (edited by P. A. Miescher and H. J. Müller — Eberhard) pp. 365 - 389, 1968. Grune & Stratton, New York and London.
12. VOLLER, A. — Fluorescent antibody methods and their use in malaria research. *Bull. World Health Org.* 30: 343, 1964.
13. VOLLER, A. — Immunofluorescence and humoral immunity to *Plasmodium berghei*. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.* 45: 385, 1965.
14. WARD, P. A., COCHRANE, C. G. & MÜLLER-EBERHARD, H. J. — The role of serum complement in chemotaxis of leukocytes *in vitro*. *J. Exp. Med.* 122: 327, 1965.
15. WARD, P. A. & KIBUKAMUSOKE, J. W. — Evidence for soluble immune complexes in the pathogenesis of the glomerulonephritis of quartan malaria. *Lancet*, Feb. 8-283, 1969.