

Luiz Sebastião Trigozzi

Contribuição ao estudo da

"paroxismitomia primária adquirida"

Trabalho de Doutorado apresentado à
Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas

1976

À minha mãe,

a quem tudo devo, ofereço este trabalho
como sincera homenagem à sua capacidade
de amar e ao seu espírito de renúncia

Agradecimentos

Desejo expressar meu profundo reconhecimento pela cooperação e apoio recebidos, de maneira gentil e generosa, das seguintes pessoas:

Prof. Dr. Silvio dos Santos Carvalho, coordenador do Departamento de Clínica Médica, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas. *Sobretudo - Curitiba*

Prof. Dr. José Lopes de Faria, chefe do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Prof. Dr. E. Kitajima, ex-diretor do Serviço de Microscopia Eletrônica do Instituto Agronômico de Campinas.

Dr. Celso Paulino da Costa, prof.-assistente do Departamento de Clínica Médica (Disciplina de Imunologia Clínica e Alergia).

INTRODUÇÃO

A observação pioneira do Dr. Ogden Bruton, em 1952, caracterizando ausência de globulina sérica, de mobilidade eletroforetica gama, como fator determinante de infecções recorrentes graves em uma criança de oito anos, abriu campo fecundo de investigação que permitiu rápido progresso no estudo das deficiências da resposta imune.

Embora raras, essas doenças tem interêsse muito particular como "experimentos da natureza" que são (Good, 1954), pois - representam os homólogos, em patologia humana, dos modelos experimentais que utilizam ablação de órgãos em animais de laboratório e análise das alterações funcionais consequentemente induzidas. Dessa forma são definidas falhas no desenvolvimento do sistema linfo-reticular que correspondem a deficiências primárias - da imunidade específica. Entende-se assim, que êsse tipo de estudo permite análise direta quanto à natureza da resposta imune no homem. Os casos de agamaglobulinemia tipo Bruton contribuíram, - por exemplo, para definir com clareza, no homem:

1. a dissociação funcional da resposta imune, pois apenas está afetada a produção de anticorpos específicos e de imune globulinas circulantes;

2. a correlação estrutura-função envolvendo o sistema - compartimentalizado de linfócitos B no tecido linfo-reticular periférico.

Foi possível estabelecer que a agamaglobulinemia tipo Bruton representa ausência congênita de parte somente do sistema associada funcionalmente, com a produção de anticorpos específicos e de imune globulinas circulantes e morfológicamente, com os

folículos secundários e células plasmáticas. Caracteristicamente estão preservadas as reações de hipersensibilidade do tipo tardio e de rejeição do aloenxerto. Essa interpretação tem sólido a póio experimental nos trabalhos de Glick et al. (1956), Szenberg e Warner (1962) e Warner et al. (1962) que demonstraram em frangos "bursctomizados" por tratamento cirúrgico, ou com hormônios, falha de produção de anticorpos humorais, embora estivesse preservada a capacidade de rejeitar enxêrtos cutâneos. As aves ti nectomizadas, ao contrário, não eram capazes de rejeitar enxêrtos mas formavam anticorpos de forma normal. Com base nesses resultados, Warner e Szenberg propuzeram, para o sistema linfóide da ave, organização funcional e anatômica baseada em 2 populações de células: uma sob controle tímico (T-linfócitos), responsável pelas reações de hipersensibilidade do tipo tardio, de rejeição do aloenxerto cutâneo e outras ditas de imunidade celular e outra população sob controle bursal (B-linfócitos) responsável pela produção de anticorpos.

Estudos realizados por Percy et al. (1967 e 1968), Percy e Good, (1968), Sutherland et al. (1964), utilizando experimentalmente ablação cirúrgica de órgãos linfóides e irradiação sub-le^{tal} do corpo todo, permitiram caracterizar a dissociação referida também em mamíferos, nos quais a população de células plasmáticas e do centro germinativo, dependentes de equivalente bursal, são responsáveis pela produção de anticorpos e a população representada pelo "pool" de pequenos linfócitos re-circulantes, dependentes em grande parte do timus, são responsáveis pelas reações chamadas de imunidade celular.

Examinadas neste contexto, as deficiências imunológicas clínicas representam parte importante da melhor evidência disponível para a existência nos mamíferos (no homem, como caso parti

cular) do sistema linfóide com dualidade funcional à de chicken
do que ocorre nas aves.

A evolução do conhecimento relacionado com a immunology
linéar demonstra com muita clareza a inconsistência no entendi-
mento da chamada realidade clínica quando esta não é fundamenta-
da nos fatos de ciência básica indispensável para definir com
propriedade a biologia do processo que dá origem à doença.

No caso, a própria expressão clínica depende basicamen-
te da alteração biológica do sistema, pois a susceptibilidade às
infecções - fato clínico central na doença, está determinada, pe-
lo tipo particular de deficiência imunológica, pois é bem conhe-
cida a associação de infecções a bactérias piogênicas à deficiên-
cia de produção de anticorpos humorais e de infecções a bacilo -
de Koch, fungos e vírus à deficiências de imunidade celular (Good
et al., 1962).

A presente comunicação pretende estudar um tipo, em par-
ticular, de deficiência imunológica humoral, com base no desen-
volvimento do sistema linfo-reticular e de sua organização morfo-
lógica e funcional, atendo-se principalmente aos problemas liga-
dos à geração, maturação e diferenciação das células B.

Foi proposta recentemente (W.H.O., 1970) classificação
das deficiências imunológicas específicas primárias que são con-
sideradas como resultantes de falha na produção dos efetores da
resposta imune: anticorpos e linfócitos sensibilizados. Assim -
sendo, estão excluídos os estados hipercatabólicos, estados de -
deficiência imunológica devido a causas exógenas como irradiação,
uso de drogas citotóxicas e outros associados a linfopenia por
linfangiectasia intestinal, neoplasias (mielomatose, leucemia, -
etc.), defeitos no sistema do complemento (falta de C_2 ou C_3) e
síndrome de disfunção fagocitária. Foi destacada pelo grupo res

ponsável por essa classificação, a extraordinária variação dos achados imunológicos que dificulta a distribuição em grupos relativamente homogêneos. As doenças, em geral bem caracterizadas, foram classificadas da seguinte forma:

<u>Tipo</u>	<u>Defeito celular</u>		<u>Células in diferenciadas</u>
	<u>B-linf.</u>	<u>T-linf.</u>	
Agamaglobulinemia infantil ligada ao sexo	+	-	-
Deficiência seletiva de IgA	+	-	-
Hipogamaglobulinemia transitória da infância	+	-	-
Deficiência ligada ao sexo, com aumento de IgE	+	-	-
Hipoplasia tímica (síndrome de Di George)	-	+	-
Linfopenia episódica com linfotexina	-	+	-
Deficiência com ataxia-telangiectasia	+	+	-
Deficiência com trombocitopenia e eczema (síndrome de Wiskott-Aldrich)	+	+	-
Deficiência associada a timoma	+	+	-
Deficiência associada a anomalias do crescimento	+	+	-
Deficiência com hipoplasia hematopoética generalizada	+	+	+
Deficiência combinada grave			
a) autossômica recessiva	+	+	+
b) ligada ao sexo	+	+	+
c) esporádica	+	+	+
Deficiência variável (comum, em grande parte não classificada)	+	+	-

(pouco frequente)

A maioria dos pacientes com deficiência imunológica não pode ser classificada de forma indiscutível, sendo por isso, agrupados os casos sob o título de "deficiência imunológica variável". Certamente na classificação proposta pelo grupo de peritos da W.H.O. este grupo, essencialmente heterogêneo, inclui doenças pouco relacionadas entre si.

Nesse grupo estão incluídos os casos de "agamaglobulinemia primária adquirida" também referidos como "agamaglobulinemia de início tardio" ou "agamaglobulinemia do adulto". Os primeiros 3 casos registrados na literatura são devidos a Zinneman et al. (1954). Em dois dos três casos a causa não era aparente, e o terceiro parecia ser secundário a sarcoidose generalizada. Wollheim (1961) e Wollheim et al. (1964) observaram hipogamaglobulinemia adquirida (expressão mais correta porque sempre se encontra concentração mesmo diminuta de pelo menos uma classe de imunoglobulinas) em duas doentes com parentesco distante e discutiram a possibilidade de herança autossômica recessiva estar associada à doença.

Charache et al. (1965) estudaram dois irmãos (6 e 9 anos de idade), sem poder definir a natureza da doença quanto à causa.

As características clínicas registradas com base nesses casos referidos e de outros da literatura, podem ser resumidas da seguinte forma:

1. a deficiência de imunidade humoral representada pela hipogamaglobulinemia só ocorre com início tardio, frequentemente na adolescência ou na fase adulta tendo o indivíduo gozado de vida absolutamente normal na infância.

2. embora a hipogamaglobulinemia seja o traço característico, um grupo minoritário de pacientes pode mostrar também comprometimento da imunidade celular (Wilson et al., 1976).

3. é encontrada, com distribuição igual, em ambos os sexos e, embora não haja influência genética nítida, vários casos em uma única família já foram registrados.

4. alta incidência, relatada na literatura, de outras alterações imunológicas em parentes dos doentes, tais como: lupus eritematoso disseminado, anemia hemolítica, testes positivos para pesquisa de fator reumatóide e púrpura trombocitopênica (Fudenberg et al., 1962).

5. intensa suscetibilidade a infecções piogênicas, particularmente sinusite e pneumonia recorrentes, bem como bronquiectasias crônicas progressivas.

6. diarréia, esteatorrôcia e às vezes enteropatia com perda intestinal de proteínas são frequentes nesses pacientes sem que se demonstre alterações da mucosa intestinal, em geral normal, quando examinada por meio de biópsias repetidas (Rosecan et al., 1955); em alguns casos, foi registrada intensa hiperplasia linfóide nodular do intestino fino (Hermans et al., 1966) que o autor atribui, como possível alternativa de interpretação, a hiperplasia compensadora de tecido linfóide central funcionalmente inadequado. Presença de *Giardia lamblia* é achado praticamente constante nesses pacientes.

7. ocorrência frequente de granulomas não caseosos nos pulmões, baço, pele e fígado sem evidência de patogênese bacteriana (Rosen, 1974).

8. a concentração de imunoglobulinas no sêro dos pacientes com hipogamaglobulinemia adquirida revela usualmente níveis de IgG abaixo de 500mg.% - maiores portanto, que os encontrados nos sêros de crianças com agamaglobulinemia congênita ligada ao sexo. IgA e IgM também podem ser detectadas no sêro.

9. associação de gastrite atrófica, anemia perniciosa e

adenocarcinoma gástrico, foi registrada por Hermans et al., 1974; um dos pacientes desenvolveu mixedema por insuficiência primária da tireóide.

10. informações pouco precisas quanto à morfologia do tecido linfo-reticular existem na literatura; faltam plasmócitos nos linfonodos mas, contrariamente à ausência de folículos notada na agamaglobulinemia ligada ao sexo, pode ser evidente intensa hiperplasia folicular com grandes centros germinativos simulando proliferação de tipo linfomatoso (Peterson et al., 1965).

11. cerca de 10% dos pacientes apresentam timoma (Jacox et al., 1964).

Estabelecido o campo de análise a posição da hipogamaglobulinemia primária adquirida em relação à classificação atualmente disponível das deficiências imunológicas e a síndrome clínico-imunológica correspondente, fixamos o objetivo da presente comunicação: estudo clínico-imunológico de 2 pacientes e respectivas famílias (total de 16 indivíduos) envolvendo além de caracterização imunológica da deficiência observada, estudo detalhado da morfologia do tecido linfo-reticular periférico em tempos diferentes na evolução clínica. Em um dos casos estudados foi possível acumular informações referentes a tempo de observação relativamente longo (6 anos), estas serão utilizadas para discussão das características biológicas da doença em análise, levando-se em consideração especial, a organização funcional do sistema linfóide e o que é conhecido a respeito do seu desenvolvimento, principalmente em termos de diferenciação da linhagem celular associada à produção de imunoglobulinas.

MATERIAL E MÉTODOS

Doente L.C. e família representada pelo pai e 11 irmãos; doente G.C. e família (pais). As características clínicas principais desses doentes são as seguintes:

	L.C.	G.C.
Início da doença	aos 13 anos	primeira internação hospitalar aos 27 anos; início impreciso da doença
Passado mórbido na infância	sem particularidades	sem particularidades
Diarreia + esteatorreia	sintoma importante	sintoma importante
Giardia lamblia	+	+
Perda intestinal de proteína	ausente	ausente
Estado de nutrição	bom; sôro-albuminemia de 3.32g%	regular; sôro-albuminemia de 3.40g%
Infeções repetidas	pneumonia; sinusite; otite; piodermite	bronquiectasia com infecção grave; piodermite
Ocorrências mórbidas na família	inexpressivas	inexpressivas
Linfopenia	ausente	ausente
Biopsia jejunal	normal	normal
Hiperplasia linfóide nodular no intestino	presente	ausente
Concentração de gamaglobulina sérica	0.19g%	0.46g%
Análise do cariótipo	normal	não realizada

MÉTODOS

1. Análise eletroforética do sêro realizada em acetato de celulose e placa de agarose, em tampão de veronal, pH 8,5 e força iônica 0,1.
2. Análise imuno-eletroforética em gel de agar ou de agarose, segundo Grabar et al. (1955).
3. Determinação da concentração sérica de imunoglobulinas por difusão radial segundo a técnica descrita originalmente por Mancini et al., 1965 e Paley et al., 1965, utilizando sêros de referência e placas da firma Hyland. IgE foi dosada por técnica de radio-imuno-ensaio.
4. Imunização ativa com vacina tífica: 3 doses de 0,5ml da preparação de antígenos de *Salsoneilla* foram injetados, com intervalo de uma semana, na região glútea; 14 dias após a última injeção, foi praticada no sêro a pesquisa de anticorpos específicos por técnica de aglutinação. 7 dias após o estímulo foi retirado linfonodo inguinal para exame histológico. Ambos os pacientes foram submetidos a essa prova de estimulação.
5. Reações cutâneas de hipersensibilidade do tipo tardio- foram usadas tuberculina (0,1ml diluição a 1:1000, via intradérmica) e P.P.D. (5UT) para análise da imunidade pré-existente; sensibilização ativa foi praticada com solução a 30% de 2:4-dinitroclorobenzeno em acetona (0,4ml aplicado sobre papel de filtro recortado com aproximadamente 1cm. de diâmetro; o papel será removido após 24h., e o teste era realizado 14 a 25 dias depois, aplicando 0,05ml. de solução a 0,10 % nas mesmas condições já referidas. Uma dose-teste, diluída, era aplicada simultaneamente à sensibilização, como controle afim de testar sensibilização pré-

existente. Considerou-se neste teste como reação positiva + a presença de eritema; ++ eritema e enduração; +++ vesiculação e ++++ a formação de bolhas e de úlceras. Aceitou-se como positiva a reação cutânea representada pelo menos, por eritema e enduração.

6. Testes de rejeição de aloenxêrto foram praticados no doente L.C.; pequeno fragmento de pele de doador não relacionado - foi fixado a leite receptor preparado no ante-braço do paciente e observou-se o comportamento do tecido nos dias subsequentes.- Completada a observação, testou-se a reação de rejeição acelerada por sensibilização a alo-antígeno, repetindo-se o enxêrto com pele da mesma origem. Testes dessa natureza foram praticados duas vezes durante a evolução com intervalo de 4 anos.

7. Pesquisa de linfócitos TeB por meio de marcadores de superfície. Os linfócitos foram obtidos do sangue periférico, heparinizado, por separação em gradiente de Ficoll-Hipaque ($d = 1,080\text{g/cm}^3$) de acordo com o processo sugerido por Boyan, 1963. A suspensão resultante, em meio de Eagle, consistia de 85 a 90% de linfócitos os quais apresentavam invariavelmente viabilidade superior a 95% das células, avaliada pela exclusão de corante (azul de Trypan).

1. E-rosetas: 0,1ml de suspensão contendo 2×10^6 linfócitos/ml. meio de Eagle eram misturados com volume igual de suspensão, de eritrócitos de carneiro a 0,5% à temperatura ambiente e após centrifugação a 200xg durante 5 minutos, incubou-se a preparação durante 1 hora em banho de gelo. Após re-suspensão delicada do sedimento, contou-se em hematócrito pelo menos 500 linfócitos, considerando-se positiva a roseta contendo o mínimo de 3 eritrócitos fixados ao linfócito (Wybran et al., 1972; Mendes et al., 1973).

2. SAC- rosetas: 0,1ml. de suspensão de eritrócitos sensibilizados com anticorpo de coelho e incubados com diluição a 1:10 do complemento de camundongo, foi misturado com volume igual de suspensão de linfócitos contendo $1,5$ a $2,0 \times 10^6$ linfócitos/ml. após incubação a 37°C durante 30 minutos os tubos foram centrifugados a $200 \times g$ durante 5 minutos, procedendo-se as contagens como já foi referido.

3. SmIg (imunoglobulinas de superfície celular): 0,1ml de suspensão contendo $1,5 - 2,0 \times 10^6$ linfócitos em PBS + BSA 5% foram incubados com 0,10ml. antisêro diluído a 1:5 contendo anticorpos conjugados com isotiocianato de fluoresceína mono-específicos para determinantes antigênicos de cadeia H próprios de IgG IgA e IgM, em técnica de imunofluorescência direta. A incubação foi processada a 4°C durante 45 minutos; as células foram em seguida lavadas 4 x em PBS-BSA adicionada de azida sódica a 0,01% a 4°C , procedendo-se a leitura imediata (International Union of Immunological Societies Report, 1975).

8. Dosagem do complemento total e componentes do complemento: realizada pelo Dr. S.Piva, por técnica de fixação do complemento para C_1 e C_2 e imunodifusão radial para C_3 , C_4 e C_5 - (Nelson et al., 1966; Lewis et al., 1971).

9. Estudo histológico de linfonodos: os linfonodos foram retirados da região inguinal antes e após imunização com vacina tífica em um paciente (L.C.) e somente após imunização no doente G.C. Recentemente linfonodo submandibular foi retirado do doente L.C. Na remoção dos linfonodos foram levados em conta os cuidados devidos quanto à delicadeza de manipulação do tecido. Para estudo em microscopia ótica os linfonodos foram fixados em formol a 10% e processados da forma rotineira no Departamento de Patolo

gia. Para estudo da ultra-estrutura, pequenos fragmentos foram -
fixados em glutaraldeído a 6% tamponado ao pH 7,4 com fosfato -
0,1 M, a 4°C durante até 4 horas e em seguida em fixador isotô-
nico de óxido de osmio; após obtido corte ultra-fino e corado, o
material foi examinado em microscópio eletrônico Siemens. Essa a
nálise foi realizada na Seção de Microscopia Eletrônica do Insti-
tuto Agrônomo de Campinas (Dr. E. Aytajima).

10. Estudo radiológico: foram realizados exames contras-
tados do intestino grosso pela técnica do duplo contraste em am-
bos os pacientes; flebografia com técnica de subtração para ex-
ploração do tívus e, linfografia dos membros inferiores no doen-
te L.C.

11. Exame de perda intestinal de proteínas: foi realiza-
do em ambos os pacientes no Centro de Medicina Nuclear (USP) uti-
lizando albumina marcada com Cromo 51.

12. Estimulação com levamisol foi praticada no doente L.
C.; a dose utilizada foi de 150mg em dias alternados durante 2
semanas (dose total de 6 comprimidos). Foi determinada em segui-
da, a concentração de imunoglobulinas e repetida a análise imuno-
eletroforética do paciente.

Para os vários testes de laboratório grupos-contrôle fo-
ram estabelecidos segundo a idade e sexo dos pacientes estudados
com exceção da dosagem dos componentes do complemento em que fo-
ram utilizados como valores de referência principalmente dados -
da literatura.

13. Pesquisa de auto-anticorpos e outros testes imunoló-
gicos: os seguintes testes foram realizados: pesquisa de fator an-
ti-mitocôndria, anti-glomérulo; pesquisa de fator reumatóide, an-
ticorpo anti-DNA e anti-tireoglobulina - usando estas, particu-

las de latex revestidas do antígeno próprio. Os outros testes foram praticados por imunofluorescência indireta usando cortes ao criostato do fígado, estômago e rim de rato - material congelado, não fixado e coloração com anti-immunoglobulina marcada capaz de reagir com determinantes de IgG, IgA e IgM.

Tabela 1

Análise eletroforética do sêro do docente L.C. e família e
do docente G.C.

	Proteína total	Albumina	Globulinas			
			Alfa 1	Alfa 2	Beta	Gama
R.C.	5,30g%	2,76g%	0,20g%	0,63g%	0,63g%	1,08g%
Lu.C.	6,80g%	3,80g%	0,28g%	0,61g%	0,89g%	1,23g%
M.C.	6,95g%	4,00g%	0,32g%	0,82g%	0,66g%	1,15g%
E.C.	7,40g%	4,27g%	0,25g%	0,75g%	0,81g%	1,32g%
V.C.	6,40g%	3,75g%	0,22g%	0,54g%	0,87g%	1,02g%
D.C.	6,30g%	3,53g%	0,21g%	0,75g%	0,75g%	1,06g%
O.C.	5,50g%	3,23g%	0,19g%	0,62g%	0,61g%	0,85g%
Ev.C.	6,20g%	3,40g%	0,14g%	0,65g%	0,48g%	1,57g%
A.C.	6,80g%	3,50g%	0,21g%	0,86g%	0,72g%	1,52g%
Ad.C.	5,30g%	2,96g%	0,20g%	0,62g%	0,56g%	0,96g%
J.C.	7,20g%	3,29g%	0,24g%	1,03g%	1,03g%	1,61g%
(n = 20)			0,4±	0,6±	0,8±	1,3±
Valores normais	6,0-7,5g%	3,9±0,3g%	0,1g%	0,1g%	0,1g%	0,2g%
L.C. (1972)	5,1g%	3,18g%	0,36g%	1,05g%	0,51g%	0
L.C. (1976)	5,3g%	2,98g%	0,43g%	1,11g%	0,71g%	0,07g%
L.C. (após levamisol)	5,1g%	3,31g%	0,39g%	0,70g%	0,70g%	0
G.C.	7,0g%	3,47	0,31g%	1,56g%	1,20g%	0,46g%

Tabela II

Concentração de imunoglobulinas IgG, IgA e IgM

	IgG		IgA		IgM	
	1972	1976	1972	1976	1972	1976
O.C.	1100mg%	1100mg%	150mg%	185mg%	72mg%	115mg%
E.C.	1100mg%	1370mg%	125mg%	215mg%	90mg%	165mg%
V.C.	1450mg%	1100mg%	155mg%	320mg%	26mg%	58mg%
R.C.	2550mg%	1600mg%	155mg%	300 mg%	135mg%	220mg%
A.C.	1900mg%	1450mg%	200mg%	370mg%	72mg%	165mg%
Ev.C.	3400mg%	1550mg%	200mg%	175mg%	90mg%	105mg%
J.C.	2000mg%	1620mg%	200mg%	260mg%	125mg%	260mg%
Lu.C.	1900mg%	1200mg%	155mg%	260mg%	44mg%	105mg%
Ad.C.	1150mg%	910mg%	60mg%	80mg%	72mg%	105mg%
W.C.	1450mg%	-	76mg%	-	44mg%	-
M.C.	1900mg%	1300 mg%	155mg%	300mg%	100mg%	105mg%
G.C.	0	-	0	-	20mg%	-
Ar.C.	1200mg%	-	200mg%	-	200mg%	-
Ma.C.	1200mg%	-	125mg%	-	100mg%	-
Valores normais (n=20)	1437± 250mg%		220±100mg%		96±20mg%	

Tabela III

Testes imunológicos realizados no doente L.C.

	Normal	L.C.
Leucócitos	5000-8000/mm ³	6500/mm ³
Linfócitos,%	15 - 50%	20%
E-rosetas	35 ± 10%	20%
EAC-rosetas	20 ± 6%	25%
SaIg: IgG	10 ± 5%	10%
IgM	9 ± 3%	4%
IgA	4 ± 2%	6%
Aglutininas anti- antígenos de Sal- monella(após imu- nização)	-	0
Testes cutâneos		
PPD(5UT)	-	++(1972) 0(1976)
DNOR		+++ (1972) 0(1976)
Rejeição de alo- enxerto		14 dias + resposta secun- dária (1972) - 25 dias(1976)
Imunoglobulinas séricas		
IgG	1437 ± 250mg%	< 280mg%
IgA	220 ± 100mg%	0
IgM	90 ± 20mg%	< 37mg%
(Valores inalterados após levamisol)		
IgD	-	não detectada
IgE	< 300 U/ml	< 25,00U/ml

Tabela IV

Desagem do complemento total e componentes no doente L.C.

		Valores normais
Complemento total	229,5UCH _{50%}	150 - 250 UCH _{50%}
C ₁	180.000CFU/ml	150.000-300.000CFU/ml
C ₂	860 CFU/ml	800 - 1700 CFU/ml
C ₃	72 mg%	80 - 140mg%
C ₄	79,2mg%	20 - 40 mg%
C ₅	18 mg%	8,1 - 25,2mg%

Pesquisa de auto-anticorpos séricos no doente L.C. e família:

Utilizando-se sôro diluído a 1:10, globulina de coelho, conjugada com isotiocianato de fluoresceína, capaz de reconhecer determinantes δ , α e μ , e cortes de tecido ao criostato, a pesquisa foi negativa para tôdas as amostras analisadas; não foi possível, portanto, com essa técnica, demonstrar presença de anticorpos anti-núcleo, anti-músculo liso, anti-mitochondria, anti-antígeno microsomal de célula parietal e anti-glomérulo. As preparações de latex sensibilizadas com DNA, tireoglobulina e gama-globulina, utilizadas nos testes, produziram resultados também negativos, ou seja, não foi detectada presença de anticorpos anti-DNA, anti-tireoglobulina e de fator reumatóide. Os soros de referência utilizados como controles positivos forneceram em tôdos os testes, resultados seguramente positivos em títulos superiores a 1:100.

ESTUDO HISTOLÓGICO:

Como pode-se verificar nas fig. 1-7 a organização geral histológica do linfonodo antes-se de forma a permitir o conhecimento das várias zonas: cortical (cortex externa), folículo linfóide, centro germinativo, zona paracortical (cortex interna), cordões medulares e sinusóides linfáticos. As fotografias correspondem a cortes de linfonodo inguinal retirado antes de estimulação praticada com vacina tífica. Nota-se que o seio marginal bem como os da medular se apresentam dilatados, contendo numerosas células histiocitárias. Os folículos da zona cortical tem estrutura pouco nítida e, geral, sem centros germinativos. Alguns folículos como o da fig. 2, mostram padrão de organização celular normal, com aspecto uniforme em relação às células que contem. É bem evidente na estrutura, a presença de células reticulares, mas faltam as grandes células linfóides, numerosas usualmente nos centros germinativos sob ação do estímulo antigênico. Nota-se intensa proliferação vascular e na fig. 7, a presença de células linfóides de núcleo grande e cromatina pouco condensada. Não há destinação de células linfóides na zona cortical e paracortical mas nota-se a ausência de plasmócitos.

As figuras 8 e 9 mostram cortes do linfonodo retirado após imunização. O centro germinativo mostra um padrão uniforme de células claras, e ausência do manto de células linfóides perifolicular. Não há plasmócitos como se pode ver na fig. 9. Esses aspectos mostram que o linfonodo não respondeu ao estímulo antigênico.

A série de 10 a 15 mostra cortes de linfonodo obtido após 4 anos de evolução do processo. Trata-se de linfonodo sub -

mandibular que aparentemente achava-se sob ação do estímulo reacional pois se encontrava na área de drenagem de região anatômica exposta a infecções frequentes como foi possível constatar no paciente.

Além do espessamento da cápsula nota-se na fig.10 o mesmo aspecto monomórfico de células claras de tipo reticular com organização frouxa do centro germinativo e ausência do manto de linfócitos em torno do centro claro. A fig. 12 mostra com clareza o tipo de célula que predomina no centro germinativo: células reticulares de aspecto epitelióide. A fig. 13 permite avaliar o grau de depleção em células linfóides na cortex profunda ou zona paracortical, a qual é mais evidente ainda nas fig. 14, 15 e 16; a população linfocitária faz-se rarefeita e destaca-se o fundo de células reticulares. Na fig. 16, a substituição de parte da estrutura na cortex profunda e medular por tecido adiposo.

Comparando-se esses aspectos com os anteriores nota-se uma modificação importante que é a depleção agora global mas mais evidente, pelo contraste, da área para-cortical.

A fig. 17 corresponde a biópsia retal do doente G.C. - que apresenta um infiltrado de células na sub-mucosa de tipo disperso sem organização funcional evidente. Ao contrário, a fig.18 mostra folículo muito grande com centro germinativo proeminente contendo muitos macrófagos. Apesar disso, não se nota na fig.19, que mostra o centro germinativo em maior aumento, células linfóides grandes em atividade de proliferação.

A série 20 - 22, mostra cortes de linfonodo do paciente G.C. após estimulação antigênica. Nota-se como no outro caso, hipotrofia do tecido linfóide folicular e discreta reticulose sinusal. Não há resposta histo-funcional evidente ao estímulo e -

como se pode ver na fig. 22, há depleção de áreas extensas em células linfóides com presença de tecido adiposo,

É evidente na fig. 23 a presença de grandes folículos com centro germinativo proeminente, substrato anatômico do quadro radiológico de hiperplasia linfóide nodular do paciente L.C.

A figura 24 mostra detalhe de ultra-estrutura do centro germinativo de linfonodo do paciente L.C.; os nucleos apresentam estrutura com distribuição frouxa de cromatina e forma irregular, aspecto que se repete na biópsia retal do mesmo paciente (fig. 25).

As fig. 26, 27 e 28 mostram célula linfóide com escasso desenvolvimento do retículo endoplásmico e presença de escassos poli-ribosomos.

Na fig. 29 são nitidamente evidentes, em nucleos de células provavelmente reticulares, inclusões com arranjo bem definido que parece obedecer a um padrão peculiar de organização. São denominados corpos nucleares e segundo Kristin Henry et al. (1969) representam organela nuclear constante e embora tenha função ignorada, sua presença está associada a estados de hiperatividade nuclear. Patrizi et al. (1969), entretanto, sugerem que processo de replicação viral é o responsável pela produção desses corpos nucleares. Bouteille et al. (1967) concluem que os corpos nucleares estão relacionados com hiperatividade celular da qual varias poderiam ser as causas: fisiológica, hormonal, tumoral, efeito de drogas ou de infecções a virus.

Análise imunoelctroforética:

Demonstra, com clareza, a ausência de arcos de precipitação correspondentes às classes principais de imunoglobulinas IgG, IgA e IgM, ao passo que não se observam alterações significativas nos outros membros da família tanto de L.C. como de G.C. Com sôro anti- γ nota-se no sôro de L.C., zona

de precipitação heterogênea provavelmente relacionada com a administração terapêutica de gama globulina comercial.

Exame radiológico:

A figura 34 demonstra a presença em A de imagens características de hiperplasia linfóide nodular. A figura B mostra - com clareza que após 1 ano e meio aproximadamente, essas imagens já não são demonstráveis.

Na fig. 35 a flebografia tímica mostra um enchimento vascular que corresponde a um padrão encontrado normalmente, segundo a experiência desenvolvida com esse tipo de exame no Departamento de Radiologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

A linfografia representada na fig. 36 mostra enchimento com características normais.

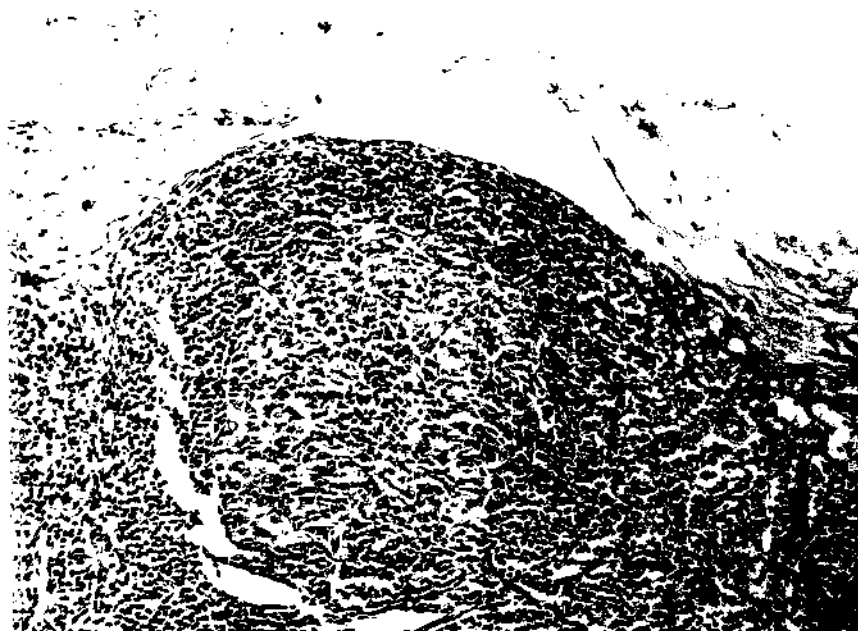


Fig. 1 - Doente L.C. (1971); linfonodo, zona cortical. Coloração pela hematoxilina-eosina; 100x.

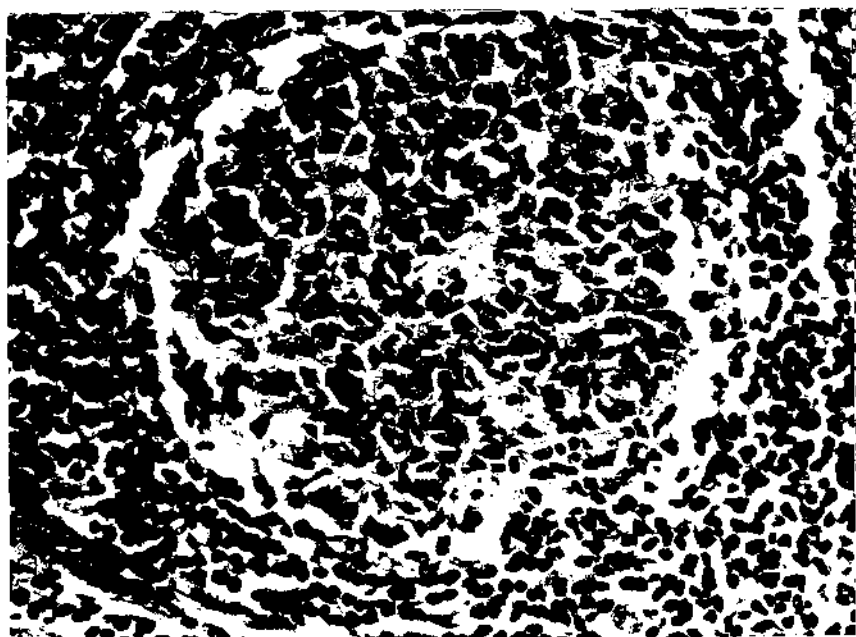


Fig. 2 - Doente L.C. (1971); linfonodo, zona cortical. Centro germinativo. Coloração pela hematoxilina-eosina; 150x.

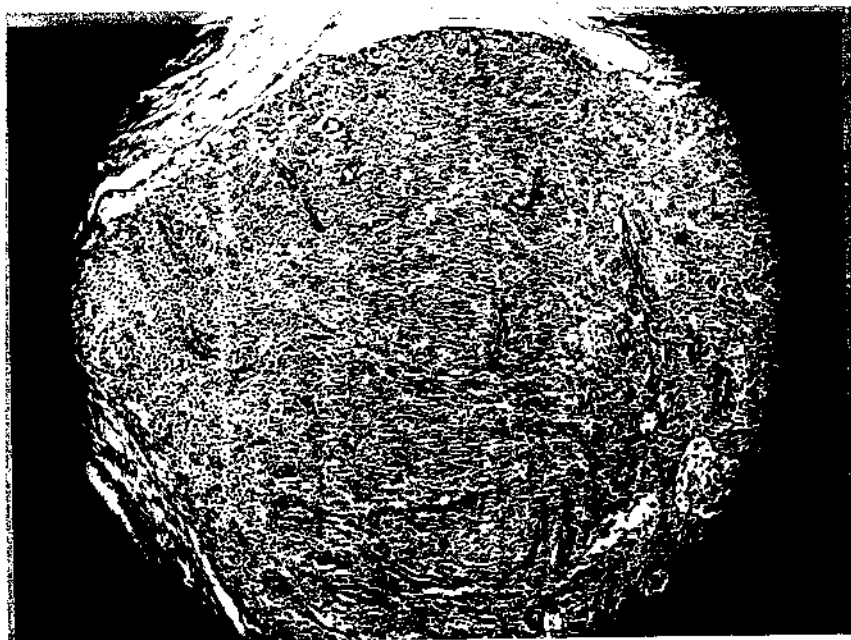


Fig. 3 - Doente J.C. (1971): linfonodo, cortex abrangendo as partes interna e externa. Coloração pela hematoxilina-eosina; 100x.

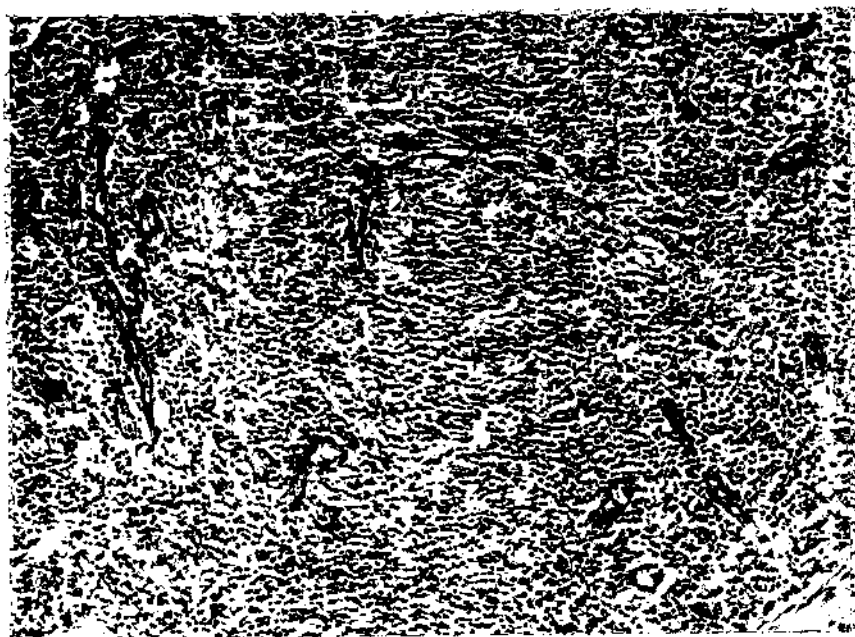


Fig. 4 - Igual a figura anterior; 100x.



Fig. 5 - Doente L.C. (1971): linfonodo, zona medular.
Coloração pela hematoxilina-eosina; 100x.

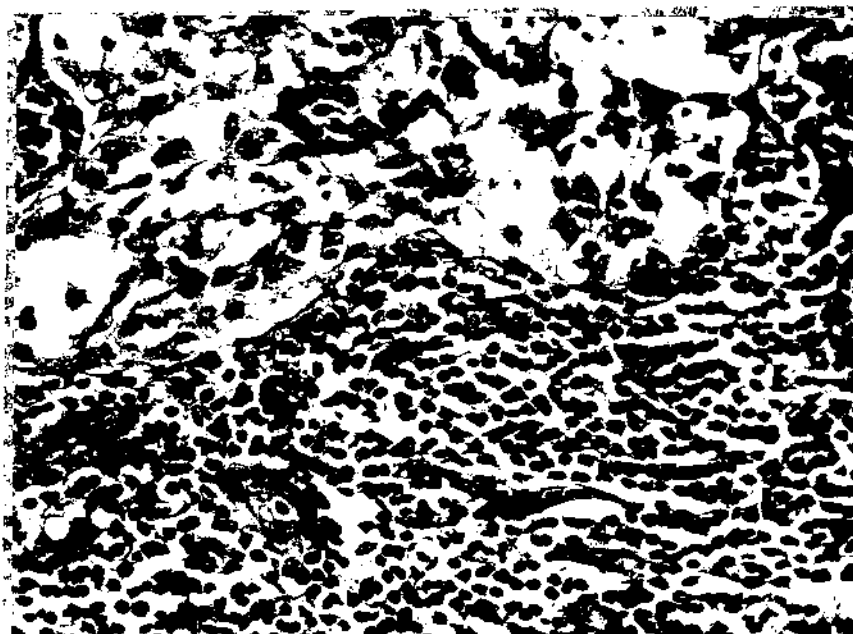


Fig. 6 - Doente L.C. (1971): linfonodo, zona medular.
Coloração pela hematoxilina-eosina; 250x.

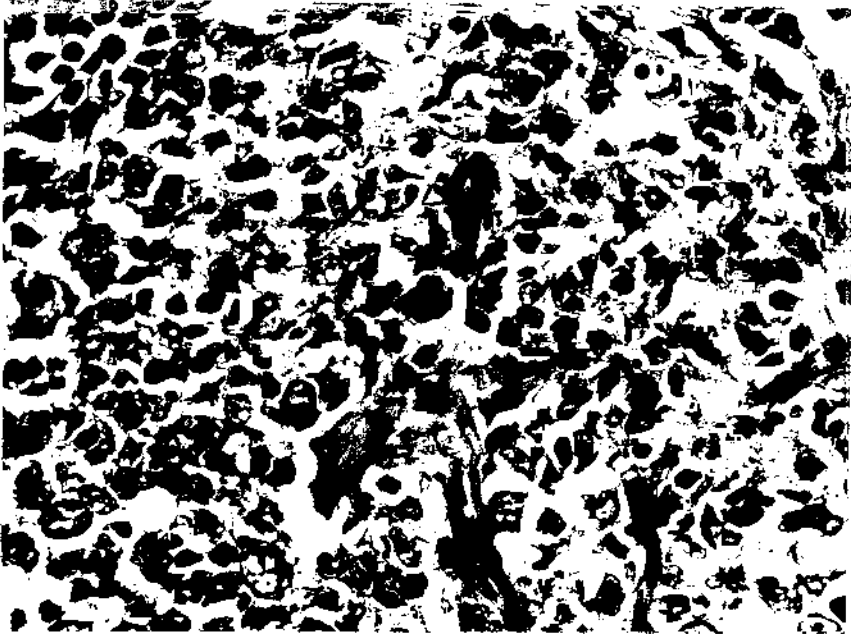


Fig. 7 - Igual a figura anterior; 250x.

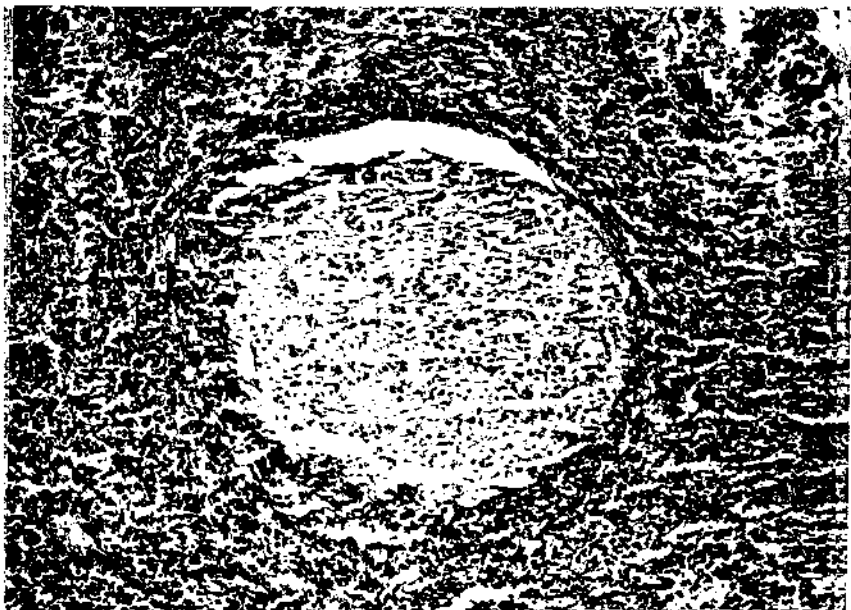


Fig. 8 - Doente L.C.: linfonodo, zona cortical.
Coloração pela hematoxilina-eosina; 100x.

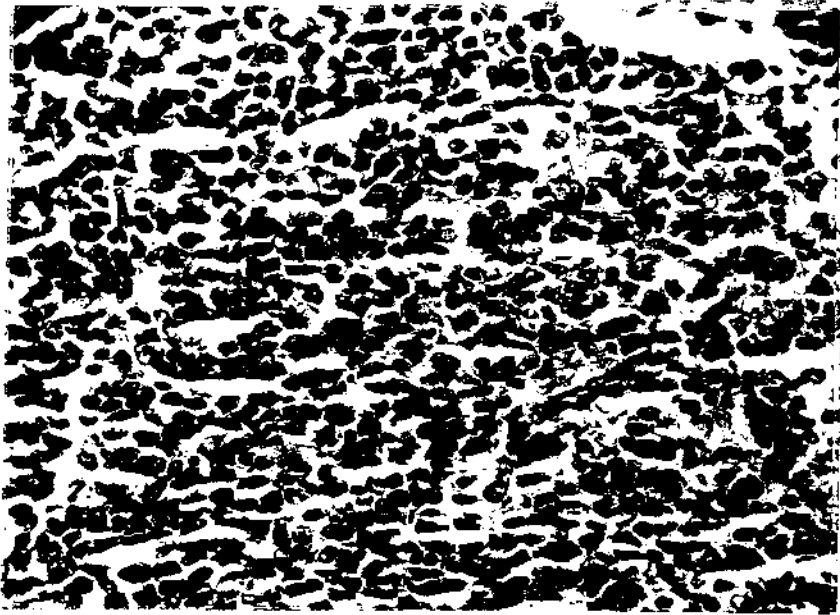


Fig. 9 - Doente L.C.: linfonodo, zona paracortical.
Coloração pela hematoxilina-eosina; 250x.

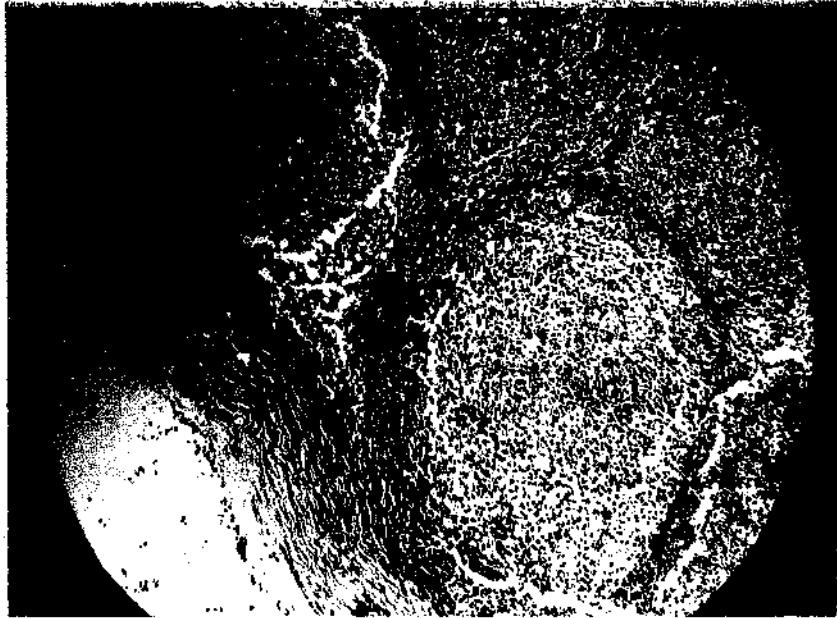


Fig.10 - Doente L.C.(1976): linfonodo, zona cortical.
Coloração pela hematoxilina-eosina; 60x.



Fig. 11 - Igual a Figura anterior; 100x.

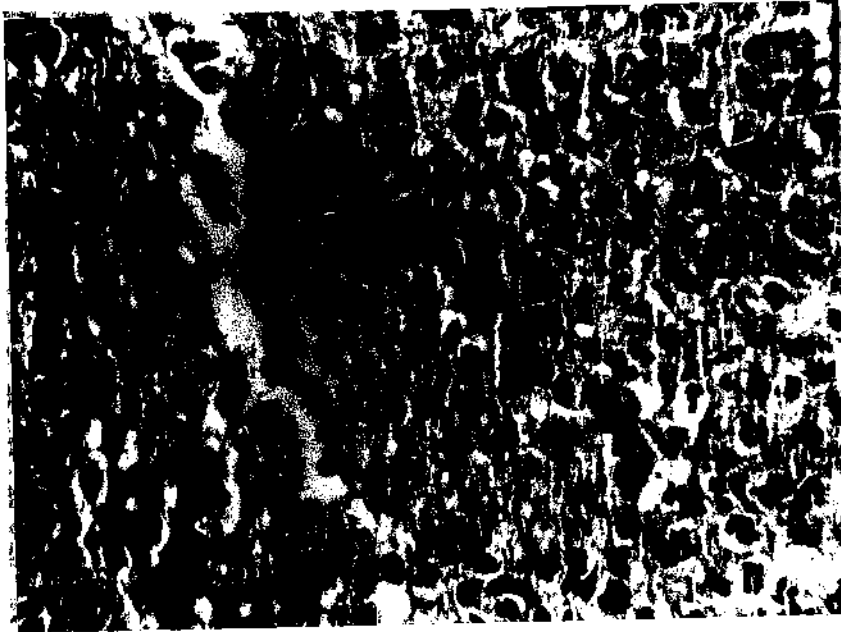


Fig. 12 - Ocente L.C. (1976): linfonodo, detalhe de centro germinativo cortical. Coloração pela hematoxilina-eosina; 250x.

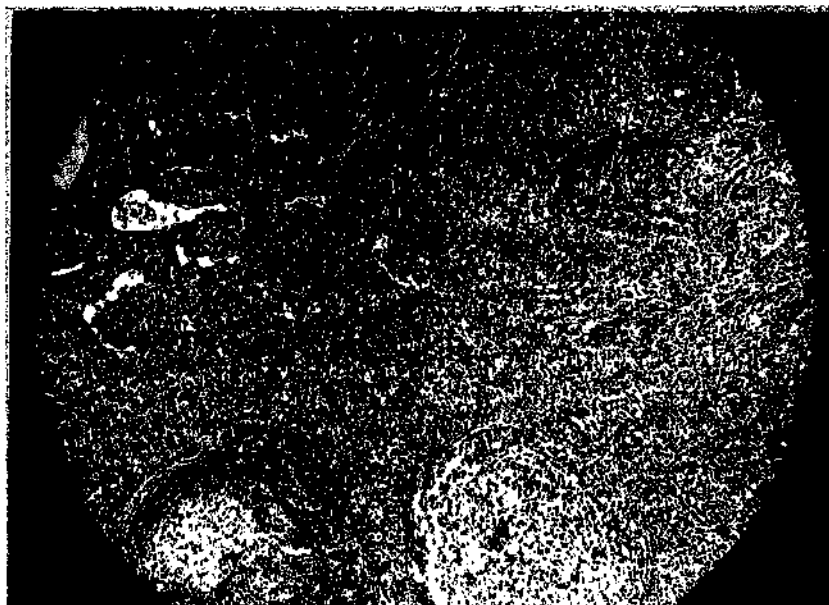


Fig. 13 - Doente L.C.(1976): linfonodo, zona paracortical e cortex externa. Coloração pela hematoxilina - eosina; 60x.

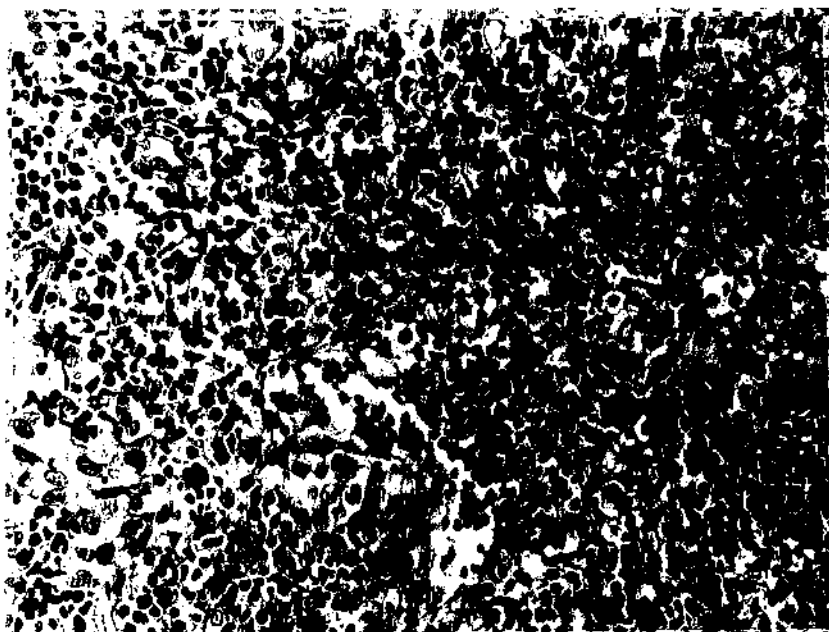


Fig. 14 - Doente L.C.(1976): linfonodo, zona para cortical. Coloração pela hematoxilina-eosina; 100x.

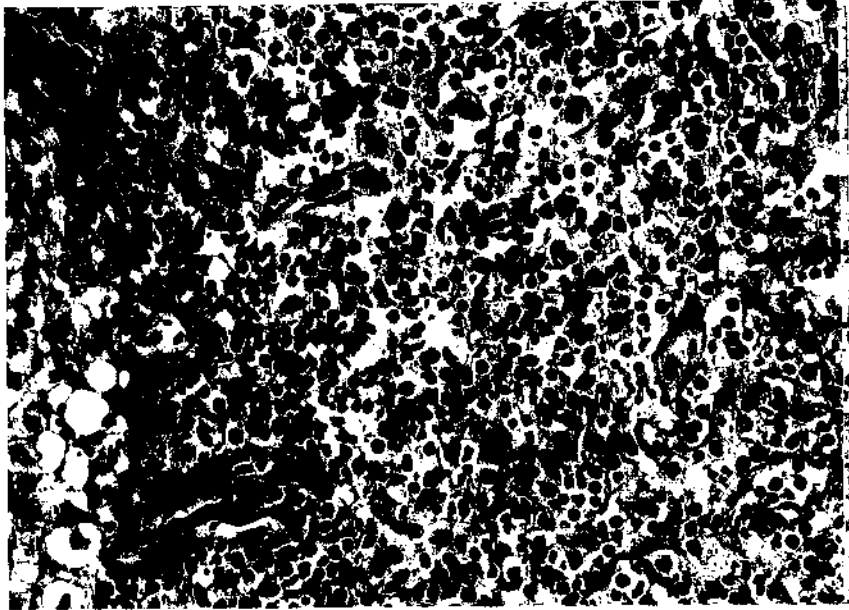


Fig. 15 - Doente L.C.(1976): linfonodo, cortex externa e interna. Coloração pela hematoxilina-eosina; 160x.

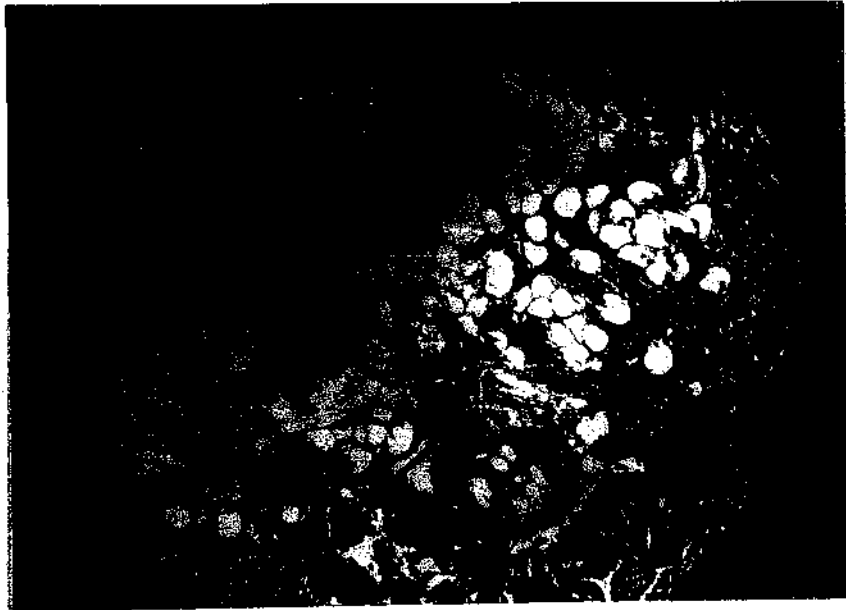


Fig. 16 - Doente L.C.(1976): linfonodo, zona paracortical e medular. Coloração pela hematoxilina-eosina; 60x.

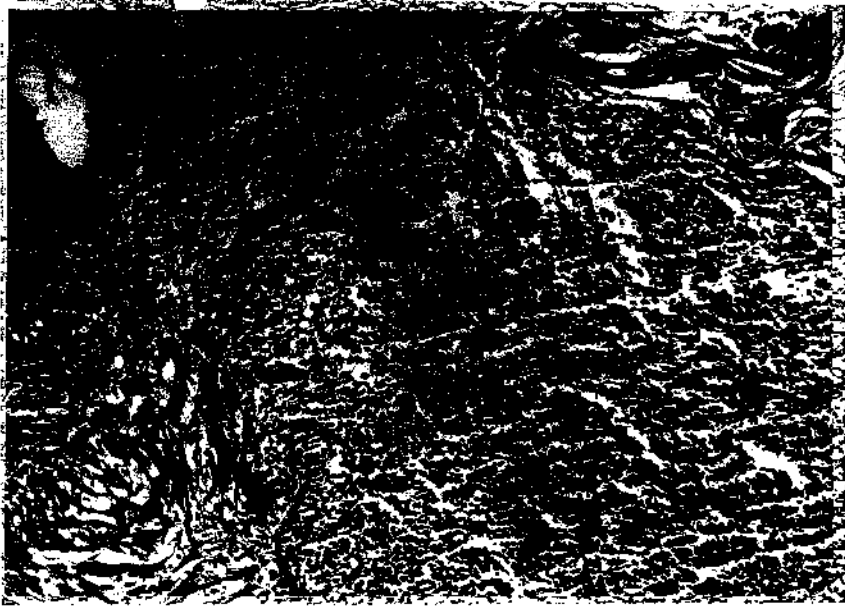


Fig. 17 - Doente G.C.: biopsia retal. Coloração pela hematoxilina-eosina; 100x.

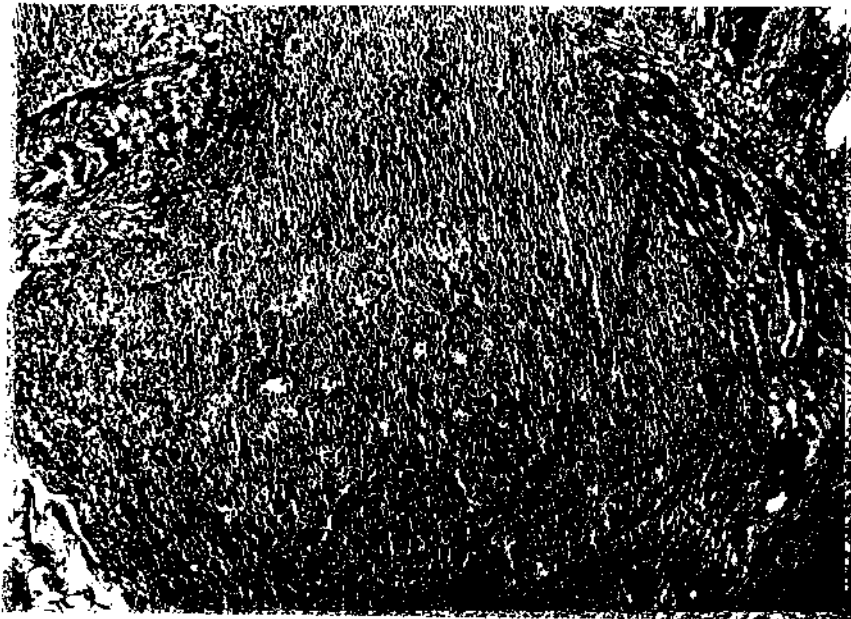


Fig. 18 - Doente L.C.: biopsia retal. Coloração pela hematoxilina-eosina; 100x.

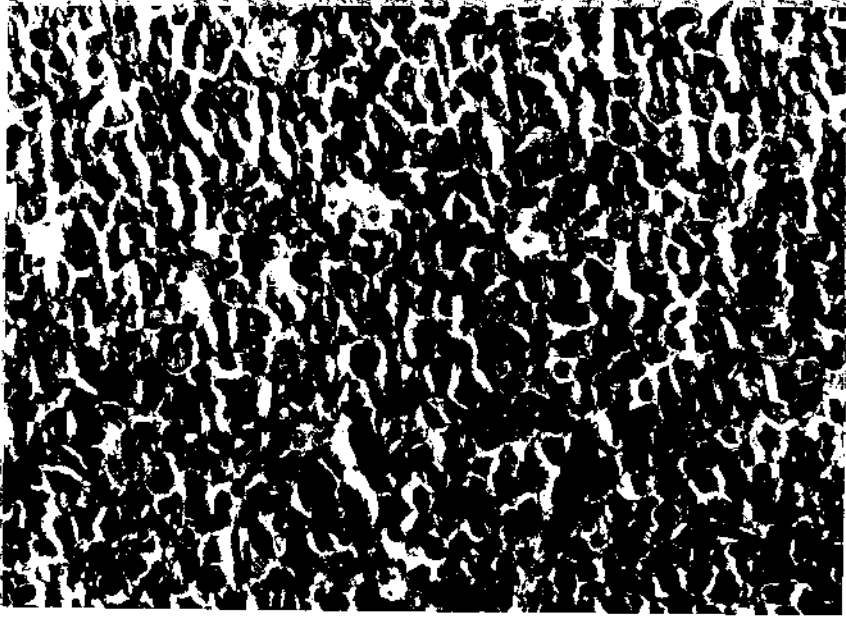


Fig. 19 - Igual a figura anterior; 250x.



Fig. 20 - Doente G.C.: linfonodo, zona cortical.
Coloração pela hematoxilina-eosina; 100x.

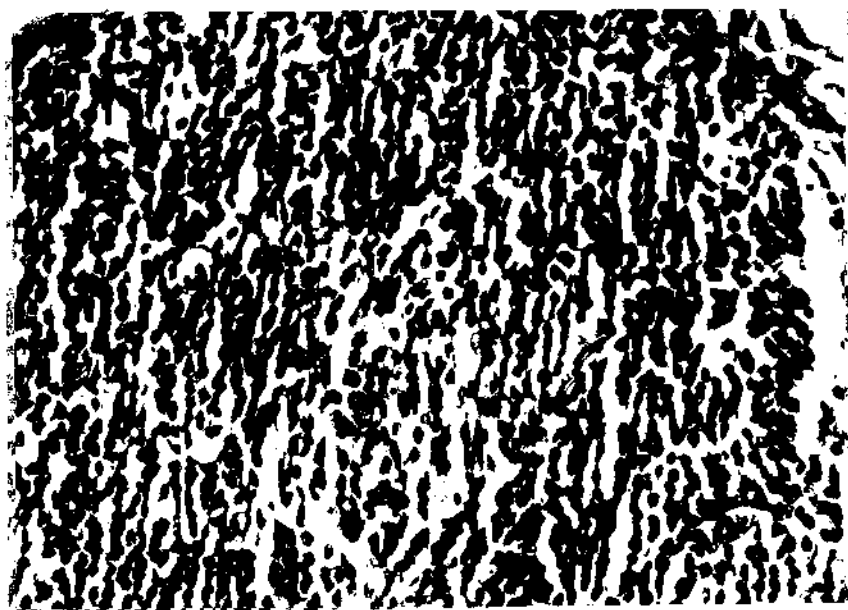


Fig. 21 - Doente G.C.: linfonodo, zona cortical.
Coloração pela hematoxilina-eosina; 250x.



Fig. 22 - Doente G.C.: linfonodo, zonas paracortical
e cortical. Coloração pela hematoxilina-eo
sina; 100x.

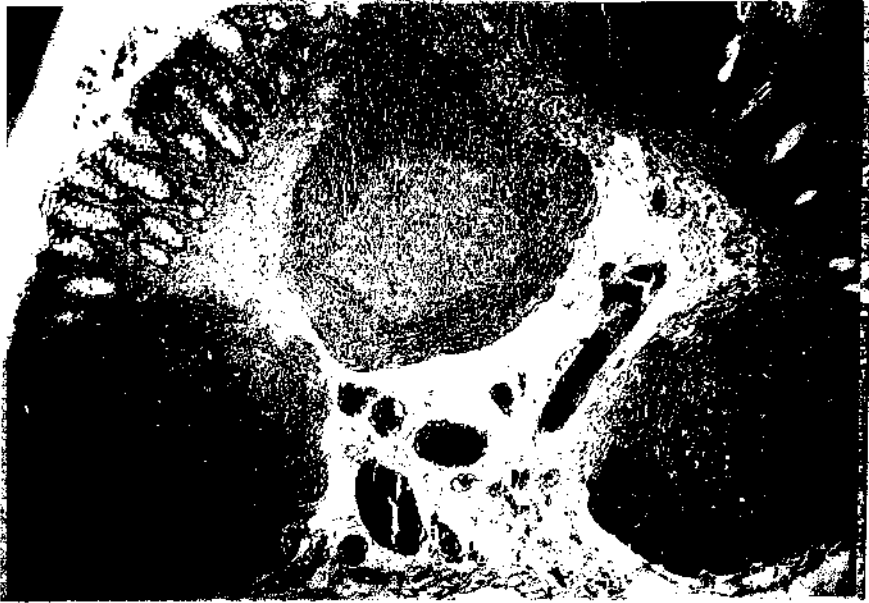


Fig. 23 - Doente L.C.: biópsia retal. Coloração pela hematoxilina-eosina; 60x.

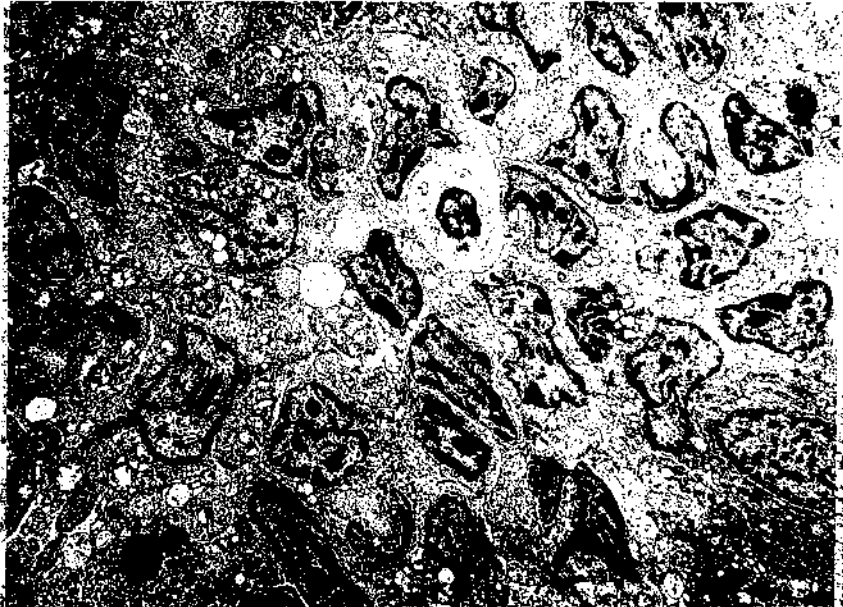


Fig. 24 - Doente L.C.(1971): linfonodo, centro germinativo; 3.000x.

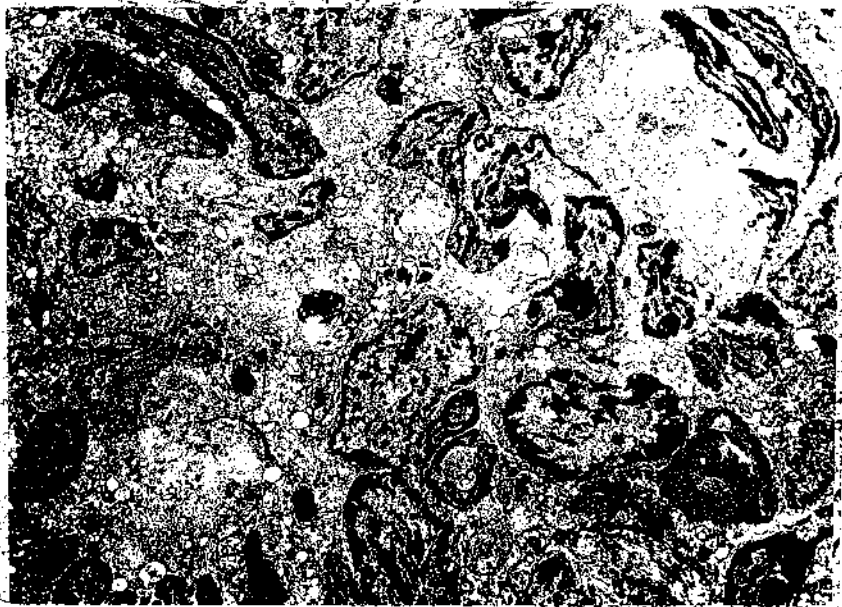


Fig. 25 - Doente L.C. (1971): biopsia retal; 3.000x.

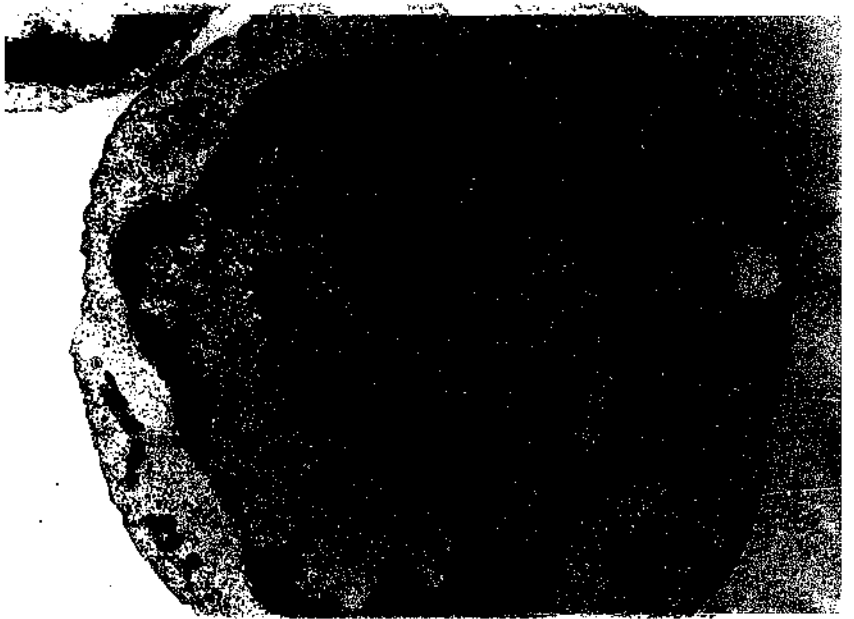


Fig. 26 - Doente L.C. (1971): linfonodo; 10.000x.

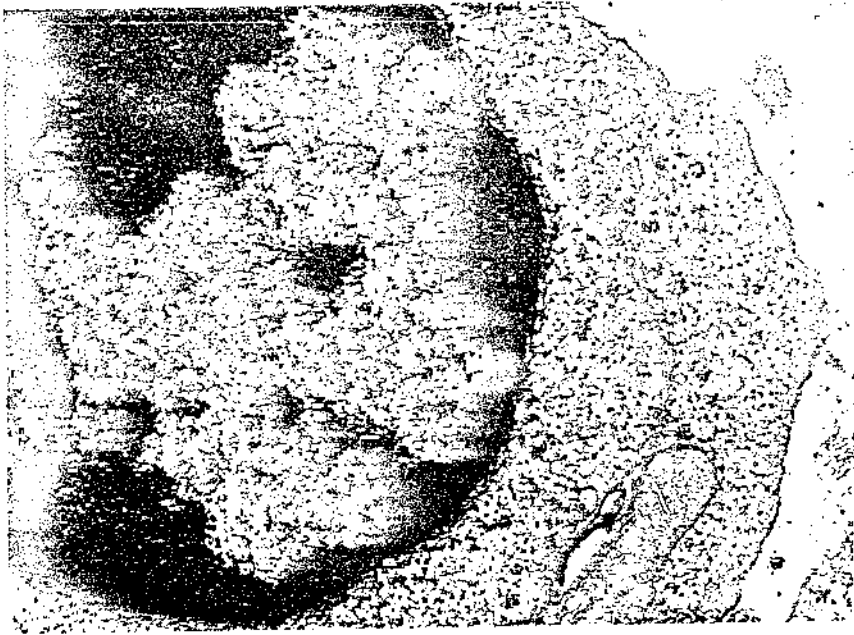


Fig. 27 - Doente L.C.(1971): linfonodo; 14.000x.



Fig. 28 - Doente L.C.(1971): linfonodo; 20.000x.

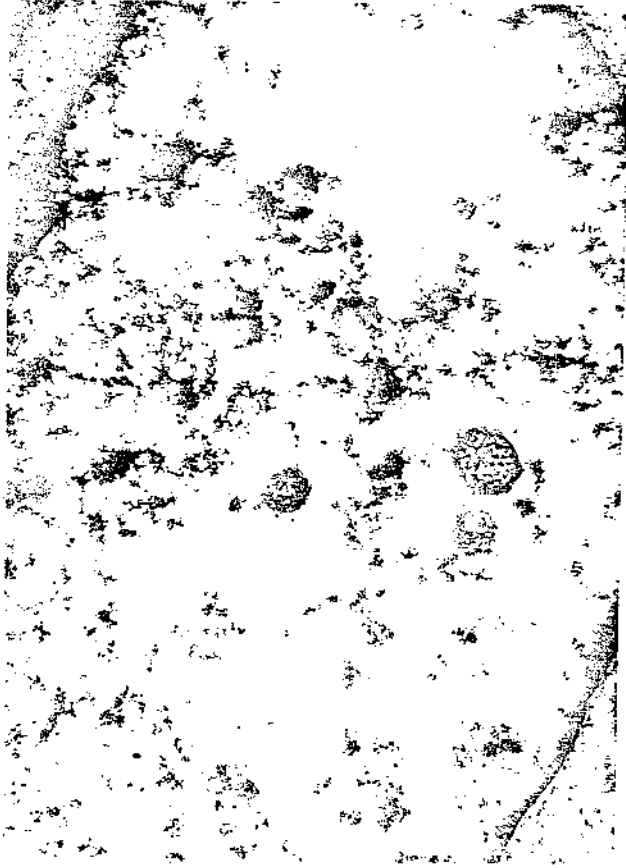


Fig. 29 - Doents L.O. (1971): Microfossil; 20,000x.

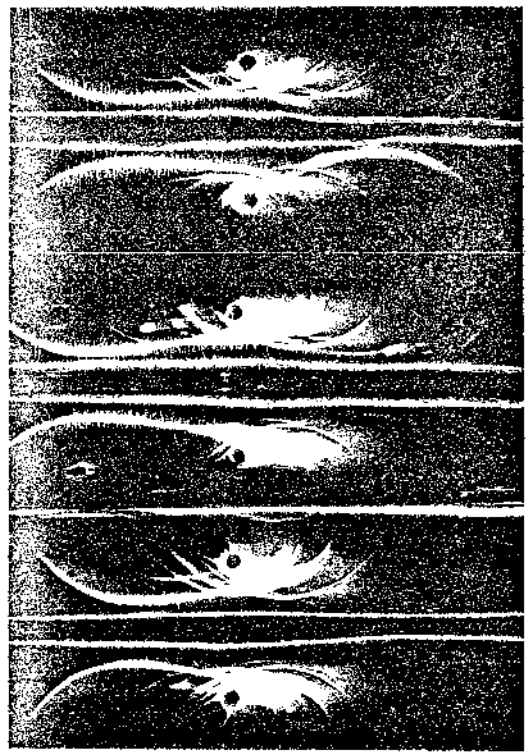
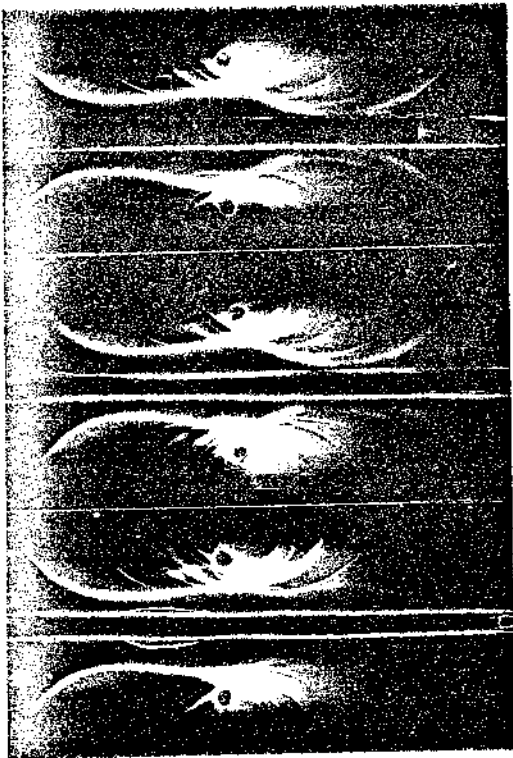
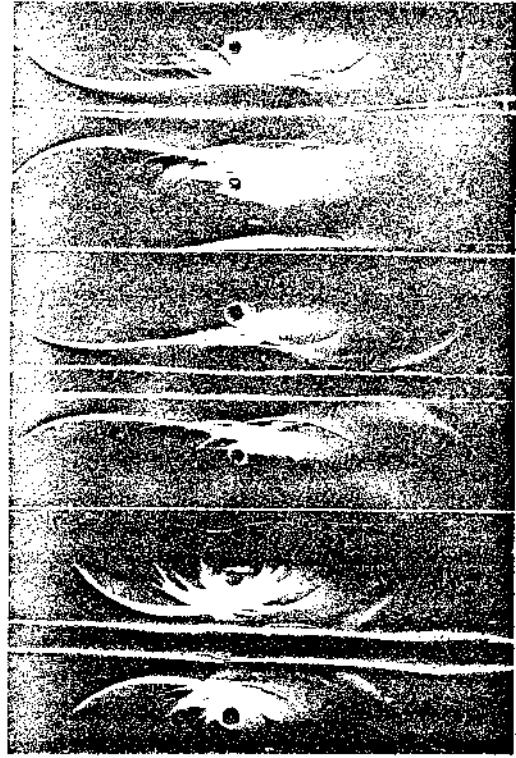


Fig. 30 - Análise imunoelectroforética dos membros da família L.C. (excluído o doente).

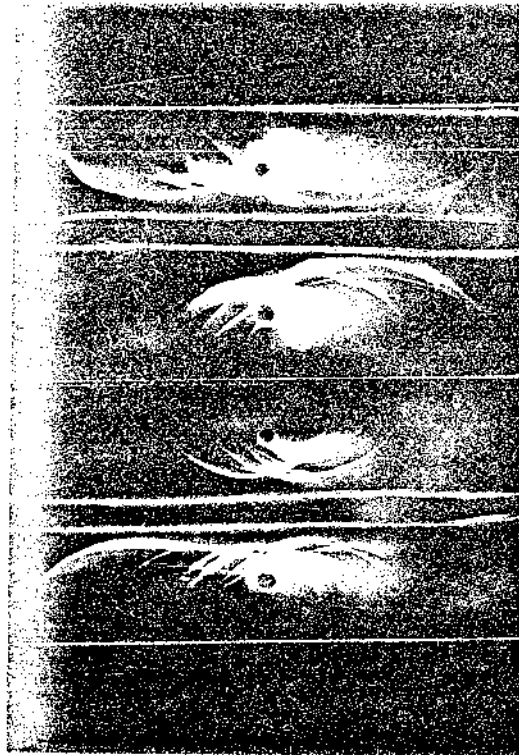


Fig. 31 - Análise imunoelctroforética: doente L.C.

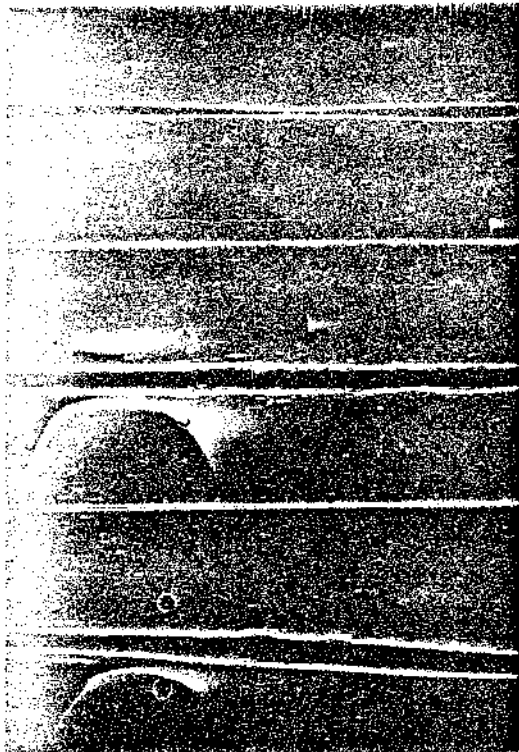
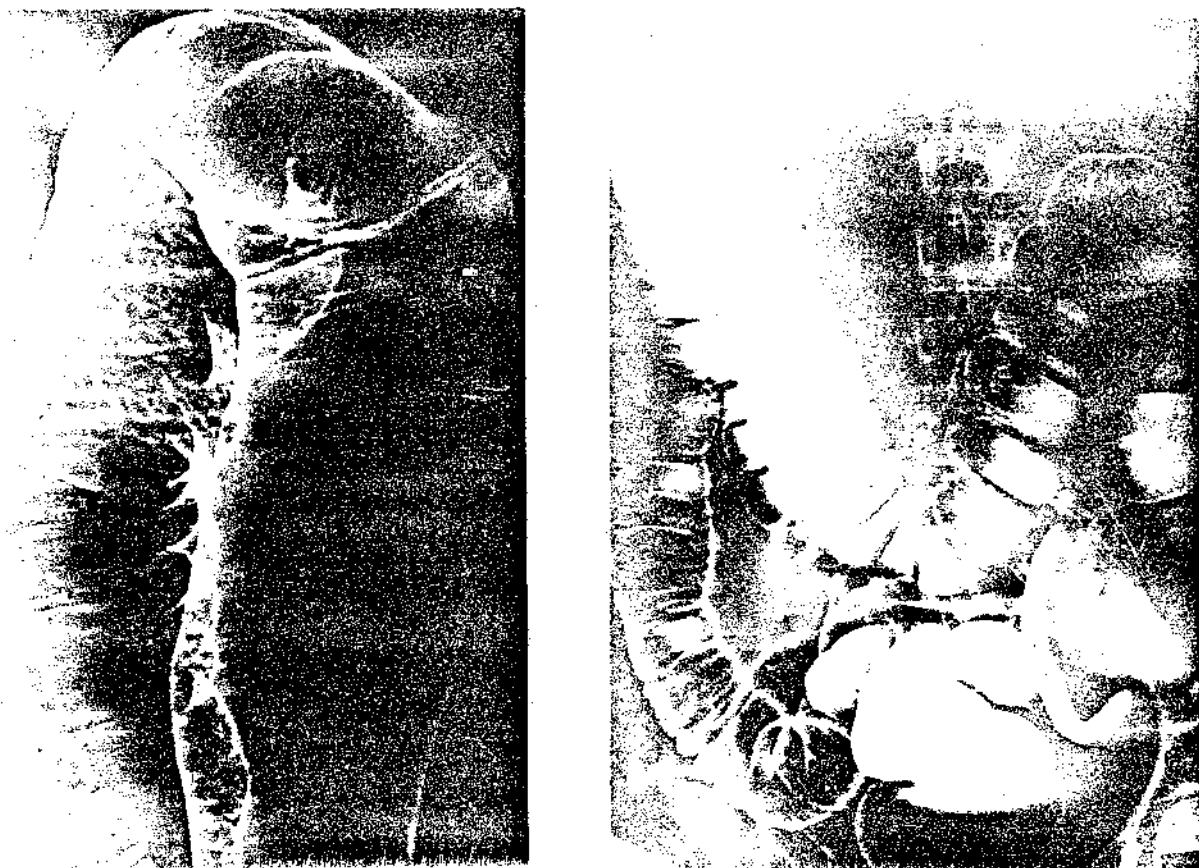


Fig. 32 - Análise imunoelctroforética: doente L.C. com utilização de sôros monoespecíficos anti-IgM, -IgG e -IgA.



Fig. 33 - Análise imunoeletroforética: doente G.C. e membros da família.



A

B

Fig. 34 - Fotografia de exame comparado do intestino grosso pela técnica de duplo contraste. Nota-se em 17/5/71 (A) a presença de numerosas falhas de enchimento milimétricas, com umbilicação central, caracterizando hiperplasia linfóide. No exame realizado em 27/12/72 (B) não mais se identificou o achado acima descrito.

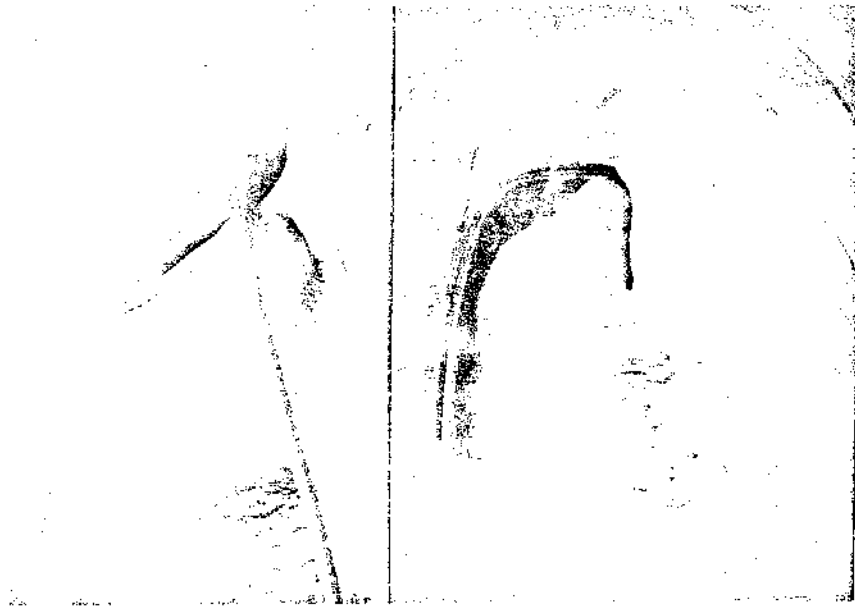


Fig. 35 - Fotografia de flebografia tímica (técnica de subtração) nas incidências de perfil (A) e anteroposterior (B). Observa-se veia tímica e ramificações parenquimatosas de pequeno calibre. A linha interrompida indica o tamanho do órgão.

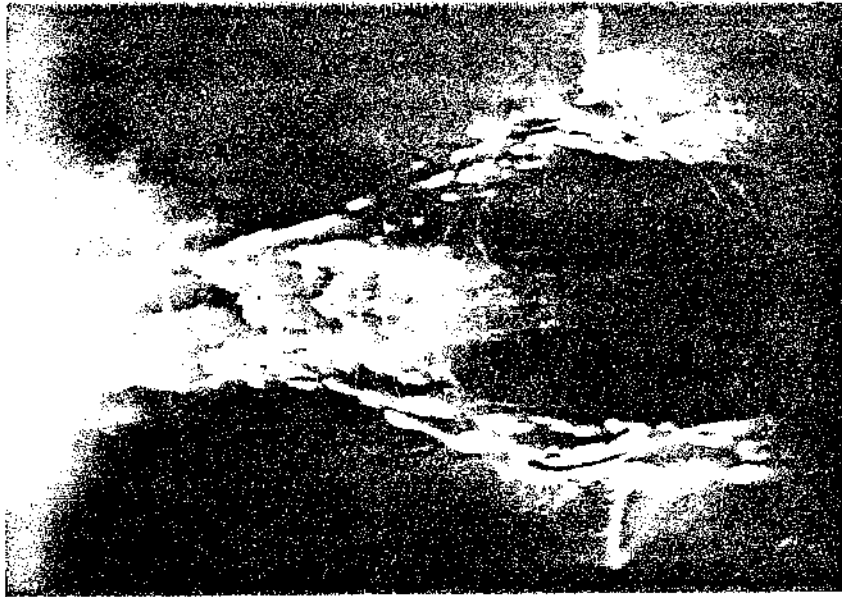


Fig. 36 - Fotografia de linfografia dos membros inferiores. Nota-se enchimento satisfatório das vias linfáticas e linfonodos das cadeias - ilíacas e peri-aórticas, que se apresentam de aspecto normal.

DISCUSSÃO

Entende-se dos resultados obtidos e da interpretação de senvolveida ao longo da evolução dos pacientes analisados que:

1. sem dúvida há uma fase em que os dois pacientes tiveram vida normal e embora submetidos às solicitações e agressão - do meio ecológico, puderam manter equilíbrio homeostático.

2. a partir de certo ponto a alteração funcional estabe lecou-se, seletiva, afetando a atividade de uma população de célu las relacionadas com a produção de imunoglobulinas e anticorpos; por longo tempo da evolução essa foi a única alteração funcional e em análise realizada em 1972 ficou clara a ocorrência de blo queio na diferenciação de D-Linfócitos. O paciente L.C. apresen tava em 1972 capacidade de montar reação de reconhecimento e eli minação de alo-antígeno e de desenvolver resposta de hipersensibi lidade celular; entretanto as micrografias eletrônicas mostraram desenvolvimento apenas parcial de retículo endoplásmico e do sis tema de poli-ribosomos o que permite aceitar como lógica a inca pacidade de montar resposta de imunidade humoral.

3. a evolução ulterior do quadro mostrou entretanto que esse estado não era estacionário, mas evolutivo porquê o quadro histológico atual dos linfonodos, a anergia cutânea e a menor e ficiência na atividade de rejeição de alo-enxôrtos, ao lado da diminuição de células formadoras de roseta com eritrócitos de carneiro indicam que somou-se à deficiência anterior de imunida de humoral, aparentemente seletiva, deficiência também da imun idade celular. O paciente L.C., não apresenta entretanto linfo penia e possui células B circulantes em concentração aproximadamen te normal.

4. nada parece indicar que fatores externos tenham afetado o desenvolvimento do processo; o estado de nutrição atual de paciente L.C. é muito bom e nenhuma intercorrência de tipo infeccioso ou tóxico pode, aparentemente, estar implicada.

5. é notável a ausência de positividade para os testes imunológicos que podem detectar auto-anticorpos e outras anomalias analisadas; os controles, indiscutivelmente seguros, utilizados, permitem aceitar essa negatividade como um fato e contrariam algumas informações da literatura já referida.

6. não ocorre depleção linfóide porquê outro tipo de célula em proliferação infiltra o tecido e desloca ou substitui a população linfóide que seria normal; ao contrário, a alteração parece ser primária do tecido linfóide na forma de quadro regressivo que provoca proliferação secundária do tecido que compõe o estroma do linfonodo.

7. se o defeito não é seletivo para a linhagem B e compromete também a função de imunidade celular, seria lógico atribuir a anomalia a outro grupo de células que existindo no linfonodo pudesse afetar o desenvolvimento do sistema. Não seriam estas as células embrionárias pluripotenciais porquê as falhas reconhecidas nessa linhagem afetam desde início o desenvolvimento do sistema como um todo.

Para efeito de discussão algumas observações da literatura devem ser comentadas:

a. Cooper et al., 1971 chamaram a atenção para o contraste representado em relação a agamaglobulinemia infantil, ligada ao sexo, dos casos similares que, ocorrendo em ambos os sexos são também deficientes de plasmócitos e imunoglobulinas circulantes mas possuem centros germinativos normais ou mesmo hiperplás-

tes indutivos específicos, independentemente de antígenos estranhos e envolve a geração de múltiplos clones de B-linfócitos a partir de células indiferenciadas de origem hematogônica. Durante esta fase seria gerada a diversidade de classes imunoglobulínicas por uma mudança intraclonal ordenada de IgM a IgG a IgA; - os anticorpos sintetizados são incorporados à superfície celular. A segunda etapa ocorre na circulação e nos tecidos linfóides periféricos e envolve seleção clonal de B linfócitos por antígenos com proliferação subsequente e diferenciação para se tornarem células memória ou células plasmáticas produtoras de anticorpos - (Cooper et al., 1972).

Embora nosso caso possa se enquadrar nêsse tipo de consideração, há entretanto uma diferença importante: em fase alguma da sua evolução, no período observado, foi possível verificar hiperplasia dos folículos e dos centros germinativos, que deveriam manter as características citológicas normais como quadro de proliferação fisiológica mas apenas exuberante quanto à intensidade do processo. A estrutura dos folículos e centros germinativos nos linfonodos de nosso paciente é anormal e lembra mais um quadro de esgotamento por regressão do que hiperplasia por falta de controle inibidor.

b. Waldmann et al. (1974) analisaram a natureza do defeito em pacientes com hipogamaglobulinemia variável comum, usando técnica estabelecida para estudar a diferenciação terminal de B linfócitos em células que sintetizam e secretam imunoglobulinas. Quando linfócitos de pacientes com hipogamaglobulinemia foram co-cultivados com linfócitos normais e "pokeweed mitogen", a síntese de imunoglobulinas pelos linfócitos normais foi deprimida de 84 a 100% e supressão comparável foi observada com células T.

Nenhuma supressão da síntese de imunoglobulinas por linfócitos normais foi observada quando estes foram cultivados com soro dos pacientes hipogamaglobulinêmicos. Segundo os autores referidos, os resultados sugerem que, pelo menos em alguns pacientes, a doença possa ser causada ou perpetuada por anormalidade de células T reguladores que ativam suprimindo a maturação das células B e a produção de anticorpos.

A evidência experimental de apoio a essa interpretação, mais próxima, é a comunicada por Jacobson et al., 1972 os quais demonstraram que o fenômeno de supressão alotípica específico para imunoglobulina pode ser transmitido a camundongos normais irradiados por transferência adotiva de linfócitos θ -positivos obtidos de doadores suprimidos.

Segundo Blaese et al., 1974, no curso de experimentos utilizando transferência de células adotivas afin de estudar o efeito de células provenientes de frangos agamaglobulinêmicos imunes sobre a resposta imune subsequente das aves normais, foi inesperadamente encontrado que frangos normais adultos irradiados subletalmente, que recebem células da medula óssea de doadores agamaglobulinêmicos de 4 meses de idade, desenvolvem subsequentemente deficiência humoral progressiva e agamaglobulinemia.

A irradiação em si, dos animais receptorés é insuficiente para produzir deficiência imunológica humoral tão profunda.

Reações enxerto x hospedeiro podem resultar em deficiência imunológica humoral (Blaese et al., 1964); embora essa linhagem de frangos não possa ser considerada completamente singênica, é homozigótica quanto ao locus de histocompatibilidade principal e as células dessas aves não se estimulam em cultura mista de linfócitos.

Vários estudos em roedores demonstraram que células imuno-reguladoras ativas são capazes de alterar profundamente respostas imunes humorais. Baker et al. (1970) demonstraram influência reguladora por T-linfócito sobre a resposta de anticorpo de ca - mundongos a polissacaríde pneumocócico. Gershon e Kondo (1971) descreveram a necessidade de células tipo T para a indução a - transmissão da chamada "tolerância imunológica infecciosa".

Com base em toda essa evidência é ao menos legítimo especular que a transferência adictiva de aganaglobulinemia observada em frangos pode, refletir supressão ativa mediada por linfócitos e também, que certas deficiências imunológicas humorais no - homem podem estar relacionadas com mecanismo de imuno-supressão ativa e não simplesmente com deficiência pura e simples de determinados B-linfócitos ou de seus precursoros.

Esta possibilidade de interpretação parece-nos muito a - traente pois sendo esta população de células reguladoras, talvez uma sub-população de células dentro do conjunto heterogêneo de células T, poderia ter papel de controle e por excesso, repressão não só da linhagem B como de outras sub-populações do mesmo grupo associadas a outras atividades funcionais. Evidência nesse - sentido foi obtida por Stobo et al., 1976, os quais conseguiram demonstrar disfunção persistente de imunidade celular em pacientes com doenças devidas a fungos, produzida não por ausência de células T capazes de reagir com antígenos, mas antes pelo efeito de uma população de células T que suprime outras células T reativas.

e. Provisor et al., 1975 demonstraram em família acometida por infecção a vírus da mononucleose, desenvolvimento de a ganaglobulinemia em dois indivíduos; estes mantinham número normal

de células B na periferia mas a estrutura do linfonodo era anormal sem resposta à estimulação antigênica. É sugerido que a transformação das células B pelo vírus de Epstein-Barr pode induzir uma resposta anormal de células T levando a disfunção da linhagem B e portanto, agamaglobulinemia.

Um modelo experimental muito próximo a êsse tipo de consideração é o representado pela doença de Gumboro. Hudson et al., 1975, demonstraram que frangos infectados experimentalmente com vírus dessa doença durante o desenvolvimento do embrião ou logo após o nascimento, mostram depressão severa dos componentes linfóides bursa-dependentes e conseqüentemente, de suas funções. O grau de supressão da célula B correlaciona-se com o tempo de infecção, o que é compatível com bloqueio induzido por vírus na diferenciação de B linfócitos, ou o vírus é citopático para B linfócitos bursais mas não circulantes ou, mais provavelmente, o vírus inativa as células bursais não linfóides que mediam a diferenciação de linfócitos. Histologicamente, a lesão inicial é dada pelas células reticulares do timo e da bursa e é possível que os linfócitos sejam destruídos nos órgãos linfóides.

É certo que B linfócitos na circulação periférica não são afetados pelo vírus. Isto é demonstrado pelo fato de que em frangos infectados com vírus a 3 semanas de idade, quando muitos dos linfócitos B maduros já deixaram a bursa para juntar-se ao "pool" periférico, não há diminuição na resposta de anticorpo seja a *Bruce*lla, seja à sêro-albumina bovina.

Hiperplasia de células reticulares, intensa, ocorre após a necrose dos linfócitos. O aspecto dos folículos e centros germinativos lembra muito proximoamente o quadro histológico do linfonodo do paciente L.C. É verdade, entretanto, que igual rea-

ção reticular poderia ocorrer por causas de outra natureza.

Seria no caso difícil explicar como poderia ocorrer a - gamaglobulinemia de início tardio por infecção viral dessa natureza em linfócitos insensíveis ao efeito citopático.

d. Lyke et al., 1975 demonstraram recentemente defeito intratímico em caso de deficiência combinada grave. Desenvolveram sistema "in vitro" afin de elucidar a natureza do defeito celular nas doenças por deficiência imunológica primária. Incubação sobre culturas de "monolayer" de epitélio tímico humano, de linfócitos periféricos e células da medula óssea de criança com deficiência combinada grave, resultou no aparecimento de população de células que formavam rosetas com eritrócitos de carneiro. A mesma preparação celular permitiu a síntese de anticorpos antígeno-específicos e complemento-dependentes após educação in vitro. Além disso, o tecido tímico da mesma criança produziu evidência morfológica e funcional de maturação quando cultivado in vitro. Os resultados experimentais sugerem que neste caso, as células - precursoras linfóides estavam presentes na medula óssea mas não se diferenciaram até a maturidade funcional devido à defeito na maturação do tecido tímico.

No caso, possivelmente, o defeito do paciente quanto à síntese de anticorpos estaria relacionado com deficiência de células T "helper".

Para que esse mecanismo pudesse ser efetivo na produção de hipogamaglobulinemia do adulto, seria necessário que a postulada deficiência de células tipo "helper" fosse induzida em época oportuna de forma a produzir a alteração funcional necessária para que a deficiência pudesse ser expressa.

De alguma forma, entretanto, essa linha de idéias encoraj

tra apóio nas observações de Wernet et al., 1974, as quais apresentaram evidência de que linfócitos e células normais ativadas por con-A são capazes de reparar deficiência de produção de imunoglobulinas in vitro, dando base ao conceito de que fator possivelmente derivado de célula T, falta no sêro do paciente e que esse fator é requerido para a manutenção de células B.

e. Choi et al., 1972 por análise em gel de acrilamida - das imunoglobulinas intracelulares sintetizadas pelos linfócitos de pacientes com hipogamaglobulinemia de tipo variável, demonstraram 3 picos, similares aos das imunoglobulinas sintetizadas pelas células bursais de aves. Esses achados sugerem que esses linfócitos representam células B imaturas devido a bloqueio na sua diferenciação. Esta hipótese já havia sido sugerida em observação de Cooper et al., 1971.

f. Broder et al., 1975 estudaram a capacidade de linfócitos circulantes de pacientes com mieloma para evoluir as células secretoras de imunoglobulinas usando sistema "in vitro", no qual - populações mistas de linfócitos assim como populações T purificadas, ou populações linfocitárias carentes de monócitos são cultivadas em presença de " pokeweed mitogen". Esta técnica provê sinal não específico para os B linfócitos se dividirem e se diferenciarem em células comprometidas com a secreção de imunoglobulina in vitro. Células mononucleares de 5 pacientes com mieloma foram capazes de suprimir a síntese policlonal de imunoglobulina por - linfócitos normais co-cultivados. A atividade supressora não era mediada por células T purificadas somente, pois a remoção de células mononucleadas fagocitárias de população de linfócitos de um paciente, anulou a atividade supressora. A remoção de células mononucleadas fagocitárias da população linfocitária de um segun

do paciente levou a aumento aproximadamente de 10x na síntese de imunoglobulina policlonal.

Abriamente o isolamento e caracterização de reguladores celulares ou humerais da síntese de imunoglobulinas por células B tem implicações terapêuticas potenciais importantes.

g. Geha et al. (1974) analisaram em pacientes com hipogamaglobulinemia variável comum a diferenciação de células B sob efeito de fator solúvel derivado de célula T produzido após exposição a antígeno (LMP = fator mitogênico linfocitário). Pelo tipo de resposta em um grupo de pacientes, concluíram tratar-se de doença heterogênea causada por defeitos que ocorrem em várias etapas da via de maturação da célula B em célula secretora de anticorpo. Em nenhum dos pacientes entretanto, havia razão para se acreditar que o defeito primário estivesse associado a disfunção de células T. Nos 5 casos que exibiam depressão do número de células T e da função correspondente, é muito improvável que esse defeito tivesse ocorrido antes ou tivesse tido participação significativa no desencadeamento da agamaglobulinemia, porque todos eles apresentavam, na ocasião, complicações debilitantes que não estariam necessariamente presentes à época do diagnóstico original.

h. Wilson et al., 1976, chamaram a atenção em 4 casos - de hipogamaglobulinemia de início tardio associada a deficiência funcional da célula T para a longa duração da doença que contrasta com a evolução fulminante dos pacientes com deficiência imune combinada congênita. Segundo o autor, essa observação reflete a progressão insidiosa da imunidade alterada na deficiência de imunoglobulinas de início tardio associada a deficiência funcional T quando comparada com a profunda incompetência imunológica das

exianças vertebrais de deficiência combinada congênita.

i. Para Luftes et al., 1971, o achado comum de hiperplasia linfóide nodular nestes pacientes e particularmente a regressão aparente dessa alteração em dois pacientes, sugere que a presença de hiperplasia linfóide nodular não distingue ou caracteriza um grupo peculiar de pacientes com hipogamaglobulinemia - primária como foi proposto por Normans et al., 1966. Esta observação é concordante com a nossa, relacionada com o doente L.C., no qual foi documentada regressão das nítidas imagens radiológicas correspondentes à hiperplasia linfóide nodular; não só esse achado não representa característica peculiar dessa doença, como também não guarda, aparentemente, relação com o envolvimento de sistema linfóide intestinal supostamente central, como foi sugerido por alguns autores.

j. Wa et al., 1973 analisaram a diferenciação de B linfócitos usando estimulação com "pokeweed mitogen" (PWM) que promove diferenciação terminal de B-linfócitos in vitro. Esse extrato da Phytolacca Americana ("pokeweed") atua como agente desencadeante do processo que estimula linfócitos humanos a desenvolver características morfológicas, histoquímicas e ultra-estruturais das células que pertencem à série plasmática. Nesses termos, linfócitos de pacientes com agamaglobulinemia ligada ao sexo não foram estimuladas a produzir imunoglobulinas, apesar do fato de que transformação blástica e síntese de DNA ocorressem. Na agamaglobulinemia com B linfócitos demonstra-se a presença de propagação normal de B-linfócitos com bloqueio aparente na diferenciação terminal, bloqueio que envolve precursoras de todas as classes principais de imunoglobulinas.

Observações presentemente em progresso envolvendo cul

tura de linfócitos do paciente L.C. com lectinas, indicam que -
côrca de 19% das células sofrem modificação blástica quando cul-
tivadas com fitohemaglutinina, côrca de 5% com con-A e côrca -
de 10% com PWM; dessa forma essa população de células que respon-
de ao estímulo representado pelo PWM não só expressa SmIg como -
também é capaz provavelmente, de completar sua diferenciação a
células formadoras de anticorpos.

K. Rappaport et al. (1975) descreveram em alguns pacientes com
linfo-adenopatia angio-imunoblástica aspectos histológicos em
linfonodo que são semelhantes a alguns dos nossos achados: pro-
-liferação de pequenos vasos e aspecto, chamado pelos autores,
de granulomatóide, pelo acúmulo de histiócitos epitelióides no
centro germinativo. Esses pacientes apresentam linfo-adenopatia
generalizada, hêpato-esplenomegalia, testes de Coombs frequen-
-temente positivos e, na maioria dos casos, hipergamaglobuline-
-mia policlonal. Pelo tipo de evolução, excluem associação com
proliferação maligna do tipo linfoma e interpretam como sendo
devida possivelmente a alteração funcional das células T rela-
-cionadas com função de regulação, da qual resulta reação anor-
-mal de proliferação dos B-linfócitos. A alteração funcional bá-
-sica desses doentes é essencialmente oposta à dos nossos pacien-
-tes, nos quais é característico o desenvolvimento incomple-
-to do sistema de B-linfócitos. A semelhança de alguns achados
histológicos indica somente, a meu ver, um aspecto em comum que
é a hiperplasia reticular, que pode ocorrer em doenças de cau-
-sas distintas.

Nossos doentes não apresentavam quadro proliferativo
do tipo linfomatoso; clinicamente não há evidência de comprome-
-timento do sistema ganglionar periférico e a linfografia do
doente L.C. mostra aspecto considerado normal.

L. Abdou et al. (1973) comunicaram ter detectado no sêro de pacientes com agamaglobulinemia adquirida, anticorpo IgG com especificidade anti-IgM, ao passo que tal pesquisa foi negativa em casos de agamaglobulinemia infantil. Concluem que o defeito na forma infantil consiste em falha no desenvolvimento de células B na medula óssea, ao passo que a exclusão periférica de células portadoras de IgM por anticorpo anti-IgM, com a falha subsequente na diferenciação tanto de IgG como de IgA, poderia ser mecanismo importante responsável pelo defeito celular na agamaglobulinemia adquirida. Não há informações na literatura que permitam confirmação desses achados por outros pesquisadores. Nos experimentos de co-cultura, já referidos, em que se demonstrou efeito supressor de linfócitos de pacientes com hipogamaglobulinemia adquirida, os autores tem destacado o fato de tal efeito de supressão não poder ser reproduzido com o sêro dos pacientes e somente com células.

Na base genética dessa doença é confusa; os dados de Wollheim, já referidos, com base em estudos realizados em varias famílias, sugerem a hipótese de transmissão genética da doença. Chruchaud et al. (1966) descreveram agamaglobulinemia em apenas um indivíduo de um par de gêmeos idênticos. Chruchaud et al. (1970) demonstraram em uma família de doente do sexo feminino, com 34 anos, disgamaglobulinemia em 7 membros da família (em um total de 12 indivíduos); uma ou mais subclasses de imunoglobulinas estavam diminuídas em 10 membros e a concentração de cadeias k estava reduzida em 6. Sugerem, com base nesses dados, possível defeito nos gens reguladores responsáveis pela síntese de imunoglobulinas. Feldman et al. (1975), com base em dados de uma família, sugerem herança dominante autossômica com penetrância variável do defeito. Chamam a atenção para o fato dessa forma de herança ser excepcional entre os casos conhecidos e bem estudados de deficiência

imunológica, para os quais tem sido proposta herança ou ligação ao sexo ou autossômica recessiva.

Wang et al. (1971) realizaram análise química em IgG de pacientes com agamaglobulinemia adquirida a fim de testar a informação disponível na literatura apontando para desigual relação de cadeias k para lambda em relação a indivíduos normais e também para alteração quanto às subclasses de IgG. Os resultados obtidos mostram comportamento semelhante à IgG de indivíduos normais. Afirmam que o defeito genético responsável pela agamaglobulinemia adquirida não ocorre ao nível dos genes estruturais para imunoglobulinas e propõem que o defeito estaria ao nível de elementos responsáveis pela regulação.

Muito pouco se conhece a respeito de gens reguladores em sistemas de mamíferos; as dificuldades são maiores ainda para as imunoglobulinas, onde estão envolvidos gens estruturais estreitamente ligados de forma peculiar. Além disso, o fenômeno de exclusão alélica provavelmente resulta em cada imunoglobulina ser produzida por uma linha celular independente, tornando-se ainda mais difícil interpretar relações entre os gens reguladores e estruturais (W.H.O. report, 1971).

A forma exata de herança, nos casos de hipogamaglobulinemia do adulto, é muito difícil de ser definida devido à extrema variação na expressão da deficiência (Cooper et al., 1974). Na família do doente L.C. foi possível constatar dois pacientes com menor concentração de IgM em um caso e de IgM e IgA em outro. Um terceiro, que apresentava aumento evidente de IgG teve sua concentração normalizada subsequentemente. Não há dados que permitam interpretação quanto à possível base genética desse defeito. Não há na família outro membro que seja portador de defeito semelhante, mas, dada a variabilidade de expressão, pode existir alguma forma de deficiência não detectada pelo tipo de observação

realizada.

8. Na comunicação recente, Lieberman et al. (1978) referem ter obtido restauração da imunidade celular pelo uso de levanisole, em pacientes com doenças por deficiência imunológica. Havendo no paciente L.C. nítida depressão da imunidade celular e dada a correlação possível com o seu defeito principal, a hipogamaglobulinemia, de acordo com o que já foi comentado, julgamos pertinente um ensaio terapêutico dessa natureza. Pelo tipo de análise realizado (análises eletroforética, imunoelectroforética e por imunodifusão radial para dosagem de imunoglobulinas) não foi possível detectar modificação do estado imunológico do paciente.

9. Levando-se em conta a ocorrência de timoma nesses pacientes e sendo o doente L.C. portador agora também de alterações ligadas à imunidade celular, julgamos oportuna a exploração radiológica feita por venografia tímica seletiva, segundo técnica proposta por Kroel (1957), que na opinião de Kane et al. (1976), permite informação mais precisa relacionada diretamente com o timus do que qualquer outro método diagnóstico. O enchimento venoso revela no paciente L.C. imagem com características dentro do padrão normal, de acordo com a experiência desenvolvida no Departamento de Radiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp. Não há, radiologicamente, hiperplasia tímica ou timoma. Tanto quanto sabemos, esta foi a primeira exploração radiológica realizada em paciente portador de hipogamaglobulinemia do adulto.

O desenvolvimento desta observação, em parte já em andamento, deve ter por objetivo:

1. analisar o efeito de globulina anti-linfocitária e complemento sobre a produção de imunoglobulinas (de membrana, citoplasmática ou secretada pela célula no meio) por linfócitos periféricos estimulados por LSI;

2. estudar a resposta dos linfócitos periféricos a

3. analisar eventual atividade expressora de linfócitos do paciente em relação à síntese de imunoglobulinas de linfócitos normais estimulados pelo P.M.

A extensão deste programa de trabalho aos membros da família, embora difícil do ponto de vista prático, poderia resultar em informações extremamente interessantes.

CONCLUSÕES:

1. a expressão clínica e imunológica da deficiência observada no paciente L.C. obedeceu a um desenvolvimento progressivo, tendo sido possível caracterizar fase com manifestações exclusivas ou predominantes de deficiência de produção de imunoglobulinas e, fase mais recente, com acréscimo de deficiência associada também à imunidade celular. No paciente G.C., o estudo histológico é a única evidência disponível de que havia, já na fase inicial de observação, combinação dos dois tipos de deficiência. Embora ambos os pacientes tivessem diarreia e esteatorréia, não havia entretanto perda intestinal de proteína; a deficiência ocorria por defeito de síntese de imunoglobulinas.

2. confirma-se, com o estudo do paciente L.C., a proposição de que o defeito básico consiste em bloqueio na diferenciação dos B-linfócitos, pois o paciente apresenta B-linfócitos circulantes com expressão de imunoglobulinas de superfície (SmIg), correspondentes às três classes principais de imunoglobulinas, mas não é capaz de produzir plasmócitos. A análise de ultra-estrutura demonstrou no linfonodo, linfócitos que apresentam escasso e incompleto desenvolvimento de retículo endoplásmico, com pobreza de poli-ribosomos.

3. não há defeito associado a gen estrutural, pois há síntese de SmIg, o que supõe transcrição e translação adequadas.

4. o estado histológico de linfonodos no paciente L.C. permitiu informações que são muito escassas na literatura atual, em relação à morfologia do tecido linfo-reticular periférico em pacientes com hipogamaglobulinemia do adulto. A estrutura do centro germinativo é anormal e não responde, com modificações citológicas, ao estímulo antigênico (em ambos os pacientes). Tanto quanto sabemos, é esta a primeira informação disponível quanto às características do linfonodo (centro germinativo em particular) em fases evolutivas diferentes de paciente com esse tipo de doença. O quadro atual composto de estrutura reticular de tipo epitelioide no centro germinativo, proliferação vascular, depleção de linfócitos na área para-cortical e reticulose sinusal em paciente com diagnóstico original de hipogamaglobulinemia primária adquirida, representa uma contribuição deste trabalho ao estudo dessa doença.

5. o estudo realizado no doente L.C. demonstra que a doença não é devida a alteração proliferativa do sistema linforeticular do tipo linfomatoso, que substitui populações linfocitárias com atividade funcional na resposta imune. O defeito corresponde, ao contrário, a alteração regressiva com proliferação secundária do tecido que compõe o estroma do linfonodo. Além de não apresentar comprometimento ganglionar periférico e esplenomegalia, a linfografia de membros inferiores apresenta-se também com características normais.

6. nossos resultados não concordam com a interpretação de Cooper et al. (1971), segundo a qual, a falta de produção de imunoglobulinas privaria o clone proliferante do controle representado pelo anticorpo, dando origem a crescimento exagerado de folículos, com centros germinativos proeminentes. Estes não existem nos linfonodos, com essas características; no intestino fino, sim, havia no paciente L.C., intensa hiperplasia linfóide que não foi, entretanto, detectada posteriormente, embora o paciente mantivesse

o estado de deficiência de imunoglobulinas.

7. os dados da literatura referentes à existência de atividade supressora por parte de linfócitos desses doentes, podem explicar a patogênese desse tipo de deficiência imunológica, entendida nestes termos, como devida a alteração primária do sistema de regulação da resposta imune. Esta alteração do sistema de regulação, por sua vez, poderia estar na dependência de condições genéticas peculiares e também de interação com micro-organismos do meio, principalmente vírus.

8. a doença de Gumboro, em aves, não corresponde, aparentemente, a modelo experimental homólogo à doença do paciente L.C., pois não há nesta, seletividade exclusiva para a linhagem de B-linfócitos, embora haja certa semelhança em relação a aspectos histológicos do centro germinativo.

9. nada indica no paciente L.C. que a hipogamaglobulinemia tenha sido produzida por deficiência primária de células T "helper", como parecem indicar estudos realizados em deficiências combinadas graves.

10. a deficiência de imunidade celular em pacientes com hipogamaglobulinemia do adulto, devido à instalação lenta e insidiosa, tem significado clínico e imunológico distinto em relação à deficiência combinada congênita, esta de gravidade muito maior.

11. a venografia tímica realizada no doente L.C. demonstrou imagem radiológica normal em relação ao estado de enchimento dos vasos, cuja extensão permite estabelecer projeção aproximada do tamanho do órgão. Não há portanto, no caso de hipogamaglobulinemia primária adquirida estudado, hiperplasia tímica ou timoma. Evidentemente a venografia não permite informações quanto ao estado funcional do parênquima tímico existente. A aplicação desta técnica neste caso, em particular, representa uma contribuição original.

12. utilizado o levamisole, como tentativa de ensaio terapêutico, não produziu efeitos na síntese de imunoglobulinas

passíveis de detecção com os meios empregados.

13. não foi observada alteração na atividade total do complemento ou modificações significativas na concentração dos componentes analisados.

14. em nenhum dos membros da família do doente L.C., foi observada presença de auto-anticorpos anti-núcleo, anti-músculo liso, anti-mitochondria, anti-antígeno microsomal de célula parietal gástrica e anti-glomérulo; igualmente negativas foram as pesquisas para anticorpos anti-DNA e anti-tiroglobulina e para fator reumatóide, em desacôrdo com a literatura que insiste na associação entre hipogamaglobulinemia do adulto e alteração imunológica dessa natureza.

BIBLIOGRAPHIA:

1. Abdou, N.I., Casella, S.R., Abdou, N.L., Abrahamsohn, I.A.: Comparative Study of Bone Marrow and Blood B Cells in Infantile and Acquired Agammaglobulinemia. *J. Clin. Inv.* 52, 2313, 1973.
2. Baker, P.J., Barth, R.F., Stashak, P.W., and Amsbaugh, D.F.: Enhancement of the Antibody Response to Type III Pneumococcal Polysaccharide in Mice treated with Antilymphocyte serum. *J. Immunol.* 104, 1313, 1970.
3. Blaese, R.M., Weiden, P.L., Koski, I, and Dooley, N.: Infectious Agammaglobulinemia: Transmission of Immunodeficiency with Grafts of Agammaglobulinemic Cells. *J. Exp. Med.* 140, 1097, 1974
4. Blaese, R.M., Martinez, C. and Good, R.A.: Immunologic Incompetence in Immunologically Routed Animals. *J. Exp. Med.* 119, 211, 1964.
5. Bouteille, M., Kalifat, S.R. and Delarue, J.: Ultrastructural Variations of Nuclear Bodies in Human Diseases. *J. Ultrastructure Research* 19, 474, 1967.
6. Boyum, A.: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1968, 21:Suppl. 97.
7. Broder, S., Humphrey, R., Durm, M., Blackman, M., Meade, B., Goldman, C., Strober, M. and Waldmann, T.: Impaired Synthesis of Polyclonal (Non-Paraprotein) Immunoglobulins by Circulating Lymphocytes from Patients with Multiple Myeloma. Role of Suppressor Cells. *New Engl. J. Med.* 293, 887, 1975.
8. Bruton, O.C.: Agammaglobulinemia. *Pediatrics* 9, 722, 1952.
9. Charache, P., Rosen, F.S., Janeway, C.A. et al.: Acquired Agammaglobulinaemia in Siblings. *Lancet* 1, 234, 1965.
10. Choi, Y.S., Biggar, W.D. and Good, R.A.: Biosynthesis and Secretion of Immunoglobulins by Peripheral-Blood Lymphocytes in Severe Hypogammaglobulinaemia. *Lancet*, 11, 1149, 1972.
11. Cooper, M.D., Faulk, W.P., Fudenberg, H.H., Good, R.A., Hitzig, W., Kunkel, H.G., Roitt, I.M., Rosen, F.S., Seligmann, M., Soothill, J.F. and Wedgwood, R.J.: Meeting Report of the Second International Conference on Immunoglobulin Deficiency Diseases.

- Man. Clin. Imm. Immunopathol. 2, 115, 1974.
12. Cooper, H.D., Lawton, A.A., Bookman, D.H.: Agammaglobulinemia with B-lymphocytes. Specific Defect of Plasma-Cell Differentiation. *Lancet*, 11, 791, 1971.
 13. Cooper, H.D., Lawton, A.A. and Kincaid, P.W.: A Two-Stage Model for Development of Antibody-Producing Cells. *Clin. exp. Immunol.* 11, 143, 1972.
 14. Cruchaud, A. et al.: Agammaglobulinemia in one of two identical twins. *Am. J. Med.* 40, 127, 1966.
 15. Cruchaud, A., Robert, M., Girard, J.P., Laperrouza, C., Rivat, D., Repartz, C.: Primary Antibody Deficiency Syndrome of Adult Onset. *Am. J. Med.* 48, 515, 1970.
 16. Fahey, J.L., McKelvey, E.H.: *J. Immunol.* 94, 54, 1965.
 17. Feldman, G., Koziner, B., Talano, A., Bloch, R.J.: Familial variable immunodeficiency: autosomal dominant pattern of inheritance with variable expression of the defect(s). *J. of Ped.* 87, 334, 1975.
 18. Fudenberg, H.H., German, J.L., Bunkel, H.G.: The Occurrence of Rheumatoid Factor and Other Abnormalities in Families of Patients With Agammaglobulinemia. *Arthritis Rheum.* 5, 365, 1962.
 19. Geha, R.S., Schneeberger, E., Merler, E. and Rosen, F.S.: Heterogeneity of "Acquired" or Common Variable Agammaglobulinemia. *New Engl. J. Med.* 291, 1, 1974.
 20. Gershon, R.K., and Kondo, K.: Infectious Immunological Tolerance. *Immunology* 21, 903, 1971.
 21. Glick, B., Chang, T.S. and Janp, R.G.: The Bursa of Fabricius and Antibody Production. *Poultry Sci.* 35, 224, 1956.
 22. Good, R.A.: Agammaglobulinemia—a provocative experiment of nature. *Bull. Univ. Minn. Hosp.* 26, 1, 1954.
 23. Good, R.A., Kelly, W.D., Rotstein, J. and Varco, R.L.: Immunological Deficiency Diseases. Agammaglobulinemia, hypogammaglobulinemia, Hodgkin's disease and sarcoidosis. *Progr. Allerg.* 6,

24. Grabar, P., and Williams, C.A., Jr.: Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange des protéines: Application au sérum sanguin. *Biochim. Biophys. Acta* 10:193, 1955.
25. Henry, K. and Petts, V.: Nuclear bodies in human thymus. *J. Ultrastructure Research* 27, 330, 1969,
26. Hermans, P.E., Huizenga, K.A., Hoffman, H.R., Brown, A.L., Markowitz, N.: Dysgammaglobulinemia Associated with Nodular Lymphoid Hyperplasia of the small intestine. *Am. J. Med.* 40, 78, 1966.
27. Hermans, P.E., Huizenga, K.A.: Association of Gastric Carcinoma with Idiopathic Late-Onset Immunoglobulin Deficiency. *Annals of Internal Medicine* 76, 605, 1972.
28. Hudson, L., Pattison, B., and Thantrey, H.: Specific B lymphocyte suppression by infectious herpetic agent (Guinea disease virus) in chickens. *Can. J. Immunol.* 5, 675, 1973.
29. Hughes, J.S., Cerda, J.C., Hottzapple, R., Brooks, F.R.: Primary Hypogammaglobulinemia and mal absorption. *Annals of Internal Med.* 74, 903, 1971.
30. International Union of Immunological Societies Report. *Clin. Immunol. and Immunopath.* 5, 584, 1975.
31. Jacobson, B.B., Herzenberg, L.A., Riblet, R., Herzenberg, L.A.: *J. Exp. Med.* 135, 1163, 1972.
32. Jacob, R.F., Korgan, L.S., Manshaw, J.B. and Leddy, J.P.: Hypogammaglobulinemia with thymoma and probable pulmonary infection with cytomegalovirus. *New Engl. J. Med.* 271, 1691, 1964.
33. Kreel, L.: Selective Thymic Venography: New Method for Visualization of the thymus. *Brit. Med. J.* 1, 486, 1967.
34. Lieberman, R., Hsu, M.: Levamisole-mediated Restoration of Cellular Immunity in Peripheral Blood Lymphocytes of Patients with Immunodeficiency Diseases. *Clin. Immunol. Immunopath.* 3, 142, 1976.

35. Lewis, J.S., et al.: Serum Complement Component Levels in Human Glomerulonephritis. *Ann. Int. Med.* 75, 555, 1971.
36. Mancini, G., Carbonara, A.G. and Heremans, J.F.: *Immunochemistry* 2, 235, 1965.
37. Mendes, H.F., Tolnai, H.E.A., Silveira, H.F.A., Gilbertson, R.B., Metzgar, R.S.: Technical Aspects of the Rosette Tests Used to Detect Human Complement Receptor(B) and Sheep Erythrocyte-Binding(T) Lymphocytes. *J. Immunol.* 111, 860, 1973.
38. Nelson, J.A. et al.: Methods for separation, purification and measurement of nine components of haemolytic complement. *Immunochemistry* 3, 111, 1966.
39. Patriani, G. and Middelhump, J.N.: In vivo and in vitro demonstration of Nuclear Bodies in Vaccinia Infected Cells. *J. Ultrastructure Research* 28, 275, 1969.
40. Percy et al (1967 and 1968). In: Nossal, G.J.V.: *Antigens, Lymphoid Cells, and the Immune Response*. Academic Press, 1971.
41. Percy and Good, R.A. (1969). In: Nossal, G.J.V., Ada, G.L.: *Antigens, Lymphoid Cells and the Immune Response*. Academic Press, 1971.
42. Peterson, R.D.A., Cooper, R.D., Good, R.A.: The Pathogenesis of Immunologic Deficiency Diseases. *Am. J. Med.* 38, 579, 1965.
43. Previson, A.J., Isaacson, J.S., Chilcote, R.L., Heiburger, R.G., Gausci, P.G. and Baehner, R.L.: Acquired Agammaglobulinemia After a Life-Threatening Illness with Clinical and Laboratory Features of Infectious Mononucleosis in Three Related Male Children. *New Engl. J. Med.* 293, 62, 1975.
44. Pyke, K.A., Bosch, H.L., App, R.L., Gelfand, E.S.: Demonstration of an Intrathymic Defect in a Case of Severe Combined Immunodeficiency Disease. *New Engl. J. Med.* 293, 424, 1975.
45. Rappaport, H., Moran, S.H., Frizzera, G.: Angio-Immunoblastic Lymphadenopathy. Diagnosis and Clinical Course. *Am. J. Med.* 59, 803, 1975.

46. Asocan, H., Frobenig, S. J. Jr. and Janovski, W. L.: Agammaglobulinemia in the adult. *Am. J. Med.* 19, 503, 1955.
47. Rosen, F. J.: Primary T. cell deficiency. *Clinical Clinics of North America*, 1974.
48. Stobo, J. D., Paul, S., Van Scoy, A. E. and Merzans, P. G.: Suppressor Thymus-Derived Lymphocytes in Fungal Infection. *J. Clin. Invest.* 57, 519, 1975.
49. Sutherland et al. (1964). In: Hossal, G. S. V.: *Antigens, Lymphoid Cells, and the Immune Response*. Academic Press, 1971.
50. Szenberg, A. and Warner, M. L.: Dissociation of Immunological Responsiveness in foals with a hormonally arrested development of lymphoid tissues. *Nature (London)* 194, 145, 1962.
51. Waldmann, T. A., Broder, S., Glaese, R. M., Dunn, M., Blackman, R. and Strober, W.: Role of Suppressor T Cells in Pathogenesis of Common Variable Hypogammaglobulinemia. *Lancet* 2, 609, 1974.
52. W.H.O. Committee Report: Primary Immunodeficiencies. *Pediatrics*, 47, 927, 1971.
53. Warner, M. L., Szenberg, A. and Earnest, M. K.: The Immunological role of different lymphoid organs in the Chicken .I. Dissociation of immunological responsiveness. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 40, 373, 1962.
54. Wang, A. C., Putenberg, P. L.: Chemical Analysis of Immunoglobulin G from Acquired Agammaglobulinemia Patients. *Blood* 38(5), 1971. Abstract.
55. Wernet, P., Siegal, F. P., Dickler, H., Fu, S., Kunkel, M. G.; Immunoglobulin Synthesis In Vitro by Lymphocytes from Patients with Immune Deficiency: Requirement for a Special Serum Factor. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 71, 551, 1974.
56. Wilson, W. R., Merzans, P. G., Pitts Jr., R. J.: Idiopathic Late-Onset Immunoglobulin Deficiency with Functional T-Cell Deficiency. *Arch. Intern. Med.* 155, 343, 1975.

57. Hollister, J.A.: "Acquired" Hypogammaglobulinemia-
-mia-Lancet 1, 316, 1961.
58. Hollister, J.A., DeFraga, S., Coster, C.: "Primary "Acquired"
Hypogammaglobulinemia: clinical and genetic aspects of nine cases
Acta Med. Scand. 176, 1, 1964.
59. Wu, B.T.F., Lawton, A.B., Greaves, M.F. and Cooper, N.D.: Evalua-
-tion of human B-Lymphocyte Differentiation Using Pokeweed Mitogen
Stimulation: In Vitro Studies in Various Antibody Deficiency Syn-
-dromes. In: Proceedings of the Seventh Leukocyte Culture Conferen-
-ce. Ed. by P. Dagnallard. Academic Press. 1973.
60. Hyman, J. et al.: The human rosette-forming cell as a marker
of a population of thymus-derived cells. J. Clin. Invest. 51, 2537, 1972.
61. Simeoni, G.H., Hall, S.B., Heller, S.I.: Acquired agammaglobu-
-linemia: report of three cases. JAMA 155, 1590, 1954.
62. Yano, H.F., Wiatte, S.C.: Thyroid Venography. Radiology 96,
533, 1970.