

## CERCETARI CU PRIVIRE LA STUDIUL COMPARATIV AL UNOR METODE DE PUNERE IN EVIDENȚĂ A FACTORULUI AGLUTINANT IN DIFERITE AFECȚIUNI

Eva Horváth, E. Nagy, Katalin Demeter, E. Bálint

Diagnosticul biochimic al poliartritei cronice evolutive (PCE) a fost întregit în ultimele decenii prin reacții imunologice, dintre care cea mai cunoscută este punerea în evidență a factorului reumatoid (FR). În ceea ce privește natura FR, cercetările au demonstrat că este o imunglobulină aparținând grupei macroglobulinelor, având coeficientul de sedimentare de 19 S și care migrează în cimpul electroforetic împreună cu fracțiunea gama 1 sau gama rapidă.

Din punct de vedere imunologic se presupune, că FR joacă rolul unui anticorp, care ia naștere în prezența gamaglobulinelor unor specii, cu condiția ca acestea să fie într-o măsură oarecare alterate. Astfel, se presupune că gamaglobulinele alterate ale organismului joacă rolul unor autoantigeni, care la rîndul lor declanșează apariția autoanticorpilor de tipul FR. În ce privește structura internă a FR și relația lui cu PCE problema nu este complet elucidată. Cercetările au demonstrat că prezența factorului reumatoid nu este patognomonică numai în PCE, dar că el poate să fie pus în evidență în serul bolnavilor prezentînd o serie de afecțiuni, cum sînt: colagenozele maligne, hepatita, ciroza, luesul, sarcoidoza, stările alergice etc. Aceasta a făcut necesară lărgirea noțiunii de FR și anume, desemnînd sub denumirea de factor aglutinant (FA) imunglobulina, care se pune în evidență în serul bolnavilor suferinzi de afecțiuni nereumatismale.

Reacțiile de laborator se bazează pe proprietatea FR, respectiv FA de a precipita atît cu gamaglobulina umană cît și cu gamaglobulina altor specii. În aceste reacții de precipitare, gamaglobulina se comportă ca antigen, iar FR ca anticorp. Astfel sînt descrise metodele de hemaglutinare, ca în reacția clasică Waaler-Rose (r. WR), elementele purtătoare ale gamaglobulinelor fiind hematii de oaie sensibilizate cu gamaglobulină de iepure. În alte reacții se folosesc particule inerte, sensibilizate cu gamaglobulină umană sau bovină, cum sînt particulele de latex, bentonit, colodiu sau cuarț.

În cazul reacției modificate, după Gyimóthy se folosesc particule de film radiologic. Reactivul constă dintr-o emulsie de film, căreia i s-a adsorbit gamaglobulină umană. Serul de cercetat se inactivează timp de 30 m într-o baie de apă la 56°; în continuare facem diluții din ser cu tampon borat (ph: 8,2) în proporție de 1:20. Se recomandă a determina concomitent și cite un ser cunoscut ca sigur pozitiv și unul sigur negativ. Pe o lamă punem o picătură din reactivul în prea-

labil bine agitat și amestecăm cu o picătură din serul de cercetat. Rezultatul îl citim după 2 minute. Aglutinarea de la margine o citim și fără lupă, dar pentru obținerea unui contrast mai bun la citire, vom folosi un fond negru (detalii vezi: Gyimóthy D.: Film-Test, eine neue Reaktion zum Nachweis des Rheumafaktors: Das Ärztliche Laboratorium, 1962 vol. 8, Nr. 9/10, pag. 271—273).

**Material și metodă:** am examinat r. W. R. și paralel testul cu film, după metoda Gyimóthy, la un număr de 20 seruri normale și 68 seruri patologice. Am considerat drept pozitive serurile cu un titru de 1/32 (r. W. R.) respectiv - (film-test). Rezultatele examinărilor le prezentăm în cele ce urmează:

**Tablelul 1:** 20 seruri provenite de la oameni sănătoși. Film-testul este negativ în toate cazurile, r. W. R. este pozitivă în 3 cazuri. Datele literare semnaleză într-un procent de 5% prezența F. R. în serurile normale.

În continuare am examinat 68 seruri provenite de la bolnavi suferind de diferite afecțiuni: PCE și colagenoze maligne 21 cazuri; valvulopatii și endocardite de diferite etiologii 15 cazuri; alte afecțiuni reumatismale 7 cazuri; îmbolnăviri vasculare 10 cazuri; afecțiuni diverse 16 cazuri. **Tablelul 2** ne înfățișează rezultatele celor două reacții. Remarcăm că la mai mult de 50 % a cazurilor reacțiile sînt pozitive, deci la o serie de îmbolnăviri heterogene sub raport etiologic, se pune în evidență prezența FA.

Comparînd intensitatea de aglutinare, respectiv de precipitare a r. W. R. și a film-testului, nu se constată un paralelism evident (vezi **tablelul 3**). Este de altfel un fapt citat și în literatură, că între diferitele metode aplicate pentru determinarea F R nu este întotdeauna o concordanță netă. Cu atît mai mult iese la iveală neconcordanța, în pozitivitatea și intensitatea reacțiilor, cînd este vorba de un grup neomogen de îmbolnăviri și nu cunoaștem structura exactă a anticorpilor decelați în ser.

Trecînd la analiza cazurilor pe grupe de îmbolnăviri, prezentăm în primul rînd valorile r. W. R., film-test și ASLO, obținute în P.C.E. (**tablelul 4**). Se constată că în aproximativ 75 % din cazuri atît r. W. R. cît și testul cu film sînt pozitive, valori care corespund cu cele din literatură. Menționăm că nici în cazurile noastre nu există concordanță în ceea ce privește intensitatea reacțiilor, astfel am semnalat rezultate cu una din reacții intensiv pozitivă, iar cealaltă negativă la același bolnav.

În grupa colagenozelor maligne (**tablelul 5**) sînt redată valorile r. W. R., film-test, ASLO, precum și valoarea fracției gamaglobulinice. Rezultatele concordă cu datele bine cunoscute din literatură: prezența anticorpilor serici și creșterea marcată a fracției gamaglobulinice. Cazul nr. 2 merită să fie relevat, deoarece bolnava (K. M.) prezintă un lupus eritematos diseminat la care se mai asociază și o crioglobulinemie; r. W. R. executată din supernatantul serului, a fost pozitivă într-un titru de 1/512; în precipitat titrul a fost de 1/128, iar amestecul celor 2 fracții a aglutinat într-un titru de 1/256. Deci diferitele componente ale serului, separate prin precipitarea crioglobulinelor, se comportă diferit în ceea ce privește intensitatea de aglutinare, probabil din cauza complexității factorilor, care determină pozitivitatea și intensitatea reacției de hemaglutinare.

**Tablelul 6** ne înfățișează rezultatele r. W. R., film-test, ASLO cît și valoarea fracției gamaglobulinice în valvulopatii și endocardite de diferite etiologii. Pozitivitatea sporadică a reacției de aglutinare, respectiv de precipitare, poate să fie explicată prin disproteinemia legată de boala de bază, procesul complex autoimun declanșîndu-se ca o urmare a infecției cronice.

În îmbolnăvirile reumatice de natură degenerativă, reacțiile pot să fie de asemenea pozitive (vezi **tablelul 7**).

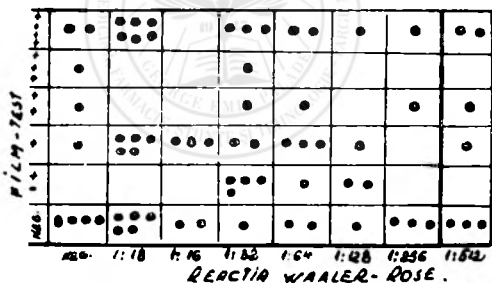
Tabelul nr. 1.  
Seruri provenite de la oameni sănătoși

Nr.	Reacția Waaler-Rose	Nr.	Film-test
1.	Negativ	11.	Negativ
2.	Negativ	12.	Negativ
3.	Negativ	13.	Negativ
4.	$\frac{1}{2}$	14.	$\frac{1}{4}$
5.	$\frac{1}{2}$	15.	$\frac{1}{256}$
6.	Negativ	16.	$\frac{1}{32}$
7.	Negativ	17.	$\frac{1}{32}$
8.	Negativ	18.	$\frac{1}{4}$
9.	Negativ	19.	$\frac{1}{4}$
10.	Negativ	20.	$\frac{1}{4}$

Tabelul nr. 2.  
68 seruri patologice provenind de la bolnavi cu diferite afecțiuni

	Pozitiv		Negativ	
	Nr. cazurilor	%	Nr. cazurilor	%
Film-test	46	68	22	32
Reacția Waaler-Rose	37	54	31	46

Tabelul nr. 3.  
Intensitatea reacției de hemaglutinare în comparație cu valorile film-testului



Tabelul nr. 4.

Nr. cazurilor	Reacția Waaler-Rose	Film-test	ASLO
1.	1:32	+	80
2.	1:512	++ + +	125
3.	1:8	++ + +	500
4.	1:32	++ +	50
5.	1:256	∅	50
6.	1:16	+	160
7.	1:64	∅	?
8.	1:128	+ + + +	500
9.	1:32	+ + + +	125
10.	1:256	∅	500
11.	1:64	+ + + +	500
12.	1:2	+ + + +	330
13.	1:256	+ + + +	125

Tabelul nr. 5.

Valorile r. Waaler-Rose, Film-test, ASLO și fracțiunea gamaglobulinică în colagenoze

Nr. cazurilor	Diagnostic	r. Waaler-Rose	Film-test	ASLO	Gama-globuline
1.	L.E.D.	1:256	Ø	500	24,5
2.	L.E.D. crioglobulinemie	1:512 1:128 1:256	+++	500	27,5
3.	Dermatomiozită	1:32	±	320	24,0
4.	Dermatomiozită	1:120	±	80	38,0
5.	Polimiozită	1:64	++	500	26,7
6.	Dermatomiozită	1:128	±	125	24,5
7.	Colagenoză nediferențiată	1:4	+	40	23,8
8.	Poliarterită nodoasă	1:16	+	320	26,2

Tabelul nr. 6.

Valorile r. Waaler-Rose, Film-test, ASLO și fracțiunea gamaglobulinică în valvulopatii și endocardite de diferite etiologii

Nr. cazurilor	Dg.	r. Waaler-Rose	Film-test	ASLO	Gama-globuline
1.	Stenoză mitrală	1:8	+	160	22,3
2.	Stenoză mitrală	1:62	±	100	27,0
3.	Stenoză mitrală	1:16	Ø	320	22,7
4.	Stenoză mitrală	1:16	+	160	19,8
5.	Boală mitrală	1:64	Ø	50	21,3
6.	Boală mitro-aortică	1:4	Ø	1280	28,0
7.	Endocardită lentă	Ø	+++	250	22,3
8.	Endocardită septică	1:64	-	500	26,4
9.	Boală mitrală	1:32	+	500	19,2
10.	Stenoză mitrală	Ø	++	625	26,3
11.	Boală „mitrală“	1:8	Ø	?	?
12.	Boală „mitrală“	1:2	Ø	125	?
13.	Cardită reumat.	1:2	Ø	250	?
14.	Cardită reumat.	1:32	+	1250	?

Tabelul nr. 7.

Valorile r. Waaler-Rose, Film-test și ASLO în imbolnăviri reumatice de natură degenerativă

Nr. cazurilor	r. Waaler-Rose	Film-test	ASLO
1.	1:2	++++	50
2.	Ø	++++	50
3.	1:32	++++	250
4.	1:32	Ø	100
5.	1:64	±	500
6.	1:128	Ø	500
7.	Ø	Ø	100

Tabelul nr. 8.

Valorile r. Waaler-Rose, Film-test, ASLO și fracțiunea gamaglobulinică în bolile vasculare

Nr. cazurilor	Dg.	r. Waaler-Rose	Film-test	ASLO	Gama-globuline
1.	Trombangeită obl. visceralizată	1:32	±	160	27,3
2.	Trombangeită obl.	1:4	++++	160	23,8
3.	Trombangeită obl.	1:512	+	100	20,1
4.	Trombangeită obl.	1:256	++	150	19,3
5.	Arterioscleroză obl.	1:512	++	50	23,4
6.	Arterioscleroză sist.	1:62	+	50	20,9
7.	Arterioscleroză sist.	1:62	++++	625	23,1
8.	Arterioscleroză sist.	1:16	∅	50	26,3
9.	Arterioscleroză sist.	1:32	±	100	19,2
10.	Scleroză coronariană	1:8	+	120	18,4

Tabelul nr. 9.

Valorile r. Waaler-Rose, Film-test, ASLO și fracțiunea gamaglobulinică în afecțiuni diverse

Nr. cazurilor	Dg.	r. Waaler-Rose	Film-test	ASLO	Gama-globuline
1.	Pielonefrită	1:32	++++	640	27,7
2.	Hepatită cr.	1:8	+	625	20,1
3.	Lambliază	∅	∅	100	20,7
4.	Hipertensiune malignă	∅	∅	640	26,8
5.	Pielonefrită	1:4	++++	50	14,2
6.	Pielonefrită	1:512	∅	100	20,7
7.	Pneum. Pulm.	∅	+++	50	21,0
8.	Bronșiectazie	∅	∅	100	29,1
9.	Ciroză „hepatică“	1:8	∅	333	21,5
10.	Tireotoxicoză	∅	+++	125	21,2
11.	Mieloză leucemică	1:512	+	625	30,0
12.	Cc. hepatic	1:512	++++	166	31,9
13.	Ulcer duodenal	1:8	∅	50	18,0
14.	Diabet zaharat	1:32	+	50	23,1
15.	Diabet zaharat	1:4	+	125	21,0

Rezultatele obținute în bolile vasculare (arterioscleroză obliterantă și sistemică, trombangieită obliterantă) sînt redată în *tabelul 5*. Accențuăm asupra pozitivității reacțiilor care este pusă în evidență în majoritatea cazurilor examinate. Experiența noastră ne arată, că în cazul trombangitei obliterante, faza activă sau forma visceralizată, r. W. R. este de obicei pozitivă, ceea ce relevă posibilitatea intrinsecii mecanismului imunobiologic în patogenia bolii.

Urmează în sfîrșit rezultatele obținute în afecțiuni diverse, ca: pielonefrită, ciroze, diabet, boala ulceroasă etc. (*tabelul 9*).

Prezența F. A. se pune în evidență într-o serie de îmbolnăviri diferite sub raport etiopatogenetic. Se remarcă și în cazul de față neconcordanța între rezultatele aflate prin r. W. R. și film-test. Tot astfel nu există vreun paralelism pozitiv între creșterea fracțiunii gamaglobulinice și pozitivitatea reacției de aglutinare.

Știm că în diferite afecțiuni iau naștere proteine patologice cu apariție de macroglobuline și factori aglutinanți nespecifici, cum ar fi F. R. care dă r. W. R. pozitivă.

Aplicînd aceleași metode ca pentru punerea în evidență a F. R. se demonstrează prezența unor factori aglutinanți nespecifici, într-o serie de maladii, ceea ce reflectă disproteinemia și mecanismul imunobiologic intricat în declanșarea îmbolnăvirii.

Neconcordanța observată în rezultatele reacțiilor aplicate relevă posibilitatea, ca în cadrul diferitelor metode să se pună în evidență componente diferite ale complexului factorilor aglutinanți prezenți în ser.

Nu este vorba deci de reacții specifice ci de stări de disproteinemie, în cadrul cărora reacțiile de laborator scot în evidență anumite aspecte autoagresive ale lanțului patogenetic.

#### *Concluzii:*

1. — Am exanunat, sub raptorul r. Waaler-Rose și a reacției modificate după Gyimothy, folosind particule de film, 68 seruri patologice și 20 seruri normale.

2. — Prezența factorului aglutinant a fost pusă în evidență în diferite afecțiuni, într-un procent de aproximativ 50 % a cazurilor patologice examinate.

3. — Nu există un paralelism între pozitivitatea și intensitatea de aglutinare, respectiv de precipitare ale celor două reacții aplicate.

4. — Reacția Waaler-Rose și variantele ei nu sînt probe specifice. Ele reflectă o stare de disproteinemie și un proces imunologic vicios, intricat în diferite îmbolnăviri.

*Sosit la redacție: 9 iunie 1964.*

#### *Bibliografie*

1. BALL J., GREENBURY C. L.: Brit. Med. J. (1960), 2, 1446; 2. BARCELLO P., BATELLA E.: Act. Med. Scand. 154, Supplement (1956). 312, 477; 3. DOBIAS GY. și colab.: Orvosi Hetilap (1961), 102, 2034; 4. Editorial Brit. Med. J. (1961) 1, 1097; 5. Editorials and Comments, Brit. Med. J. (1961), 1, 1097; 6. GLYNN L. E., HOLBORROW E. J.: Ann. Rheum. Dis. (1960), 19, 197; 7. GYIMOTHY D.: Das ärztliche Laboratorium (1962), 9/10, 271; 8. ILIESCU M. și colab.: Medicina Internă (1961), 13, 1377; 9. PĂRAU N. și colab.: Medicina Internă (1964) 16, 169; 10. SCHWARTZ NANA: Act. Med. Scand. (1961) 170 2, 255; 11. STOLLAR B.: Canad. N. A. Y. (1960) 23, 90; 12. STOIA I. și colab.: Medicina Internă (1964), 16, 73; 13. STOIA I. și colab.: Medicina Internă (1963) 15, 851; 14. STOICA GH.: Studii și Cercetări de medicină internă, (1963), 4, 366; 15. SZECSEY GY.: Orvosi Hetilap (1964), 105, 399.