

## CERCETĂRI ÎN LEGĂTURĂ CU VALOAREA DIAGNOSTICĂ A FENOMENULUI LUI HARGRAVES ÎN LUPO ERITEMATO- VISCERITĂ ACUTĂ

*Bartel Gh. și Magyarosi Gh.*

Evidențierea celulelor L. E. în lupo-eritemato-viscerită acută reprezintă un real aport în facilitarea diagnosticului. În anul 1948 *Hargraves* (5), reușește să pună în evidență în măduva sternală heparinizată, un proces de carioliză și fagocitoză ce se desfășoară în mai multe etape. Prima fază este caracterizată prin dezintegrarea structurală a nucleilor leu-

Comunicare prezentată la prima conferință dermatovenerologică pe țară. Timișoara 30. IX. 1956.

cocitelor, care se omogenizează și au o afinitate pentru coloranții bazici (hematoxilina). În a doua fază aceste mase nucleare dezintegrate vor fi înconjurate de leucocite intacte (faza de rozetă) ca apoi în faza finală să apară celule cu nucleu situat periferic în protoplasma cărora se pot pune în evidență resturi din această substanță rezultată din dezintegrarea nucleară (celule L. E.).

*Haserick* (7) și *Hargraves* (6) atribuie declanșarea acestui fenomen unui factor legat de gamma-globulinele serice ale bol-

navului. *Wuhrmann* (12) și *Jasinski* (8) au pus în evidență prin electroforeză în singele bolnavilor o gamma globulina cu structură heterogenă cu ajutorul căreia au putut obține fenomenul, punând în evidență celule L. E. tipice.

Rezultatele concludente publicate de mai mulți, demonstrează în mod convingător, că factorul responsabil pentru declanșarea fenomenului se găsește în plasma bolnavului, legat în total sau în parte de gamma-globulinele serice. Dacă serul bolnavului, se pune în contact cu singele sau cu măduva osoasă tratată cu citrat de sodiu sau heparina a unui om sănătos, și se păstrează 30—60 de minute la termostat apar toate fazele fenomenului, inclusiv celulele L. E. Aceasta înseamnă că în serul bolnavului sînt prezente una sau mai multe substanțe, sub influența cărora apare o cito-carioliză și înglobarea resturilor nucleare de către leucocitele rămase intacte (autofagocitoză). Substanța cu structura omogenă, înglobată în protoplasma celulelor L. E. este compusă din acid dezoxiribonucleinic depolimerizat. În ultimul timp au apărut mai multe publicații în care autorii relatează punerea în evidență a fenomenului L. E. în diferite boli cu etio-patogeneză diferită, ca în stări alergice de origine medicamentoasă (sulfamide, penicilina-Barbier (2) după tratament medicamentos îndelungat cu Apresolină (*Perry* 2), în diferite boli încadrate în grupul colagenozelor (*Lee* 2), în anemie pernicioasă (*Berman* 2), în leucemia basofilă (*Tempka* 2), în tbc. miliară (*Kurnik* 2) etc.

Se poate presupune că factorul, legat de gamma-globulinele serice, responsabil pentru declanșarea fenomenului ar putea cauza și alte reacții patologice ale organismului bolnav (*Czoniczier* 3), iar pe de altă parte nefiind specific ar putea fi prezent în diferite boli sau stări patologice de origine și etio-patogenie diferită, ca o formă de manifestare a reactivității organismului. (*Bartel*, *Szakács* 1).

Totuși faptul în sine, că în lupusul eritematos acut fenomenul apare atît de constant, și poate fi pus în evidență cu o tehnică adecvată în 70—96% a cazurilor (*Lee* obține rezultate de 96%, *Harvey* de 82%, *Dubois* de 70% 4), demonstrează valoarea lui diagnostică incontestabilă, mai

ales în cazurile cu manifestări cutanate puțin caracteristice.

La noi în țară *Bartel* și *Szakács* (1) de la clinica med. II. Tg.-Mureș, în 1953, iar *Koczka* (10) și colaboratorii în 1955 publică 4 cazuri de l. e. a. la care diagnosticul clinic a fost confirmat prin evidențierea fenomenului L. E. respectiv a celulelor L. E. *Papazian* R. și colaboratorii (12) de la clinica medicală I. și III. din București, publică un caz, iar *Kleinerermann* și colaboratorii (9) 4 cazuri în 1955, în care diagnosticul se confirmă prin frotiul sanguin respectiv prin mielogramă. De atunci, am avut ocazia într-un caz mai recent să confirmăm diagnosticul clinic prezumptiv prin testul L. E., iar în multe cazuri unde acest test a fost negativ diagnosticul a fost infirmat și de evoluția clinică ulterioară.

Tehnica folosită a fost cea adaptată de noi în anul 1953. La o cantitate de 0,4 cc. citrat de Na (sol. 3,8%), am adăugat măduva sternală, întregind pînă la 2 cc., păstrînd la termostat în eprubete Takata la 37° C. 1—24 ore: Plasma decantată a fost centrifugată timp de 5—10 minute la 3.000 rotații pe minut. Frotiul efectuat din sediment l-am colorat după May Grünwald-Giemsa. În preparatul astfel pregătit, am putut recunște toate fazele procesului. (Microfotogr. 1—2).

În baza observațiilor noastre care sînt în concordanță cu cele publicate de mai mulți autori (*Dubois*, 4 a. și 4), *Harvey* (2), *Mathis* (2), *Lee* (11), *Wiess* (2) putem considera fenomenul lui Hargraves ca specific pentru lupo-eritematos-vascular acut. Totuși bazați pe datele din literatura citată, referitoare la evidențierea celulelor L. E. în diferite boli cu etio-patogeneză deosebită, am fost determinați de a întreprinde cercetări referitoare la frecvența fenomenului în aceste entități clinice, care prezintă aspecte comune cu l. e. a., atît în ceea ce privește manifestățiunile clinice cit și cele ale reacției neuro-humorale. Pe lîngă bolile cu etiologie necunoscută încadrate în grupa colagenozelor, endocardita bacterială subacută (lentă) corespunde acestor criterii și ca atare poate constitui chiar și o problemă în diagnosticul diferențial cu l. e. a. Valoarea ridicată a gamma globulinelor serice în endocardita lentă, ne-a inspirat posibilitatea explorării specificității factorului seric legat de această fracțiune proteinică



Fig. 1.

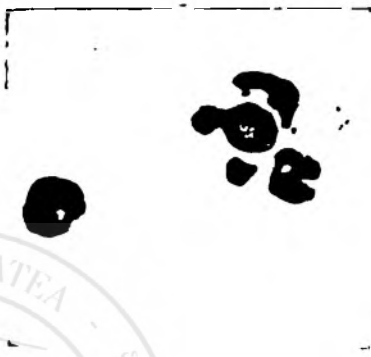


Fig. 2.

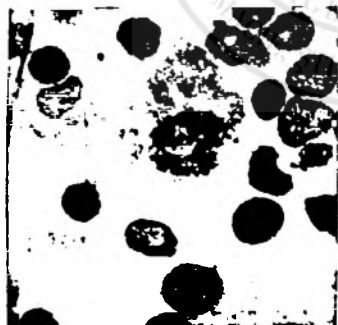
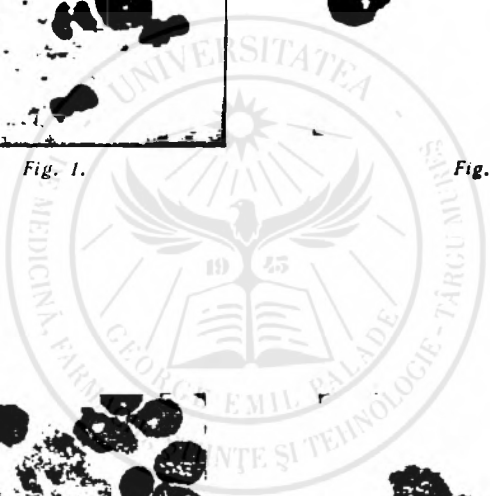


Fig. 3.



Fig. 4.



responsabilă pentru producerea fenomenului Hargraves.

La 15 dintre bolnavii noștri de endocardită lentă, am efectuat sistematic mielogramme din măduva sternală citratată după metoda descrisă mai sus, înainte de începerea tratamentului cu antibiotice, și după terminarea tratamentului, în stadiul de remisiune. În toate cazurile noastre valoarea gamma-globulinei serice a fost augmentată înaintea tratamentului și în jurul valorilor normale la terminarea ei. La evaluarea mielogramelor efectuate înainte de tratament am putut pune în evidență resturi nucleare homogenizate extracelulare (corpuri hematoxilinice), într-un număr remarcabil, fără a putea, însă evidenția grupări leucocitare în formă de rozetă, sau resturi nucleare fagocitate.

În froturile efectuate după terminarea tratamentului aceste mase extracelulare de nuclei omogenizați au fost găsiți în general într-o proporție extrem de redusă, dispărând complet în unele cazuri.

Din observațiile noastre de mai sus am ajuns la concluzia că în serul bolnavilor de endocardită lentă este prezentă o substanță capabilă ca și în l. e. a. să declanșeze un proces de dezintegrare nucleară și că activitatea sau concentrația acestei substanțe descrește în remisie sau vindecare. Observând un raport intim între scăderea intensității nucleolei și scăderea valorilor gamma-globulinice la bolnavii noștri, am presupus că substanța responsabilă pentru acest proces sau activitatea ei, este legată de această fracțiune proteinică. Pentru demonstrarea acestei teze am tratat singele periferic, respectiv măduva sternală diluată în prealabil cu citrat de sodiu, după metoda întrebuițată în l. e. a., cu serul bolnavilor de endocardită lentă recoltată înainte și după tratamentul cu antibiotice. Rezultatele obținute au confirmat ipoteza noastră, întrucât în froturile efectuate din singele și măduva înută în prealabil cu serul bolnavilor de endocardită lentă recoltată înainte de tratament, cu conținut gamma-globulinic ridicat, am putut pune în evidență apariția de resturi nucleare homogenizate, situate extracelular (fenomen de inducție). (Microfotogr. 3-4).

Folosind serul bolnavilor recoltat după tratament, cu conținut scăzut de gamma-globuline, acest fenomen nu s-a produs.

### Discuție.

Pe baza observațiilor și rezultatelor noastre experimentale expuse mai sus se pot releva o serie de probleme, încă necucitate până în prezent în legătură cu patomecanismul fenomenului Hargraves (L. E.). Dacă considerăm procesul de citonucleoliză, demonstrat de noi în endocardită lentă, ca primă fază a fenomenului (și este natural să fie considerat astfel, având în vedere că resturile nucleare situate extracelular în e. lentă au același aspect morfologic și aceeași afinitate tinctorială ca și masa omogenă înglobată în citoplasma celulei L. E.) atunci trebuie remarcată și lipsa fagocitozei — care reprezintă faza a doua a acestui fenomen complex. Pe baza acestor date se poate presupune că pentru cele două faze ale procesului sînt responsabili doi factori humoralii diferiți, care în raport cu starea reactivității organismului pot apare separați în serul bolnavului, declanșînd însă reacția completă numai cînd prezența lor este concomitentă. Presupunem activitatea factorului prezent în serul bolnavilor de endocardită lentă, responsabil pentru citonucleoliza leucocitară, care poate fi transmis prin incubarea măduvei sternale și a singelui periferic recoltat de la sănătoși, este legată de gamma-globulinele serice.

### Concluzii:

Bazați pe datele din literatură și pe observațiile proprii în legătură cu 5 cazuri de lupo-eritemato viscerală acută, autorii confirmă valoarea diagnostică incontestabilă a testului L. E. în această boală.

În mielograma și frotiul periferic a 15 bolnavi de endocardită lentă, cu valoarea gamma-globulinelor serice ridicată înainte de tratament, autorii au putut pune în evidență nuclei homogenizați situați extracelular, într-un număr remarcabil. Acest proces s-a produs și în cazul cînd singele sau măduva citratată recoltată de la sănătoși a fost tratată în prealabil cu serul bolnavilor. Nu au găsit însă nici grupări leucocitare (rozei) nici celule L. E.

În cursul tratamentului cu antibiotice nucleoliza, respectiv acțiunea nucleolitică a serului bolnavilor scade în raport cu scăderea gamma-globulinelor serice.

Autorii presupun că în declanșarea fenomenului Hargraves, iau parte doi factori humoralii cu acțiune diferită.

Sosită la redacție, la 8 octombrie 1956.

### Bibliografie

1. *Bartel Gy. și Szakács B.*: Mielograma ca procedeu de diagnostic în lupusul eritematos acut. *Soc. Șt. Med. Tg. Mureș* 1956. V. 2. *Bencze Gy.*: A systémás lupus eritematodes. *Magyar Belorv. Arch.* 1956. 2. 33. 3. *Czonicz G.*: A collagen betegségéről. *Orv. Hetilap* 1956. 27, 729. 4. a. *Dubois E.*: Systemic lupus erythematosus. *California Med.* 1954. 80. 154. 4. *Dubois E. L.*: Simplified method for the L. E. cell test. *Arch. Inst. Med.* 1953. 92. 168. 5. *Hargraves M. M., Tichmond U., Morton M.*: Presentation of two bone marrow element. *Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic.* 1948. 23: 25. 6. *Hargraves M. M.*: Production in vitro of the L. E. cell phenomenon use of the normal bone marrow element and blood plasma from patients with acute disseminated lupus erythematosus. *Frod. Staff. Meet. Mayo Clinic.* 1949. 24.: 23. 7. *Hserick J. R., Bortz D. W.*: Normal bone marrow inclusion phenomena

induced by lupus erythematosus plasma. *J. Invest. Dermat.* 1949. 13: 47. 8. *Jasinsky B., Stiefel G. E. Marki H., Wuhrmann F.*: Über ein dem Lupus erythematoses Phänomen ähnliches Zellbild im Chantharidinbelseninhalt und seine Beziehungen zu den gamma globulinen. *Klin. Wschr.* 1953. 252—256. 9. *Keinermann L. Hagi Parasciu-Belchita*: *Med. Interne* 1955. 4: 76. Periartrita nodoasă și lupusul eritematos diseminat. 10. *Koczka Gy., Orlik J., Bartel Gy., Gyergyay F.*: Considerațiuni asupra unor cazuri de lupus eritematos acut. *Rev. Med.* 1955, 1—2. pag. 172. 11. *Lee S. L., Michael S., Vural I. L., The L. E. (lupus erythematosus) cell.* *Am. J. Med.* 1951. 10: 446. 12. *Papazian R., Marinescu Sp., Cociu M.*: Lupusul eritematos diseminat acut. *Viața Med.* 1955. 5: 79. 13. *Wuhrmann F.*: Einige aktuelle klinische Problemen über die Serum Globuline. *Schweiz. Med. Wschr.* 1952. 38: 937.

### ИССЛЕДОВАНИЯ ЯВЛЕНИЯ ХАРГРАВЕСА, С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ ЕГО ПАТОГНОСТИЧЕСКОГО ЗНАЧЕНИЯ

Г. Бартель, Г. Мадяроши

Опираясь на данные литературы и на основании собственных наблюдений 5 случаев lupus erythematoses, авторы утверждают, что патогностическое значение явления Харгрavesa при острой красной волчанке не подлежит никакому сомнению.

В цитратном костном мозге 15 больных затяжным септическим эндокардитом (весьма повышенный уровень гамма-глобулинов в сыворотке, перед антибиотическим лечением), наблюдался выраженный процесс расщепления клеточных ядер, что выявлялось, также в костном мозге и в крови здоровых людей, после инкубации сыворотки больных. Однако, ни фагоцитоза, ни образования клеток lupus erythematoses не наблюдалось.

Под влиянием терапии антибиотиками, по мере понижения гамма-глобулинов наблюдалось, что одновременно понижается и ядро-расщепляющая способность сыворотки.

В патомеханизме явления Харгрavesa, авторы допускают возможность наличия двух, независимых друг от друга, гуморальных факторов.

### RECHERCHES CONCERNANT LA VALEUR DIAGNOSTIQUE DU PHENOMENE D'HARGRAVES DANS LA LUPO-ERITHEMATO-VISCERITE AIGUE

*Bartel Gy., Magyarosi Gy.*

Se basant sur les données fournies par la littérature et sur leurs observations personnelles dans 5 cas de lupo-érythémato-viscéríte aigue, les auteurs confirment la valeur diagnostique incontestable du test L. E.

Dans le myélogramme et dans le frottis périphérique provenant de 15 malades d'endocardite lente (valeur des gamma-globulines dans le sérum élevée avant le traitement) les auteurs ont pu mettre en évidence des noyaux homogénéisés ayant bien souvent une localisation extracellulaire. Ce phénomène a été observé même dans les cas où la moëlle ou le sang récoltés à l'aide du citrate de sodium chez des individus sans avaient été traités préalablement par le sérum des malades. Ils n'ont trouvé ni groupes leucocitaires (rosettes) ni cellules L. E.

Au cours du traitement avec les antibiotiques la nucléolyse, respectivement la section nucléolytique du sérum des malades décroît en rapport avec la diminution des gamma-globulines du sérum.

Les auteurs supposent que le phénomène Hargraves est déclenché par deux facteurs humoraux à action différente.