

PANENCEFALITE SUBAGUDA ESCLEROSANTE: TRANSMISSÃO
DE AGENTE ENCEFALITOGÊNICO HUMANO AO MACACO RHESUS

ALEXANDRE ALENCAR *
ESTÁCIO MONTEIRO **

Trabalhando há vários anos no estudo anátomo-patológico das panencefalites subagudas esclerosantes (SSPE = subacute sclerosing panencephalitis) ^{1, 2, 3, 4}, tivemos a idéia de tentar reproduzir, em animal de laboratório, tal entidade mórbida. O aspecto histopatológico sugeria tratar-se de um processo por vírus, porém as tentativas, feitas anteriormente com a mesma finalidade por vários pesquisadores, haviam fracassado. A primeira tentativa de reprodução experimental desta doença deve-se a Dawson ^{13, 14} o descobridor da forma anátomo-clínica que tem seu nome (polioencefalite subaguda com inclusões). A tentativa de Dawson fracassou, como fracassaram tôdas as outras realizadas, há mais de 10 anos, com exceção talvez do trabalho de Pelc e col. ³⁵ que parece ter sido bem sucedido.

Os insucessos experimentais podem ser atribuídos a três causas principais: *a*) escolha inadequada do animal de experimentação, pois parece que apenas os macacos *rhesus* e *cynomolgus* ³⁵ e os "hamsters" ²⁹ são sensíveis a tal vírus, sendo cobaias, coelhos e camundongos aparentemente imunes; *b*) material inadequado, pois tratando-se de vírus aparentemente muito lábil, material de necrópsia já com algumas horas, ou inadequadamente conservado, possivelmente está destinado ao fracasso; *c*) tempo de observação demasiadamente curto pois o período de observação dos animais inoculados deve ser de mais de um ano. Esta noção, de capital importância, somente foi valorizada após os trabalhos de Gajdusek, Gibbs e Alpers ^{20, 21} a respeito do "kuru", que nos deram a noção dos "vírus lentos" que somente manifestam sua ação patogênica após longo período de incubação. É possível que muitas tentativas anteriores tenham fracassado devido ao tempo excessivamente curto de observação dos animais inoculados. Em relação ao nosso trabalho pode-

* Chefe da Seção de Anatomia Patológica do Instituto Oswaldo Cruz, Chefe da Divisão de Neuropatologia do Instituto de Neurologia da UFRJ; ** Chefe da Seção de Virologia do Instituto Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro, GB).

mos afirmar que a observação dos animais prolongou-se por quase dois anos, o que nos permitiu uma reprodução, no macaco *rhesus*, de um quadro anátomo-patológico quase idêntico ao observado no homem.

Antes de passarmos à descrição dos métodos por nós empregados e dos aspectos anátomo-patológicos observados, julgamos conveniente uma pequena revisão histórica.

Em 1933 descreveu Dawson^{12, 14} um processo polioencefálico de evolução subaguda, caracterizado pela presença de inclusões acidófilas intranucleares e intracitoplasmáticas. Microscópicamente foram encontrados, distribuídos por toda a substância cinzenta, nódulos gliais, constituídos por microglíocitos mobilizados; no interior dos neurónios, que nem sempre eram os mesmos em tórno dos quais a microglia aparecia concentrada, foram vistas inclusões intranucleares ou intracitoplasmáticas. Estas inclusões, simples ou múltiplas, eram acidófilas, cercadas por um halo claro, e deslocavam o nucléolo para a periferia do núcleo, caracterizando-se como inclusões do tipo 3 de Cowdry.

Dawson descreveu esta entidade mórbida como uma variante da encefalite letárgica, caracterizada pela presença das inclusões. Estudos posteriores chamaram a atenção para a notável semelhança destas inclusões com aquelas produzidas pelo vírus herpético, levando alguns pesquisadores a pensar que se tratasse de encefalite hepérica. Todavia, era desconcertante a evolução clínica. Na encefalite herpética o processo era sempre de natureza aguda ou superaguda, enquanto que na entidade estudada por Dawson tratava-se de processo com evolução subaguda ou crônica, morrendo os pacientes em caquexia após evolução de vários meses. Acresce a isso o fato de ninguém ter conseguido isolar vírus herpético de casos semelhantes, o que já fora tentado pelo próprio Dawson.

Trabalhos realizados por Bouteille e col.¹⁰, Dayan e col.¹⁵, Nagel³³ e Perier e Vanderhaeghen³⁶ com microscopia eletrônica mostraram que as inclusões apresentavam-se como conglomerados de partículas virais, cujo aspecto individual sugeria tratar-se de um mixovírus ou, mais precisamente, de um pseudomixovírus. Ulteriormente, estudos mediante imunofluorescência^{18, 38} permitiram identificar este vírus com o do sarampo, ou com um outro mixovírus muito próximo a este último. A polioencefalite subaguda com inclusões de Dawson apresenta quadros transicionais com a leucoencefalite subaguda esclerosante de Van Bogaert^{7, 8, 9}, havendo tendência a pensar-se serem os dois processos devidos a um mesmo agente etiológico, no caso o vírus do sarampo ou um outro vírus imunologicamente muito próximo.

A leucoencefalite subaguda esclerosante de Van Bogaert é um quadro do tipo leucoencefálico, de evolução subaguda, isolado do grupo das escleroses difusas. Do ponto de vista anátomo-patológico as modificações estruturais são encontradas, principalmente, na substância branca cerebral, notadamente nos lobos frontais e occipitais, porém muitas vezes distribuídas de modo difuso. São observadas áreas de rarefação da substância branca, com desmielinização, irregulares, geralmente de pequenas dimensões e com aspecto fibroso devido a intensa proliferação glial, donde o nome "esclerosante". Em tórno aos vasos sangüíneos existem infiltrados inflamatórios, salientando-se os corpos grânulo-gordurosos. A importância desta entidade mórbida deve-se ao fato de que, em muitos casos, encontram-se inclusões acidófilas intranucleares e intracitoplasmáticas idênticas às encontradas na polioencefalite subaguda de Dawson. Outras vezes, casos desta última entidade mostram áreas de desmielinização na substância branca, com gliose, semelhante à da leucoencefalite subaguda esclerosante de Van Bogaert. Parece, pois, que as duas entidades constituem variantes de um mesmo processo mórbido.

Existe também uma terceira forma de encefalite subaguda, a chamada panencefalite nodular de Pette-Döring³⁷ que muitos autores^{9, 35} pensam deva ser englobada com a leucoencefalite subaguda esclerosante de Van Bogaert e a polioencefa-

lite subaguda com inclusões de Dawson constituindo o grupo das "panencefalites subagudas e esclerosantes".

A panencefalite nodular de Pette-Döring apresenta, microscópicamente, disseminados por toda a substância cinzenta cerebral, numerosos nódulos gliais, alguns formando típicas figuras de neuronofagia. Diferindo da encefalite letárgica de Von Economo¹⁷, a substância negra peduncular é conservada, não são encontradas inclusões e a mielina não se mostra alterada. Pette e Döring assinalaram a grande semelhança dos nódulos gliais com os encontrados na encefalite japônica, mas a evolução clínica das duas entidades é diferente, aguda na japônica e subaguda nos casos que estudaram.

Estas três entidades mórbidas, é quase certo, formam um único grupo determinado pelo vírus do sarampo ou outros vírus imunologicamente afins, os quais determinam, em pacientes humanos, um quadro encefalítico subagudo, que pode ser nitidamente inflamatório com inclusões (forma de Dawson), inflamatório sem inclusões (forma de Pette-Döring) ou degenerativo, com reação inflamatória escassa e grandes áreas de desmielinização (forma de Van Bogaert).

MATERIAL E MÉTODOS

A) *Culturas de tecidos* — Materiais (raspado de garganta, fezes e líquido cefalorraqueano) provenientes de um caso diagnosticado clínica e laboratorialmente como SSPE foi levado ao laboratório devidamente acondicionado e mantido no congelador a -20°C . Com a morte do paciente, fragmentos de cérebro, colhidos assépticamente, foram também levados ao laboratório e, da mesma forma, mantidos a -20°C . Estes materiais, logo após o recebimento, foram devidamente tratados para eliminar contaminantes bacterianos e semeados em cultura de tecidos de células HEP 2.

As células HEP 2, originárias de câncer humano²², vem sendo mantidas no laboratório há vários anos, sendo empregadas principalmente em trabalhos com vírus da poliomielite anterior aguda, do herpes simples e do sarampo, para os quais mostram muita sensibilidade. As células são mantidas com meio nutritivo composto de solução tamponada de Hanks com hidrolisado de lactalbumina a 0,5%, extrato de levedura a 0,1%, soro bovino ultrafiltrado a 15% e antibióticos (penicilina e estreptomycin). Para a semeadura e cultura de vírus as células foram preparadas em tubos, ficando aderidas à parede e formando camada contínua depois de 24 horas a 48 horas. Nesta ocasião o meio nutritivo foi substituído por outro com menor quantidade de soro (cerca de 2%). Depois de semeados os materiais os tubos retornaram à estufa a 37°C , sendo diariamente examinados ao microscópio para acompanhar o desenvolvimento e formação de lesões citopáticas que pudessem indicar a presença de vírus. Esta observação das culturas foi seguida durante 10 a 14 dias, quanto foram feitas novas passagens, sempre em número de 3 para cada material. Para a execução das passagens os tubos de cultura foram congelados e descongelados duas vezes. O conteúdo de cada 3 tubos correspondendo a um material, foi reunido e submetido a centrifugação de 1000 rpm por 15 minutos. Com o sobrenadante foram feitas as passagens no volume de 0,1 ml para cada novo tubo de cultura. Todas estas culturas resultaram negativas.

B) *Inoculações* — Fragmentos de cérebro do paciente foram retirados do congelador e triturados, mantidos a baixa temperatura e diluídos a 10% com solução salina fisiológica, contendo antibióticos. Depois de centrifugado a 1000 rpm por 15 minutos, o sobrenadante foi separado e usado para as inoculações intracerebrais em macacos *rhesus*. Os animais utilizados nas experiências provieram da criação mantida pelo Instituto Oswaldo Cruz na Ilha do Pinheiro, onde ficam em liberdade e procriam com relativa facilidade.

Foram inoculados 2 animais adultos, jovens, pesando aproximadamente 2 kg, utilizando-se um terceiro como testemunha. As inoculações foram feitas por via intracerebral, sob leve anestesia com éter, na dose de 0,25 ml por animal. Os 3

animais foram mantidos em gaiolas separadas, numa mesma sala do biotério, sujeitos a idênticos cuidados de higiene e alimentação.

Cêrca de 20 meses depois da inoculação um dos animais apresentou-se triste, apático, permanecendo encolhido em um dos cantos da gaiola. Lentamente instalou-se paralisia do trem posterior. Aproximadamente um mês após os primeiros sintomas, o animal perdeu totalmente a movimentação, não mais respondendo a estímulos. Nesta ocasião foi sacrificado com sangria total. Na necrópsia notou-se apenas fígado edema cerebral com congestão vascular. Foram colhidos materiais dos diversos órgãos para exame histológico e uma parte do cérebro separada para cultura e nova inoculação em macaco.

O outro macaco inoculado apresentou sinais de doença aos 22 meses. De início ficou apático, quieto em um canto da gaiola, tornando-se, depois, bem nítida a paralisia das patas posteriores. Decorridas duas semanas de paralisia o animal amanheceu em estado torporoso, sendo então sacrificado. A necrópsia somente se observou edema e congestão dos vasos meníngeos. Foram colhidos fragmentos dos diversos órgãos, tanto para exame histológico como para inoculações e culturas.

O animal testemunha, que não foi inoculado, nada apresentou de anormal, durante um período de observação de 32 meses.

A seguir foram feitas novas inoculações em macacos *rhesus*, com material proveniente dos animais sacrificados, sendo injetados 4 animais pequenos, com peso variando entre 1,0 e 1,5 kg. As inoculações também foram por via intracerebral, na dose de 0,25 ml cada, com uma suspensão de cérebro triturado e diluído a 10% em solução salina, com a mesma técnica descrita anteriormente. Foram usados dois macacos para cada material da primeira passagem. Estes animais foram colocados em gaiolas separadas, juntamente com mais dois animais normais, também em gaiolas separadas, além do macaco testemunha da primeira passagem.

Os animais inoculados apresentaram um período de incubação muito mais curto que os da primeira passagem. O aparecimento dos sintomas foi mais brusco e a sobrevida, após o início da sintomatologia, foi de 24 a 48 horas. Os animais ficaram tristes e apáticos, recusando a alimentação, com paralisia das patas posteriores, seguindo-se a morte. Todos foram necropsiados sendo colhidos os materiais necessários aos exames histológicos e para a pesquisa de vírus. Os não inoculados, que ficaram como testemunhas e permaneceram na mesma sala do biotério, ao lado dos inoculados não apresentaram, após 12 meses de observação, qualquer sinal de doença.

Foram feitas várias tentativas de isolamento de vírus do cérebro dos macacos inoculados, tanto dos animais de 1.^a como de 2.^a passagem, usando-se culturas de células HEP 2 e as células VERO, as primeiras de origem humana e, as segundas, provenientes de rim de macaco *Cercopithecus aetiops* (Yasumura e Kawakita⁴¹). Estas células vem sendo mantidas no laboratório por passagens contínuas, as células HEP 2 com o meio descrito acima e as células VERO com o meio de Eagle⁴². O método empregado para a sementeira do material em estudo seguiu técnica semelhante à descrita por Horta-Barbosa e col.²⁵. Pequenos fragmentos dos cérebros dos macacos foram tripsinizados e as células nervosas dispersas foram separadas e lavadas 3 vezes com solução tamponada de Hanks. Depois, numa concentração de células aproximadamente 2×10^6 foram suspensas em meio de Eagle com soro bovino a 10% e adicionadas às células HEP 2 ou às células VERO em concentração idêntica. Volumes de 1 ml foram distribuídos em tubos e colocados em estufa a 37°C, em posição inclinada. No fim de dois dias o meio de crescimento foi trocado por outro com soro bovino a 2%. Esta troca de meio foi feita mais vezes, quando necessário, seguindo-se a observação por 14 dias. Não foram observados efeitos citopáticos em ambas as células. Mais duas passagens foram realizadas, de cada material, sempre usando-se a técnica de cultura mixta. Nas passagens as culturas de células foram tripsinizadas, lavadas com solução de Hanks, resuspensas em meio de crescimento ao qual foi adicionado volume igual de células normais e, novamente, distribuídas em tubos. Em nenhuma das culturas verificamos o aparecimento de ação citopática, tendo em vista principalmente as lesões produzidas pelo vírus do sarampo (formação de sincício e de células gigantes).

C) *Técnicas histológicas* — O material retirado dos animais sacrificados foi fixado em formol neutro a 10% por imersão das peças no líquido fixador por um período de tempo nunca menor que 48 horas. Inclusão do material em parafina, após desidratação. Cortes com 5 ou 10 micra de espessura. Para coloração empregamos a hematoxilina-eosina, o tricrômico de Gomori, o cresil-violeta para evidenciar a substância de Nissl, o método de Heidenhain-Woelke para a evidenciação das bainhas de mielina, o método do PAS, a coloração nuclear de Feulgen e o método de Brachet para o estudo dos ácidos nucléicos. Também fizemos cortes em congelação para o estudo dos elementos gliais, segundo as variantes de Rio Hortega, com carbonato de prata.

RESULTADOS

A) *Aspectos gerais* — O primeiro animal, que recebeu o número 1 (número de ordem 151) foi inoculado em 1-11-1968. Permaneceu em observação durante todo o ano de 1969, mantendo-se aparentemente normal, alimentando-se bem. Nos primeiros meses de 1970, com mais de um ano de inoculação, começou a apresentar-se progressivamente triste e apático, encolhido dentro da gaiola. Começou a emagrecer, ao mesmo tempo que se instalava paresia dos membros posteriores. Aproximadamente um mês após os primeiros sintomas a paresia acentuou-se, transformando-se em paralisia completa (fig. 1), ao mesmo tempo que o processo de caquexia tornava-se mais acentuado. Nesta ocasião, em 2-7-1970, o animal foi sacrificado por sangria total, pois apresentava sinais de intenso sofrimento. Haviam transcorridos 21 meses após a inoculação.

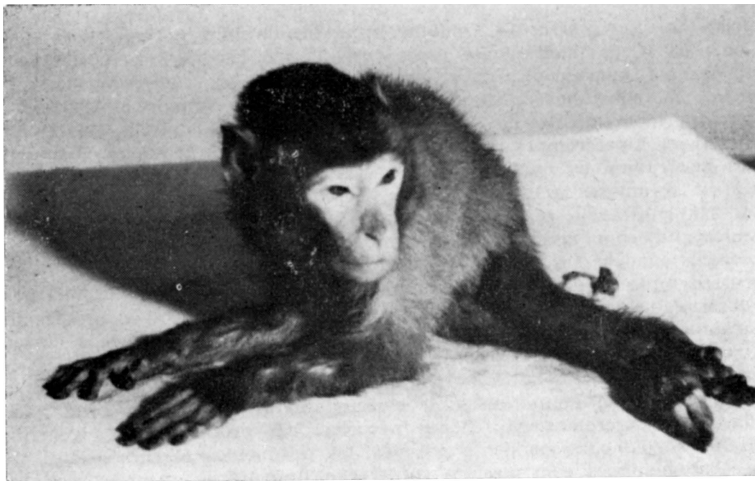


Fig. 1 — Animal n.º 1. 21 meses após a inoculação. Notar a paralisia dos membros posteriores e o aspecto emaciado do rosto.

O animal n.º 2 (n.º de ordem 152) foi inoculado no mesmo dia 1-11-1968, por via intracerebral. Tal como o animal anterior, manteve-se aparentemente normal durante todo o ano de 1969. Começou a apresentar os primeiros sinais da doença 22 meses após a inoculação. De início tornou-se apático, recusando alimentação. A paralisia dos membros posteriores instalou-se e rapidamente agravou-se. Em 10-8-1970 amanheceu torporoso, sendo sacrificado por sançria total. Haviam transcorridos 22 meses e 10 dias após a inoculação.

Fragmentos do sistema nervoso central de ambos os animais conservados em congelador foram inoculados, também por via intracerebral, em 28-8-1970, em 4 animais, de acordo com o seguinte esquema: animais n.º 5 (n.º de ordem 164) e n.º 6 (n.º de ordem 163) com material proveniente do animal n.º 1; animais n.º 3 (n.º de ordem 165) e n.º 4 (n.º de ordem 166) com material proveniente do animal n.º 2.

Estes animais, inoculados com material proveniente dos dois primeiros, comportaram-se de maneira diferente quanto ao período de incubação da doença. O animal n.º 5 apresentou sinais neurológicos semelhantes ao do animal doador com apenas 76 dias de inoculação, tendo sido sacrificado em 11-11-1970. O animal n.º 6 apresentou-se doente após 94 dias de inoculação, tendo sido sacrificado em 11-12-1970; infelizmente o sistema nervoso central deste animal não se prestou para exame histopatológico, sendo este o motivo porque não consta nos protocolos anátomo-patológicos. O animal de n.º 3 apareceu doente com poucas semanas, sendo sacrificado em 12-10-1970, 45 dias após a inoculação; o animal n.º 4, também com sinais neurológicos nítidos, foi sacrificado em 16-10-1970, 49 dias após a inoculação.

Observa-se, nesta segunda passagem, nítida diminuição do período de incubação, o que está dentro do comportamento de vírus que têm sua ação patogênica exacerbada quando inoculados em animais sensíveis. Além disso, o aparecimento dos sintomas fez-se de maneira brusca. Os 4 animais foram sacrificados 24 a 48 horas após o início da sintomatologia.

B) Descrição dos quadros histopatológicos observados.

Macaco n.º 1 (n.º de série 151), inoculado com material do paciente L.S.S. (1.ª passagem) em 1-11-1968 e sacrificado em 2-7-1970.

Sistema nervoso central — Leptomeninges intracranianas finas, lisas e transparentes, com os vasos ligeiramente congestos. Tecido nervoso discretamente edemaciado. O exame microscópico mostrou as leptomeninges com pequena infiltração linfocitária. Na substância cinzenta da córtex cerebral, grande hiperplasia da glia astrocitária, principalmente na 1.ª camada; neurônios mostrando sinais de "lesão celular crônica", hiper cromáticos e contraídos; nítidos sinais de edema tissular; muitos neurônios mostravam os núcleos celulares vacuolizados e distendidos; em um deles encontrou-se volumosa inclusão acidófila, cercada por halo claro e deslocando o nucléolo. Na substância branca, processo de acentuada hiperplasia da glia astrocitária; microglia com pigmento lipocrômico fagocitado; vasos sanguíneos ligeiramente congestionados; em alguns pontos foram encontrados mangutos inflamatórios perivascularares, que se distribuíam de maneira muito esparsa. Em alguns pontos da córtex observou-se infiltração inflamatória difusa (figs. 2 e 3). As lesões descritas em relação à córtex cerebral também foram verificadas nos núcleos cinzentos da base do cérebro. No tronco cerebral havia grande hiperplasia da glia astrocitária, proliferação dos chamados satélites neuronais (fig. 4 A); os grandes neurônios apareciam em estado de cromatólise, ou evidenciando nítida "lesão celular crônica", traduzida por hiper cromatismo; fibras nervosas em processos de degeneração secundária, na região correspondente aos pés dos pedúnculos cerebrais (fig. 4 B). No cerebelo, leptomeninges com discreta infiltração linfocitária; camada molecular exibindo proliferação dos elementos astrocíticos; na camada das células de Purkinje frequentes neurônios com núcleos vacuolizados; camada dos grânulos de aspecto normal; na substância branca, proliferação da astroglia.

Cavidade tóraco-abdominal — No coração, processo de miocardite discreto, de natureza focal, distribuído irregularmente, parecendo ser mais de tipo intersticial, estando a musculatura cardíaca bem conservada (fig. 5). Nos rins, tanto na zona medular como na cortical, congestão dos vasos sanguíneos; os tubos contorcidos não se mostravam alterados. No fígado, parênquima com os hepatócitos em sua maior parte em degeneração hidrópica; discreta infiltração difusa dos sinusóides por células linfocitárias; células do sistema retículo-endotelial com o citoplasma carregado de pigmento pardo-esverdeado, possivelmente de natureza sanguínea. No baço, a

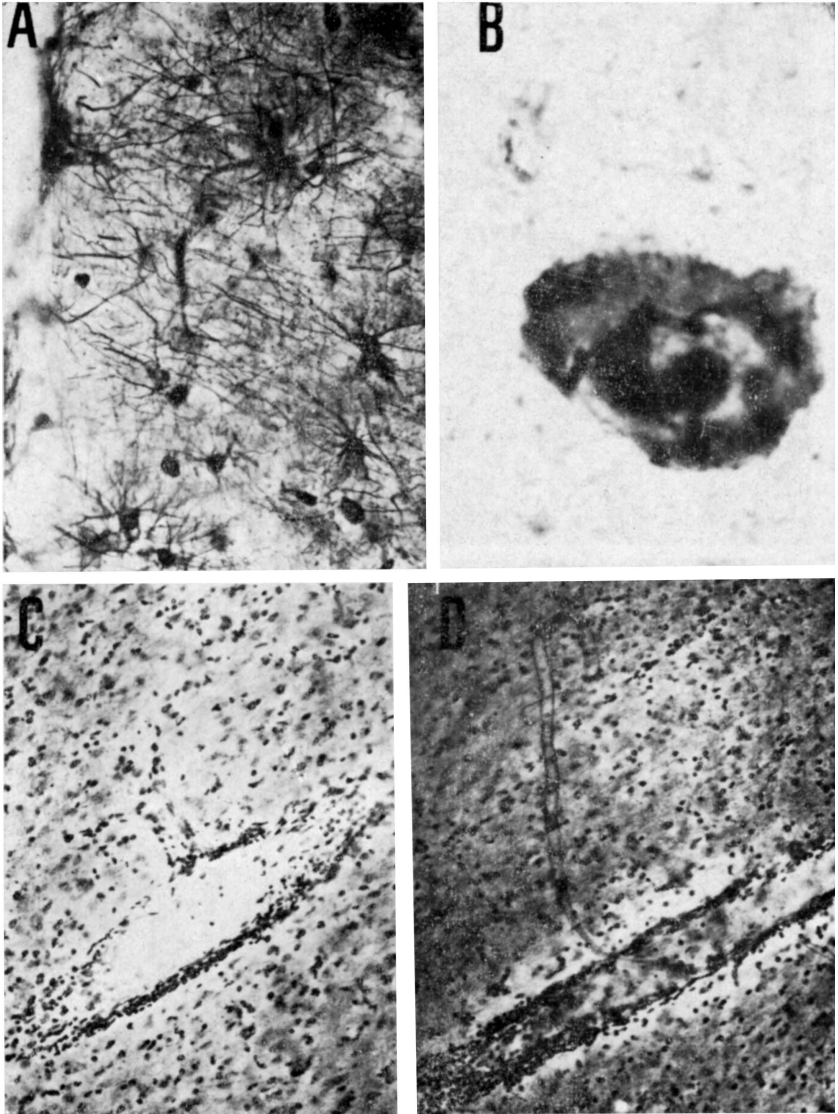


Fig. 2 — Animal n.º 1. Primeira passagem, 21 meses de sobrevida. Em A, gliose da primeira camada cortical (impregnação pelo carbonato de prata de Rio Hortega; oc. 10x, obj. 24x, Leitz); em B, neurônio cortical apresentando volumosa inclusão acidófila intranuclear, cercada por halo claro e deslocando o nucléolo para a periferia do núcleo (inclusão tipo A de Cowdry), sem reação inflamatória em torno (hematoxilina-eosina; oc. 10x, obj. 93x, Leitz); em C e D, manguitos inflamatórios perivascularares encontrados no córtex cerebral e substância branca (impregnação argêntica pelo carbonato de prata de Rio Hortega; oc. 10x, obj. 10x, Leitz).

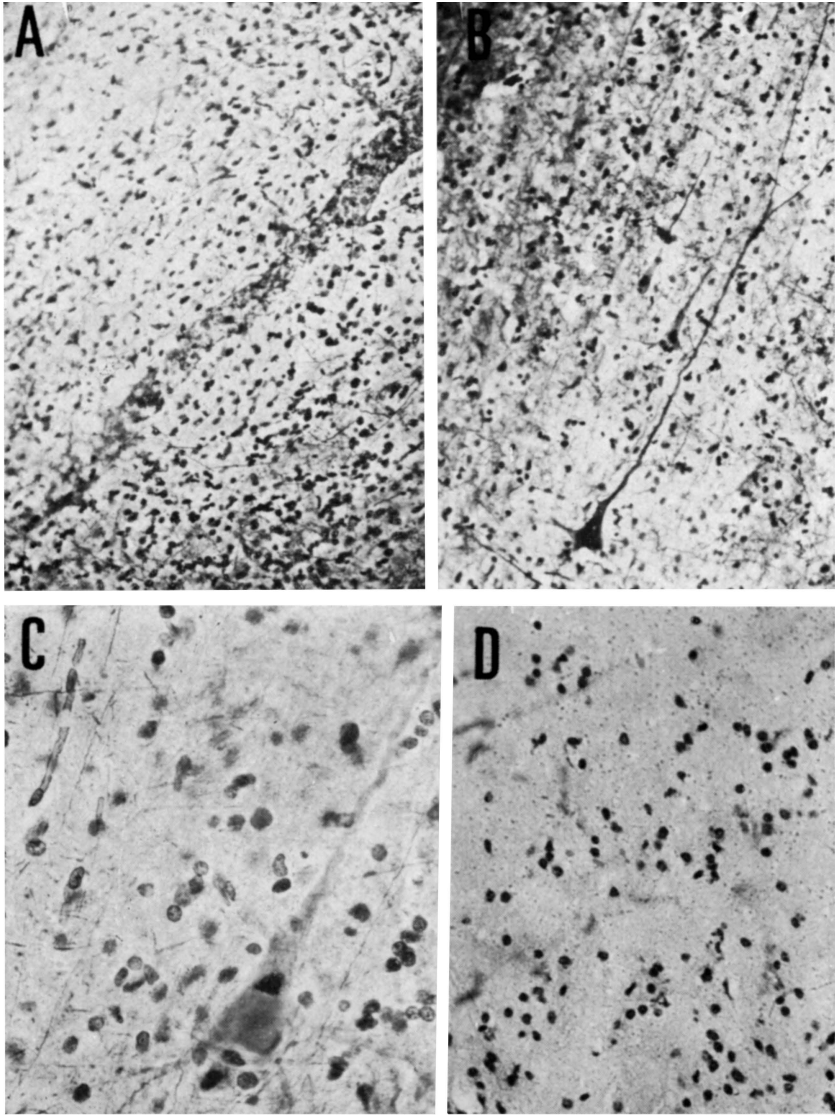


Fig. 3 — *Animal n.º 1. Primeira passagem, 21 meses de sobrevida. Em A, córtex cerebral, vendo-se vaso sangüíneo congestionado e infiltração inflamatória difusa do tecido nervoso (impregnação pelo carbonato de prata de Rio Hortega; oc. 10x, obj. 10x, Leitz); em B, célula piramidal média do córtex cerebral, hiper cromática e contraída (lesão celular crônica). Notar a hiperplasia dos núcleos gliais (impregnação pelo carbonato de prata de Rio Hortega; oc. 10x, obj. 10x, Leitz); em C, célula piramidal da 5.ª camada com lesão celular crônica. Notar a deformação do núcleo celular e a hiperplasia dos núcleos da astrogliia (impregnação pelo carbonato de prata de Rio Hortega; oc. 10x, obj. 24x, Leitz); em D, gliose da substância branca; notar a hiperplasia dos núcleos gliais (cresil-violeta; oc. 10x, obj. 10x, Leitz).*

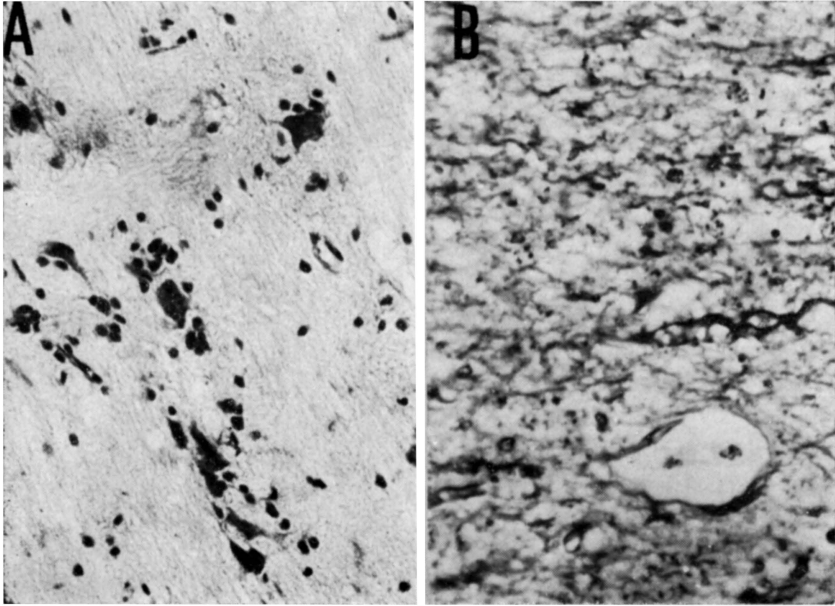


Fig. 4 — Animal n.º 1. Primeira passagem, 21 meses de sobrevivência. Em A, hiperplasia da glia satélite perineuronal no tronco cerebral (cresil violeta; oc. 10x; obj. 10x, Leitz); em B, desmielinização intensa de grosso feixe nervoso do tronco cerebral (hematoxilina de Heidenhain-Woelke; oc. 10x; obj. 45x, Leitz).

polpa vermelha aparecia ligeiramente congestionada; a polpa branca não apresentava alterações dignas de nota. Nos pulmões, alvéolos com os septos adelgaçados, frequentemente rotos, configurando áreas de enfisema; acúmulos linfocitários nas adventícias dos grandes vasos; antracose.

Animal n.º 2 (n.º de série 152), inoculado com material proveniente do paciente L.S.S. em 1-11-1968 (1.ª passagem) e sacrificado em 10-8-1970, já com paralisia do trem posterior.

Sistema nervoso central — Leptomeninges finas e lisas, com vasos congestionados. Parênquima nervoso edemaciado. O exame microscópico mostrou leptomeninges com discreta infiltração linfocitária. Na substância cinzenta da córtex cerebral, grande quantidade de neurônios hiper cromáticos. Na substância branca, hiperplasia difusa da glia astrocitária, com proliferação dos astrocitos perivasculares; microglia com pigmento lipocrômico fagocitado. Nos núcleos cinzentos da base, numerosos neurônios com sinais de "lesão celular crônica". Este aspecto também era observado nos grandes neurônios motores da 5.ª camada cortical. Observava-se também proliferação da glia perineuronal. A impregnação argêntica mostrou que a microglia e a oligodendroglia achavam-se em hiperplasia. Presença de calcificações perivasculares (figs. 6 e 7). No tronco cerebral, gliose, com proliferação da glia satélite perineuronal; neurônios com "lesão celular crônica", com hiper cromatismo e picnose dos núcleos celulares; os restantes neurônios apareciam quase todos em cromatólise; vasos sanguíneos bastante congestionados. No cerebelo, leptomeninges com discreta infil-

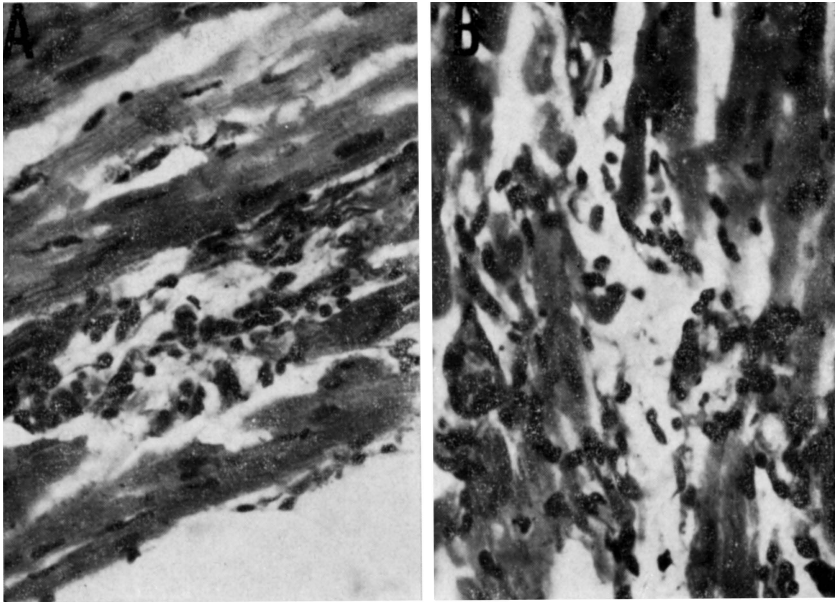


Fig. 5 — Animal n.º 1. Primeira passagem, 21 meses de sobrevida. Dois campos microscópicos mostrando processo de miocardite de pequena intensidade (hematoxilina-eosina; oc. 10x; obj. 24x, Leitz).

tração linfocitária; a camada molecular mostrava pequena proliferação astrocitária; camada de células de Purkinje evidenciando muitos elementos hiper cromáticos e contraídos, porém em sua maior parte de aspecto normal; na substância branca, proliferação difusa da astroglia chamando a atenção a hiperplasia da glia perivascular; vasos sanguíneos da substância branca extremamente congestionados. Na medula espinhal, substância branca aparentemente normal; na substância cinzenta grande número de neurônios hiper cromáticos, com aspecto de “lesão celular crônica”; alguns neurônios com vacúolo central de conteúdo albuminoso, deslocando e comprimindo o nucléolo para a periferia, para baixo da membrana nuclear; nos cortes de medula torácica, aspecto esponjoso e calcificação de um dos cornos posteriores (fig. 7 B); glia satélite perineuronal em hiperplasia; numerosos astrocitos hipertrofiados.

Cavidade tóraco-abdominal — No coração, processo de miocardite de moderada intensidade, traduzido por extensos infiltrados linfo-histiocitários difusos e perivascularares, bem como com alguns de localização subendocárdica (figs. 7, C e D). Nos rins, vasos sanguíneos bastante congestionados, chamando a atenção a congestão das alças glomerulares; tubos contorcidos de aparência normal; na zona medular do rim o aspecto era semelhante ao encontrado na zona cortical. No fígado, parênquima mostrando pequenos acúmulos linfocitários distribuídos de maneira esparsa, porém sempre de localização intrasinusoidal; quase tôdas as células do sistema retículo-endotelial apresentavam abundante pigmento pardacento; áreas do parênquima onde os hepatócitos apareciam tumefactos, em estado de “degeneração hidrópica”. No baço, cápsula espessada; polpa vermelha ligeiramente congestionada; polpa branca de aspecto normal. Nos pulmões, vasos capilares dos septos alveolares ligeiramente congestionados; acúmulos linfocitários próximos aos vasos pulmonares.

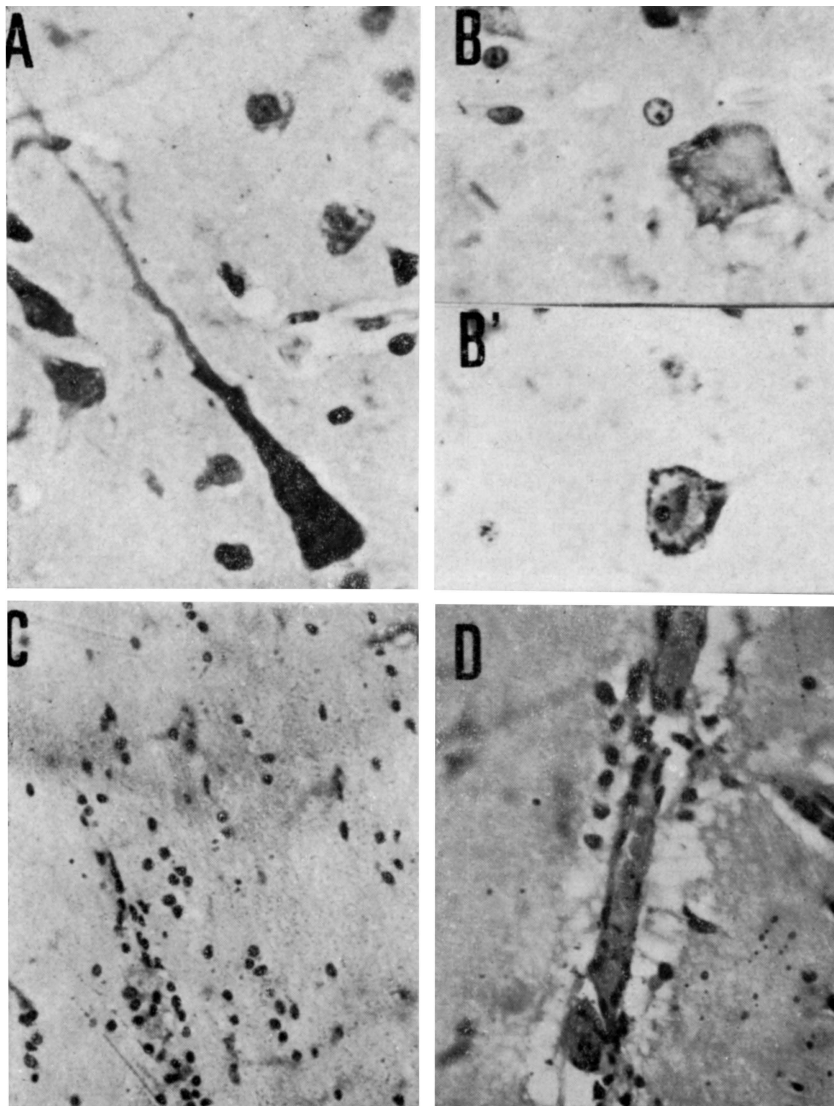


Fig. 6 — Animal n.º 2. Primeira passagem, 22 meses e 10 dias de sobrevida. Em A, neurônio do córtex cerebral hiper cromático e contraído (cresil-violeta; oc. 10x; obj. 45x, Leitz); em B e B', células nervosas dos núcleos basais mostrando cromatólise central (cresil-violeta; oc. 10x; obj. 45x; Leitz); em C, gliose da substância branca com hiperplasia dos núcleos astrocitários (cresil-violeta; oc. 10x; obj. 24x, Leitz); em D, hiperplasia dos astrocitos perivascularares (cresil-violeta; oc. 10x; obj. 24x, Leitz).

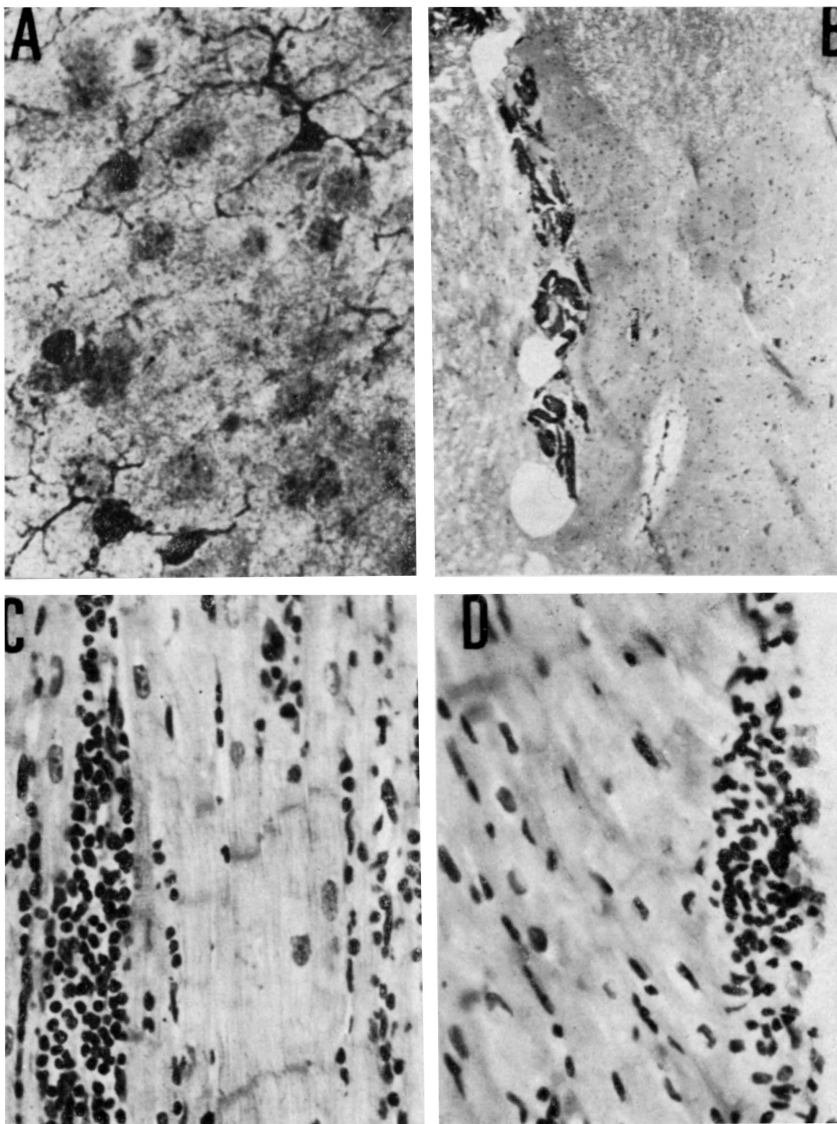


Fig. 7 — Animal n.º 2. Primeira passagem, 22 meses e 10 dias de sobrevida. Em A, campo microscópico mostrando mobilização microglial (impregnação pelo carbonato de prata de Rio Hortega; oc. 10x; obj. 24x, Leitz); em B, extensa calcificação do corno posterior na medula torácica (hematoxilina-eosina; oc. 10x; obj. 3,5x, Leitz); em C, miocardite focal de média intensidade (hematoxilina-eosina; oc. 10x; obj. 24x, Leitz); em D, endocardite focal (hematoxilina-eosina; oc. 10x; obj. 24x, Leitz).

Macaco n.º 3 (n.º de série 165), inoculado com material proveniente do macaco n.º 2 em 28-8-1970 (2.ª passagem) e sacrificado em 12-10-1970, 45 dias após a inoculação.

Sistema nervoso central — Leptomeninges finas e lisas, com vasos muito congestionados. Tecido nervoso edemaciado. O exame microscópico mostrou leptomeninges com discreta infiltração linfocitária. Vasos sanguíneos congestionados em toda a substância nervosa. Na substância cinzenta cortical, grande quantidade de neurônios hiper cromáticos. Gliose difusa na substância branca. Hiperplasia da glia perivascular. Estes aspectos eram também encontrados nos núcleos cinzentos da base do cérebro. No tronco cerebral, hiperplasia difusa da glia astrocitária. Nos núcleos denteados os grandes neurônios, apareciam em cromatólise, microvacuolizados ou com aspecto de "lesão celular crônica". Vasos sanguíneos extremamente congestos. Proliferação difusa da astroglia, notadamente da astroglia satélite perineuronal. No cerebelo, leptomeninges com discreta infiltração linfocitária; camada molecular com pequena proliferação glial; na camada das células de Purkinje, grande quantidade de neurônios hiper cromáticos; gliose difusa na substância branca. Na medula espinhal, substância branca de aparência normal; na substância cinzenta, vasos sanguíneos congestos; numerosos neurônios motores apresentavam sinais de "lesão celular crônica" com hiperplasia da glia satélite.

Cavidade tóraco-abdominal — no coração, sincício miocárdico apresentando pequenos focos inflamatórios linfocitários, alguns de localização perivascular. Nos rins, alças glomerulares distendidas, o mesmo acontecendo com os demais vasos sanguíneos corticais; os tubos contorcidos evidenciavam processo de degeneração granular, havendo, em muitos, degeneração vacuolar; na medula renal, o aspecto era semelhante ao da córtex. No fígado, sinusóides hepáticos congestionados, vendo-se em algumas regiões as traves hepáticas adelgadas devido à compressão exercida pela massa líquida; nas regiões onde a estase sanguínea era mais intensa e prolongada, ocorreram pequenas hemorragias, com formação de hemosiderina, fagocitada por células do sistema reticulo-endotelial; em torno de algumas veias centro-lobulares pequenos infiltrados linfocitários; muitos hepatócitos em estágio inicial de metamorfose gordurosa. No baço, polpa esplênica ligeiramente espessada; polpa vermelha congestionada, com algumas hemorragias; na polpa branca, hiperplasia das células reticulares, com atrofia dos elementos linfocitários. Nos pulmões, vasos capilares dos septos alveolares congestos; acúmulos linfocitários lobulares na adventícia dos grandes vasos.

Macaco n.º 4 (n.º de série 166), inoculado com material proveniente do macaco n.º 2 em 28-8-1970 (2.ª passagem), morrendo em 16-10-1970, quando já apresentava sinais neurológicos.

Sistema nervoso central — Leptomeninges lisas e transparentes, com vasos congestos. Parênquima nervoso edemaciado. Ao exame microscópico, discreta infiltração linfocitária nas leptomeninges. No cérebro, acentuada congestão dos vasos sanguíneos, tanto na substância cinzenta como na branca. Na substância cinzenta, numerosas células nervosas com aspecto hiper cromático e contraído. Na substância branca, proliferação da glia astrocitária, mais evidente em determinadas áreas. Este mesmo aspecto de proliferação glial e congestão vascular observava-se, também, nos núcleos da base do cérebro. No tronco cerebral a proliferação da astroglia aparecia mais intensa que na substância branca dos hemisférios cerebrais. Os neurônios dos núcleos denteados apresentavam-se envolvidos por acentuado processo de gliose. Intensa proliferação da glia astrocitária, principalmente no mesencéfalo onde os vasos sanguíneos estavam extremamente congestionados; freqüentes figuras de satelitose; os grandes neurônios dos núcleos mesencefálicos freqüentemente apareciam hiper cromáticos e contraídos, com aspecto de "lesão celular crônica". No cerebelo, leptomeninges com discreta infiltração linfocitária predominando nas proximidades dos vasos sanguíneos; a camada molecular mostrava proliferação astrocitária; a camada das

células de Purkinje e a camada dos grânulos não se mostravam alteradas; na substância branca, proliferação da glia astrocitária. Na medula espinhal, substância branca aparentemente normal; na substância cinzenta, neurônios mostrando sinais de "lesão celular crônica", com núcleos picnóticos e nucléolos volumosos; glia satélite em proliferação.

Cavidade tóraco-abdominal — No coração, sincício cardíaco aparentemente normal; todavia, distribuídos de maneira esparsa, encontravam-se pequenos focos inflamatórios formados por acúmulos linfocitários, com destruição de fibras cardíacas. Nos rins, pequena congestão dos vasos retos na zona medular; ausência de processo inflamatório. No fígado, parênquima congestionado, com as traves adelgaçadas pela compressão exercida pelo sangue no interior dos sinusóides sendo estas lesões mais intensas nas regiões centro-lobulares; muitas veias centro-lobulares com infiltração inflamatória perivascular; nos espaços-porta, ocasionalmente, observavam-se também infiltrados linfocitários. No baço, polpa vermelha bastante congestionada, havendo freqüentes e extensas hemorragias; a polpa branca evidenciava grande hipertrofia das células reticulares, com evidente redução numérica dos elementos linfocitários. Nos pulmões, moderada congestão dos capilares dos septos alveolares; em alguns pontos foram encontrados densos acúmulos linfocitários focais nas adventícias dos grandes vasos.

Macaco n.º 5 (número de série 164), inoculado com material proveniente do macaco n.º 1 em 28-8-1970 (2.ª passagem), morto em 11-11-1970, com evidentes sinais neurológicos, após 75 dias de sobrevida.

Sistema nervoso central — Leptomeninges finas e transparentes, com vasos congestos. Tecido nervoso subjacente edemaciado. O exame microscópico revelou discreta infiltração linfocitária das leptomeninges. Na substância cinzenta cortical, grande quantidade de neurônios hiper cromáticos; discreta proliferação da glia astrocitária; espongiase cortical (fig. 8); gliose da primeira camada. Na substância branca, proliferação da glia astrocitária; algumas fibras nervosas em processo de degeneração secundária; vasos sangüíneos congestos. O aspecto microscópico dos núcleos cinzentos da base do cérebro era semelhante ao que foi descrito em relação à cortex cerebral. No tronco cerebral, acentuada proliferação da astroglia; a maior parte dos neurônios que formam os núcleos nervosos apareciam em cromatólise ou mostravam sinais de "lesão celular crônica"; vasos sangüíneos bastante congestionados. No cerebelo, leptomeninges com discreta infiltração linfocitária; camada molecular mostrando pequena proliferação da astroglia; na camada das células de Purkinje, neurônios mostrando sinais de "lesão celular crônica"; camada dos grânulos de aspecto normal; na substância branca, hiperplasia astrogliar com pequeno grau de espongiase; vasos sangüíneos congestos. Na medula espinhal, substância branca de aspecto normal; na substância cinzenta os neurônios freqüentemente apareciam em cromatólise, microvacuolizados ou exibindo sinais de "lesão celular crônica"; proliferação da astroglia na substância cinzenta.

2) *Cavidade tóraco-abdominal* — No coração, sincício cardíaco histologicamente sem anormalidades; observava-se, porém, infiltração linfocitária difusa muito discreta do tecido conjuntivo intersticial; fibrose difusa do miocárdio. Nos rins, zona cortical com vasos bastante congestos, notadamente as alças glomerulares; os tubos contorcidos apresentavam muitas vezes processos de degeneração granular; na medula o aspecto era semelhante ao descrito na córtex, vendo-se congestão dos vasos retos. No fígado, sinusóides hepáticos congestos, vendo-se hepatócitos em início de metamorfose gordurosa; estas lesões eram mais acentuadas em torno das veias centro-lobulares, que, às vezes, mostravam discreta infiltração linfocitária perivascular. No baço, polpa vermelha extremamente congestionada, com algumas hemorragias; na polpa branca, grande hiperplasia das células reticulares; em alguns pontos a hiperplasia reticular já havia cedido lugar a processo de fibrose com hialinização; os elementos linfocitários da polpa branca encontravam-se numericamente diminuídos.

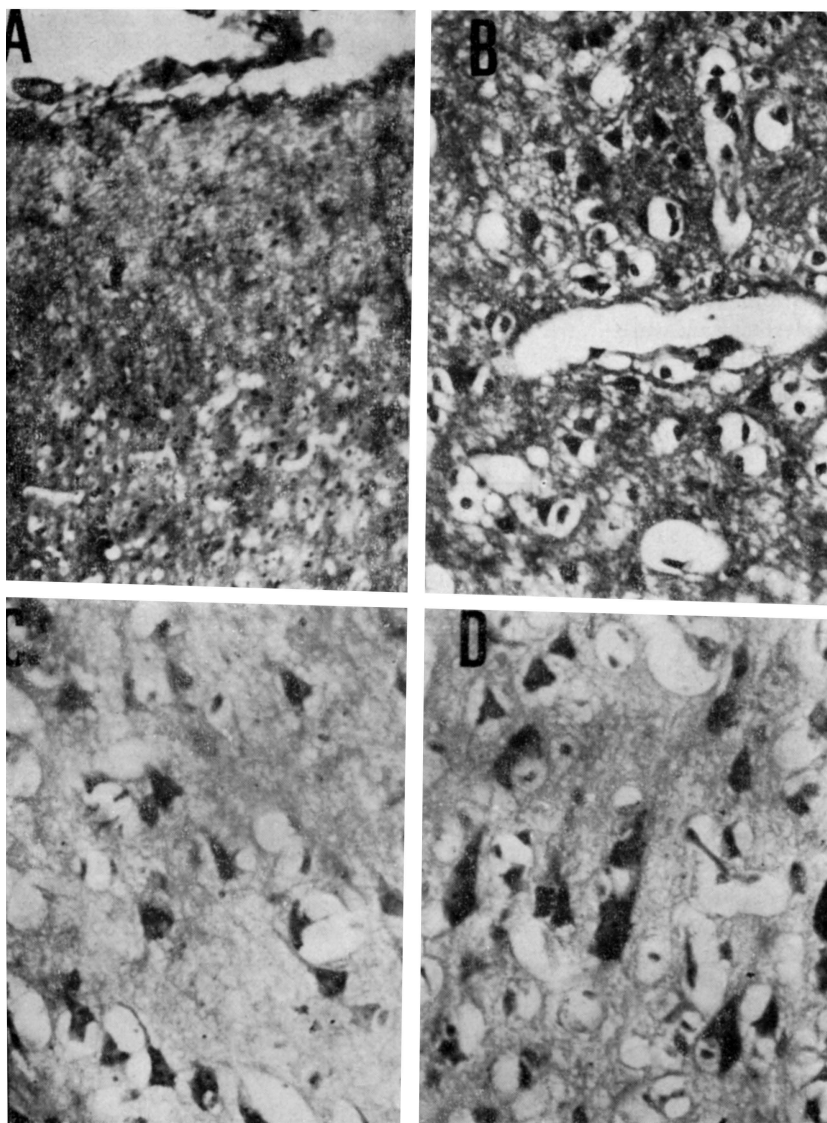


Fig. 8 — Animal n.º 5. Segunda passagem, 75 dias de sobrevida: Em A, esponjose cortical, com gliose das primeiras camadas (hematoxilina fosfotúngstica; oc. 10x; obj. 3,5x, Leitz); em B, área de esponjose cortical, com desaparecimento da maior parte da população neuronal (hematoxilina fosfotúngstica; oc. 10x; obj. 24x, Leitz); em C, área de esponjose cortical, com neurônios remanescentes (cresil-violeta; oc. 10x; obj. 10x, Leitz); em D, área de esponjose cortical, verificando-se que os neurônios remanescentes apresentam-se em cromatolise (cresil-violeta; oc. 10x; obj. 24x, Leitz).

Nos pulmões, capilares dos septos alveolares ligeiramente congestos; acúmulos linfocitários nodulares na camada adventícia dos grandes vasos.

	Animais				
	1	2	3	4	5
Gliose da 1. ^a camada cortical	++++	+	—	—	++++
Satelitose	+	+	+	+	++
Reação inflamatória	++	—	—	+	—
Inclusões intranucleares	+	—	—	—	—
“Lesão celular crônica”	++++	++++	+++	+++	+++
Gliose da substância branca	++++	+++	+++	+++	+++
Desmielinização	—	—	—	—	+
Congestão vascular	+	+	+++	+++	+++

Quadro 1 — Lesões encontradas no córtex cerebral dos 5 animais inoculados.

	Animais				
	1	2	3	4	5
Gliose	++	++	+	++	++
Satellitose	+++	—	—	++++	—
Reação inflamatória	—	—	—	+	+
Inclusões	—	—	—	—	—
“Lesão celular crônica”	—	++	+++	+	++++
Cromatólise	++++	++	+++	+++	++++
Desmielinização	++	—	—	—	—
Congestão vascular	+	++	+++	+++	++

Quadro 2 — Lesões encontradas no tronco cerebral dos 5 animais inoculados.

COMENTÁRIOS

Desde a descrição original de Dawson^{13, 14} tem sido tentada a reprodução experimental da panencefalite subaguda esclerosante (SSPE). Pelos motivos já expostos na introdução deste estudo, tais tentativas quase sempre redundaram em fracassos; apenas Pelc e col.³⁵ parece terem conseguido reproduzir em macacos, um quadro encefalítico típico. Estes autores utilizaram material proveniente da autópsia de 3 pacientes com SSPE, forma de Van Bogaert, sendo que do 3.º paciente usaram também material de biópsia cerebral; com o material de necrópsia, inoculado em ratos e camundongos, bem como em culturas de tecidos (Helacells e linhagem T de rim humano) os resultados

foram negativos; com o material de biópsia cerebral, inoculado intracerebralmente em dois macacos (*Macaccus cynomolgus*) os resultados foram positivos. As microfotografias exibidas por Pelc e col.³⁵ são muito convincentes, mostrando nítida hipertrofia e hiperplasia da astroglia, evidentes sinais de neuronofagia e constituição de autênticos nódulos gliais: uma das microfotografias mostra uma inclusão acidófila intranuclear. O quadro encefalítico, tanto clínico como histopatológico, foi bem nítido na primeira passagem, reproduzindo-se apenas em um animal de 4 inoculados na segunda passagem, e perdendo-se inteiramente na terceira passagem. Apreciando o trabalho de Pelc e col.³⁵ nota-se, todavia, uma discrepância quanto à evolução clínica. O caso humano era de evolução subaguda ou crônica, enquanto que os animais inoculados apresentaram processo encefalítico típico em cerca de 20 dias, em média, como se tivesse havido uma exacerbação da virulência do agente etiológico.

Katz e col.^{27, 28} conseguiram isolar um vírus proveniente de casos humanos de SSPE de Van Bogaert usando o furão como animal de experimentação, após um período de incubação muito longo. O trabalho de Lehrich e col.²⁹, isolando um agente viral a partir de casos humanos de SSPE com patogenicidade para o "hamster", mostrou um quadro agudo no animal de experimentação.

Tem-se hoje como quase certo serem as SSPE determinadas, em sua maior parte, pelo vírus do sarampo, ou outros mixovírus muito próximos a êle. Em estudos feitos com microscopia eletrônica^{10, 15, 33, 36}, imunofluorescência^{18, 38}, culturas de tecidos^{25, 34} ou com êstes três métodos simultaneamente³⁹, esta etiologia parece hoje perfeitamente estabelecida. É possível, porém, que se trate de uma variedade neurotrópica do vírus do sarampo agindo como um vírus lento^{12, 31, 40}, como também é possível que o quadro mórbido das SSPE possa ser determinado por mais de um vírus. Já existe um trabalho neste sentido¹¹.

De capital importância, em relação ao nosso estudo, é a noção de vírus lento pois as infecções determinadas por êstes agentes diferem, em muitos aspectos, dos quadros infecciosos clássicos. O período de incubação é longo, geralmente de mais de um ano. O quadro histopatológico também não é o que se costuma encontrar em processos infecciosos; as infiltrações inflamatórias, difusas ou perivasculares, podem ser mínimas, podem estar localizadas apenas em pequena área do tecido acometido ou mesmo faltarem inteiramente. Em se tratando do sistema nervoso central, pode aparecer um quadro de caráter degenerativo, com desmielinizações intensas, gliose e, praticamente, sem reação inflamatória. Os estudos de Gajdusek e Gibbs^{20, 21}, mostrando a possibilidade de quadros neurológicos crônicos serem causados por vírus, abriram enorme campo à pesquisa científica. O "kuru", processo degenerativo do sistema nervoso central dos selvagens da Nova Guiné, foi, provavelmente, a primeira doença crônica humana degenerativa em que foi demonstrada a etiologia virótica^{20, 21}. A doença de Creutzfeldt-Jacob, outro processo degenerativo do sistema nervoso central humano, também é causada por vírus^{22, 23, 24}. Entre os animais, a encefalopatia da lontra, o "scrapie", a "visna" e o

“maedi” são doenças causadas por vírus de ação muito lenta. Recentemente Margolis e Kilham³⁰ mostraram que a ataxia cerebelar espontânea dos gatos, na qual não se observa qualquer indicio de processo inflamatório, também é de causa virótica.

O VI Congresso Internacional de Neuropatologia (Paris, 31 de agosto a 4 de setembro de 1970) teve sessão especial dedicada ao estudo dos vírus lentos e sua patologia. Várias das chamadas “encefalopatas espongiiformes” foram discutidas como sendo de causa virótica. Este nome é dado a certas formas de encefalopatas em que a córtex cerebral apresenta-se fortemente edemaciada, com aspecto “esponjoso”, havendo desaparecimento da população neuronal e gliose. Este grupo de doenças engloba o “kuru”, a doença de Creutzfeldt-Jacob, a encefalopatia da lontra e o “scrapie”, todas determinadas por vírus do tipo lento. As SSPE não foram reunidas a este grupo, apesar de muitas vezes a córtex cerebral ter aparência espongiiforme, provavelmente porque os vírus responsáveis ainda não são suficientemente conhecidos, embora certamente se trate de entidade mórbida afim.

As inoculações realizadas com sucesso têm dado resultados diferentes, não somente em relação ao quadro histopatológico mas também quanto à evolução clínica. Muitas vezes não é conseguida a passagem do vírus para o organismo animal ou, quando isto é possível, são obtidos quadros histopatológicos agudos^{29, 34, 35} ou crônicos²⁸, após um período de incubação muito longo. Alguns parecem ser realmente determinados por uma variedade neurotrópica do vírus do sarampo, mas é possível que outros sejam causados por vírus diferentes¹¹.

Chamamos a atenção para o longo período de incubação observado nos dois primeiros animais (respectivamente, 21 meses e 22 meses e 10 dias). O quadro histopatológico era praticamente o de um processo degenerativo, com neurônios exibindo “lesão celular crônica” ou então em cromatólise, espongiase cortical, gliose intensa das primeiras camadas corticais e na substância branca, desmielinização incipiente e escassa reação inflamatória.

O processo de espongiase cortical parece-nos de grande importância pois é observado com muita frequência no “kuru”, na doença de Creutzfeldt-Jacob e no “scrapie” provocadas experimentalmente^{6, 20, 21, 23, 24}, doenças seguramente determinadas por vírus lentos. A presença de espongiase em nossos animais parece confirmar que realmente estamos em presença de um vírus lento. Da mesma maneira, o encontro de calcificações perivasculares (animal 2) permite uma analogia com as deposições perivasculares de sais de cálcio encontradas no “scrapie”, doença de carneiros determinada por um vírus lento e que apresenta alguma semelhança com o processo “normal” de envelhecimento do tecido nervoso¹⁹.

Pensamos que o nosso trabalho é o primeiro a repetir, com bastante analogia, o quadro humano das SSPE com a característica de um longo período de incubação, tal como se observa nos pacientes humanos. A possibilidade de contaminação do material com outro vírus que não o de origem humana nos parece muito remota, pois no momento não se trabalhava, no

laboratório, com qualquer outro vírus neurotrópico inoculado em macacos. Além disso, apenas os animais inoculados adoeceram, permanecendo os restantes da criação, do mesmo lote, perfeitamente normais. Este detalhe também permite afastar a possibilidade de confusão com a leucoencefalose²⁶ ou “cage paralysis”: nesta enfermidade existem grandes áreas de desmielinização, o que não existia em nossos animais; além do mais, o quadro clínico é diverso, com intensa participação cerebelar.

Na segunda passagem, como de hábito, houve considerável redução no período de incubação da doença, que se manifestou após uma latência que variou de 45 a 94 dias. Mesmo nestes casos em que a incubação foi menor, o quadro histopatológico era mais de um processo “degenerativo”, com gliose, proliferação da glia perineuronal e escassa reação inflamatória.

A presença de miocardite, de pequena intensidade porém nítida, nos animais de primeira passagem (animais 1 e 2) e apenas esboçada nos animais seguintes (animais 3, 4 e 5) de segunda passagem, constitui um achado inédito, para o qual ainda não temos explicação satisfatória. Não podemos nem mesmo comparar estes achados com outros, pois nos trabalhos que consultamos, os resultados histopatológicos das inoculações restringem-se ao estudo do sistema nervoso central, não sendo feitas referências a outros órgãos.

Não podemos deixar de fazer referências aos resultados negativos obtidos com a cultura de tecidos. Nas primeiras tentativas usamos a técnica clássica, tal como referimos no capítulo sobre material e métodos. A técnica proposta por Horta-Barbosa e col.²⁵ somente foi empregada no material proveniente dos macacos 1 e 2, também com resultados negativos. Não a empregamos nos casos humanos de imediato porque sua publicação foi ulterior ao início de nossos trabalhos. Todavia, apesar de não termos obtido resultados, havia um agente viral não identificado, pois os animais inoculados morreram com um processo de encefalopatia que pôde ser passado para outros animais em uma segunda passagem. Os estudos imunológicos referentes a esta linha de pesquisa, bem como a microscopia eletrônica do material, acham-se em curso e serão objeto de um trabalho ulterior.

R E S U M O

Material proveniente do cérebro de um paciente com “panencefalite subaguda esclerosante” foi inoculado, por via intracerebral, em dois *Macacus rhesus*. Os animais permaneceram assintomáticos, aparentemente bem, por mais de um ano. Entretanto, 21 e 22 meses após as inoculações começaram a apresentar sinais de comprometimento neurológico, traduzido por paralisia dos membros posteriores, com apatia e caquexia progressivas. Os animais foram sacrificados. O exame histopatológico do sistema nervoso central mostrou gliose marginal e gliose da substância branca, com os neurônios exibindo sinais de “lesão celular crônica”. Foram vistos discretos manguitos inflamatórios perivasculares. Em um animal foi encontrada inclusão acidófila intra-

nuclear. Havia também proliferação da glia satélite perineuronal, com sate-litose, notadamente no tronco cerebral. No exame das vísceras foi encontrado discreto processo de miocardite crônica. Foram retirados fragmentos dos encéfalos destes animais e inoculados em 4 outros, também por via intra-cerebral. Estes animais de 2.^a passagem após 2 meses de inoculação, em média, apresentaram sinais de comprometimento do sistema nervoso central semelhante ao dos animais doadores, de 1.^a passagem. Houve, portanto, um encurtamento do período de inoculação da moléstia. Estes animais também foram sacrificados, sendo encontradas gliose marginal, gliose da substância branca, "lesão celular crônica" neuronal e proliferação da glia satélite, notadamente no tronco cerebral; vasos sangüíneos congestionados; espongiose cortical. Os animais testemunhas, do mesmo lote, permaneceram normais.

Acreditamos que as lesões observadas nos animais de 1.^a passagem, e que se repetiram com maior intensidade e com menor tempo de incubação nos de 2.^a passagem somente podem ser explicadas admitindo-se a existência de um agente viral que, pela natureza do quadro histopatológico (gliose, "lesão celular crônica" neuronal e espongiose cortical) bem como pelo pe-ríodo longo de incubação, deva pertencer ao grupo dos chamados vírus lentos.

S U M M A R Y

Subacute sclerosing panencephalitis: transmission of a human encephalitogenic agent to Macacus rhesus.

Suspension of brain fragments obtained from a patient with subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) were inoculated intracerebrally in two rhesus monkeys. The animals remained apparently well for more than one year after inoculation. Signs of neurological involvement (paralysis of the posterior limbs with apathy and cachexia) appeared respectively 21 and 22 months after inoculation. The animals were sacrificed. At histological examination of the central nervous system marginal and white matter gliosis, and inflammatory perivascular cuffings were found; there was also proliferation of the perineural satellite glia with satellitosis in the brain stem. A discrete process of chronic myocarditis was observed on visceral examination. In one of these animals an acidophilic intranuclear inclusion was found. From these animals brain fragments were removed aseptically and inoculated intracerebrally in 4 others rhesus monkeys which, 2 to 3 months after inoculation, showed signs of central nervous system involvement similar to those observed in the first passage animals with a shorter incubation period. They were also sacrificed. The histological examination showed lesions, similar to those found in the animals of the first passage, increased with cortical spon-giosis. The lesions observed in the animals from the first passage and which were also present with more intensity and shorter incubation period in the second group of animals inoculated, seem to be produced by the so-called "slow viruses".

R E F E R Ê N C I A S

1. ALENCAR, A.; BROCK, M. & CAVALCANTI, J. L. S. — Encefalites atípicas: estudo anátomo-clínico de 4 casos. An. 1.º Congresso Nacional de Medicina, Rio de Janeiro, julho de 1962.
2. ALENCAR, A.; BROCK, M. & CAVALCANTI, J. L. S. — Encefalites atípicas: estudo anátomo-clínico de 6 casos. J. Bras. Neurol. 17:1, 1965.
3. ALENCAR, A. — Alterações nucleares e nucleolares nas panencefalites subagudas esclerosantes. Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo) 27:159, 1969.
4. ALENCAR, A.; OLIVEIRA, C. & COUTO, D. — Considerações sobre as leucoencefalites. II Congresso Brasileiro de Neurologia, Rio de Janeiro, 1966.
5. ALPERS, M. P.; ADELS, B. R.; FUGE, C. & MEYER, J. — Bibliography of subacute progressive panencephalitis (Dawson, Pette-Döring, Van Bogaert). Delayed measles panencephalitis. National Institute of Neurological Diseases and Blindness, Division of Research Services. National Institute of Health, Bethesda Md., August 1967, Revised July, 1, 1968.
6. BECKE, E. & DANIEL, P. M. — Subacute degenerations of the brain transmissible to experimental animals: a neuropathological evaluation. An. VI Congr. Intern. Neuropathologie (Paris): 858, 1970.
7. BOGAERT, L. VAN — Une leucoencéphalite sclérosante subaigue. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 8:101, 1945.
8. BOGAERT, L. VAN — Sur une leucoencéphalite sclérosante subaigue (deuxième mémoire). Rev. neurol. (Paris) 87:1, 1952.
9. BOGAERT, L. VAN — Encephalitides. In Encephalitides: L. Van Bogaert, J. Hozay & A. Löwenthal, ed. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1961.
10. BOUTEILLE, M.; FONTAINE, C.; VEDRENNE, C. & DELARUE, J. — Sur un cas d'encéphalite subaigue à inclusions; étude anatomo-clinique. Rev. neurol. (Paris) 113:454, 1965.
11. BRODANO, G. B.; OYANAGI, S.; KATZ, M. & al. — Presence of two different viral agents in brain cells of patients with subacute sclerosing panencephalitis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 134:230, 1970.
12. BYINGTON, D. P.; CASTRO, A. E. & BURNSTEIN, T. — Adaptation to hamsters of a neurotropic measles virus from subacute sclerosing panencephalitis. Nature (London) 255:554, 1970.
13. DAWSON, Jr., J. R. — Cellular inclusions in cerebral lesions of lethargic encephalitis. Am. J. Path. 9:7, 1933.
14. DAWSON, Jr., J. R. — Cellular inclusions in cerebral lesions of epidemic encephalitis: second report. Arch. Neurol. Psychiat. (Chicago) 31:685, 1934.
15. DAYAN, A. D.; GORTLING, J. V. T.; GREAVES, J. L.; STEVENS, D. W. & WOODHOUSE, M. A. — Evidence of a pseudomyxovirus in the brain in subacute sclerosing leucoencephalitis. Lancet 1:7497, 1967.
16. EAGLE, H. — Amino acid metabolism in mammalian cell cultures. Science 130:432, 1959.
17. ECONOMO, C. Von — Encephalitis Lethargica: its Sequellae and Treatment. Oxford University Press, London, 1931.
18. Editorial — Measles virus and subacute sclerosing panencephalitis. Neurology (Minneapolis) 18:2, 1968.
19. FRAZER, H. — Comparative morphology of ageing and scrapie. An. VI. Congr. Intern. Neuropathologie (Paris): 897, 1970.
20. GAJDUSEK, D. C.; GIBBS, C. J. Jr. & ALPERS, M. — Experimental transmission of a "kuru-like" syndrome to chimpanzees. Nature (London) 207:794, 1966.
21. GAJDUSEK, D. C.; GIBBS, C. J. Jr. & ALPERS, M. — Transmission and passage of "kuru" in chimpanzees. Science 155:212, 1967.
22. GIBBS Jr., C. J. & GAJDUSEK, D. C. — Infection as the etiology of spongiform encephalopathy (Creutzfeldt Jacob disease). Science (London) 165:1023, 1969.
23. GIBBS Jr., C. J.; GAJDUSEK, D. C.; ASHER, D. M.; ALPERS, M. P.; BECK, E.; DANIEL, P. M. & METTEWS, W. B. — Creutzfeldt Jacob disease (spongiform encephalopathy): transmission to the chimpanzee. Science (London) 161:388, 1968.

24. GONATAS, N. K.; TERRY, R. D. & WEIS, M. — Electron microscopic studies in two cases of Jacob-Creutzfeldt disease. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 27:575, 1965.
25. HORTA-BARBOSA, L.; FUCCILLO, D. A.; SEVER, J. L. & ZEMAN, W. — Subacute sclerosing panencephalitis: isolation of measles virus from brain biopsy. *Nature* 221:974, 1969.
26. INNES, J. M. R. & SAUNDERS, L. Z. S. — Confluent leucoencephalosis and perivascular myelosis. *In Comparative Neuropathology.* Academic Press, New York-London, 1962.
27. KATZ, M.; RORKE, L. B.; MASLAND, W. S.; KOPROWSKI, H. & TUCKER, S. H. — Transmission of encephalitogenic agent from brains of patients with subacute sclerosing panencephalitis to ferrets. *New England J. Med.* 279:793, 1968.
28. KATZ, M.; RORKE, L. B.; MASLAND, W. S.; BRODANO, G. B. & KOPROWSKI, H. — Subacute sclerosing panencephalitis: isolation of a virus encephalitogenic for ferrets. *Incet. Dis.* 121:188, 1970.
29. LEHRICH, J. R.; KATZ, M.; RORKE, L. B.; BARBANTI-BRODANO, G. & KOPROWSKI, H. — Subacute sclerosing panencephalitis: encephalitis in hamsters produced by viral agents isolated from human brain cells. *Arch. Neurol. (Chicago)* 23:97, 1970.
30. MARGOLIS, G. & KILHAM, L. — In pursuit of an ataxic hamster or virus-induced cerebellar hypoplasia. *In The Central Nervous System. Some Experimental Models of Neurological Diseases:* Orville T. Bailey & David, E. Smith, ed. The William & Wilkins Co., Baltimore, 1968.
31. MATUMOTO, M.; SABURI, Y.; AOYAMA, Y. & al. — A neurotropic variant of measles virus in suckling mice. *Arch. ges. Virusforsch.* 14:683, 1964.
32. MOORE, A. E.; SABACHEWSKY, L. & TOOLAN, H. W. — Cultures characteristics of four permanent lines of human cancer cells. *Cancer Res.* 15:598, 1955.
33. NAGEL, I. T. — Subacute sclerosing leucoencephalitis: ultrastructure of intranuclear and intracytoplasmic inclusions. *Science* 154:899, 1966.
34. PAYNE, F. E.; BAUBLIS, J. V. & ITABASHI, H. H. — Isolation of measles virus from cell cultures of brain from a patient with subacute sclerosing panencephalitis. *New England J. Med.* 281:585, 1969.
35. PELC, A.; PERIER, J. O. & QUERSIN-THIRY, L. — Résultats expérimentaux obtenus dans l'encephalite humaine, type encéphalite subaigüe à inclusions, leucoencéphalite sclérosante subaigüe. *Rev. neurol. (Paris):* 98:3, 1958.
36. PERIER, O. & VANDERHAEGHEN, J. J. — Indications étiologiques apportées par la microscopie électronique dans certaines encéphalites humaines. *Rev. neurol. (Paris)* 115:250, 1965.
37. PETTE, H. & DÖRING, G. — Ueber einheimische Panencephalomyelitis von Charakter der Encephalitis japonica. *Dtsch. Arch. Nervenheilk.* 149:7, 1939.
38. SHAW, C. M.; BUCHAN, G. C. & COLDEVIN, B. C. — Myxovirus as a possible etiologic agent in subacute inclusion body encephalitis. *New England J. Med.* 277:511, 1967.
39. TER MEULEN, V.; MULLER, D.; KATZ, M. & al. — Immunohistological, microscopical and neurochemical studies on encephalitis: IV. Subacute sclerosing (progressive) panencephalitis. Histochemical and immunohistological findings in tissue cultures derived from SSPE brain biopsies. *Acta Neuropath.* 15:1, 1970.
40. WAKSMAN, B. H.; BURNSTEIN, T. & ADAMS, R. D. — Histologic study of the encephalomyelitis produced in hamsters by a neurotropic strain of measles. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 21:25, 1962.
41. YASUMURA, Y. & KAWAKITA, Y. — Research into SV40 by tissue culture. *Nippon Sinsho* 21:1209, 1963.