

LESÕES POUCO USUAIS NA HISTOPATOLOGIA EXPERIMENTAL DE ARBOVIRUS AMAZÔNICOS *

Leonidas Braga Dias, Francisco Duarte e Domingos de Paula

São descritas as alterações histopatológicas observadas em camundongos infectados experimentalmente com os arbovirus Mucambo, EEE e Cocal. O vírus Mucambo determinou lesões renais; o EEE demonstrou especial mesenquimotropismo; o vírus Cocal lesões de topografia seletiva subependimária.

Vários autores têm se preocupado com a descrição das lesões experimentais produzidas por arbovirus, quer do grupo A (1, 9 e 15), como do grupo B (2 e 3) e C (6, 7, 8).

De um modo geral as lesões comumente descritas estão limitadas ou ao sistema nervoso central ou ao fígado (1, 3, 6, 7 e 8), e excepcionalmente em outros setores do organismo, como o caso do vírus Aurá, determinando lesões no miocárdio (9); focos de necrose têm sido assinalados em gânglios linfáticos e na medula óssea de cobaias e coelhos infectados com vírus VEE (15). Hiperemia renal com obliteração do espaço de Bowman foi descrita por Smithburn (12) na infecção experimental pelo vírus Semliki; a degeneração muscular, com necrose focal tem sido identificada na patologia dos vírus Middelburg e Chikungunya (10 e 16) e Sindbis (13) imitando as lesões determinadas pelos vírus do grupo Cocksackie. Da mesma maneira, a necrose da gordura hibernante ("brown fat") descrita neste grupo de vírus tem sido também referida na infecção

experimental de camundongos com vírus Getah (14) e Sagiyama (11).

O mesenquimotropismo de alguns vírus não tem sido convenientemente enfatizado, em que pese a ocorrência de complexos antígeno-anticorpo-fluoresceína na infecção experimental pelo vírus Junin, Oriboca, e do grupo VSV (4, 5 e 8), em células do tecido conjuntivo.

O presente relato tem por objetivo assinalar algumas lesões pouco usuais detectadas no curso da infecção experimental de camundongos por vírus Mucambo, EEE e Cocal.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas as amostras BeAn 94768 (Mucambo), BeAn 119081 (EEE) e BeAr 39377 (Cocal).

A amostra de vírus Mucambo foi isolada de urina de um *Oryzomys goeldii* por inoculação da mesma em camundongo recém-nascido, estando aquele roedor silvestre com hematúria. Foram inoculados lotes de 6 animais adultos, para cada título

* Trabalho do Centro Regional de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Pará e do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Recebido para publicação em 17.4.1972.

(10^{-2} a 10^{-4}) e via de inoculação (cerebral e intraperitoneal utilizando 0.02 e 0.03 ml. respectivamente), com suspensão de vírus procedente do liofilizado de cérebro de camundongo recém-nascido, em primeira passagem. Os animais, num total de 19, foram sacrificados em dias sucessivos, a partir do 6º dia de inoculação; o sacrifício foi por decapitação, sem anestesia, com imediata retirada das vísceras, que foram fixadas em formol neutro a 10% e em líquido de Bouin, de preparo recente.

A amostra de vírus EEE foi inoculada em lotes de 6 animais recém-nascidos e 6 animais adultos, utilizando igualmente as vias cerebral e intraperitoneal, variando as diluições entre 10^{-1} a 10^{-5} . Todos os camundongos foram anestesiados, sacrificados e fixados em formol neutro a 10%. Os animais adultos foram necropsiados e retirados quase todos os órgãos, incluindo a pele e músculos. Os animais recém-nascidos foram fixados *in toto*, após incisão na cavidade craniana e tóraco-abdominal, para facilitar a penetração do fixador. Os animais foram sacrificados com sintomas paralíticos no 4º e 7º dia após inoculação (recém-nascidos) e no 10º dia após inoculação, um único animal adulto.

A amostra de vírus Cocal foi isolada de um lote de 119 *Gigantolaps* colhidos do *Oryzomys sp.* capturados com armadilhas na floresta do Km. 92 da rodovia Belém-Brasília. Nas reações com soros dos grupos de Belém, e protótipos, ele reage somente com seus anti-soros homólogos, tendo sido negativa com 19 imune-soros para tipos exóticos, incluindo os tipos de soro Indiana e New Jersey do grupo da Estomatite vesicular. Entretanto as provas que resultaram de permuta de imune-soro entre os laboratórios de Trinidad e Belém indicam que o BeAr 39377 e Tr VI 40233 (isolado em Port of Spain) apresentam relações entre si. Foram examinados 17 camundongos de 4 dias de idade, inoculados por via cerebral, com 0.02 ml. de vírus do soro de camundongo, 8ª passagem, com títulos que variaram de 10^{-2} a 10^{-5} utilizados no curso de provas de neutralização. Foram sacrificados os animais não protegidos, que se apresentaram moribundos ou paralíticos. O tempo médio de sobrevivência dos animais inoculados e sem proteção foi de 2 dias (10^{-2} e 10^{-4}). Foram, em realidade, realizadas 3 provas de neutrali-

zação (proteção), resultando 6 animais da primeira experiência, 6 da segunda e 5 da terceira.

RESULTADOS

Em relação ao vírus Mucambo, os resultados histopatológicos não dependeram da via de inoculação e nem variações quantitativas foram observadas em função do título do inóculo. Em todos os animais que se apresentaram moribundos foi constatada a presença de quadro encefalítico (figura 1). Além desses achados de agressão neuronal foram assinaladas alterações hepáticas variáveis (figura 2) representadas por graus variáveis de vacuolização dos hepatócitos, necrose focal ocasional, anisocariose pouco pronunciada e discreta proliferação mesenquimal. Chamou-nos atenção o comprometimento renal (figura 3). Em 8 animais foram observadas alterações renais do tipo da glomerulite hemorrágica; em 4, do tipo glomerulite proliferativa e em 1, proliferação do epitélio capsular. Em 8 animais foi descrita congestão glomerular ou intersticial, isolada ou com as demais lesões acima descritas; não foram observados dados dignos de registro em apenas 3 animais.

O vírus EEE, em camundongos recém-nascidos apenas, determinou lesões ao nível do tecido conjuntivo jovem, incluindo pericondrio, perioste e bainha tendinosa (figura 4). Tais lesões estavam caracterizadas por focos necróticos, traduzidos por cariorrexe e cariopcnose, assim como imagens de lise celular, a par de moderado edema. Com menor freqüência foi assinalado igual tipo de comprometimento no interstício miocárdico.

O que se assinala de especial em relação ao quadro histopatológico da infecção experimental pelo vírus Cocal é, no quadro encefalítico, a presença de lesões subependimárias, de topografia constante, representadas por imagens de cariólise e cariorrexe não só ao nível das células neuronais como também gliais (figuras 5, 6, 7 e 8).

COMENTÁRIOS

De um modo geral, a análise da patologia experimental dos vírus Mucambo, EEE e Cocal, demonstra lesões pouc-

usuais quando comparadas com as identificadas com outros arbovirus (6, 7). Mesmo o quadro encefalítico, característico dos arbovirus em geral quando inoculados em camundongos recém-nascidos, mostra, no caso do vírus Cocal, uma topografia seletiva sub-ependimária, achado que não se confirma com outros arbovirus. O mais importante, entretanto, é a possibilidade de identificação não só de lesões ao nível das células de linhagem neuronal, como, muito particularmente, na neuroglia.

A análise histopatológica do vírus Mucambo, isolado originariamente de um roedor silvestre com hematuria, é também um achado singular, unicamente comparável com as lesões produzidas pelo vírus Semliki (12).

Talvez de importância apreciável, pelo menos do ponto de vista doutrinário, é a identificação de lesões ao nível de células do tecido conjuntivo, isto é, em tecido de sustentação, fato só recentemente estabelecido com o emprego de técnicas de imu-

nofluorescência (4,5 e 8). O certo é que com metodologia mais sofisticada surpreende-se o complexo vírus-anticorpo-fluoresceína em células conjuntivas, sem entretanto a detecção, pelo menos em nível de microscopia ótica, de lesões celulares. No exemplo que apontamos, isto é, o vírus EEE, as lesões foram identificadas facilmente à microscopia ótica.

Parece-nos, no momento atual, da maior importância reconhecer a participação do tecido de sustentação na agressão viral, uma vez que numerosas conjecturas etiológicas, ainda meramente especulativas, têm sido apontadas no determinismo de doenças humanas.

AGRADECIMENTOS

Grande parte da elaboração deste trabalho foi efetuada no Instituto Evandro Chagas (Belém — Pará). À sua direção e corpo de pesquisadores e técnicos, nossos agradecimentos.

SUMMARY

A description is given of the histopathological changes observed in mice infected experimentally with Mucambo, EEE and Cocal arboviruses. Mucambo virus induced renal lesions; EEE virus demonstrated special mesenchymal tropism; Cocal virus produced changes selectively in subependymal region.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAKER, A. B. — Western equine encephalitis. In *Encephalitis*. Elsevier, p. 33-37, 1961.
2. BEARCROFT, W. G. C. — The histopathology of the liver of yellow fever-infected Rhesus monkey. *J. Path. & Bact.* 74: 295-303, 1957.
3. BRUNO-LOBO, G. e CAUSEY, O. — Bussuquara, a new arthropod-borne virus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 101: 275-279, 1959.
4. BRUNO-LOBO, G.; BRUNO-LOBO, M.; JOHNSON, K. M.; WEBB, P. A. e De PAOLA, D. — Pathogenesis of Junin virus infection in the infant hamster. *An. Microbiol.* 15: 11-33, 1968.
5. BRUNO-LOBO, M.; PERALTA, P. H.; BRUNO-LOBO, G. e De PAOLA, D. — Pathogenesis of Vesicular stomatitis virus infection in the infant hamster and mouse. *An. Microbiol.* 15: 53-68, 1968.
6. De PAOLA, D. — Contribuição ao estudo da patologia das arboviroses. Tese. Rio de Janeiro. 1964.
7. De PAOLA, D.; BRUNO-LOBO, M. e DUARTE, F. — Histopatologia experimental dos arbovirus do grupo C e Guamá. *An. Microbiol.* 11: 133-160, 1963.
8. De PAOLA, D.; BRUNO-LOBO, G. e BRUNO-LOBO, M. — Immunofluores-

- cense in pathogenesis of group A, B and C arbovirus in the hamster. *An. Microbiol.* 15: 35-51, 1968.
9. DIAS, L. B. — Miocardite experimental em camundongos produzida por virus Aura. *Atas Simp. Biota Amazon.* 6: 95-97, 1966.
 10. KOKERNOT, R. H.; MEILLON, B. de; PATERSON, H. E.; HEYMAN, C. S. e SMITHBURN, K. C. — Middelburg viruses. A hitherto unknown agent isolated from *Aedes* mosquitos during an epizootic sheep. *South Afr. Med. Sci.* 22: 145-153, 1957.
 11. SCHERER, W. F.; IZUMI, T.; McCOWN, J. e HARDY, J. L. — Saggiyama virus. II. Some biologic, physical, chemical and immunologic properties. *J. Trop. Med. and Hyg.* 11: 269-282, 1962.
 12. SMITHBURN, K. C. — Neurotropic viruses in Central Africa. *Proc. 4th. Cong. Trop. Med. & Malaria*, p. 576-583, 1948.
 13. TAYLOR, R. M.; HURLBUT, H. S.; WORK, T. H.; KINGSTON, J. R. e FROTHINGHAM, T. E. — Sindbis virus: a newly recognized arthropod-transmitted virus. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.* 4: 844-862, 1955.
 14. TAYLOR, R. M. (ed.) — *Catalogue of Arthropod-borne viruses of the World.* U. S. Gov. Printing Office, 1967.
 15. VICTOR, J.; SMITH, D. G. and POLLACK, A. B. — The comparative pathology of Venezuelan encephalomyelitis. *J. Infec. Dis.* 98: 55-56, 1956.
 16. WEINBREN, M. P. — The occurrence of Chikungunya virus in Uganda. III. Identification of the agents. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* 52: 259-262, 1958.

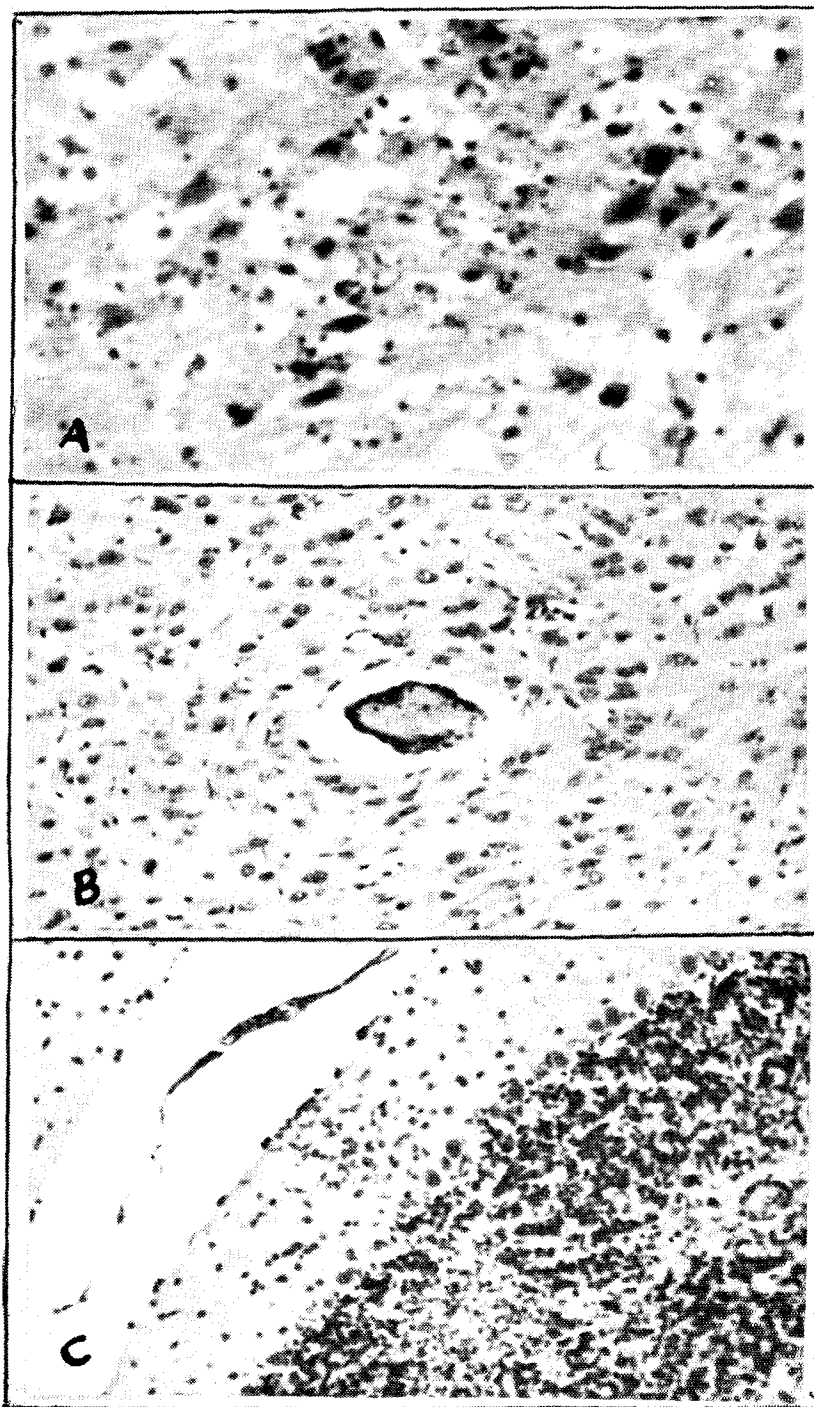


Fig. 1 -- (MUCAMBO)

Em (A) extensa e severa destruição neuronal ao nível da cortex frontal; em (B) infiltrado mononuclear perivascular e proliferação glial com figuras de neuronofagia; em (C) cerebello exibindo destruição de células de Purkinje e proliferação microglial em tufo (glial schrub). H & E. 240 X e 120 X.

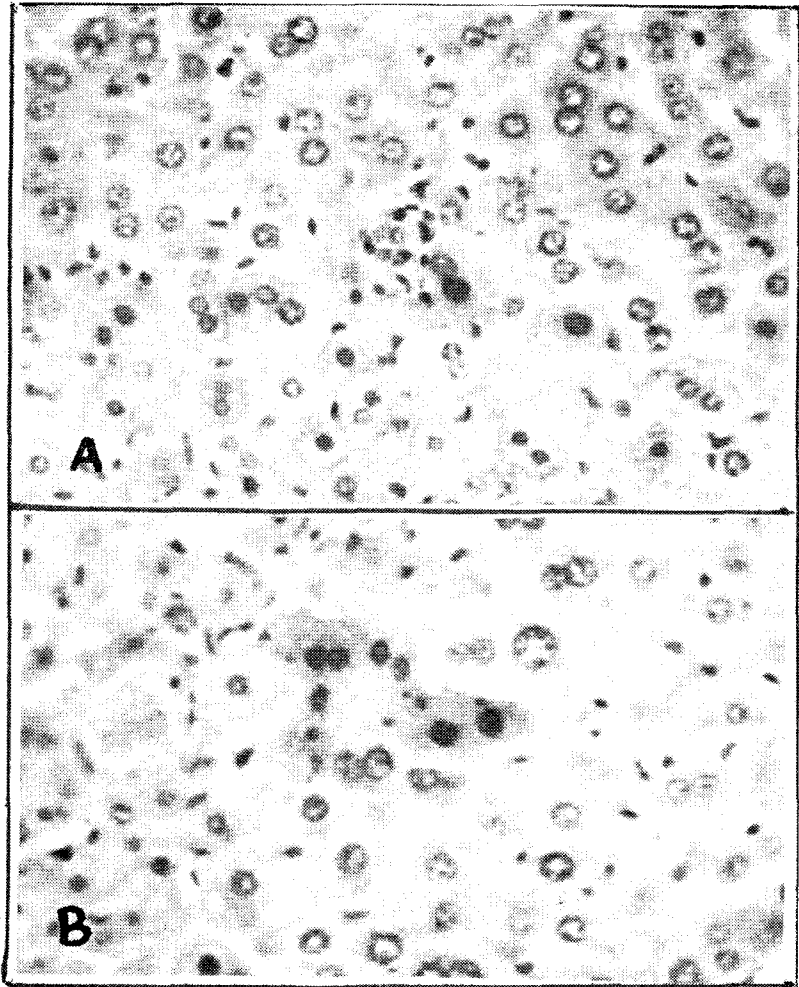


Fig. 2 -- (MUCAMBO)

Em (A) e (B) lesões focais de hepatócitos, e proliferação de células de Kupffer. H & E . 240 X.

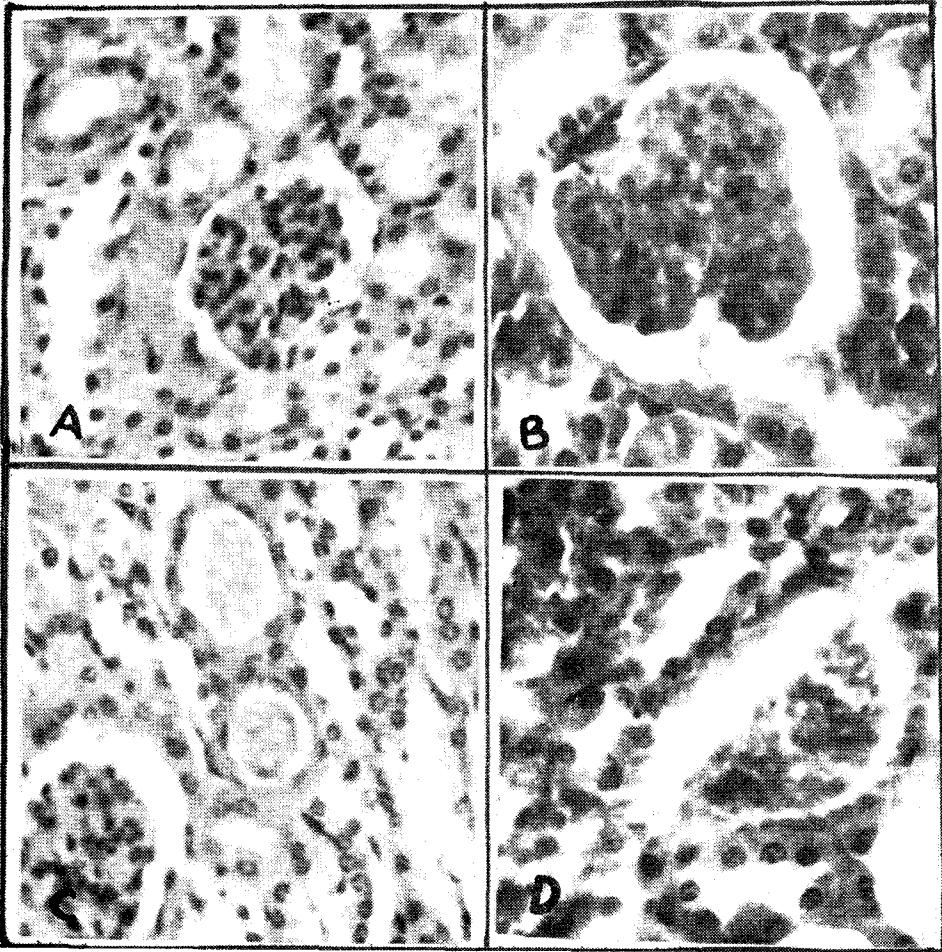


fig. 3 — (MUCAMBO)

Em (A) e (B) glomérulo renal exibindo proliferação celular e intensa congestão;
em (C) e (D) túbulos renais contendo material proteináceo e hemátias. H. & E.
120 X e 240 X.

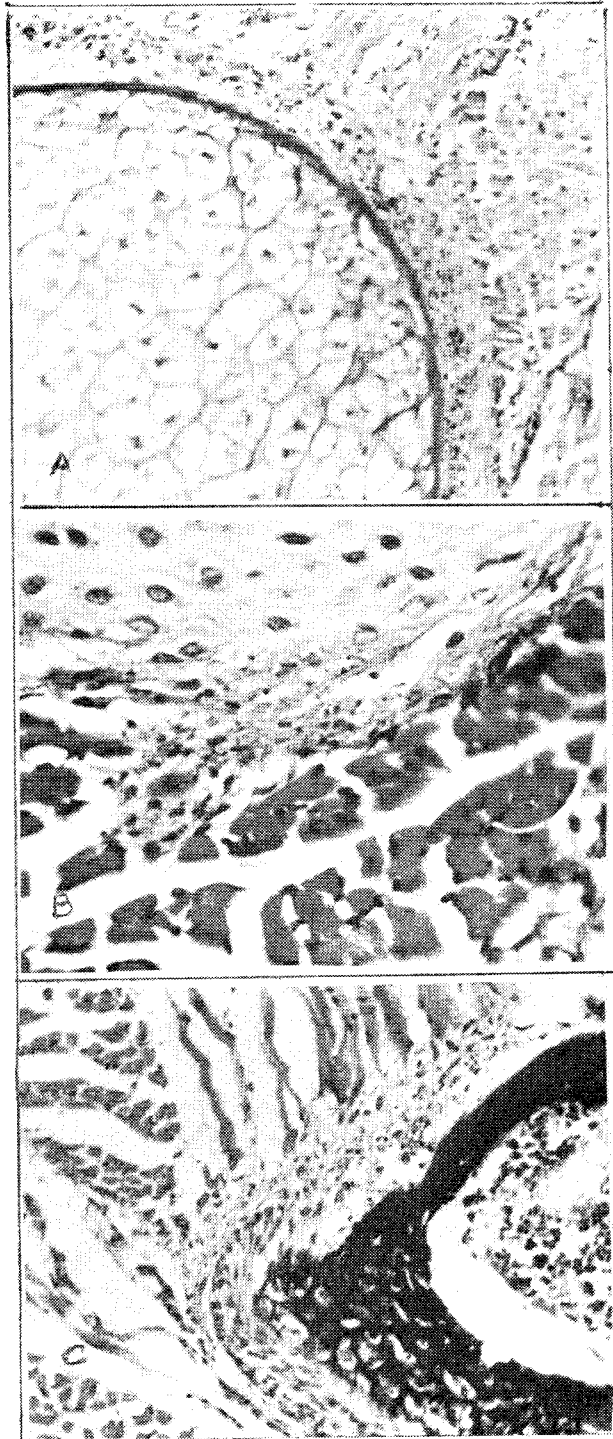


Fig. 4 -- (E E E)

Em (A) e (B) áreas circunscritas de degeneração e necrose do pericôndrio costal. H. & E 120 X e 240 X. Em (C), degeneração e necrose do periôsteo, estendendo-se à musculatura circunvizinha. H & E 120 X.

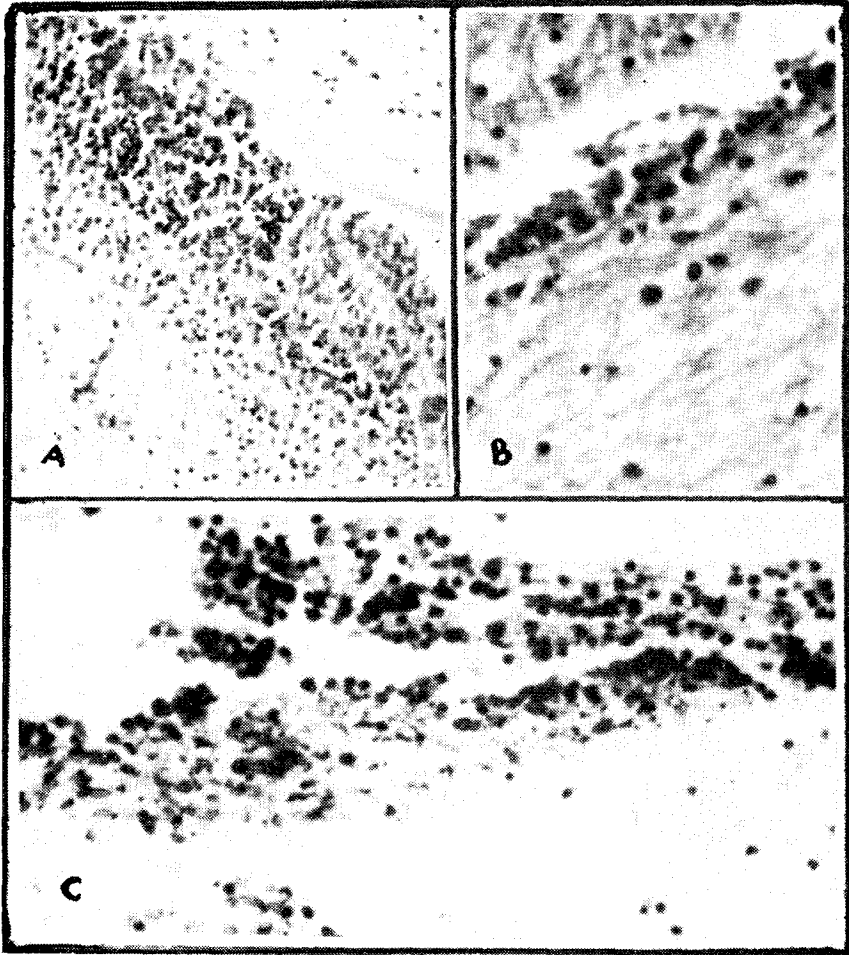


Fig. 5 — (COCAL)

Alterações celulares severas ao nível do plexo coroide do ventrículo lateral. (A), epêndima do ventrículo lateral (B). Em (C) detalhe exibindo desarranjo e destruição celular intensa. H & E e Cresil-violeta 100 X e 200 X.

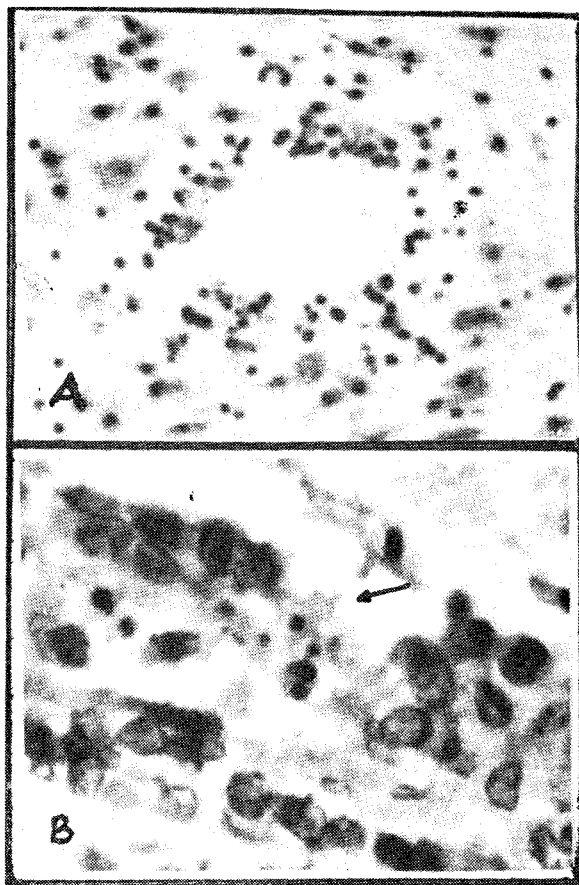


Fig. 6 — (COCAL)

Canal central medular com severa destruição do revestimento ependimário (A); em (B) ependimócitos exibindo intensa cariopícnose e cariorrexis, H & E 120 X e 420 X.

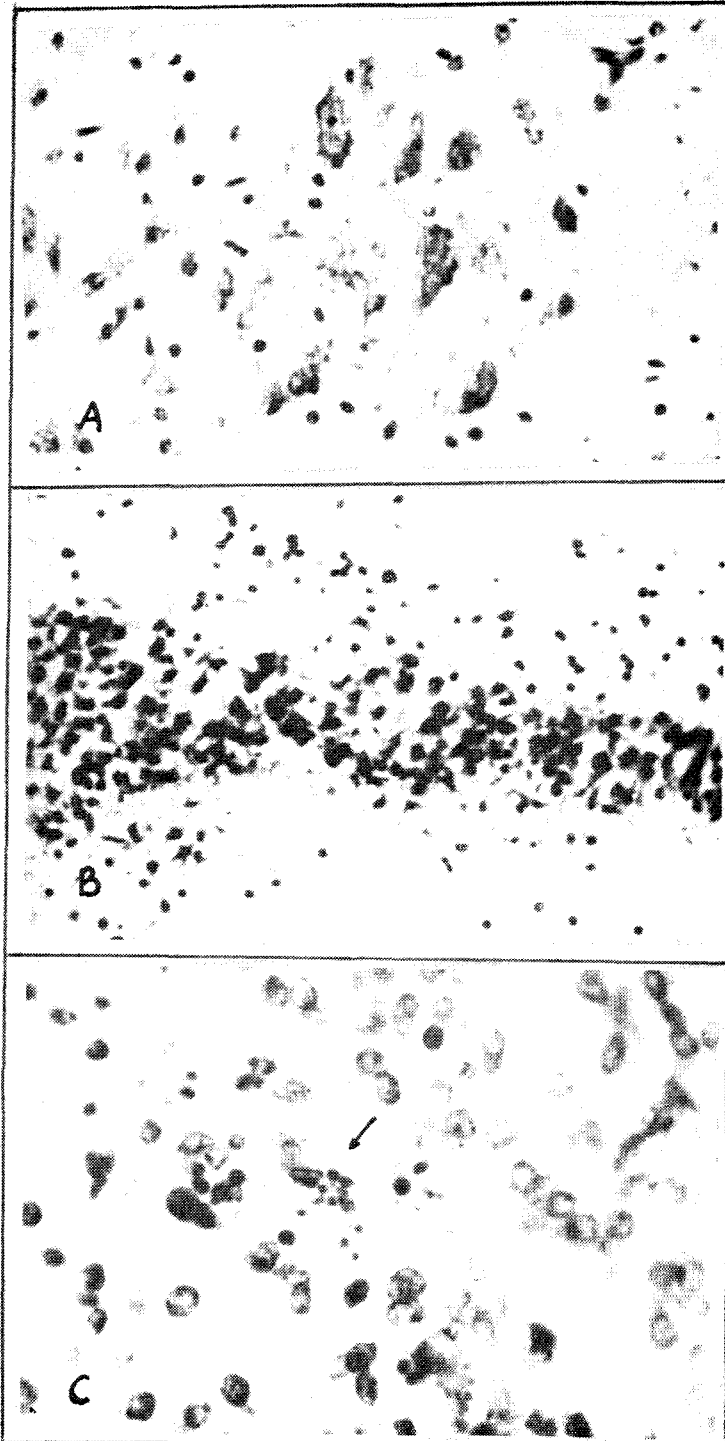


Fig. 7 — (COCAL)

(A) ponta anterior da medula com alterações neuronais graves; (B) Camada granular de hipocampo rarefeita por intensa destruição neuronal; (C) Neurônios granulares exibindo figuras de cariorrexia e cariopícnose (seta). Cresil-violeta. 360 X, 120 X e 460 X.

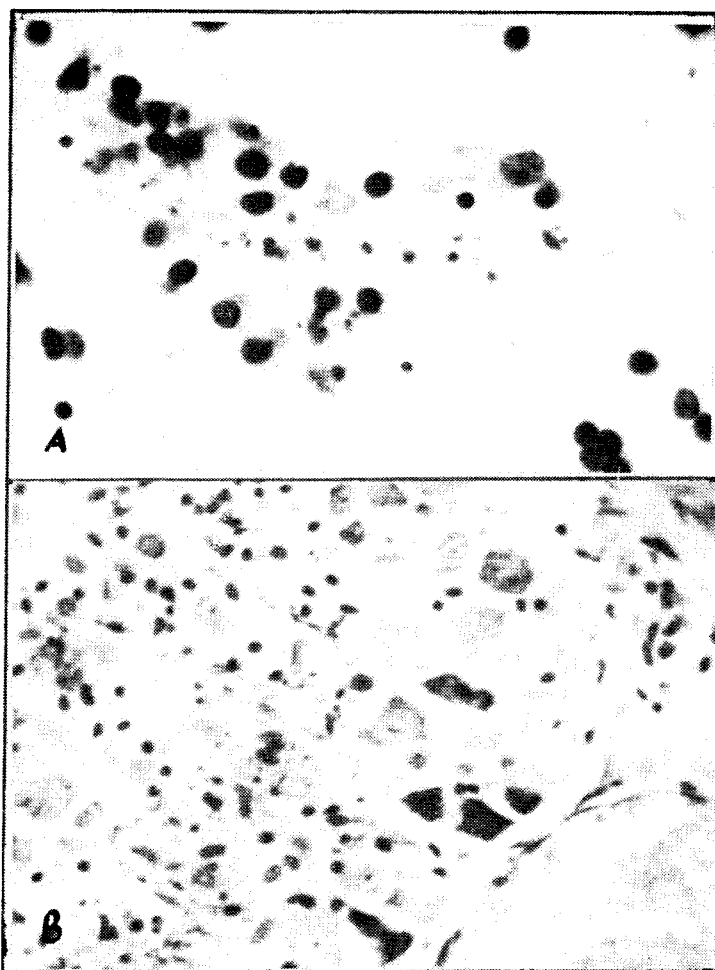


Fig. 8 — (COCAL)

Em (A) lesões severas em células gliais observando-se intensa cariorrexis; em (B) variável espectro lesional neuronal, com necrose parcial de gânglio espinhal. Cresil-violeta. 240 X.