Encefalite e mielite causadas por um Tripanozomo (T. Cruzi).

pelos

Drs. MAGARINOS TORRES e JOÃO VILLAÇA.

(Com as estampas 29—33).

Em afecções humanas cujo agente etiológico é um protozoário, as alterações do sistema nervoso são, às vezes, pronunciadas e oferecem caracteres especiais.

Vem aqui a propósito citar-se, entre outras, a sífilis, a molestia do sono e o impaludismo.

Numerosos trabalhos estabeleceram os processos anatomo-patológicos que ocorrem naquelas molestias.

Outra doença humana causada por protozoários, de grande importância em medicina tropical, foi descoberta há poucos anos por CARLOS CHAGAS.⁴ ⁵ e ⁶ Nesta, CHAGAS pôde distinguir igualmente uma fórmula onde predominam as perturbações do sistema nervoso, a fórmula nervosa da doença.

Muitas e preciosíssimas informações sobre a anatomia patológica do sistema nervoso na tripanozomoze americana são encontradas nos trabalhos de G. VIANNA⁹ e de CHAGAS.⁴ ⁵ e ⁶

Sendo uma molestia de facil reprodução experimental, pareceu-nos interessante saber quais as alterações do sistema nervoso central que é possível conseguir dessa maneira.

Em dois cãezinhos que inoculamos com o T. Cruzi e cujo sistema nervoso central retiramos para exame histológico, encontramos lesões evidentes, que ofereciam uma grande constância de aspeto.

Em ambos os casos tratava-se do mesmo processo, o qual pareceu-nos poder ser incluído no grupo das encefalites e mielites e aí, entre os processos que LOTMAR⁷ escreve como “processos benignos, de marcha aguda, acompanhados de proliferação da nevroglia do tipo das células de granulações (proliferierender, dem Kornchenzelltypus angehörigen Glia), e ao qual são também filiados a encefalite irritativa e produtiva de FRIEDMANN e BONFIGLIO² (intoxicação experimental pelos saes de chumbo) e processos analógos que ocorrem em patologia humana.

É o propósito deste trabalho relatar os fatos anatomo-patológicos que com mais evidência apareceram no material que estudamos.
e permitir assim aos que se interessam pelo assunto, um julgamento sobre a natureza e a importância das lesões que o T. Cruzi determina para o lado do sistema nervoso central.

**Material e Tecnica.**

Julgamos o cão novo (de um a três meses de idade) o animal de escolha para pesquisas de laboratório sobre o T. Cruzi. A infecção nesse animal e de uma constância e intensidade notáveis como verificamos no decurso de outros estudos.

Os animaes que forneceram material para o presente trabalho foram dois cães novos inoculados por via subcutânea com sangue de cobaio contendo o T. Cruzi.

Um deles foi sacrificado ao cabo de 18 dias de inoculação, o outro morreu no fim de 25 dias de infecção.

**CAO 64 n. 1,** da idade de um mes, inoculado por via subcutânea com T. Cruzi a 28 de Janeiro de 1918. Mostrava numerosos tripanosomos (T. Cruzi) no sangue periferico examinado a 15 de Fevereiro de 1918. Foi sacrificado em agonia, a 15 de Fevereiro de 1918.


A autopsia de ambos os animaes mostrou os ganglios linfaticos da axila e regiao inguinal muito aumentados de tamanho, baço um pouco crescido, coracao bastante aumentado de volume, de consistencia mole, coloracao parda avermelhada; vaoes turjidos.

Meninges e liquido cefalo-raquidiano apresentavam caracteres normaes.

Cerebro de volume normal, circunvoluções bem desenhadas, sulcos não alargados. Ao corte não foram vistas alterações grosseiras da substancia nervosa.

Em resumo, as lesões macroscopicas mais evidentes foram vistas para o lado do coração e ganglios linfaticos.

Ao nível do sistema nervoso central e suas membranas envolventes, a olho nua, não foram vistas alterações.

Do cerebro, cerebelo, bulbo, protuberancia e medula, retiramos fragmentos que foram fixados uns, em alcool a 95°, outros em formol a 10 %.

Os fragmentos fixados em alcool a 95° foram incluídos em colodio.

Os cortes feitos no microtomo para inclusões em celoidina foram corados pelo azul de toluidina (solucao aquoza a 1 %) diferenciados em alcool a 70°, dizidratados e fechados em balsamo, após passagem em xylol mudado duas vezes.

Conservadas ao abrigo da luz, as preparações feitas por este processo (metodo de NISSLE) eram aproveitaveis ainda ao cabo de 2 meses.

Fragmentos dos mesmos orgãos fixados em alcool e formol foram incluídos em parafina e corados pelo processo da hematoxilina eozina.

**Descrição.**

As alterações que observamos eram semelhantes em ambos os cães, variando apenas em intensidade.

Por essa razão daremos delas uma descrição de conjunto, assinalando o que houver de particular para cada animal.

No sistema nervoso central devemos distinguir duas ordens de lesões, umas acen- tuadas e nitidamente constituídas em focos, alterações em focos, outras pouco intensas, observadas de modo difuso, lesões difusas.

Como questão a parte, mas questão de importância maxima, estudamos a distribuição do T. Cruzi no sistema nervoso central e as lesões que por sua presença imediata põe a ocasionar.

Serão assim conseguidos documentos preciosos para a discussão da patogenia do processo.
A) Alterações em fócos.

Já podem ser percebidas olhando por transparência córtes de cerebro e medula espinal corados pelo método de NISSL (azul de toluidina).

Nota-se que a coloração não é uniforme. Tanto na substância branca como na substância cinzenta são vistos pontos corados de modo muito mais intenso que o tecido circunvizinho. (v. Est. 29 e 30, Figs. 1, 2, 3 e 4) São melhor apreciadas estas alterações com a Oc. 2 e Obj. AA de ZEISS.

10. Distribuição.

O cerebro e a medula espinal, em qualquer de seus segmentos, são os pontos onde as lesões se encontram com frequência.

Alguns córtes do cerebelo que examinamos não nos mostraram nenhuma lesão.

Quer no cerebro, quer na medula, os fócos eram encontrados tanto na substância branca como na substância parda. (Est. 29 e 30, Fig. 1, 2, 3 e 4) São pormenores, mais frequentes na substância branca. (Est. 29, Figs. 1 e 2).

Em um córte do cerebro do Cão 64 n. 1 contamos 36 fócos diferentes, perfeitamente individualizados, assim repartidos:

na substância parda . . . . . . . . . . . 14 fócos
na substância branca . . . . . . . . . . . 22 fócos

Em um córte do cerebro do Cão 64 n. 3 vimos 13 fócos diferentes assim repartidos:

na substância parda . . . . . . . . . . . 3 fócos
na substância branca . . . . . . . . . . . 10 fócos

Em córtes da medula do Cão 64 n. 1, os fócos eram assim distribuídos:

Corte I—19 fócos, 5 na substância parda, 8 na substância branca.
Corte II—20 fócos, 6 na substância parda, 14 na substância branca.
Corte III—13 fócos, 3 na substância parda, 7 na substância branca, 3 na zona limitrofe.
Corte IV—7 fócos, 3 na substância parda, 4 na substância branca.

Em córtes da medula do Cão 64 n. 3 os fócos eram assim distribuídos:

Corte I—13 fócos, 5 na zona limitrofe, 8 na substância branca.
Corte II—8 fócos, um na zona limitrofe, 7 na substância branca.
Corte III—5 fócos, 2 na zona limitrofe, 3 na substância branca.
Corte IV—3 fócos, todos na substância branca.

As dimensões destes fócos são variáveis. O diâmetro médio dos maiores é aproximadamente de 100 μ; o dos menores, 50 μ.

Ha casos raros, em que alguns fócos, ficando proximos, a rejão lezada oferece dimensões mais consideráveis.

20. Constituição íntima dos fócos.

a) FÓCOS DE MIELITE.

Fóco A—Cão 64 no. 3.

Examinando com forte aumento (Oc. comp. 6, Obj. imm. homem. 1/12 ZEISS) um fóco de mielite do Cão 64 n. 3, verificamos que é composto de diferentes elementos celulares, cujos caracteres vamos examinar. (v. Est. 33 Fig. 9.)

Destacam-se em primeiro lugar numerosas celulas providas de um grande nucleo de forma arredondada, oval ou alongada, pobre de cromatina; esta acha-se condensada em 2 ou tres massas irregulares maiores, bem destacadas da membrana nuclear, e alguns granulos menores; sobre a membrana nuclear, de contornos nitidos, a cromatina acha-se depoizitada formando fina camada concentrada. Protoplasma de limites nitidos, resolvendo-se em prolongamentos (4 a 5) que seguem diferentes direções e vão ao encontro de prolongamentos semelhantes vindos de celulas vizinhas. (vid. Est. 33, Fig. 9).

Identificamos estas celulas a celulas da nevroglia prolifeiredas, ramificadas (verzweigte gewucherte Gilazellen).

São notadas ainda, celulas de nucleo menor, regularmente arredondado, rico de cromatina, a qual se dispõe em numerosos granulos, alguns ligados entre si por traves de cromatina; a zona de suco nuclear é mais intensamente corada em azul nos preparados pelo azul de toluidina que nas celulas precedentes. Protoplasma mais abundante, mos-
trando limites nítidos, e, em muitos elementos contendo abundantes granulações; em outros vacuolos e granulações (v. Est. 33 Fig. 9).

Estas células mostravam muitos dos caracteres que são assinalados para as "Abraumzellen" de origem nevroglica (LOTMAR7).

Notamos ainda neste foco células da nevroglia onde eram bem evidentes, processos regressivos (nucleo em picnoze, protoplasma reduzido a granulos, fragmentado).

Neste foco não foram vistas células plasmáticas, nem elementos outros de origem hematopoietica (polimorfonucleares, linfocitos).

Em focos semelhantes, algumas vezes é encontrado o T. Cruzi com a morfologia de corpusculo leishmaniforme. (Est. 30, Fig. 5).

Nos mesmos córtes da medula encontramos focos que diferem do que descrevemos sob alguns aspectos.

**Fóco B—Cão 64 no. 3 (Est. 31, Fig. 6).**

Os elementos que o constituem estão muito condensados, de modo que o foco apresenta-se intensamente corado.

Na parte central só são distinguidos com nitidez, núcleos que dão, a um rapido exame, a impressão de se acharem disseminados em uma massa protoplasmatica intensamente corada. (Est. 31, Fig. 6).

Na periferia as células da nevroglia são mais esparsas e seus prolongamentos vão ao encontro de outros oriundos de células de igual natureza.

São bastante numerosos núcleos em picnoze.

Vêem-se raros elementos celulares que se assemelham às "Abraumzellen" de origem nevroglica (LOTMAR7).

**Fóco C—Cão 64 n. 3.**

Os elementos celulares são aqui mais esparsos, motivo pelo qual o foco aparece, examinado com fraco aumento, menos intensamente corado.

Estes elementos são quazi exclusivamente células da nevroglia com alterações de caráter progressivo. Seu protoplasma tem limites menos nítidos que os dos focos pre-

cedentes. Algumas células acham-se em cariocineze.

**b) FÓCOS DE ENCEFALITE.**

**Fóco D—Cão 64 n. 3.**

É constituído, de um modo geral, por elementos semelhantes aos dos focos de mieleite vistos neste mesmo animal.

São vistas células da nevroglia em proliferação que em alguns pontos da periferia do foco mostram arranjo em "grupos izoenicos", "Abraumzellen" de origem nevroglica (LOTMAR7) e células da nevroglia alteradas, degeneradas (nucleo em picnoze, em torno do qual veem-se granulações) (compare com as figs. 3 n, o, p, da Estampa 33 do trabalho de ALZHEIMER1).

Além destes elementos, são vistas "Plasmazellen".

**Fóco E—Cão 64 n. 1.**

É constituído por células da nevroglia proliferadas e "Plasmazellen". O numero destes elementos, fato que chama logo a atenção, é aqui bem mais considerável que nos focos de encefalite do Cão 64 n. 3.

As alterações do sistema nervoso central são mais pronunciadas no Cão 64 n. 3.

Tudo indica que as lesões naquelle cão (64 n. 1), sejam mais anteriores (maior abundância dos focos de encefalite e mieleite, presença de "Plasmazellen" em numero bem mais considerável, frequencia de aglomerados de T. Cruzi, muitos com a morfologia de organismos flajelados).

Esse fato é interessante de se anotar, considerando que no Cão 64 n. I o prazo de evolução da molestia é menor que no Cão 64 n. 3.

Assim em alguns animaes o ataque ao sistema nervoso central seria mais prematuro e mais intenso. Noutros, embora o prazo da infeccao seja maior, as lesões dos centros nervosos seriam bem menos intensas.

Estas noções talvez encontrem analogias em fatos observados no homem atacado pela molestia de CHAGAS.
B) Lezões difuzas.

As células nervosas, tanto nas preparações de medula com fócios de mielite como nas de cerebro onde eram numerosos os fócios de encefalite, mostravam habitualmente conservada a estrutura que normalmente revelam, analisadas pelo método de NISSL.

Comportam-se assim, as células nervosas de modo bem diferente aqui do que na paralizia dos câes (staude), onde mostram alterações muito pronunciadas, na intoxicação pela toxina dizenterica (LOTMAR⁷), pelo carbonato de chumbo (BONFIGLIO²).

Em alguns pontos, relativamente muito raros, observamos células da nevroglia dispostas em torno e cercando quazi inteiramente uma célula nervosa a qual mostrava alterações da estrutura (vacuolos no protoplasta que em sua parte restante tem uma coloração difusa, nele não se distinguindo as granulações de NISSL).

 Bastante evidente era a proliferação vascular em alguns córtex da medula (Cão 64 n. 3).

Relação entre o T. Cruzi e os fócios de encefalite e mielite.

Nos córtexes de cerebro do Cão 64 n. 1, vimos (Est. 32, Fig. 8, à esquerda em cima) não no proprio fóco de encefalite mas sim em suas proximidades, grandes aglomerados de T. Cruzi onde o parazito apresentava a morfolôjia de organismo flajelado (fórmas que precedem as fórmicas típicas de tripanosomo do sangue circulante, G. VIANNA).

A periferia do aglomerado é nitidamente delimitada por uma membrana, que é a membrana da célula parazitada. (Est. 32 Fig. 8).

O aglomerado tem a forma esferica e o diâmetro médio de 42 μ, podendo ser já apreciado com fraco aumento (Occ. comp. 6 e Obj. AA ZEISS). É inteiramente ocupado por organismos flajelados muito numerosos. Nos preparados pelo azul de toluidina estes apresentam-se como pequenos e finos bastonetes, de extremidades afiladas, incurvados segundo mais de um plano. Nota-se uma grande diversidade de dimensões e notável dificuldade em observar isoladamente cada um dos bastonetes, devido à profusão de organismos superpostos e ao seu estreito entrelaçamento. Pelo metodo de NISSL, os finos detalhes de estrutura são mal apreciados; o plasma dos bastonetes corados em azul arroxeado muito palido mostra um pequeno ponto azul escuro carregado situado em uma das extremidades (blefaroplasto) e ao nível da parte media uma massa de limites não nitidos do cór azul arroxeado menos intensa (nucleo principal).

Devemos referir aqui a raridade com que nesses quístes de flajelados, pudemos observar o núcleo do elemento parazitado. Isso é explicado pelo fato de só raramente o córte apanhar o núcleo da célula enormemente dilatada. Quando o córte foi tão favorável que interessou o núcleo da célula, a sua estrutura é muito semelhante a de uma célula da nevroglia. (Est. 33, Fig. 10).

Em alguns aglomerados de parazitos flajelados, estes ocupavam unicamente a porção central (Est. 32, Fig. 8, (á esquerda em cima) e Est. 31, Fig. 7); em torno dessa porção central cheia de parazitos é visto um halo claro e finalmente, limitando-o pela parte de fora, a membrana celular. Achamos que esse aspeito é ocasionado pela ação do agente tixador.

Em cortes da medula do Cão 64 n. 1, do cerebro e medula do Cão 64 n. 3 encontramos nos próprios fócios de encefalite e mielite, células contendo em seu interior o T. Cruzi com a morfolôjia de corpusculo leishmaniforme. Estes elementos são bem distintos e, em geral, muito numerosos (5 a 20 aproximadamente); são constituídos por plasma em cujo interior são distinguidas duas massas nucleares, uma correspondendo ao núcleo principal, a outra ao blefaroplasto.

Levando em consideração as dimensões dos fócios de encefalite e mielite e não tendo nós praticado córtex seriados, não podemos informar da frequência com que aqueles mostram a presença do T. Cruzi.
Encontramos em uma preparação do cerebro do Cão 64 n. 1, 14 fócios na substância cinzenta e 22 na substância branca, nenhum deles contendo o *T. Cruzi*; este era encontrado nesse córtex, em plena substancia nervoza constituindo um aglomerado de numerosos organismos flajelados. Em outra preparação de cerebro do Cão 64 n. 3 havia 6 fócios de encefalite, 4 na substância cinzenta e 2 na substância branca; um dos fócios mostrava o *T. Cruzi* com a morfologia de corpusculo leishmaniforme. E provável, portanto, que outra informação obtivéssemos sobre a presença do *T. Cruzi* na primeira preparação, se possuíssemos córtex seriados dos 36 fócios aí existentes.

Em resumo podemos dizer que o *T. Cruzi* afeta duas disposições diferentes no sistema nervoza central dos cães.

Ora é encontrado no interior de um elemento celular que oferece de notável achar-se situado em plena substancia nervoza, lonje de qualquer fóco de encefalite e mielite e dos vazos. O elemento celular, neste cazo, acha-se de tal modo distendido que se torna vizível mesmo com fraco aumento. (Est. 32, Fig. 8, à esquerda em cima).

A morfologia do *T. Cruzi* é aqui sempre a de um organismo flajelado e os parazitos são de tal modo numerosos e emaranhados, que dificil se torna a apreciação de um elemento isolado. (Est. 31 Fig. 7. Est. 33, Fig. 10).

Na outra disposição, o elemento celular acha-se situado em pleno fóco de encefalite ou mielite ou na sua vizinhança imediata, e contem em geral, poucos parasitos (5 a 20). A morfologia destes é aqui, constantemente, a de um corpusculo leishmaniforme.

Fato interessante é que no Cão 64 n. 3 os parazitos são muitas vezes encontrados nos próprios fócios de encefalite e mielite com a morfologia de corpusculo leishmaniforme no interior de celulas. No cerebro do Cão 64 n. 1 onde tudo indica que o processo data de mais longo tempo, os parazitos são vistos fóra dos fócios, em sua vizinhança, no interior de celulas e com a morfologia de organismos flajelados.

### Diagnóstico diferencial

Pudemos acompanhar com cuidado a evolução da infecção nos animaes cujo sistema nervoço serviu a este estudo.

Julgamos importante a observação clínica tratando-se de animaes sujeitos a outras doenças.

Dentre estas avulta a "canine distemper" (maladie des jeunes chiens, "staupé", "moquillo").

Nesta molestia, particularmente em sua forma nervoza, são muito pronunciadas as alterações do sistema nervoço central bem descritas nos trabalhos de CERLETTI e del RÍO HORTEGA.

#### a) OBSERVAÇÃO CLÍNICA

Não notamos nos nossos animaes sintomas algum que fizesse supor a existência da "canine distemper". Em ocasião alguma observamos um estado catarral das mucosas do nariz, olhos e vias respiratorias, de conjuntivite, queratite ou erupção cutanea e de fenomenos nervoços mais ou menos pronunciados (vomitos, nistagmus, paralizias, tremores).

Os animaes apresentaram-se durante todo o período que precede as ultimas 24 horas de vida em um estado de perfeita saúde aparente. De um dia para o outro rejeitaram a alimentação e entraram em franca agonia vindo a morrer dentro de 24 horas.

De passagem seja dito que responsabilizamos pelo que ocorreu, o intenso processo de miocardite observado com muita constância nos cãezinhos inoculados com o *T. Cruzi*.

#### b) EXAME HISTO-PATOLOGICO

O processo que acabamos de descrever em cães inoculados com o *T. Cruzi* deixasse nitidamente diferenciar pelo exame histopatologico de outros de diversa etiologia. Dentre estes, os mais importantes são os vistos na "canine distemper", e em tripanozomozes experimentaes (tabes do cão - SPIELMEYER).
Conclusões.

10—Em cães inoculados com o T. Cruzi é observado no sistema nervoso central um processo que pode ser incluído no grupo das encefalites e mielite, e aí entre os que LOTMAR descreve como "processos benignos, de marcha aguda, acompanhados de proliferação das células de granulações".

20—Esta encefalite e mielite é caracterizada pela existência de numerosos fócos localizados de preferência na substância branca do cérebro e medula.

30—Esses fócos são constituídos por células da nevrogia hipertrofiadas, por outros elementos que identificamss às "abraumzelten" de origem nevrogica, por células da nevrogia com fenomenos regressivos, também aí sendo encontrados, principalmente nos fócos do cérebro, células plasmaticas em quantidade maior ou menor.

40—As células nervosas do cérebro e da medula, de um modo geral, mostram conservada a sua estrutura, mesmo quando situadas junto aos fócos de encefalite e mielite.

50—As meninges não são sede de processo inflamatório. Em raros pontos, notase acumulo de elementos celulares em torno dos vasos da pia-mater.

60—Em muitos fócos de encefalite e mielite, e outras vezes em pleno tecido nervoso são encontrados elementos celulares contendo em seu plasma o T. Cruzi com a morfologia de corpusculo leismaniforme ou de organismo flajelado.

70—Ha uma evidente relação entre a morfologia do T. Cruzi e a dispoção que o elemento celular parazitado afeta no tecido nervoso.

Na fase de corpusculo leismaniforme, a primeira que o tripanozomo do sangue reveste ao se tornar um parazito dos tecidos, o elemento parazitado acha-se situado no proprio fóco de encefalite, ou em sua vizinhança imediata.

Na fase de parazito intracelular com a morfologia de organismo flajelado, (faze de
multiplicação de *T. Cruzi* nos tecidos, que precede logo o estádio de tripanosomio do sangue) a célula parazitada acha-se situada em plena substância nervoza, lonje de qualquer fóco de encefalite ou mielite e dos vazos.

80 — Neste trabalho não é descrita paralisia de cães determinada pelo *T. Cruzi*.

Nos animaes cujo sistema nervoso serviu a este estudo não conseguimos verificar clinicamente, sinal que fizesse suspeitar de lesões dos centros nervosos.

A observação clinic da dos cães é referida em outro lugar e por ela se verifica que os animaes se conservaram em boa saúde aparente até as 24 ou 48 horas que precederam a morte.

A *causa-mortis*, foi miocardite aguda ocasionada pelo *T. Cruzi* conforme verificamos pelo exame microscopico das visceraes dos animaes autopsiados.

90 — Procuramos descrever aqui as lesões histo-patologicas especificas e não especificas do sistema nervozo central nos animaes de experiencia inoculados com o *T. Cruzi*; ficará conhecido assim, mais detalhadamente, interessante processo histo-patologico observado nos centros nervosos e determinado por um curioso tripanozomo.

Somos muito gratos ao Dr. B. C. CROWELL pela gentileza que teve de ler este artigo e examinar as nossas preparações dando-nos conselhos oportunos e ao Dr. CARLOS CHAGAS pela orientação dos estudos e facilidade de trabalho que nos proporcionou.


Explicação das estampas.

Est. 28 Fig. 1
Cão 64 n°. 1.

Est. 29 Fig. 2
Cão 64 n°. 1.

Est. 30 Fig. 3
Cão 64 n°. 3.

Est. 30 Fig. 4
Cão inoculado com o T. Cruzi.

Est. 30 Fig. 5
Cão 64 n°. 1.

Est. 31 Fig. 6
Cão 64 n°. 3.
Córte de Medula. Colodio. Azul de toluídina. Microfotografia. Fóco de melite (o mais anterior visto na Est. 30, Fig. 3), visto com fórte aumento.

Est. 31 Fig. 7
Cão 64 n°. 1.
Ponto do córte representado na Est. 32, visto com fórte aumento e mostrando grande aglomerado de T. Cruzi no interior de uma celula.

Est. 32 Fig. 8
Cão 64 n°. 1.
Córte de cerebro. Azul de toluídina. Em plena substancia nervosa, grande aglomerado de T. Cruzi onde o parazito apresenta a morfoløjia de flagelado.

Est. 33 Fig. 9
Cão 64 n°. 3.

Est. 33 Fig. 10
Cão 64 n°. 1.
Celula muito aumentada de volume contendo em seu protoplasma o T. Cruzi. O córte apanha o nucleo da celula.