

# Alterações do sistema nervoso central pelas toxinas do *Clostridium perfringens*

por

Genésio Pacheco, Rita Alves de A. Cardoso e Gobert Araujo Costa

(Com 9 figuras em negro no texto e uma colorida)

Anteriormente (1) examinamos o sistema nervoso central de camundongos intoxicados mediante injeção intravenosa de toxinas de germens da gangrena gasosa, havendo encontrado alterações da substância nervosa, predominantes nos cornos anteriores da medula espinhal e indicativas de lesões do tipo degenerativo. Os animais intoxicados eram necropsiados logo após a morte, ocorrida quase sempre em frações de hora.

Interessante se nos afigurou verificar se na intoxicação prolongada sobrevinham, também, alterações no sistema nervoso central.

## TÉCNICA E MÉTODO

Provocámos intoxicação prolongada em 9 cães, animais mais resistentes à infecção gangrenosa (2) do que os outros animais de laboratório.

Utilizámos toxina de *Clostridium perfringens*, purificada pelo sulfato de amônio e dessecada, com uma test-dose de 1 mg diluída a 1/100 em água fisiológica esteril.

Os animais foram intoxicados, inoculando-se a toxina por via venosa, raras vezes associando-se a via subcutânea, tendo-se previamente determinado a dose ótima inicial, que foi de 0.5 ml da solução de toxina acima referida.

As experiências obedeceram aos seguintes protocolos:

### EXPERIÊNCIA N.º 1

Cão n.º 7, pêso 4.200 g, recebeu, durante 3 dias seguidos, 0.5 ml da solução de toxina na veia, seguidos de 1 ml durante 2 dias. Passados 3 dias, voltou a receber 2 ml na veia, uma só vez.

Cão n.º 8, pêso 4.460 g, recebeu, durante 3 dias seguidos, 0.5 ml de toxina na veia. No quarto dia, 2 ml por via subcutânea e, no quinto dia, 1 ml na veia. Passados 3 dias, recebeu 2 ml na veia.

Ambos os cães foram sacrificados após 14 dias do início da experiência.

#### EXPERIÊNCIA N.º 2

Cão n.º 9, pêso 5.700 g, recebeu durante 2 dias 0.5 ml da toxina na veia. Seguiram-se inoculações, por mais 2 dias, com 1 ml na veia. Passados 2 dias, recebeu 1 ml na veia.

Cão n.º 10, pêso 6.120 g, sofreu o mesmo processo de intoxicação que o cão n.º 9.

Ambos os cães foram sacrificados após 8 dias do início da experiência.

#### EXPERIÊNCIA N.º 3

Cão n.º 11, pêso 7.200 g, recebeu durante 5 dias 0.5 ml de toxina na veia. Morreu no 5.º para o 6.º dia de inoculação.

Cão n.º 12, pêso 5.400 g, recebeu durante 3 dias 0.5 ml de toxina na veia. Morreu no 3.º para o 4.º dia de inoculação.

Cão n.º 13, pêso 5.230 g, recebeu durante 5 dias 0.5 ml de toxina na veia. Três dias após a última inoculação, foi morto com injeção de ar na veia, pois apresentava sintomas graves de intoxicação.

#### EXPERIÊNCIA N.º 4

Cão n.º 16, pêso 4.100 g, recebeu durante 3 dias 0.5 ml de toxina na veia. Passados 2 dias, recebeu durante outros 2 dias 1 ml e, passado mais 1 dia, 2 ml, na veia. Três dias após, apesar de ter boa aparência, foi morto com injeção de ar na veia e clorofórmio.

Cão n.º 17, pêso 4.000 g, recebeu o mesmo número de inoculações e as mesmas doses de toxina que o cão n.º 16. Foi morto no mesmo dia em que foi sacrificado o cão n.º 16, mas em fase pre-agônica.

### ALTERAÇÕES ENCONTRADAS

O exame macroscópico do sistema nervoso central não revelou alterações dignas de nota. Nos demais órgãos, não se viam lesões importantes, a não ser edema e hiperemia, mais acentuados nos pontos de inoculação subcutânea.

Em todos os casos, feita a necrópsia, imediatamente após a morte, foram retirados o encéfalo e a medula espinhal, os quais foram tratados pelos métodos anteriormente usados (1).

O exame microscópico do material corado pelos métodos apropriados, revelou a existência de lesões histopatológicas, constantes em todos os cães estudados e descritas a seguir.

Verificou-se acentuada hiperemia em todos os pontos do sistema nervoso vendo-se, em certas regiões, pequenas hemorragias perivasculares e, em outras, hemorragias mais extensas, que eram acompanhadas de lesões da substância nervosa. (Figura n.º 1).

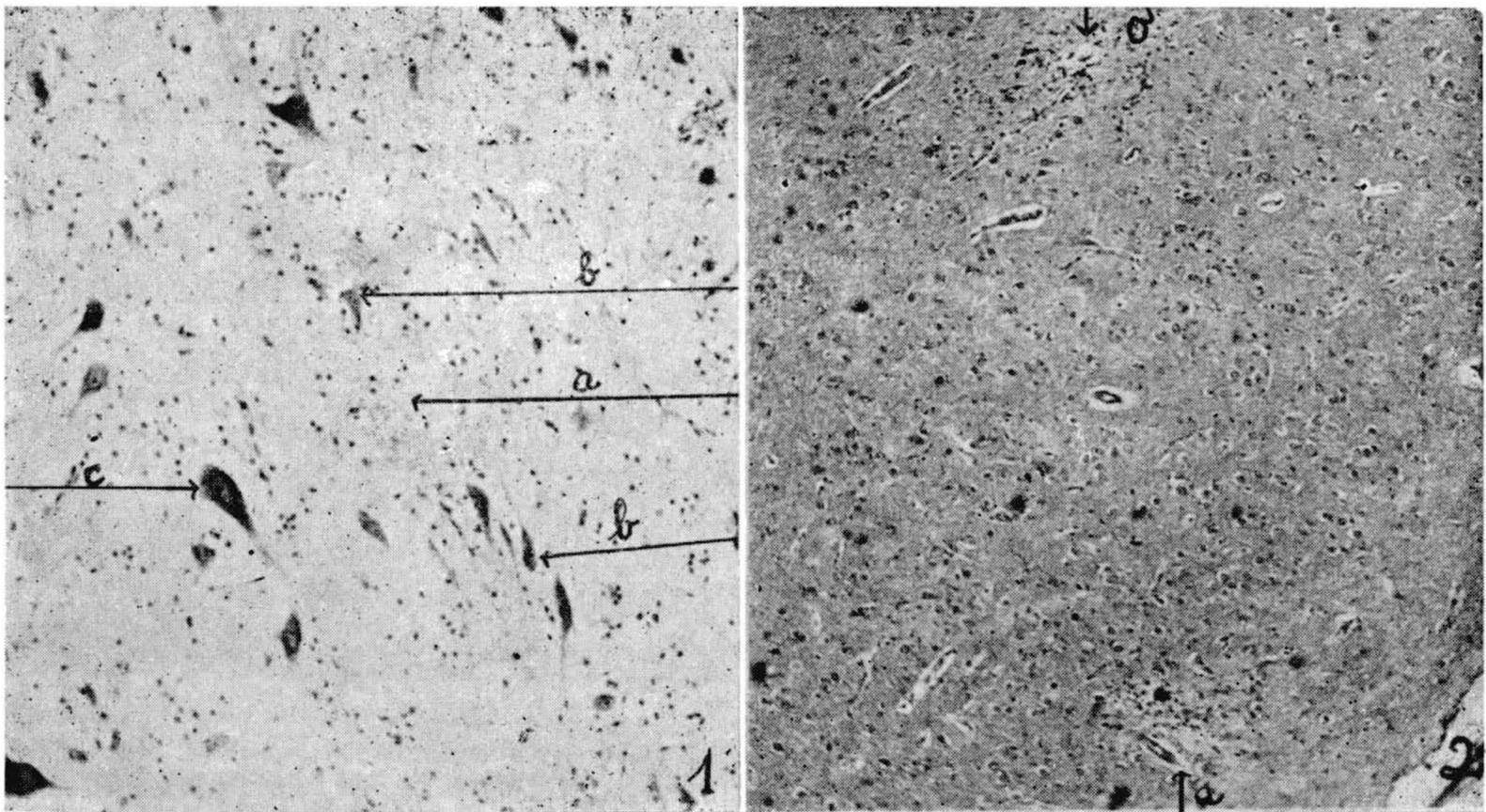


Fig. 1 — Corte de medula espinhal do cão n.º 7 (P. C. 13.957). Vê-se foco de hemorragia (a), situação na base do corno anterior da substância cinzenta medular. Na zona lesada, há células nervosas com "entumescimento agudo" (b). Em (c), uma célula nervosa relativamente bem conservada

Coloração: cresil-violeta.  
Aumento: 90 x  
Microfotografia de J. Fontes.

Fig. 2 — Corte de cérebro do cão n.º 8 (P. C. 13.958). Na cortex cerebral, que apresenta moderado grau de edema generalizado, estão, relacionados a vasos sanguíneos, dois focos de edema localizado e consequentes alterações celulares

Coloração: hematoxilina-eosina.  
Aumento: 60 x  
Microfotografia de J. Fontes.

Em algumas preparações, foram encontrados infiltrados perivasculares, por células mononucleares, situados tanto na substância branca como na substância cinzenta.

Em todos os casos estudados observou-se edema da substância nervosa, às vezes atingindo, de modo uniforme, a região examinada, outras vezes sob a forma de pequenos focos, distribuídos irregularmente.

Em um dos cães (cão n.º 8 — P.C. 13.958), essa lesão se apresentou de modo acentuado; assim, foram encontrados, sobretudo na cortex cerebral, numerosos focos de edema, em geral relacionados com um vaso sanguíneo próximo (figuras 3 e 10); quase sempre, em torno do vaso sanguíneo e na pró-

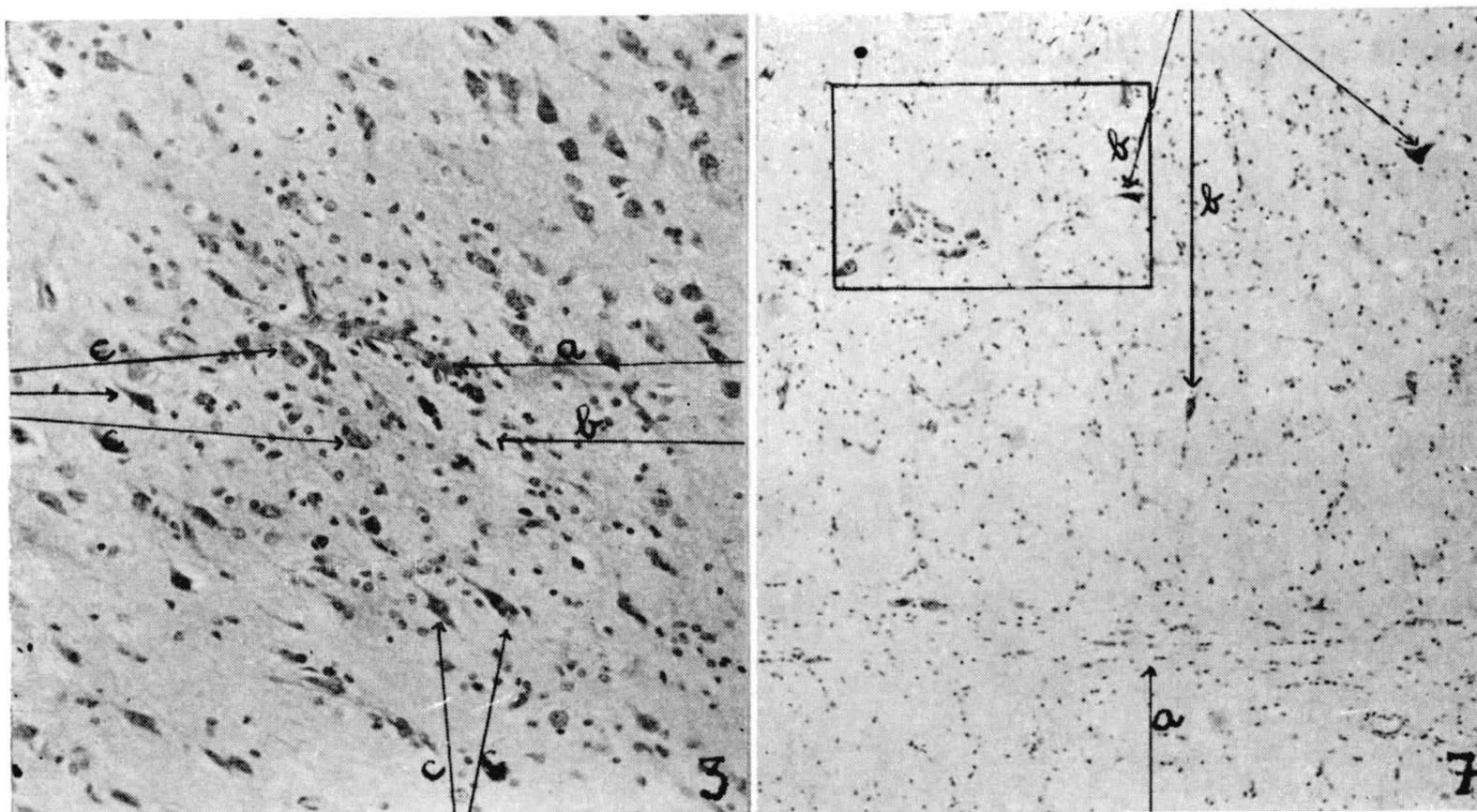


Fig. 3 — Corte de cérebro do cão n.º 8 (P. C. 13.958). Na preparação aparece, em maior aumento, um foco semelhante ao demonstrado na fig. 2. Em torno de um vaso sanguíneo (a), vê-se intenso edema da substância nervosa (b) e as células nervosas lesadas (c)

Coloração: cresil-violeta.  
Aumento: 180 x  
Microfotografia de J. Fontes.

Fig. 4 — Corte de bulbo raqueano do cão n.º 9 (P. C. 13.944). Em (a), vê-se a ráfe mediana do bulbo; à direita está situada a substância reticulada, onde se notam lesões celulares (b). O retângulo assinalado em preto constitui a figura seguinte

Coloração: cresil-violeta.  
Aumento: 60 x  
Microfotografia de J. Fontes.

pria região atingida pelo edema, acumulavam-se células mononucleares, com a morfologia semelhante à das células gliais, muitas mostrando aumento do volume nuclear e exagero de coloração da membrana nuclear (preparações coradas pelo cresil-violeta). Em certos focos de edema, no entanto, não havia reação glial aparente.

Neste mesmo cão, pudemos verificar a grande intensidade do edema na substância branca subcortical, onde havia acentuada dissociação das fibras nervosas. Estas, quando examinadas nas preparações coradas pelo método de Weil, mostraram alterações importantes das bainhas de mielina, aparecendo ora parcialmente descoradas, ora fragmentadas, ora com deformações arredondadas, sugerindo a forma de balões ("ballonförmige Markscheidenaufreibungen", de Spielmeyer) — figuras 5 e 6.

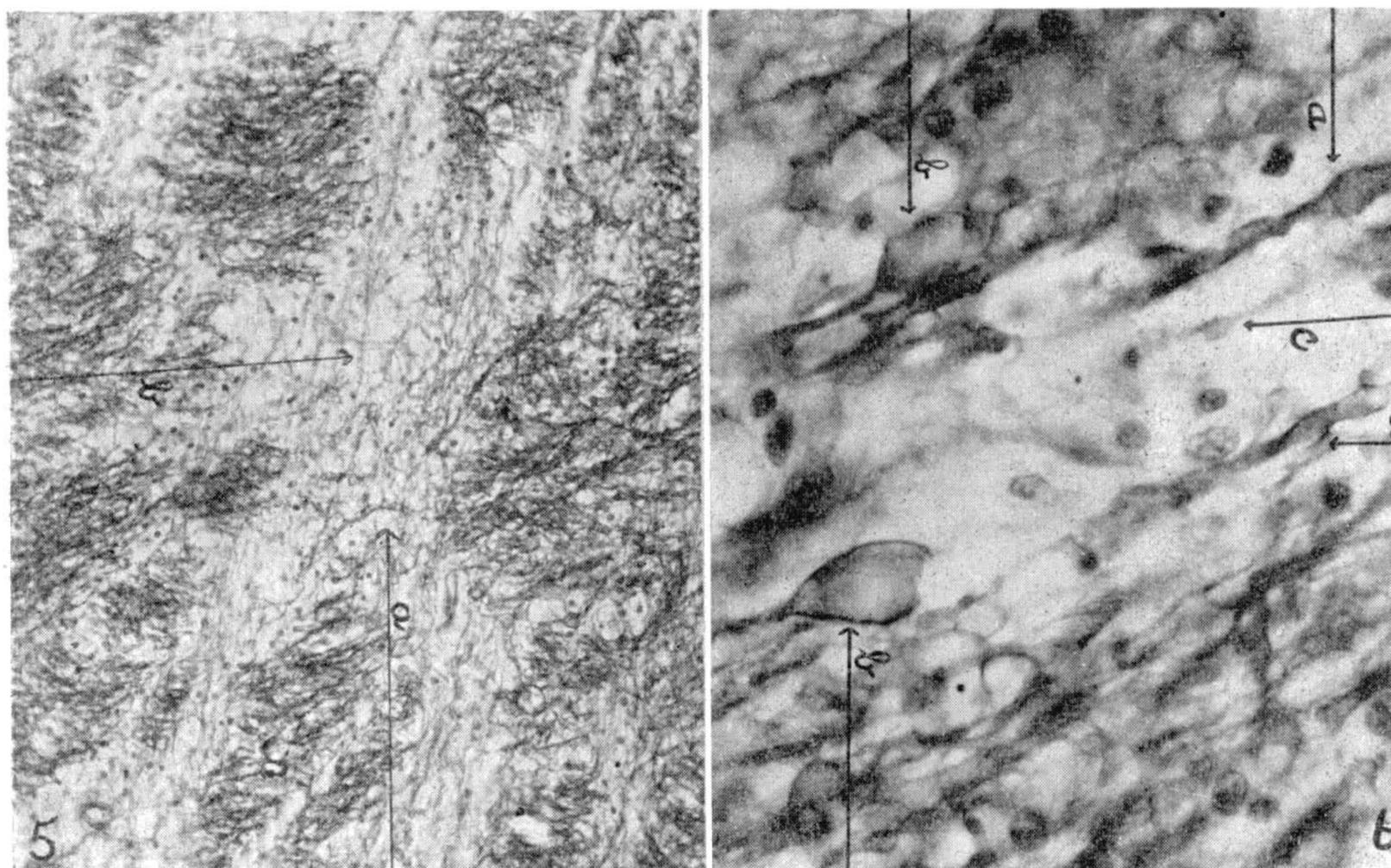


Fig. 5 — Corte de cérebro do cão n.º 8 (P. C. 13.958). Na substância branca sub-cortical, verifica-se a dissociação das fibras de mielina, as quais aparecem fragmentadas e deformadas (a); em certos pontos (b), não se impregnaram pela laca de hematoxilina

Coloração: método de Weil.  
Aumento: 180 x  
Microfotografia de J. Fontes.

Fig. 6 — Corte de cérebro do cão n.º 8 (P. C. 13.958). A figura mostra, em maior aumento, as lesões das fibras de mielina, vistas na figura anterior. Em (a), vemos deformações das bainhas de mielina, bem detalhadas em (b), onde aparece a "ballonförmige Markscheidenaufreibung", de Spielmeyer. Em (c), vê-se uma fibra fragmentada e parcialmente descorada

Coloração: método de Weil.  
Aumento: 800 x  
Microfotografia de J. Fontes.

Examinando detalhadamente a estrutura das células nervosas, verificá-mos alterações morfológicas do corpo celular, as quais foram encontradas nas mais diferentes regiões, tanto no cérebro como no cerebelo, na protuberância, no bulbo e na medula espinal.

As células lesadas ora estavam contidas em focos de edema ou de hemorragia, como descrevemos acima e vemos nas figuras 1, 2 e 3, ora se mostravam, isoladas ou em pequenos agrupamentos, em regiões que não apresentavam outras alterações; como exemplo dêste último aspecto, vemos, nas figu-

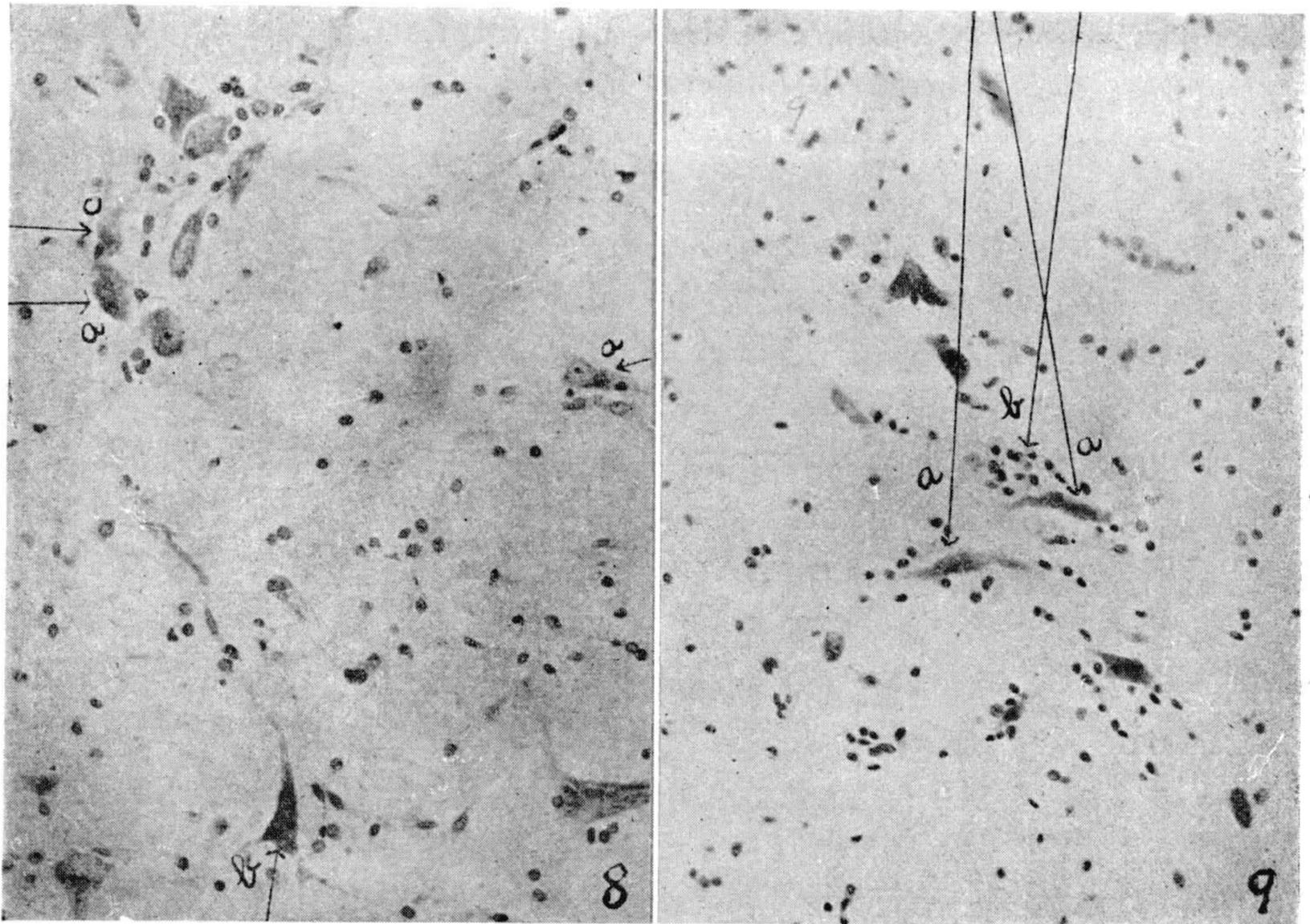


Fig. 7 — Ponto, em maior aumento, da figura quatro. Em todas as células de um núcleo da substância reticulada bulbar, assim como em uma célula isolada da mesma região (a), existe "entumescimento agudo" e, mesmo, "sombra celular" (c). Uma célula em estágio inicial de "encarquilhamento" aparece em (b).

Coloração: cresil-violeta.

Aumento: 240 x

Microfotografia de J. Fontes.

Fig. 8 — Corte de bulbo raqueano (ao nível do entrecruzamento piramidal) do cão n.º 7, (P. C. 13957). A preparação mostra um grupo de células da base do corno anterior, as quais aparecem profundamente alteradas, em "liquefação" (a); é evidente o exagero do número de células satélites (b), sugerindo a próxima neuroniofagia dos elementos lesados.

Coloração: cresil-violeta.

Aumento: 240 x

Microfotografia de J. Fontes.

ras ns. 4 e 7, na substância reticulada do bulbo raqueano, lesões das células isoladas e de um dos núcleos da região.

As lesões do corpo celular constavam, na maior parte das vezes, de alterações agudas. Adotando a terminologia sugerida por Spielmeyer (3) para

as lesões citológicas no sistema nervoso, pudemos verificar, com maior frequência, *entumescimento agudo* ("akute Schwellung"), como se vê na figura 7-a, onde aparecem células do núcleo da substância reticulada bulbar. Outras vezes, encontramos, sobretudo nas grandes células dos cornos anteriores da medula espinhal, no bulbo raqueano e em focos esparsos na cortex cerebral, *liquefação celular* ("Verflüssigungsprozesse", "schwere Zellerkrankung"). Figura 8-a. Algumas vezes, foram vistas células com volume ligeiramente diminuído e excessivamente coradas, mostrando os grânulos de Nissl aglutina-

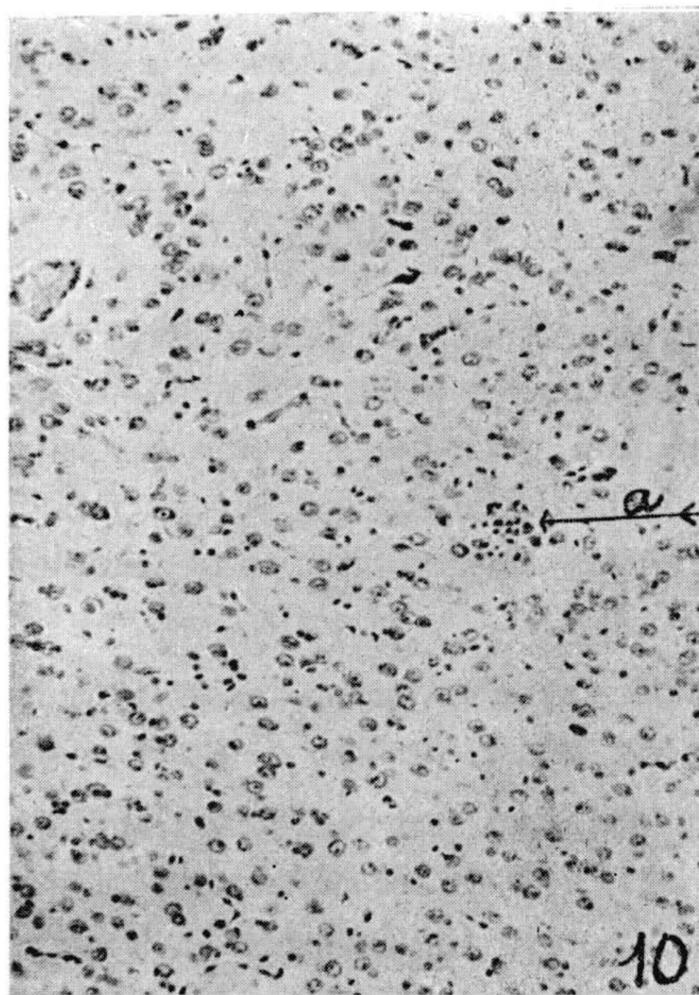


Fig. 9 — Corte de cérebro do cão n.º 9 (P. C. 13.944). No corte cerebral, aparece (a), em torno de uma sombra celular (restos de célula nervosa lesada), um aglomerado de células gliais (neuroniofagia).

Coloração: cresil-violeta.  
Aumento: 90 x  
Microfotografia de J. Fontes.

dos e os dendritos de aspecto sinuoso; essa morfologia corresponde à das células *encarquilhadas* ("geschrümpfter Zellen"). Figura 8-b. Não raramente, verificamos a existência de *sombras celulares*, envolvidas por exagerado número de células satélites (neuroniofagia); também, em torno de células em liquefação, notamos o exagero do número das satélites gliais (satelitose). Figuras 8-b e 9-a.

Resumindo, as verificações histopatológicas no sistema nervoso central foram:

- 1) Entumescimento agudo e liquefação de células nervosas existentes nas principais regiões examinadas.
- 2) Encarquilhamento (fase inicial) de algumas células isoladas.
- 3) Reação glial e neuroniofagia nas zonas lesadas.
- 4) Alterações das fibras de mielina e desmielinização.
- 5) Edema localizado, em certos casos e, em outros, atingindo regiões extensas.
- 6) Hiperemia, hemorragias punctiformes e focos apopléticos mais extensos.

### DISCUSSÃO

Examinando os resultados das presentes experiências, nas quais foi provocada a intoxicação, de maneira prolongada, por meio de doses não mortais das toxinas do *Clostridium perfringens* comparando-os com as verificações do nosso trabalho anterior (1), em que provocámos intoxicação aguda e morte imediata dos animais, observamos certa semelhança entre os achados histopatológicos.

Com efeito, as lesões encontradas no tecido nervoso foram, em ambos os casos, da mesma natureza, isto é, de tipo degenerativo.

Podemos notar, apenas, que, nos resultados agora apresentados, as lesões aparecem com maior intensidade. A reação da neurógliã, por exemplo, foi aqui bem mais acentuada, o que se compreende, levando em conta a evolução mais lenta do processo patológico. Atendendo a essa mesma razão, explica-se a maior intensidade dos fenômenos vasculares — hiperemia, hemorragias e edema, nas atuais experiências.

O único ponto em que se diferenciaram os dois resultados, foi no que diz respeito à lesão das fibras de mielina, registrada nos casos de intoxicação prolongada e ausente nos de intoxicação aguda. Essa lesão coincidiu com a existência, nos mesmos pontos, de acentuado edema dos tecidos.

Também, deve ser notada a maior extensão do processo patológico, nos casos de intoxicação prolongada. Assim é que, enquanto na intoxicação aguda as lesões se localizaram, sobretudo, na medula espinhal e no bulbo raqueano, nos casos agora estudados havia lesões (principalmente o edema), distribuídas por todo o sistema nervoso central.

Essas lesões verificadas reconhecem uma patogenia complexa, desde que a toxina é constituída de uma série de frações, sugerindo que, ao lado de uma influência sobre a permeabilidade vascular, a toxina tenha uma ação direta sobre o tecido nervoso.

#### LITERATURA

- 1) PACHECO, G., ALMEIDA, R. A. & COSTA, G. A.  
1945. Alterações do sistema nervoso central na intoxicação aguda pelas toxinas de anaeróbios da gangrena gasosa. Brasil Med. 59: (44-45) Novembro.
- 2) OZORIO DE ALMEIDA, A. & PACHECO, G.  
1941. Ensaio de tratamento das gangrenas experimentais pelo oxigênio em altas pressões e pelo oxigênio em estado nascente. Rev. Bras. de Biologia -: (1-10).
- 3) SPIELMEYER, W.  
1922. Histopathologie des Nervensystemes, I Brand, J. Springer, Berlin.

#### ABSTRACT

The progressive intoxication of dogs with *Clostridium perfringens* toxin promotes degenerative neural lesions analogous to that found in acute intoxication. In progressive intoxication, the neuroglia is more proliferative and the myeline sheaths are altered. The alterations were not circumscribed to spinal cord and medulla but were extensive to other nervous organs.

**ESTAMPA 1**

**FIGURA 10**

Corte de cérebro do cão n.º 8 (P. C. 13958).

A figura mostra foco de edema perivascular e aumento localizado do número de células mononucleares.

Próximo a um vaso sanguíneo (a), nota-se edema localizado da substância nervosa (b) e lesões das células nervosas — “entumescimento agudo” e “liquefação”, (c).

Coloração: cresil violeta

Aumento: 280 x

Desenho de A. Leal.

