

Estudo comparativo das inclusões do alastrim e da variola vera *

pelos

Drs. C. Magarinos Torres e J. de Castro Teixeira

(Com 7 estampas)

O presente trabalho é baseado no estudo de biopsias praticadas em oito casos de alastrim desde o segundo até o sétimo dias de erupção e no de uma biopsia de variola (*variola vera*).

Tivemos em vista comparar e documentar, na maior escala possível, com desenhos e photographias, as alterações cellulares especificas encontradas em material das duas affecções acima referidas, cujas relações reciprocas constituem problema nosologico, a nosso vêr, ainda não resolvido de modo concludente.

Como alterações cellulares especificas comprehendemos aquellas que occorrem nas doenças produzidas por ultravirus, ora no cytoplasma, ora no nucleo, ora em ambas essas estruturas, e que apresentam aspecto peculiar e caracteristico para cada uma dellas. A primeira condição é, assim, a de não se enquadrarem no typos de degenerescencias, infiltrações, necrobiose e necrose associados commummente a lesões toxicas e circulatorias. Tambem não levaremos em conta formações outras acaso existentes no cytoplasma das cellulas epidermicas, taes como leucocytos phagocytados, nucleolos em extrusão, ou chromatina emigrada para o cytoplasma.

É facto bem conhecido que as alterações especificas das doenças por ultravirus referidas como «inclusões», apresentam grande variabilidade de aspecto em um mesmo virus, ainda quando examinadas em cellulas de um mesmo tecido e em animaes da mesma especie. É para notar, porém, que ao lado de aspectos pouco característicos, geralmente relacionados ou com estadios iniciaes, ou, ao contrario, com phases muito adiantadas do processo, é sempre possível, para cada virus, evidenciar aspectos typicos das inclusões. Taes aspectos typicos são inconfundiveis com outros acaso encontrados nesse mesmo tecido ou alhures e relacionados com virus de outra natureza.

* Recebido para publicação a 30 de Novembro de 1934.

Em outras palavras, os estudos morphologicos recentes tendem a estabelecer, que, para cada doença por ultravirus com inclusões específicas, existe um aspecto typico da inclusão, inconfundivel com o que mostram outras doenças do mesmo grupo. Varia, conforme a affecção, o tecido e o animal onde se encontram as inclusões typicas (systema nervoso central do cão na raiva, cellulas epidermicas do homem na *variola vera* e no alastrim, cellula hepatica do *Macacus rhesus* na febre amarella, etc.).

Varias vezes taes aspectos typicos têm sido aproveitados em estudos comparativos nesse grupo de doenças (Cowdry e Kitchen, 1930).

No caso especial das inclusões cytoplasmaticas da variola, ha ainda a considerar a possibilidade de algumas dellas, as incluidas por Paschen (1934) no grupo 5 («kappenartig dem Kerne aufsitzende Gebilde, ähnlich wie bei Verruga peruviana»), representarem colonias do proprio agente da molestia. Terão essas inclusões constituídas por «colonias do agente», aspecto identico na variola e no alastrim?

A origem das «inclusões» ou melhor as suas relações com os componentes normaes da cellula e com o agente etiologico, constituem questão morphologica das mais arduas. O seu estudo necessita, naturalmente, o emprego de todos os recursos de investigação biologica (methodos para demonstração das diversas organellas cellulares: nucleo, nucleolo, cytoplasma, centro celular, chondrioma, aparelho de Golgi, vacuoma, e, tambem, a coloração vital, supravital, a micro-incineração, micro-fluorescopia e a observação a fresco, além de technica adequada á evidenciação do agente etiologico).

Comtudo, se se tem em vista, simplesmente, a evidenciação das «inclusões das doenças por ultravirus», a technica poderá ser das mais simples, a maioria dellas sendo de prompta caracterisação em tecidos fixados no Zenker, incluidos em paraffina, corádos os córtes pelos methodos rotineiros de technica histologica.

HISTORICO

Não é acceita, actualmente, pela maioria dos autores,, a opinião de Ribas (1910) e outros, segundo a qual o alastrim seria uma doença diversa da variola.

Ao contrario, apesar de alguns dados discordantes (Plehn, 1925, Nag., 1929), a opinião das maiores autoridades sobre o assumpto (Gins, 1927, Kaiser, 1934) são a favor de considerar o alastrim simples modalidade attenuada da *variola vera*. Tal identificação é principalmente baseada em provas serologicas, quer feitas em doentes, quer em animaes com infecção experimental (Ledingham, 1925) e em dados epidemiologicos. A possibilidade da concomitancia do alastrim e da variola em uma mesma região, conforme suggere

Plehn (1925), a possibilidade de virus proximos determinarem na cornea do coelho inclusões cellulares parecidas e apresentarem reacções de immuniidade communs, são criticas cabiveis á maioria dos referidos trabalhos, justificando a opinião que considera a questão como ainda não resolvida de modo conclusente (Jorge, 1924).

Visando este trabalho o estudo comparativo entre as alterações cellulares especificas do alastrim e as da *variola vera*, será util um rapido resumo das contribuições anteriores mais importantes a esse respeito

Descriptas primeiramente por Guarnieri (1892) nas lesões da pelle e mucosas de doentes de variola, e depois na cornea do coelho inoculado com variola e com vaccina, os corpusculos de Guarnieri são, em seguida, citados em numerosas publicações relacionadas com a etiologia, a anatomia pathologica e o diagnostico da variola e da vaccina. Comtudo, conforme assignala Hammerschmidt (1919), as suas descrições nas lesões da variola humana são assaz escassas, o que contrasta com a rica documentação a seu respeito quando na cornea do coelho.

O nome de « corpusculo de Guarnieri » attribuido, quer ás inclusões cytoplasmaticas da variola, quer ás da vaccina, traduz a opinião segundo a qual as inclusões seriam perfeitamente identicas nos dois casos. Aliás é commum encontrar, na literatura actual, expressões taes como « o virus, ou, o agente da variola-vaccina », traduzindo a ideia theorica da identidade dos dois virus. Recentemente, no entanto, o estudo comparalivo das inclusões cytoplasmaticas veio mostrar que ellas não eram identicas no caso dos virus do alastrim e da vaccina (Torres e Teixeira, 1934 a).

Segundo Paschen (1911), os corpusculos de Guarnieri teriam sido vistos anteriormente por van der Loeff (1886) e por L. Pfeiffer (1887) no conteúdo de pustulas variolicas. Tambem Weigert (1874) teria visto essas inclusões cellulares, a julgar pela seguinte e curta referencia encontrada em seu trabalho: « viele Zellen zeigen dunkle Körner neben dem Kerne, eine Art Knospe ».

Noções desenvolvidas sobre a histologia da variola são encontradas nos trabalhos de Weigert (1874, 1875 e 1877), embora outros pesquisadores (Rayer, 1835, Cornil, 1866, Auspitz, 1867, etc.) o tenham precedido. Aproveitando material colhido em 200 cadaveres de variola durante a grande epidemia de Breslau em 1871 e 72, estuda o aspecto histologico da efflorescencia em seus diversos estadios. Na phase precoce, a alteração principal consta de uma degenerescencia peculiar das cellulas da camada profunda da rete Malpighi (degenerescencia diphteroide), acompanhada de desaparição dos nucleos e morte das cellulas. O processo degenerativo seria semelhante ao que Wagner descrevera na diphteria « Die diphteroide Degeneration ist nicht nur die erste, sondern sie ist auch die einzige, direkte und besondere Wirkung, die man dem Pockengifte für die Epidermis zuzuschreiben braucht » (Weigert, pg. 18). A efflorescencia origina-se não só na epiderme, como na visinhança de glandulas e folliculos pilo-sebaceos.

Comtudo, as primeiras referencias feitas, de modo indubitavel, ás alterações cellulares especificas da variola, são encontradas no trabalho de Guarnieri (1892). São descrições notaveis para a epoca em que foram realizadas, e tambem, as que melhor resumem os caracteres essenciaes das inclusões cytoplasmaticas da variola. « J'ai commencé par l'étude des altérations va-

rioleuses de la peau et des muqueuses chez l'homme » (Guarnieri, pg. 195). « Dans la portion du protoplasma plus proche du noyau se trouvent, comme creusés, des espaces clairs qui, quelquefois, atteignent la grandeur de presque les deux tiers de la cellule. Dans ces vides, complètement transparents ou remplis d'un déstrictus finement granuleux, est contenu le noyau, lequel est, ordinairement, repoussé d'un côté. Outre le noyau, on y trouve constamment des corpuscules qui se colorent fortement avec le carmin boracique, avec l'hématoxyline, avec la safranine, avec le rouge de Magenta, etc. Ils sont de forme diverse, avec saillies irrégulières arrondies. Ils ont un volume très différent. Quelquefois ils atteignent la grandeur de presque la moitié d'un noyau épithélial; d'autres fois ils sont très petits et comparables à un micrococcus » (Guarnieri, pg. 196). « Les cellules épithéliales superficielles, celles qui se trouvent immédiatement au-dessous du *stratum lucidum*, sont gonflées et, en se comprimant les unes les autres, prennent l'aspect de cellules végétales à l'intérieur desquelles on voit quelquefois le corpuscule nettement distinct du noyau » (Guarnieri pg. 198).

Em tres cadaveres de variolosos, Guarnieri encontrou os corpusculos não só na pelle, como nas mucosas do larynge e do pharynge. Obteve pustulas na mucosa dos labios de coelhos inoculados com vaccina e descreve as inclusões na cornea do coelho. Refere o aspecto vacuolado dos corpusculos da vaccina, observando que os estadios mais avançados dos corpusculos na cornea do coelho se encontram junto aos pontos de inoculação, ao passo que corpusculos menores apparecem em zonas mais distantes. Observa, ainda, os corpusculos da vaccina a fresco, colorindo-os pelo azul de methyleno.

Unna (1894) distingue nas lesões da variola dois typos de degenerescencia. A « retikulierende Degeneration » interessa as cellulas das camadas superficial e media do corpo mucoso, caracterisando-se pela apparição de multiplos vacuolos em cada cellula, separados por delgados septos de protoplasma. Esse processo conduz á formação de vesiculas. A « ballonierende Degeneration » compromette, de preferencia, as cellulas epidermicas jovens, ou seja, as da camada basal e immediatamente adjacentes, traduzindo-se por homogenisação do plasma e arredondamento da cellula que perde as connexões que normalmente apresenta com os elementos contiguos. Assignala na variola, a raridade de cellulas epitheliaes gigantes multinucleadas, tão abundantes, no entanto, na varicella.

Hüffel (1898) publica a mais detalhada documentação até hoje encontrada na litteratura sobre as inclusões cytoplasmaticas da vaccina na cornea do coelho. São 178 figuras, a maioria coloridas pela mistura de Biondi, distribuidas em 4 estampas lithographadas. Os resultados a que chegou, em suas linhas principaes, conservam-se, ainda hoje, de pé, embora na occasião, discordassem inteiramente das doutrinas acceitas. « Allein in dieser Richtung haben meine Untersuchungen als positives Resultat ergeben, dass bei Vaccine an der Impfstelle in der Cornea zunächst gewisse Theile des Zelleibs der Epithelien, die der Marksicht des Protoplasmas angehören, in ganz eigenartiger Weise erkranken. Die hierbei entstehenden eigenthümlichen Bildungen, deren mannigfache Gestalten durch wechselnde und noch unbekanntere Strukturverhältnisse des Cytoplasmas bedingt sein müssen, erscheinen danach als direkte Abkömmlinge des letzteren und nicht als die ursächlichen parasitäre Protozoen der Vaccine, für welche sie ausgegeben worden sind » (Hüffel, pg. 130).

No trabalho de Gorini (1901) encontram-se bons desenhos ilustrando a particularidade das inclusões cytoplasmáticas da vaccina recalcarem o núcleo, deformando-o.

Councilmann, Margrath e Brinckerhoff (1904), aproveitando material colhido em 54 necropsias, estudam detalhadamente a anatomia pathologica da variola. As descrições das alterações cellulares específicas são grandemente prejudicadas pela doutrina que aceitam de sua natureza parasitaria. Contudo a rica documentação encontrada nesse trabalho, não só sobre as inclusões cytoplasmáticas, como sobre as que hoje são chamadas «inclusões intranucleares» (Plate IX e XII, Figs. 4, 7, 8 e 9), é sufficiente para garantir-lhe um lugar proeminente na litteratura.

Ewing (1904) chama a atenção para a variabilidade das reacções de coloração das inclusões cytoplasmáticas da variola, embora sejam, ordinariamente, acidophilas. Mostram ellas uma estructura nitidamente reticulada, sendo que o reticulo que encerram apresenta continuidade com o cytoreticulo. As inclusões intranucleares foram vistas em 17, dentre 24 casos estudados. Dos sete casos que não as mostravam, dois tinham lesões extensamente suppuradas nas quaes era impossivel reconhecer cellulas epitheliaes, tres eram casos com lesões hemorrhagicas primarias e raras inclusões cytoplasmáticas. Finalmente, dois eram casos de variola hemorrhagica confluyente. Assignala que as inclusões intranucleares existem unicamente em cellulas em via de necrose. Em um córte histologico de pustula, ellas começam a apparecer bruscamente quando se passa da zona de cellulas com inclusões cytoplasmáticas e degenerescencia hydropica para a de cellulas necrosadas que formam a base da pustula.

As estampas encontradas no trabalho de Bosc (1904) evidenciam a safraninophilia accentuada das inclusões da vaccina.

Tyzzar (1906) refere o encontro de inclusões cytoplasmáticas triangulares, representadas na figura 84 do trabalho de Hükel, em corneas de coelho não inoculadas. As figuras coloridas da sua «Plate XXVI» são uma boa illustração das diversas phases evolutivas dos corpusculos de Guarnieri, nellas se destacando a representação de uma zona clara vacuolada ou rarefeita no cytoplasma, evidentemente relacionada com as inclusões (v. figuras 1 a 9 e 16 a 20).

Brinckerhoff e Tyzzar (1906) verificam que as alterações nucleares, provavelmente as que hoje conhecemos sob o nome de «inclusões intranucleares», occorrem apenas em cellulas epitheliaes nos animaes inoculados com o virus da variola e não nos inoculados com o da vaccina. Em material proveniente de diversas especies de macacos (*Macacus cynomolgus*, *Macacus nemestrinus*, *Simia satyrus*) com variola experimental e com vaccina, assignalam «cytoplasmic forms of Cytoryctes» em cellulas do epithelio pavimentoso da pelle, da cornea, da bocca e do esophago, em cellulas das glandulas sebaceas e de Meibom, no epithelio cylindrico do nariz, da trachea, da vesicula seminal, no epithelio dos alveolos pulmonares, nas cellulas endotheliaes e cellulas do tecido conjunctivo.

Keyssilitz e Mayer (1909), autopsiando um negro de 30 annos, morto de variola no inicio do exanthema (entre o quinto e o sexto dia de molestia) encontraram, no figado e nos pulmões, lesões semelhantes ás da pelle. As inclusões intranucleares eram muito numerosas nas cellulas hepaticas (Taf. I,

Figs. 23, 25, 26, 27 e 38), existindo, por vezes, juntamente com inclusões cytoplasmáticas (Taf. I, Fig. 38). Eram vistas, também, no baço, no endotélio dos vasos sanguíneos e em células da adventícia. Corpusculos de Guarnieri foram encontrados no epitélio renal.

No trabalho de Unna (1910) são encontradas boas ilustrações das lesões da variola (Taf. XXIV e XXV).

Hallenberger (1918) estuda os corpusculos de Guarnieri em casos de variola e na córnea do coelho, tanto em esfregaços, como em cortes histológicos corados pelo Giemsa. Ocupa-se, também, com as relações existentes entre os corpusculos de Paschen (« initial Körperchen » de Prowazek) e os corpusculos de Guarnieri. Esses últimos são considerados como productos de reacção do cytoplasma, nada tendo a ver com o vírus da variola. Considera o espaço ovoide, claro, observado em torno de quasi todas as inclusões como artificio produzido pela retracção daquellas estruturas. Affirma que os corpusculos de Guarnieri são escassos e rudimentares nas pustulas da variola, só excepcionalmente ahí mostrando os seus dois componentes: a chromatina e o manto de plastina.

Hammerschmidt (1919) admite a origem nucleolar dos corpusculos de Guarnieri baseado na semelhança de coloração dessas duas estruturas em preparações coradas pelos methodos de Unna pelo hemálaun-safranina e pelo verde de methyla-pyronina. A safraninophilia das inclusões cytoplasmáticas é observada, igualmente, na córnea do coelho inoculada com vaccina e com o vírus da variola. A multiplicidade das inclusões cytoplasmáticas da variola (material de vesícula do homem) é evidenciada na figura 3 do seu trabalho. Resume as opiniões sobre o vacuolo que circumda os corpusculos de Guarnieri: « Schon Bosc war der Ansicht, dass es sich dabei nicht um einen Hohlraum, sondern um eine homogene, stark lichtbrechende Substanz handeln dürfte, die sich schwer färbt und die Aufgabe hat, ähnlich wie die Kapseln der Bakterien, den Parasiten zu schützen und eventuell für die Umwandlung der notwendigen Stoffe Sorge zu tragen. Da, wie später auseinandergesetzt wird, der Nukleolus als ein wichtiges Sekretionsorgan fungiert, muss man wohl daran denken, dass der Hof vielleicht mit dieser lebhaften Sekretion in Beziehung stehen könnte » (Hammerschmidt, pgs. 70 e 71). Considera, ainda, como questão duvidosa, a presença de inclusões nucleares na variola.

Boing (1920) colorindo pelo Azur I, esfregaços e cortes de córnea de coelho inoculada com vaccina, verifica, quer nos corpusculos de Guarnieri, quer no nucleo das células epitheliaes da córnea, pequenissimas granulações vermelhas, que se destacam com nitidez no fundo azul de plastina, e que corresponderiam a chlamydozoarios. « Auf Grund weiterer vergleichender Untersuchungen mit Originalpräparaten von Herrn Paschen glaube ich, dass die von Paschen als Erreger ausgesprochenen Körnchen sich decken mit meinem Körnchenbefund in den Guarnierischen Körperchen und in den Kernen » (Boing, pg. 624).

Cowdry (1922), a proposito das zonas claras de cytoplasma que circumdam as inclusões, diz: « The fact that they are not visible in the case of vaccine bodies supravitally stained with brilliant cresyl blue is not very helpful because neither do I find the bacterial halos in insect material. Nevertheless, it can hardly be denied that their appearance is strongly suggestive of shrinkage at interfaces between fluids of different consistency and com-

position » (Cowdry, pg. 676). Nas conclusões, diz: « Vaccine bodies in living corneal cells may be specifically stained by the addition of a small quantity of brilliant cresyl blue 2B to the physiological salt solution in which they are being observed. Their appearance by this method (Figs. 3 to 17) corresponds with that seen in fixed preparations (Figs. 22 to 42). Both lines of study reveal the existence of traces of similar material in unvaccinated corneal cells. As this increases in amount during the reaction, it behaves like an integral, cytoplasmic constituent of fluid consistency and shows no evidence of being endowed with any measure of independent vitality » (Cowdry, pg. 680).

Gins (1922) notando a dificuldade por vezes encontrada na pesquisa dos corpusculos de Guarnieri na cornea do coelho, procura descobrir outras alterações celulares especificas evidenciando cellulas que elle denomina « Strahlzellen ». « Man kann sich das Verhalten des Virus im Hornhautepithel demnach folgendermassen vorstellen: 1. Eindringen des Virus in die Epithelzelle und Einwanderung in den Zellkern. Die von v. Prowazek gefundenen Initialkörperchen stellen vielleicht das auf der Wanderung durch das Protoplasma befindliche Virus dar. 2. Entwicklung des Virus im Kern zu einer dichten Masse grösserer Körperchen, die den ganzen Kern ausfüllen. 3. Heraustreten dieser Körperchen, aus dem Kern, weiteres Wachstum in der allmählich verschwindenden Epithelzelle (« Strahlzelle »), Auswanderung zwischen die Epithelien (extrazelluläre Form der Variola-Vaccinekörperchen). 4. Eindringen der Körperchen in das Protoplasma der Epithelzellen (typisches Guarnierkörperchen). 5. Reifung innerhalb der Zelle und Zerfall der Elementarkörperchen (Paschensche Körperchen), die dann in grossen Massen aus den zerstörten Epithelzellen austreten oder, 6. allmähliche Resorption in der nicht durch den Parasiten zerstörten Zelle » (Gins, pg. 276).

Borrel e Mlle. Muller (1924) e Borrel (1925) descrevem na cornea do coelho inoculada com virus vaccinal, retirada no fim de 24-28 horas, etc. e conservada na camara humida a 30° durante 4, 6, 12, 24, 48 horas, etc. corpusculos aparentemente identicos aos que eram anteriormente designados como « corpusculos de Paschen ». Estabelece ainda que os corpusculos de Guarnieri, muito abundantes nesse material, são formados por taes elementos cujas dimensões não excedem de 0,1 μ . « Par le Giemsa on obtient des préparations montrant le mode de formation des corps de Guarnieri, certaines cellules vaccinales contiennent 30 et 40 corpuscules réticulés amoebiformes avec un grain central, à la limite de la visibilité, par une véritable processus de coalescence, il se constitue ensuite un gros corps central unique qui représente le corps de Guarnieri bien connu » (Borrel, 1925).

Sörensen e Sörensen (1925) aproveitando material colhido em oito necropsias de variola, assignalam dois aspectos diversos dos corpusculos de Guarnieri. Quando observados nas cellulas epitheliaes superficiaes do corpo mucoso, apresentam-se como granulos de tamanho variavel, tintos em azul ou violeta (preparados pelo Giemsa e pelo violeta de gentiana) ora circumdando o nucleo á maneira de uma corôa, ora occupando um ou os dois polos do nucleo. Nas cellulas epidermicas das camadas profundas e nas do epithelio das glandulas sudoriparas e folliculos pilo-sebaceos são inclusões de fórma sempre redonda ou oval, de tamanho variavel, em regra circumdadas por um vacuolo claro, de côr vermelha ou avermelhada. Em todos os casos hu-

manos, os corpusculos de Guarnieri existiam em quantidade variavel e com predilecção nas «ballonierten Retezellen».

Schütz (1926) estuda os corpusculos de Guarnieri na cornea de coelhos empregados na reacção de Paul, fixadas pelo Champy e Kopsch, corados pelo «ull. Unna, Biondi e hematoxylina ferrica. Nos estadios iniciaes, os corpusculos são multiplos, mais tarde, apparecendo isolados ou aos pares. Menciona a sua localisação juxtannuclear e a propriedade que têm de deprimir o nucleo, ahi se alojando. Confirma a verificacção de Cowdry, segundo a qual as mitochondrias e o aparelho de Golgi não dão origem aos corpusculos de Guarnieri, considerando destituidas de fundamento as hypotheses sobre a origem nuclear dos corpusculos de Guarnieri. «So kommen wir zu dem Schluss, dass die G. K. cytoplasmatische Gebilde sui generis sind, die aus winzigen sphäroidalen Körperchen (Tröpfchen) hervorgehen und zu keinen normalen Zellorganellen in genetischer Beziehung stehen» (Schütz, pg. 9). A sua experiencia é contraria á existencia das «Strahlzellen» de Gins. Considera a vacuolisacção dos espermatoctos, embora sem a presenca de inclusões, como lesão muito typica nos testiculos injectados com vaccina.

Luger e Lauda (1926) distinguem dois aspectos nas alteracções intranucleares da variola. «Es findet sich eine Gruppe, bei welcher ein ausserordentlich scharf umschriebener und daher korpuskulär erscheinender rundlicher oder ovaler Körper von verschiedener Grösse, der schliesslich den ganzen Kern ausfüllen kann, auftritt, der eine ziemlich ausgesprochene Oxyphilie aufweist und dadurch charakterisiert erscheint, dass er sehr häufig, wenn auch nicht regelmässig, eine sich schliesslich auf das ganze Gebilde erstreckende Vakuolisierung erkennen lässt, die dem Gebilde einen wabenartigen Charakter verleiht» (Luger e Lauda, pg. 417). «Eine andere Gruppe von Kernveränderungen entspricht jedoch durchaus, wie die Abb. 4 und 5 zeigen, den bei den Varizellen bzw. den Herpesarten geschilderten Formen. Sie unterscheiden sich von der ersten Gruppe dadurch, dass es sich hier nicht um scharf umschriebene körperliche Gebilde handelt, dass vielmehr hier eine teils homogene, teils krümelige, teils feingekörnte Masse nachzuweisen ist, die entweder den Kern vollständig ausfüllt oder auch von der Kernmembran durch einen anscheinend optisch leeren Spaltraum getrennt ist».

Findlay e Ludford (1926) resumem os principaes trabalhos a respeito das inclusões da variola e da vaccina. Adoptando o criterio de excluir as figuras sem detalhes cytologicos claros e as que illustam factos bem conhecidos, elles reproduzem 61 figuras retiradas dos trabalhos de Guarnieri, Copeman e Mann, Ewing, Boing, Cowdry e Schütz.

Michelson e Ikeda (1927), aproveitando material colhido em 47 necropsias e duas biopsias de variola, descrevem as alteracções histologicas encontradas desde a phase inicial de formacção de vesicula até a de cicatrização. A referencia mais extensa ás inclusões é assim enunciada: «They (*the inclusion bodies*)¹ varied decidedly in number but were of uniform size. They were perfectly round, coloured deep blue with hematoxylin and were found most often in the middle epithelial layers within the cells in the vicinity of the nucleus». Nenhuma referencia é feita ás inclusões intranucleares.

¹ O grypho é nosso.

Kyrle (1927) descreve e ilustra diversos estadios evolutivos do exanthema da variola, insistindo sobre analogias histologicas entre variola e outras doencas eruptivas, especialmente o herpes zoster.

Ludford (1928) chega á conclusão de que as inclusões produzidas pelo virus da vaccina nas cellulas epidermicas da pelle e na cornea da gallinha são identicas ás do epithelioma das aves. Os corpusculos da vaccina apresentariam relações com o aparelho de Golgi e os corpusculos de Guarnieri seriam de origem nucleolar.

Clarke (1928) é um dos ultimos a defender a natureza parasitaria das inclusões da variola e da vaccina, identificando-as a um protozoario.

River, Haagen e Muckenfuss (1929), cultivando *in vitro* corneas de coelho inoculadas com vaccina, obtêm, além de corpusculos de Guarnieri, « basophilic structures that were considered to be Paschen bodies ».

Nauck e Paschen (1932) dizem que os corpusculos de Guarnieri são productos de reacção da cellula á acção do virus ou de suas toxinas. Só um pequeno numero delles é formado por colonias do agente (« Erregerkolonien »), a maioria sendo de origem toxica e produzidos por uma dissociação de particulas de plastina e de chromatina existentes na cellula normal.

Paschen (1932) acha que os corpusculos de Guarnieri podem ser constituídos por cinco materias diferentes, a saber: 1. leucocytos phagocytados. 2. nucleolos emigrados para o plasma. 3. particulas de chromatina destacadas no nucleo e localizadas no plasma adjacente. 4. porções de plastina e de chromatina presentes no cytoplasma e dissociadas pela acção de uma toxina. 5. estruturas que recobrem o nucleo tal como acontece na Verruga peruiana. Os corpusculos incluidos nos grupos 4 e 5 seriam os unicos pathognomonicos, sendo que apenas os do grupo 5 encerrariam o agente (« corpusculos de Paschen »).

Milovidow (1933) verifica que os corpusculos de Guarnieri obtidos na cornea do coelho inoculada com « Variolavakzine » apresentam uma reacção de Feulgen positiva, contendo, assim, acido thymonucleinico. Os corpusculos de Guarnieri representariam restos de leucocytos phagocytados pelas cellulas epitheliaes. Illustra inclusões juxta-nucleares que deformam o nucleo, simulando uma rede intranuclear.

Embora apresentem os corpusculos de Paschen estreitas relações com os de Guarnieri, dispensamo-nos de relatar o seu historico, que se encontra bem resumido no trabalho de Paschen (1911, pg. 510).

Corpusculos semelhantes aos de Paschen foram evidenciados, pela primeira vez, no alastrim por Aragão (1911 e 1933).

Mitamura, Tamiya, Hazato, Ichinomiya e Fujiwara (1934) chegam á conclusão de que os corpusculos de Guarnieri e os de Paschen representam formas coradas diferentes do agente da variola-vaccina. « Unserer Ansicht nach stellen die Guarnierischen Körperchen das erste Stadium, und die Paschen-schen Körperchen das zweite Stadium des Erregers dar, etwa wie die Vegetation und Dauerformen der Bakterien oder der Pilze » (pg. 377). Os auctores encontram, na variola das aves, formações semelhantes aos corpusculos de Guarnieri, precedendo, de um a dois dias, a aparição dos corpusculos de Böllinger.

MATERIAL

Consta elle de biopsias de pelle praticadas em 8 doentes de alastrim durante uma epidemia occorrida em 1932. em tropa aquartelada na cidade Rio de Janeiro, Brasil.

O material de *variola vera* consta de uma biopsia praticada durante a grande epidemia² observada em 1926, na população civil da cidade do Rio de Janeiro, Brasil.

Os fragmentos de pelle com as lesões de alastrim seleccionadas eram, immediatamente, fixados em liquido de Zenker contendo 10 % de formol do commercio. Lavagem em agua corrente, 24 horas. Com uma lamina de navalha Gillette, as lesões eram divididas em 2 ou mais blócos, ora no sentido do seu maior diametro, ora no do menor. Des-hydratação em alcool absoluto mudado 3 vezes, de 2 em 2 horas. Chloroformio durante uma noite (usado um tampão de algodão para manter submergidos os fragmentos). Chloroformio préviamente aquecido a 57°, 15 minutos. Juntar partes eguaes de paraffina fundida ao recipiente contendo as peças no chloroformio, prolongando o banho durante 1-2 horas. Banho de paraffina pura, 2 horas. Inclusão em paraffina.

Como corantes, usamos o methodo rotineiro pela hematoxylina-eosina e o methodo de Unna pelo hemalaum-safranina modificado, feito do seguinte modo:

Córtes desparaffinados e hydratados são corados pela hematoxylina de Delafield diluida durante 10 minutos. Lavagem em agua da bica, 10 minutos. Solução aquosa de safranina a 1 %, 10 minutos. Agua. Solução aquosa de tannino a 25 %, 10 minutos. Agua. Alcool. Oleo de bergamota-xylol. Xylol. Balsamo.

A excellencia deste methodo no estudo das inclusões desse grupo de doenças foi assignalada por Hammerschmidt (1919) e por Paul (1919). Conforme referimos anteriormente (Torres e Teixeira, 1934 *b*), permite elle fazer o diagnostico differencial entre as inclusões cytoplasmaticas do alastrim e as da *variola vera*, e tambem entre as do alastrim e as da vaccina nas lesões cutaneas experimentaes do *Macacus rhesus*: por esse methodo de coloração, as inclusões cytoplasmaticas do alastrim, no homem e no macaco, não se coram pela safranina, ao passo que as da *variola vera* e as da vaccina apresentam uma accentuada safraninophilia.

² Segundo dados colhidos no Boletim Mensal de Estatistica Demographo-Sanitaria da Cidade do Rio de Janeiro, foram feitas, então, 4.146 notificações de variola, o numero de obitos por essa molestia registrado sendo de 2.187.

O material histologico foi colhido nos seguintes doentes:

J. J. J., sexo masculino, 24 annos de idade, branco, soldado, natural de Pernambuco (Brasil), removido do quartel onde grassa, na occasião, uma epidemia de alastrim, para o Hospital Central do Exercito e dahi para o Hospital Oswaldo Cruz, onde deu entrada a 22 de Dezembro de 1932, no sexto dia de doença e segundo de exanthema. Mostra, então, uma erupção vesicopustulosa, com predominancia de vesiculas (Fig. 1). A biopsia (n.º 3.689), feita no segundo dia de erupção, foi praticada na linha mamillar esquerda, junto ao rebordo costal, comprehendendo uma vesicula e uma papula. Evolução benigna, sem complicações. Alta curado.

B. A., sexo masculino, 23 annos de idade, branco, soldado, natural da Bahia (Brasil), removido do quartel onde grassa, na occasião, uma epidemia de alastrim, para o Hospital Central do Exercito e dahi para o Hospital Oswaldo Cruz, onde deu entrada a 6 de Dezembro de 1932, no quinto dia de doença e segundo de exanthema. Apresenta uma erupção vesicopustulosa generalizada, o estado geral sendo bom. Biopsia (n.º 3.647) comprehendendo uma lesão na linha axillar, região thoraxica, feita entre o segundo e o terceiro dias de erupção. Evolução benigna.

M. Alexandre Santos, sexo masculino, 26 annos de idade, mulato, soldado, natural de Alagôas (Brasil), removido do quartel onde grassa, na occasião, uma epidemia de alastrim, para o Hospital Central do Exercito e dahi para o Hospital Oswaldo Cruz onde deu entrada a 30 de Dezembro de 1932. Biopsia (n.º 3.711) de lesão situada no hypochondrio direito, a 31 de Dezembro, no 3.º dia de erupção e setimo de molestia. O paciente mostra vesiculas e pustulas não numerosas, a doença evoluindo de modo benigno. Alta, curado, em 18 de Janeiro de 1933.

A. V. M., sexo masculino, 21 annos de idade, branco, soldado, natural de Pernambuco (Brasil), removido do quartel onde grassa, na occasião, uma epidemia de alastrim, para o Hospital Central do Exercito e dahi para o Hospital Oswaldo Cruz, onde deu entrada a 28 de Dezembro de 1932. Nunca fôra vaccinado contra a variola. Inicio da doença com symptomas de grippe, apparecendo o exanthema no terceiro dia. Biopsia (n.º 3.622) de lesão da perna feita no terceiro dia de erupção e sexto de molestia, apresentando enlão o doente uma erupção confluyente formada por vesiculas e pustulas (Figs. 2 e 3), o estado geral conservando-se bom. Evolução benigna. Alta curado.

F. S., sexo masculino, 24 annos de idade, mulato, soldado, natural de Sergipe (Brasil), removido do quartel onde grassa, na occasião, uma epidemia de alastrim, para o Hospital Central do Exercito e dahi para o « Pavilhão Carlos Chagas » do Hospital S. Francisco de Assis, onde deu entrada a 30 de Novembro de 1932. Biopsia (n.º 3.631) de uma vesicula do thorax, na linha mamillar, junto ao rebordo costal, no sexto dia de molestia e terceiro de erupção. Evolução benigna. Alta curado.

M. G. S., sexo masculino, 20 annos de idade, branco, soldado, natural de Sergipe (Brasil), removido do quartel onde grassa, na occasião, uma epidemia de alastrim, para o Hospital Central do Exercito, e dahi para o Hospital Oswaldo Cruz, onde deu entrada a 22 de Novembro de 1932. Chegado recentemente ao Rio, foi então vaccinado pela primeira vez quando declarada a epidemia de alastrim na tropa de que fazia parte. A doença actual manifestou-

se quando o doente ainda apresentava pustulas vaccinicas, iniciando-se com febre, cephaléa e calafrios, symptomas que persistiram durante tres a quatro dias, quando surgiu um exanthema papuloso, seguido de erupção vesiculosa. A 22 de Novembro, no terceiro para o quarto dia de erupção, foi retirada, por biopsia (n.º 3.604), uma vesicula da face interna do antebraço, apresentando o doente um estado geral bom, embora as lesões vesiculo-pustulosas mostrassem tendencia á confluencia. A 24 Novembro no quinto para o sexto dia de erupção foi feita nova biopsia (n.º 3.610) na região escapular, sendo retiradas 3 novas lesões. O doente apresentou uma elevação thermica secundaria, a qual correu por conta de dois abcessos consequentes a injeccões subcutaneas. Nessa occasião, a pesquisa bacteriologica (semeadura em meios de cultura) do streptococco no conteúdo de algumas pustulas, resultou negativa. Alta curado.

J. Gonçalves S., sexo masculino, 20 annos de idade, caboclo, soldado, natural do Ceará (Brasil), removido do quartel onde grassa, na occasião, uma epidemia de alastrim, para o Hospital Central do Exercito e dahi para o Hospital Oswaldo Cruz, onde deu entrada a 28 de Novembro de 1932. Biopsia (n.º 3.620) de uma lesão do antebraço, no 11.º dia de molestia e setimo de exanthema. O doente apresenta estado geral bom e uma erupção vesiculo-pustulosa discreta, mas generalizada, sendo as lesões mais numerosas no rosto e nas mãos (Fig. 4). Evolução benigna. Alta curado.

L. G. Oliveira, sexo masculino, 24 annos de idade, preto, soldado, natural do Piauhhy (Brasil), removido do quartel onde grassa, na occasião, uma epidemia de alastrim para o Hospital Central do Exercito e dahi para o « Pavilhão Carlos Chagas » do Hospital S. Francisco de Assis, onde deu entrada a 30 de Novembro de 1932. Biopsia (n.º 3.630) no 11.º dia de doença e sexto de erupção. Inicio com febre, angina e cephaléa. O exanthema, a principio discreto, depois generalizado, appareceu no 5.º dia de molestia. Ao ser internado, apresenta o estado geral bom e uma erupção vesiculo-pustulosa em todo o corpo. Evolução benigna. Alta curado.

Doente de *variola vera* internado no Hospital S. Sebastião, durante a epidemia de 1926 no Rio de Janeiro. Biopsia (n.º 3.933) de uma vesicula, material que nos foi cedido por obsequio dos nossos collegas Drs. A. Marques da Cunha e Julio Muniz.

INCLUSÕES DO ALASTRIM

Nas biopsias de exanthema do alastrim examinadas, as cellulas epidermicas que mostram inclusões cytoplasmaticas não são tão numerosas, nem apresentam localisação tão regular quanto as correspondentes na biopsia de variola, que estudamos para comparação.

Pareceu-nos, comtudo, que ellas mais facilmente eram achadas em cellulas do fundo das vesiculas e vesico-pustulas, não raro nas proprias cellulas pigmentadas da camada basal (Figs. 9, 14 e 16). Tambem as inclusões intranucleares não raro foram encontradas em cellulas pigmentadas (Figs. 22, 23 e 24). De um modo geral, quando encontrado, na lesão, o ponto onde as cellulas epidermicas apresentam

«inclusões», varios desses elementos, por vezes contiguos, as encerram. No entanto, mais adiante, na mesma lesão, não é possível de novo encontrá-las.

As células que mostram alterações com as características geralmente atribuídas às «inclusões» das doenças de vírus foram desenhadas isoladamente, a nossa descrição sendo baseada nesses documentos.

Devemos considerar separadamente, inclusões *cytoplasmáticas* e inclusões *intranucleares*.

a) INCLUSÕES CYTOPLASMÁTICAS

As inclusões cytoplasmáticas menos volumosas apresentam dimensões semelhantes ou inferiores às do nucleolo da célula epidérmica (Fig. 6). De contornos circulares, fortemente coradas em azul (45 C8 do dicionário de Maerz e Paul) em preparados pela hematoxilina-eosina, as inclusões por vezes múltiplas e localizadas em zona de cytoplasma afastada do núcleo, são circundadas por um estreito halo claro. As células que as encerram apresentam núcleo aparentemente normal. Na figura 6 são ellas representadas em uma célula epidérmica com dois núcleos. De passagem devemos dizer que a divisão das células epidérmicas por amitose é assás frequente no exanthema do alastrim, que nesse particular se assemelha ao da varicella.

Nas figuras 7, 8 e 46 (ao centro) são representadas inclusões que ocupam região vizinha do núcleo, entrando em contacto com a membrana nuclear apenas em uma parte de sua superfície. Recobrem assim o núcleo á maneira de um pequeno gorro. Fortemente coradas em azul violeta nos preparados pela hematoxilina-eosina, ellas ora apresentam estrutura aparentemente homogénea (Fig. 8), ora nitidamente vacuolada (Figs. 9 e 46, á direita). Outras vezes (Fig. 45) a inclusão applica-se intimamente de encontro á membrana nuclear, acompanhando os contornos do núcleo em extensão maior ou menor. O núcleo de taes células é distinctamente tumido, conforme se póde ver comparando as figs. 7, 8 e 9, com a figura 5, a qual representa células epidérmicas normaes no mesmo córte histológico. Devemos, porém, mencionar que, ao contrario do que acontece na variola e na vaccina, taes inclusões cytoplasmáticas juxtánucleares não mostram, no alastrim, tendencia a deformarem o núcleo, produzindo em sua superfície uma depressão onde se alojam. O halo claro do cytoplasma permanece circumscripto á vizinhança immediata da inclusão, quando não falta inteiramente (Figs. 45 e 46). A célula epidérmica, afóra a inclusão, apenas se distingue da normal pelo aspecto tumido do núcleo.

Nas figuras 10 e 11 são representadas inclusões mais volumosas, correspondendo, por vezes, ao terço do núcleo das células que as encerram. Tais inclusões, representadas ainda na figura 10 em uma célula epidérmica com dois núcleos, ocupam a vizinhança imediata do núcleo, envolvendo-o e contornando-o sem de modo algum deformá-lo como faria um chumaço de algodão em torno de uma formação sólida. Esta disposição é difícil de ser representada, quer em desenhos, quer em photographias (Fig. 46, ao centro), visto como o plano de focalização da inclusão no ponto em que ella envolve o núcleo, não permite a focalização do próprio núcleo. As inclusões ainda se mostram coloridas em azul violeta, mais accentuado naquellas onde a estrutura é mais homogénea (Fig. 10), mais pallido nas que revelam estrutura vacuolada (Fig. 11):

Inclusões cytoplasmáticas mais volumosas são illustradas nas figuras 14, 18, 15 e 16. O aspecto vacuolado em tais inclusões de grande volume é feição muito apparente em algumas dellas (Fig. 15). A sua fórma é irregular, conservando, ainda, affinidade de coloração pela hematoxylina. Embora frequentes vezes únicas, não são contudo raros os aspectos vistos nas figs. 13 e 47, onde duas inclusões de tamanho diverso, se dispõem na vizinhança de polos oppostos do núcleo, e o da fig. 9, onde duas inclusões de fórma differente occupam, no cytoplasma, região vizinha uma da outra.

Tal como nas células epidérmicas com inclusões de volume comparavel ao do núcleo, os núcleos de células com inclusões cytoplasmáticas ás vezes tão volumosas quanto elles mesmo (Fig. 16), ordinariamente conservam estrutura normal. Mostram nitida membrana nuclear, a chromatina disposta em grumos delicados sobre um reticulo de linina, no qual apparecem um a tres nucleolos. Estes ultimos ás vezes são nitidamente coloridos pela eosina (Figs. 13, 15, e 16), outras coram-se em azul violeta (Fig. 18).

Insistimos em affirmar que, de modo algum, tais núcleos suggerem pycnose, karyorhexis ou karyolyse. Apresentam, contudo, tumefacção ás vezes consideravel (comparar as figs. 13 e 18 com a fig. 5).

Outro detalhe a referir é a extensão frequentemente pequena que apresenta o halo do cytoplasma em torno da inclusão (Figs. 11, 16 e 18). Algumas vezes, porém, a zona de cytoplasma sem estrutura apparente é extensa e mostra relação menos evidente com as inclusões (Figs. 12, 15 e 17). Em tais casos, contudo, nunca se vê uma linha de demarcação nitida entre a zona vacuolada e a de cytoplasma com estrutura conservada.

Na figura 17 está representada uma cellula epidermica com diversos nucleos, resultantes de activa multiplicação por amitose. Conforme dissemos atraz, cellulas epitheliaes multinucleadas são abundantes no exanthema do alastrim, o que approxima o aspecto histologico ahi visto do da varicella. A inclusão cytoplasmatica nella se apresenta esbatida e mal definida, aspecto este por vezes visto nas grandes inclusões cytoplasmaticas do alastrim, especialmente quando a zona clara do cytoplasma é extensa.

A fig. 41 representa uma cellula epidermica pigmentada (camada basal) com inclusão cytoplasmatica do alastrim, em preparado corado pelo methodo de Unna modificado (hematoxylina-safranina). Os nucleolos são corados em roseo-avermelhado pela safranina. A inclusão cytoplasmatica, de fórmula triangular, occupa a visinhança do nucleo, mostrando uma leve coloração azulada. Essa ausencia de afinidade corante para a safranina distingue as inclusões do alastrim tanto no homem, como no *Macacus rhesus* das inclusões cytoplasmaticas da variola vera e da vaccina, nitidamente safraninophilas (Torres e Teixeira, 1934b).

Notamos, ainda, inclusões cytoplasmaticas basophilas, estreitas e alongadas (Fig. 9). Em certos casos taes inclusões juxtapõem-se á membrana nuclear, acompanhando os contornos do nucleo em metade de seu perimetro, quasi sempre ao longo do seu maior diametro. Tambem ellas se moldam, sobre o nucleo, sem de modo algum, deformal-o.

Não é raro encontrar inclusões cytoplasmaticas do alastrim em cellulas epidermicas com degenerescencia hydropica (Figs. 9 e 16). Apresentam ellas, então, além da inclusão, ora proximo della, ora, mais frequentemente, em zona afastada, uma ou mais cavidades sem estrutura apparente (vacuolos). O núcleo de taes elementos é, por vezes, deformado e enrugado, outras vezes normal em seus contornos. Ao lado de cellulas com inclusões, occorrem numerosas outras que não as encerram mas são atingidas, igualmente, pela degenerescencia hydropica.

É, assim, necessario distinguir o halo claro que circumda immediatamente a inclusão cytoplasmatica, dos vacuolos occorrendo na «retikulierende Degeneration» e na degenerescencia hydropica. Essa distincção é por vezes impossivel de ser feita quando as inclusões e os processos degenerativos acima citados combinam-se na mesma cellula.

b) INCLUSÕES INTRANUCLEARES

Ordinariamente as cellulas que apresentam inclusões cytoplasmaticas não são as mesmas que contem inclusões intranucleares. Contudo, occasionalmente estes dois typos de lesão podem se achar associados num mesmo elemento (Fig. 22).

Na figura 19 é representada uma cellula epithelial cujo nucleo tumido mostra um reticulo oxyphilo, e encerra maior quantidade de material corado pela eosina que um elemento normal. Na membrana nuclear, a basichromatina é abundante e ahi constitue espessamentos definidos e circumscriptos. Esse aspecto evidentemente não representa uma inclusão intranuclear typica. É provavel, comtudo, que corresponda a uma phase inicial de sua formação.

As figs. 20, 21, 22, 23 e 24 representam os aspectos encontrados no nosso material de alastrim que mais se approximam das « inclusões intranucleares » das doenças por ultravirus.

Na figura 20 está representada uma cellula epidermica pigmentada que soffreu a « ballonierende Degeneration ». O nucleo, entumescido, mostra nitida hyperchromatose discontinua da membrana nuclear contra a qual se acha applicado o nucleolo. O nucleoplasma apresenta uma coloração rosea diffusa e um reticulo acidophilo que se insere, de modo regular, sobre a membrana nuclear.

A fig. 21 mostra uma cellula epidermica com dois nucleos deformados. A basichromatina é presente e abundante sobre a membrana nuclear, formando, além disso, grumos que estão depositados sobre um reticulo. Alguns de taes grumos são mais pallidamente corados em sua porção central que em seus bordos. No nucleoplasma vê-se espaços claros, de fórmula irregular, que se interpõem entre a membrana nuclear e material acidophilo situado na porção central do nucleoplasma. Esse material oxyphilo acha-se contido nas malhas de um reticulo corado pallidamente pela eosina.

Na figura 22, a inclusão intranuclear, de aspecto retiforme, occupa a porção central do nucleoplasma, prendendo-se, de outro lado, á membrana nuclear por delgados filamentos acidophilos. Em sua porção central está contido o nucleolo tumido e sobre cujos bordos apparecem granulos de basichromatina. Outros granulos de basichromatina são vistos um pouco mais afastados e depositados sobre o material oxyphilo. A basichromatina incrusta a membrana nuclear sob a fórmula de espessamentos discontinuos. É uma cellula epidermica pigmentada, que contem, além disso, uma inclusão cytoplasmatica.

As figs. 23 e 24 representam phases adiantadas das inclusões intranucleares do alastrim. Os nucleos são tumidos, a basichromatina desaparecida inteiramente do nucleoplasma, constitue espessamentos discontinuos na membrana nuclear, dando-lhe aspecto de linha ponteadada. O nucleoplasma apresenta espaços claros, sem nenhuma estructura aparente, de fórmula irregular, e contem ora um reticulo espesso, pallidamente corado pela eosina (Fig. 23), ora material acidophilo em maior

quantidade, no qual o aspecto retiforme é menos evidente. Um nucleolo tumido, pallidamente corado em roseo e contendo uma pequena zona chromophoba é visto na figura 23. A figura 24 mostra marginação do nucleolo cuja afinidade de coloração para com a eosina é diminuída.

Na figura 25 são representados nucleos enrugados, com a membrana levemente espessada, e cujo nucleoplasma é uniformemente colorido pela eosina. Não temos certeza de que esses aspectos tenham relação com verdadeiras «inclusões intranucleares».

O «aspecto retiforme» typico das inclusões intranucleares do alastrim, e, tambem, a marginação da basichromatina, são bem apreciaveis na figura 43 e sotretudo na 44. Sendo um documento photographico, illustra essa ultima figura os seguintes caracteres importantes de uma inclusão intranuclear typica do alastrim: 1) aspecto retiforme do material acidophilo, que occupa certas porções do nucleoplasma, sendo separado da membrana nuclear por zonas claras, sem estructura apparente; 2) condensação da basichromatina sobre a membrana nuclear, ahi formando depositos de espessura discontinua; 3) augmento de volume e tumefacção do nucleo. Nota-se, ainda, marginação do nucleolo.

RESUMO

Baseados nas descrições e documentos atraz analysados, podemos concluir que os caracteres geraes apresentados pelas inclusões cytoplasmaticas do alastrim no homem são: a sua ausencia de coloração pela safranina em preparados pelo methodo de Unna modificado (Fig. 41), a sua reacção basophila em preparados pela hematoxylina-eosina, traduzida pela tonalidade azul-violacea de coloração que apresentam (Figs. 7-16 e 18), a sua tendencia, quando attingem grandes dimensões, de permanecerem unicas ou solitarias em cada cellula epidermica (Figs. 14, 15, 16 e 18), embora não seja rara a disposição em polos oppostos do nucleo (Figs. 13 e 47).

As inclusões cytoplasmaticas frequentemente se adossam ao nucleo (Figs. 7, 8, 45 e 46). Este, porém, conserva contornos perfeitamente normaes, a inclusão cytoplasmatica envolvendo-o sem deformal-o.

Devemos, ainda, acrescentar que as cellulas epitheliaes do homem com inclusões cytoplasmaticas do alastrim não raro conservam um cytoplasma normal fóra da zona das inclusões (Figs. 45 e 46). Outras vezes, na zona immediatamente adjacente a esta, existe um halo como que representando uma estreita zona de retracção (Fig. 18).

Quanto ás inclusões intranucleares do alastrim, ellas se apresentam menos characteristics do que as notadas em outras taes as da febre

amarella (Torres, 1929), as do herpes zoster (Lipschütz, 1920), as da varicella (Tyzzer, 1905) e, especialmente, as da variola vera.

Assim é que o material acidophilo intranuclear cora-se pallidamente pela eosina, não se condensando em uma estructura central nitidamente separada da membrana nuclear por uma area de nucleoplasma sem estructura, tal como succede em phases typicas da maioria das inclusões das doenças de virus.

A marginação da basichromatina e sua deposição sobre a membrana nuclear apparece, porém, de modo typico e comparavel ao descripto nas demais inclusões intranucleares.

Nunca pudemos encontrar o aspecto de corpusculos acidophilos intranucleares distinctos de contornos nitidos e fórmula regular, contendo por vezes, zonas chromophobas. Tal aspecto é typico nas inclusões intranucleares da *variola vera*.

O aspecto que nos parece typico, na inclusão do alastrim, é o representado nas figs. 21 e 44, atraz mencionado com «aspecto retiforme».

Identico aspecto apresentam as inclusões intranucleares do alastrim em cellulas epidermicas do *Macacus rhesus* conforme demonstra a figura 22, estampa XXIX, do trabalho de Torres e Teixeira (1934a).

INCIDENCIA DAS «INCLUSÕES» NAS LESÕES EPIDERMICAS DO ALASTRIM

Com o fim de obter informações sobre a incidencia das inclusões nas diversas phases evolutivas das lesões epidermicas do alastrim e suas relações com outras alterações, especialmente a «ballonierende Degeneration», examinamos systematicamente todas as lesões epidermicas bem caracterisadas existentes em nosso material. O resultado está annotado no Quadro n.º 1.

Deixamos de lado, nessa estatistica, as lesões localizadas em torno de folliculos pilo-sebaceos e glandulas sudoriparas.

Em 12 lesões epidermicas do alastrim examinadas, 11 mostravam inclusões cytoplasmaticas, especialmente abundantes nos estadios de papula e de vesicula. As inclusões intranucleares existiam apenas em 3 lesões, das quaes duas pustulas e uma vesicula em inicio de suppuração. A sua presença achava-se associada á da «ballonierende Degeneration», a qual era encontrada, apenas, nas tres lesões que mostravam inclusões intranucleares.

Quadro 1

Lesões epidérmicas do alastrim nas phases de :	Inclusões cytoplasmáticas	Inclusões intranucleares	"ballonierende Degeneration"
Papula			
Material nº.			
3596	+	—	—
3711 lesão a	+	—	—
Vesicula			
Material nº.			
3610 lesão a	+	—	—
lesão b	+	—	—
3604	+	—	—
3711 lesão b	+	—	—
Vesicula em inicio de suppuração			
Material nº.			
3631	+	+	+
Pustula			
Material nº.			
3647 lesão a	+	+	+
lesão b	+	—	—
3989	+	—	—
3622	+	+	+
Pustula em dessecção			
Material nº.			
3603	—	—	—

ALTERAÇÕES NUCLEOLARES DO ALASTRIM

Tal como as cellulas hepáticas na febre amarella, as cellulas epidérmicas nas lesões do alastrim, mostram, em gráo apreciavel, multiplicidade de nucleolos. Nas cellulas das paredes das vesiculas e em elementos adjacentes, é commum encontrar nucleos contendo tres, ás vezes quatro e cinco nucleolos differentes. Ao mesmo tempo, taes nucleos se apresentam tumidos, embora as cellulas não apresentem inclusões cytoplasmáticas ou intranucleares.

Como alteração nucleolar digna de referencia, visto como simula, até certo ponto, as verdadeiras inclusões intranucleares, mencionaremos a tumefacção e lobulação dos nucleolos (Figs. 26 e 47, em cima), aspectos que não são raros nas cellulas epidérmicas das lesões de alastrim e nas da zona circumvisinha, onde tambem occorrem tumefacção dos nucleos, multiplicação por amitose e figuras de caryokinese

O nucleolo, ou os nucleolos existentes em cada nucleo augmentam de volume, tornando-se, ao mesmo tempo, menos chromophilos que

em condições normaes. Os seus contornos, por vezes regulares, mais frequentemente mostram-se sinuosas e recortados. Pouco a pouco a sua configuração torna-se cada vez mais irregular, em 8 de cifra, em T ou então nitidamente polylobulados. Em certos casos, os nucleolos, modificados, se apresentam como uma faixa acidophila occupando a parte central do nucleoplasma e orientada no sentido do maior diametro do nucleo. O reticulo de linina, com pequenos granulos de chromatina, parece ligar essa massa acidophila central á membrana nuclear, na qual existe moderado grau de hyperchromatose.

Nos nucleos com taes alterações nucleolares, a basichromatina, sob a fórmula de pequenos granulos, é geralmente conservada no reticulo de linina (Fig. 26); um ou mais granulos de chromatina, mais volumosos e mais intensamente corados que os demais, por vezes se localizam nos bordos ou no interior dos nucleolos tumidos e lobulados. Comtudo, taes nucleos com alterações nucleolares podem apresentar uma leve hyperchromatose da membrana nuclear, o que reforça a sua semelhança com as verdadeiras inclusões intranucleares das doenças por ultravirus.

Alguns dos aspectos acima referidos, especialmente a lobulação dos nucleolos (Figs. 26 e 47, em cima) poderiam ser explicados por movimentos ameboides daquellas estruturas, movimentos que soffreriam intensificação em determinadas circumstancias. Heidenhain diz, com effeito: «Es ist also gar kein Zweifel, dass an den Nukleolen Bewegungserscheinungen vorkommen, welche denen amöboider Art äusserlich ähulich sehen» (Heidenhain, 1907, Erste Lieferung, S. 184).

INCLUSÕES DA VARIOLA

Na biopsia de vesicula de *variola vera* que examinamos eram muito numerosas as cellulas epitheliaes com inclusões cytoplasmaticas e intranucleares

Tal como vimos no alastrim, esses dois typos de inclusões occorrem em elementos cellulares diferentes.

As inclusões cytoplasmaticas são mais abundandes em cellulas da porção média do corpo mucoso, em região immediatamente vizinha á vesicula. É commum, então, observar campos nos quaes a totalidade das cellulas epitheliaes as apresentam.

Ao contrario, as cellulas com inclusões intranucleares occupam de preferencia a região do fundo da propria vesicula e são, as mais das vezes, elementos atingidos pela «ballonierende Degeneration».

Tal como fizemos com as do alastrim, examinaremos, separadamente, as inclusões cytoplasmaticas e as intranucleares.

INCLUSÕES CYTOPLASMATICAS

Na figura 27 são representadas duas inclusões cytoplasmaticas de fôrma irregularmente redonda, coradas em roseo em preparados pela hematoxylina-eosina. A menor, do tamanho do nucleolo, ocupa uma depressão á superfície do nucleo. A maior, situada em zona do cytoplasma afastada do nucleo, mostra nitido aspecto vacuolado.

A figura 28 representa duas inclusões mais volumosas que o nucleolo, uma corada intensamente pela eosina, outra tinta pela hematoxylina. O halo claro perinuclear onde estão também contidas as inclusões é nitidamente separado da porção restante do cytoplasma por uma linha ou membrana corada em roseo pela eosina.

Nas figuras 29, 30, 31 e 32 são representadas inclusões multiplas em cada cellula. São em geral de fôrma irregularmente arredondada e coradas pela eosina. O seu aspecto, ora é homogeneo (Figs. 29, 30 e 31), ora nitidamente vacuolado (Fig. 32). O volume das inclusões é variavel, não só de cellula para cellula, como na mesma cellula considerada. As maiores, porém, nunca alcançam volume igual ao do proprio nucleo da cellula epidermica. Em todas as cellulas com inclusões cytoplasmaticas, nota-se aspecto claro do cytoplasma em zona de extensão variavel, mas sempre consideravel e geralmente não circumscripta á vizinhança immediata da inclusão. A linha ou membrana rosea que separa essas zonas vacuoladas do cytoplasma de outras onde o cytoreticulo se apresenta conservado é bem nitida nas figs. 31 e 32.

Os nucleos das cellulas com inclusões cytoplasmaticas conservam, por vezes, aspecto normal (Fig. 28). Outras vezes, mostram multiplicidade de nucleolos (Fig. 30). Na maioria das cellulas, porém, elles se mostram deformados e, por vezes, pycnoticos (Figs. 27 e 32).

Na fig. 42 a inclusão da variola apresenta-se corada pela safranina em tonalidade semelhante á dos nucleolos da cellula, ocupando uma grande zona de cytoplasma aparentemente sem estrutura. O methodo de coloração é o de Unna modificado (hematoxylina-safranina). Convem lembrar que foi baseado, em parte, no methodo original de Unna, que Hammerschmidt chegou á conclusão de que os corpusculos de Guarnieri se originariam por um processo de extrusão do nucleolo.

INCLUSÕES INTRANUCLEARES

A fig. 33 representa, a nosso ver, uma phase inicial de formação das inclusões intranucleares na *variola vera*. A membrana nuclear possui espessura normal, mas a zona de succo nuclear encerra quantidade apreciavel de material acidophilo condensado em 4 massas de ta-

manho desigual. Não é possível, nesse nucleo, identificar o nucleolo, embora não seja improvavel que a massa acidophila maior represente aquella estructura.

A fig. 34 representa duas cellulas epidermicas situadas em um «lambeaux» epithelial que permanecia conservado no fundo da vesicula. As cellulas ahi mantem relações reciprocas inalteradas, não mostrando o aspecto de elementos atingidos pela «ballonierende Degeneration»: Apesar disso, em seus nucleos existem inclusões intranucleares sob a fórmula de granulos acidophilos isolados em um nucleoplasma sem estructura apparente (cellula inferior), e de um reticulo oxyphilo contendo em suas malhas material acidophilo, separado da membrana nuclear por areas de nucleoplasma sem estructura apparente (cellula superior).

Nas figuras 35, 36, 37 e 38 são representadas inclusões intranucleares da variola caracterizadas por intensa coloração vermelha que apresentam nos preparados corados pela hematoxylina-eosina. A fig. 35 mostra, ainda, granulos de basichromatina conservados na zona de succo nuclear, o material acidophilo que constitue a inclusão sendo menos abundante que nas figuras seguintes. Na fig. 36, o nucleolo applicado de encontro á membrana nuclear deformada e espessada, distingue-se das inclusões pela tonalidade vermelha escura de sua coloração. A inclusão é representada por duas massas de tamanha desigual, fortemente tintas pela eosina. Esta cellula provem da camada basal e contem pigmento.

O nucleolo é, tambem, distinguido com facilidade, junto á membrana nuclear, na fig. 37, e, com dificuldade, parecendo incrustado naquella membrana, na fig. 35.

As cellulas epidermicas com inclusões intranucleares são, em sua maioria, atingidas pela «ballonierende Degeneration». Isoladas ou desligadas das cellulas adjacentes, ellas mostram um contorno que tende a se arredondar. A necrose nellas se traduz, ainda, pela homogenisação e forte acidophilia do cytoplasma (Figs. 35, 36, 37 e 38).

O material fortemente acidophilo que forma a inclusão intranuclear da variola por vezes parece homogeneo (Figs. 35, 36 e 37). Outras vezes, porém, mostra minusculas zonas claras, simulando pequenos vacuolos (zonas chromophobas) (Fig. 38). A substancia acidophila, além disso, mostra intensidade de coloração variavel (Fig. 38).

Nas figs. 39 e 40, as cellulas epidermicas coradas pelo methodo de Unna, mostram aspectos typicos das inclusões intranucleares. A membrana nuclear fortemente espessada e corada pela hematoxylina (marginação de basichromatina) limita um nucleoplasma claro dentro do qual

apparecem corpusculos de pequenas dimensões, corados pela safranina, de fórmula espherica ou ovoide, com contornos muito nitidos. Por vezes unicos (Fig. 39), as mais das vezes são multiplos e de dimensões variaveis (Fig. 40). Encerram taes corpusculos intranucleares, uma ou varias pequenas areas chromophobas, geralmente uma maior e outras menores.

RESUMO

Resulta das descripções e documentos examinados que as inclusões cytoplasmaticas da *variola vera*, no material humano examinado, apresentam caracteres geraes que poderão ser assim resumidos: 1. intensa coloração pela safranina nos preparados pelo methodo de Unna modificado (Fig. 42), mostrando a inclusão matiz semelhante ao dos nucleolos da mesma cellula. 2. reacção predominantemente acidophila nos preparados pela hematoxylina-eosina, traduzida pela tonalidade rosea ou vermelha de coloração (Figs. 27, 29, 30, 31 e 31). 3. frequente multiplicidade de inclusões de fórmula e dimensões variadas na mesma cellula (Figs. 29 e 30), as maiores inclusões (Figs. 29 e 32), sendo menores que as grandes inclusões cytoplasmaticas solitarias do alastrim (Figs. 15, 16 e 18).

É a regra, ainda, observar-se desapparecimento de qualquer estrutura no cytoplasma das cellulas com inclusões em zona muito extensa, tornando-se difficil explicar tal aspecto unicamente pela retracção das inclusões no acto da fixação (Figs. 31 e 32).

Quanto ás inclusões intranucleares, ellas se apresentam sob tres aspectos, dois dos quaes bem reconhecidos por Luger e Lauda (1926).

Em um primeiro aspecto, o nucleo conserva, em parte, o reticulo de linina e encerra uma massa irregular (Fig. 35) ou, então, pequenas massas e granulos de dimensões variaveis (Figs. 33 e 34) constituídos por material acidophilo que ahi não existe em condições normaes. A membrana nuclear tem espessura visinha do normal.

Em um segundo aspecto, a inclusão occupa a totalidade do nucleoplasma (Fig. 3), apenas separado da membrana nuclear, em alguns casos (Fig. 38), por um estreito espaço claro (zona de retracção). Por vezes apresenta um aspecto homogeneo (Fig. 37); outras vezes a inclusão mostra pequenas areas chromophobas (Fig. 38). A hyperchromatose da membrana nuclear é accentuada, tanto neste como no aspecto seguinte.

No terceiro aspecto (*aspecto corpuscular*) (Figs. 39, 40, 48 e 50), a inclusão intranuclear é formada por um ou mais corpusculos acido-

philos, de contornos muito nitidos e fôrma regular, ora ovoide, ora espherica. No interior de cada corpusculo, apparecem zonas chromophobas multiplas, sendo ordinariamente uma maior que as outras (Figs. 39, 40, 48 e 50). Fóra desses corpusculos, o nucleoplasma contem, por vezes, material menos intensamente corado pelo eosina ou pela safranina (Figs. 40). O reticulo de linina, porém, acha-se completamente desaparecido, e não raro se observa, em torno dos corpusculos acidophilos, uma zona algum tanto extensa de nucleoplasma sem nenhuma estrutura apparente (Fig. 48, á direita).

Frisamos o modo peculiar de se comportar o nucleolo nas cellulas epidermicas com inclusões intranucleares da variola. Recalcado, a principio, de encontro á membrana nuclear (Fig. 36), elle em seguida é englobado pela propria membrana nuclear, parecendo incluso nessa estrutura (Figs. 37, 35, 38 e 48, á direita). A «marginção» do nucleolo, e o seu englobamento ou inclusão na membrana nuclear, bem como o terceiro aspecto que descrevemos, de corpusculos intranucleares esphericos ou ovoides com zonas chromophobas, são caracteres que differenciam, de modo nitido, as inclusões intranucleares da *variola vera* das demais inclusões das doenças de virus.

Nem sempre, porém, os aspectos encontrados podem ser incluídos, com facilidade, em um dos tres grupos atraz mencionados, o que indica a existencia de phases de transição entre elles.

Tal como assignalou Ewing, as cellulas epidermicas com inclusões intranucleares são geralmente as attingidas pela «ballonierende Degeneration». Em geral taes elementos revestem o fundo da vesicula, ás vezes formando uma unica camada, e representando tudo o que resta da epiderme. Comtudo, em nosso material, conseguimos encontrar inclusões intranucleares em cellulas espinhosas do corpo mucoso de Malpighi que ainda conservavam relações normaes com os elementos contiguos e não eram attingidas pela «ballonierende Degeneration». Em taes inclusões é que, de preferencia, observamos o aspecto de granulos mencionado no grupo I (Fig. 34). A hyperchromatose da membrana nuclear é, então, pouco notavel, contrastando com o grau pronunciado que apresenta nos dois outros aspectos. Existiam, ellas em «lambeaux» epitheliaes, presos em certos pontos, por estreito pediculo, á camada basal, no fundo da vesicula.

DISCUSSÃO

A comparação entre as inclusões do alastrim e as da *variola vera* em material humano revelou entre ellas differenças nitidas.

As inclusões cytoplasmáticas mostram diferença de tamanho, sendo as do alastrim (Figs. 14, 15, 16 e 18) sensivelmente mais volumosas que as da variola vera (Figs. 29 e 32) quando consideradas, nos dois casos, inclusões com dimensões máximas.

Mostram, ainda, diferenças notáveis em suas propriedades corantes, sendo que as inclusões do alastrim não se coram pela safranina em preparados pelo método de Unna (Fig. 41), ao passo que as da *variola vera* apresentam accentuada safraninophilia (Fig. 42), de longa data conhecida (Guarnieri, Hammerschmidt, Paul), e revelável, de modo vantajoso, por aquelle processo de coloração. Diferenças de coloração são apreciáveis mesmo em preparados pela hematoxylina-eosina. As inclusões cytoplasmáticas do alastrim coram-se, de modo nitido, pela hematoxylina (basophilia), não só quando de pequenas dimensões (Fig. 6) como ainda quando de dimensões máximas (Figs. 14, 15, 16 e 18). As da variola vera, ao contrario, são ordinariamente coradas pela eosina (acidophilia), por vezes mesmo de modo intenso (Figs. 27, 29, 30, 31 a, 32).

Se algumas inclusões cytoplasmáticas da variola, as «kappenartig dem Kerne aufsitzende Gebilde, ähnlich wie bei Verruga peruviana», correspondem, segundo Paschen (1934) a colonias do agente, o facto do seu aspecto e das suas reacções de coloração não serem identicos nas lesões cutâneas da *variola vera* e do alastrim, constitue, sem duvida, um argumento morphologico a ser aproveitado pelos que não aceitam a identificação das duas molestias.

O contraste, porém, resalta ainda mais pronunciado quando comparadas entre si, as inclusões intranucleares do alastrim e as da *variola vera* que julgamos typicas, para cada uma dellas, o «aspecto retiforme» das inclusões do alastrim (Fig. 44), e o «aspecto corpuscular» das da *variola vera* (Figs. 40 e 48). *Nunca encontramos, no nosso material de variola vera, o aspecto retiforme das inclusões do alastrim, e tambem, de outro lado, nunca conseguimos evidenciar, no nosso material de alastrim, o aspecto corpuscular das inclusões intranucleares da variola vera.*

Chegamos, assim, ao resultado de que, no material humano examinado, as inclusões cellulares do alastrim não são identicas ás da *variola vera*, quer se tome em consideração as inclusões cytoplasmáticas, quer as intranucleares. Por outro lado, o facto dessas inclusões cellulares serem perfeitamente identicas em uma serie de 12 lesões colhidas em oito doentes diversos de alastrim, é contrario á possibilidade de representarem as diferenças notadas, simples variações individuaes.

Os dois quadros seguintes facilitam a apreciação das diferenças notadas.

Quadro 2

Comparação entre as inclusões cytoplasmáticas do alastrim e as da variola vera no homem.

ALASTRIM

1. Em preparados pelo methodo de Unna modificado (hematoxylina-safra-nina), as inclusões mostram uma pallida coloração azul, semelhante á do cytoplasma. Fazem, então, grande contraste com os nucleolos da cellula tintos intensamente em vermelho.
2. Em preparados pela hematoxylina-eosina, as inclusões coram-se pela hematoxylina, em tonalidade que varia do azul-violaceo claro ao violeta escuro.
3. As inclusões são, geralmente, pouco numerosas em cada cellula epithelial, sendo frequentemente solitarias ou em um par disposto em polos oppostos do nucleo. As inclusões solitarias são de dimensões maiores que as mais volumosas encontradas no material de *variola vera* examinado.

VARIOLA VERA

1. Em preparados pelo methodo de Unna modificado (hematoxylina-safra-nina), as inclusões tingem-se em vermelho, com intensidade e em matiz semelhante á dos nucleolos das cellulas epidermicas respectivas (saffraninophilia).
2. Em preparados pela hematoxylina-eosina, as inclusões coram-se pela eosina, em tonalidade variando do roseo-claro ao vermelho. Exceptionalmente, em uma mesma cellula apparecem, ao lado de inclusões coradas em roseo, outras tintas em azul pela hematoxilina.
3. As inclusões constituem, ordinariamente, duas ou mais formações, de tamanho e dimensões variaveis, sendo assim multiplas dentro de uma mesma cellula epithelial. As de maiores dimensões não alcançam o tamanho das grandes inclusões solitarias do alastrim.

4. É frequente a localização juxta-nuclear da inclusão, envolvendo ella o nucleo á maneira de um gorro ou de um chumaço de algodão. Comtudo, as inclusões nunca se alojam em depressões da superficie do nucleo, o qual conserva aspecto normal de seus contornos.
5. No cytoplasma das cellulas com inclusões existe um halo claro, sem estructura aparente, localizado, na maioria dos casos, na visinhança immediata da inclusão.
6. Nas phases de vesicula e de pustula, as cellulas com inclusões não eram numerosas. Só existiam em alguns campos microscopicos, ao mesmo tempo em cellulas epidermicas contiguas, quer nas paredes lateraes da vesico-pustula, quer no fundo da lesão.

4. Tal como acontece aos corpusculos de Guarnieri da vaccina, as inclusões cytoplasmaticas da variola, em certos casos, se alojam em depressões da superficie do nucleo.
5. Frequentemente o cytoplasma das cellulas com inclusões apresenta extensa zona sem nenhuma estructura aparente, a qual excede de muito a area onde se acham as inclusões. Por vezes, uma linha sinuosa, corada em roseo nos preparados pela hematoxylina-eosina, estabelece a separação entre essa zona e aquella onde o cytoreticulo se acha conservado.
6. Em uma biopsia de vesicula, as cellulas com inclusões eram muito numerosas na zona media do corpo mucoso de Malpighi, na região immediatamente visinha aquella onde se formara a vesicula (paredes lateraes da vesicula).

Quadro 3

Comparação entre as inclusões intranucleares do alastrim e as da variola vera no homem.

ALASTRIM

1. Em cortes pela hematoxylina-eosina, as inclusões intranucleares aparecem sob a fôrma de um reticulo pallidamente corado em roseo (*aspecto retiforme*), occupando extensão variavel do nucleoplasma. Porções de nucleoplasma sem estrutura apparente separam-no de modo discontinuo, da membrana nuclear. Em nenhum caso as inclusões revestem a apparencia de pequenos corpusculos intranucleares, tal como na *variola vera* (*aspecto corpuscular*).

2. A membrana nuclear é espessada, a basichromatina nella constituindo depositos discontinuos menos consideraveis que os vistos na *variola vera*.

3. O nucleo com inclusão intranuclear é augmentado de volume.

VARIOLA VERA

1. Em cortes pela hematoxylina-eosina, as inclusões intranucleares coram-se intensamente em roseo-avermelhado. Às vezes, a inclusão é unica, occupando grande extensão do nucleoplasma, sendo representada por um material de estrutura ora homogenea, ora contendo pequenos espaços claros (zonas chromophobas). Outras vezes as inclusões revestem o aspecto de pequenos corpusculos intranucleares distinctos entre si (*aspecto corpuscular*). Solitarios, ou em numero de dois ou de tres, são elles cercados por uma zona de nucleoplasma sem estrutura apparente. É característica desses corpusculos a nitidez de seus contornos, e encerrarem zonas chromophobas, ás vezes uma unica, outras vezes uma maior e varias menores.

2. A membrana nuclear é consideravelmente espessada, em consequencia da marginação de quantidade notavel de basichromatina. O espessamente é frequentes vezes continuo, outras discontinuo.

3. O nucleo com inclusão intranuclear é diminuido de volume.

Já que nos occupamos, de modo especial, das inclusões intranucleares do alastrim e da *variola vera*, vem a proposito referirmos aqui a confusão que forçosamente traz ao assumpto, o emprego de designações

diversas para um mesmo aspecto e, de outro lado, a accepção differente que lhes conferem autores diversos.

É o caso das duas expressões: «inclusão intranuclear» e «degenerescencia oxychromatica».

A expressão «inclusão» quando applicada a modificações cellulares especificas das doenças por ultravirus vae tendo cada vez maior accepção, pelo facto de não subentender nenhuma concepção *á priori*. Tanto se applica, com propriedade, a um processo puramente degenerativo, no qual o material revelavel ao exame histologico seja constituido, unicamente, por estruturas pathologicas oriundas dos proprios componentes cellulares, como a estruturas formadas em sua totalidade, ou em parte, por micro-organismos ou formações a elles directamente ligadas.

Quanto á expressão «degenerescencia oxychromatica», ella foi, pela primeira vez, usada por Luger e Lauda (1926) em relação aos processos nucleares especificos observados no herpes simplex, herpes zoster, varicella, variola humana e variola das carpas. Era uma expressão que traduzia o ponto de vista dos autores, inteiramente opposto ao de Lipschütz que, nessa occasião, affirmava a natureza parasitaria das inclusões intranucleares do herpes simplex e zoster, considerando-as como Strongyloplasmas. Segundo Luger e Lauda, ao contrario, eram processos puramente degenerativos, embora com caracteres peculiares e bem diversos dos processos nucleares que commummente acompanham a necrose e a necrobiose das cellulas.

Offereciam semelhança, senão identidade, a um processo de chromatolyse referido por Heidenhain (1907) em cellulas de diversos tecidos de *Triton helveticus*. Segundo Heidenhain, os nucleos possuiriam, como constituinte normal, além da basichromatina, caracterisada pela sua affinidade de coloração para com os corantes basicos, uma oxychromatina com affinidade especial para os corantes acidos. Na chromatolyse de cellulas de diversos tecidos de *Triton helveticus* e bem assim na degenerescencia oxychromatica das doenças por ultravirus, ocorreria augmento notavel da oxychromatina como modificação caracteristica.

Vejamos como é descripta a degenerescencia oxychromatica por Luger e Lauda (1926), os auctores que crearam essa expressão.

As pags. 457 de seu trabalho representam todas as phases evolutivas da degenerescencia oxychromatica, desde uma «initiale Hyperchromatose. Deutliches Hervortreten der Chromatinbälkchen» (Figura *b* do Abbildung 6), seguida de «Ansammlung kleiner, einfacher oder multipler, homogener (*c*) oder granulierter (*d*) oxychromatischer Massen im Zentrum des Kernes», de «Das Oxychromatin hat wesentlich zugenommen, es ist zum Teil homogen, zum Teil granuliert. Das Basichro-

matin ist aus den zentralen Partien des Kernes zum grossen Teil geschwunden. Kernwandhyperchromatose» (figura *e*), de «Abgesehen von geringen Basichromatinmassen ist das ganze Kerninnere mit homogener (*f*) oder feingranulierter (*g*) oxychromatischer Innenmasse ausgefüllt», de «Kein Basichromatin im Kerninnern. Kernwandhyperchromatose. Im Kerninnern homogenes (*h* und *i*) oder granuliertes (*j* und *k*) Oxychromatin, welches in *i* und *k* von der Kernmembran retrahiert erscheint», de «Die entsprechenden Bilder wie bei *h*, *i*, *j*, *k*, bei Aufsplitterung der Kernmembran in einzelne Basichromatinkörner» (figuras *l*, *m*, *n*, *o*), de «Endstadium; das Basichromatin ist vollständig geschwunden. Der ganze Kern löst sich in eine oxyphile Masse, die in *p* homogen erscheint, in *r* noch eine Granulierung erkennen lässt, auf (figs. *p*, *r*)».

Vê-se, portanto, pela descrição, e, principalmente, pelas figuras de seu trabalho, que a expressão «degenerescencia oxychromatica», no sentido que lhe dão os seus creadores, comprehende *todos os aspectos evolutivos das inclusões intranucleares das doenças por ultravirus*, desde as iniciaes, nas quaes o reticulo de linina e os granulos de chromatina são conservados no nucleoplasma até a phase final, na qual a basichromatina desapparece completamente.

Se assim é, a conclusão a tirar é de que a expressão «degenerescencia oxychromatica» é um synonymo do termo mais commodo e, hoje, de uso mais generalizado, qual o de «inclusão intranuclear».

Não se justifica, assim, a nosso ver, no estudo das inclusões intranucleares das doenças de virus, uma distincção entre «inclusões intranucleares verdadeiras» e «degenerescencia oxychromatica», tal como fazem Nicolau, Kopciowska e Mathis (1934) a proposito das inclusões intranucleares da febre amarella.

CONCLUSÕES

1. Em 12 lesões epidérmicas colhidas em 8 doentes de alastrim, as células epidérmicas apresentam inclusões cytoplasmaticas e intranucleares que differem das inclusões correspondentes estudadas, por comparação, em uma biopsia de *variola vera*.

O material de alastrim provem de uma pequena epidemia occorrida em 1932-33 em tropa aquartelada na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. A biopsia de *variola vera* foi praticada durante a grande epidemia observada em 1926, na população civil da mesma cidade.

2. As inclusões cytoplasmáticas do alastrim não são coloridas pela safranina, quando empregado o methodo de Unna, ao passo que as da *variola vera* possuem uma nitida safraninophilia.
 3. As inclusões cytoplasmáticas do alastrim coram-se em tonalidade que varia do azul ao violeta nos preparados pela hematoxylina-eosina, as da *variola vera* sendo ordinariamente coloridas em roseo (acidophilia).
 4. Embora a localização juxta-nuclear seja frequentemente vista nas inclusões cytoplasmáticas do alastrim, o nucleo conserva contornos regulares, não se observando o alojamento das inclusões em depressões de sua superficie, tal como succede, por vezes, com as inclusões cytoplasmáticas da *variola vera* e da *vaccina*.
 5. As inclusões intranucleares da *variola vera* apresentam-se, não raro, sob a fórmula de corpusculos acidophilos esfericos ou ovoides, solitarios ou multiplos, providos de zonas chromophobas. O nucleoplasma, em sua porção restante, é desprovido de estructura, a membrana nuclear consideravelmente espessada em virtude da marginação da basichromatina. Esse «aspecto corpuscular» das inclusões intranucleares não foi encontrado no material de alastrim.
 6. As inclusões intranucleares do alastrim, quer no homem, quer no *Macacus rhesus* apresentam um aspecto typico («aspecto retiforme») representada na figura 22, estampa XXIX de Torres e Teixeira (1934a) e na fig. 44 do presente trabalho):
-