

Alterações neuropatológicas pela toxina brucelosa

por

Genésio Pacheco, Paulo Elejalde & Fridolin Schlögel

(Instituto Oswaldo Cruz)

Quase todos patologistas referem na enumeração dos sintomas da brucelose predominância dos de natureza nervosa, independente das formas essencialmente nervosas reunidas nas monografias de ROGER & POURSINES (10), e de VALENTI (11), e resultantes da localização das brucelas no sistema nervoso. Mais recentemente HARRIS vem salientando sintomas daquele tipo em várias publicações (3, 4).

Anteriormente NUNNO (6) procurou observar em coelhos infectados artificialmente, ou injetados com suspensões de brucelas mortas, alterações patológicas do sistema nervoso, adiante comentadas.

De algum tempo vimos tentando obter toxina de brucelas, para estudar seu efeito *in-vivo*. Nas atuais experiências utilizamos vários produtos de brucelas, na sua influência sobre o sistema nervoso:

1) *Filtrados de cultura* — Culturas em caldo Albimi de uma fonte virulenta de *Brucella abortus*, foram mantidas na estufa a 37°, durante 4 dias. Verificada a pureza foram filtradas em filtro Seitz Ek. Após a filtração os líquidos eram conservados em geladeira, sob toluol.

2) *Extratos de germes* — Suspensões em água fisiológica, de culturas em garrafas de Roux com agar, incubadas por 48 horas, lavadas por sedimentação forçada e ressuspensas, eram passadas para frascos com pérolas de vidro e agitadas durante algum tempo, para homogeneizar. Filtradas em algodão, eram distribuídas em frascos aos quais se ajuntava volume a volume:

- a) éter sulfúrico
- b) acetona
- c) mistura éter-clorofórmio
- d) água destilada.

Submetidos à agitação mecânica durante 24 horas, eram as misturas postas a congelar e descongelar 6 vezes sucessivas. A seguir a camada de substância extratora era passada para tubo estéril, posta a evaporar em vácuo e o produto ressuspenso depois em água destilada no volume original.

Entregue para publicação em 21-9-55.

Com êsse material procuramos verificar o efeito sôbre o sistema nervoso em camundongos.

Os líquidos obtidos (filtrados e extratos), foram injetados nas doses de 0,25 e 0,50 ml, por via peritonial ou venosa, não por via cerebral para evitar lesões traumáticas sôbre o sistema nervoso. Observavam-se os animais durante 10 dias, e dos mortos durante o tempo de observação, ou sacrificados ao término dêsse tempo, extraía-se o cérebro que era dividido em 3 porções, fixadas em formol a 10%, álcool a 95°, em líquido de Cajal, e corados pelos métodos: cresyl-violeta de Spielmeyer, para mielina; H. E. Gomori, para tecido conjuntivo; impregnações argênticas de Rio-Hortega (núcleo-plasmático-nuclear, a quente, técnica para micro e macroglia e dupla impregnação para fibras nervosas).

I) Experiências com filtrados:

a) Injetados por via venosa.

As lesões encontradas consistiram em células nervosas de aparência normal, em algumas áreas, apresentando em outras fenômenos regressivos em diversos graus, desde a presença de vacúolos no protoplasma, com núcleo de aspecto normal, até imagens de doença celular grave (dissolução). Elementos microgliais apresentando alterações degenerativas em início — hipertrofia e alongamento celulares. Astrocistos com aspecto normal, bem como vasos e meninges (Fig. 1).

b) Injetados por via peritonial — Lesões encontradas: meninges e vasos com aspecto normal. Células nervosas profundamente alteradas, em diferentes graus de regressão, com protoplasma vacuolado, sinais de doença celular aguda. Neuroglia, astrocistos e oligodendrócitos com aparência normal. Elementos gliáticos discretamente hipertrofiados.

c) Testemunhas, injetados com caldo Albimi puro. Não havia alterações na estrutura parenquimatosa do cérebro.

II) Experiências com extratos de germes.

1) Extratos com éter.

a) Injetados por via venosa:

Meninges mostrando em alguns pontos infiltração por células redondas. Vasos congestos. Infiltração focal perivascular por elementos mononucleares. Células de Purkinge apresentando sinais de tumefação (doença celular aguda). Astrocistos com aspecto habitual. Oligodendrocitos demonstrando tumefação hidrópica. Fibras nervosas afastadas, dando aparência de edema na substância branca (Fig. 2). Microglia inalterada.

b) Injetados por via peritoneal:

Meninges com aspecto normal. Vasos congestos. Células de Purkinge com tumefação aguda. Fibras nervosas separadas por edema. Oligodendroglia com tumefação hidrópica. Astrocistos mostrando nalguns pontos clasmátodendrose. Microglia dificilmente impregnável (Fig. 3).

2) Extratos com acetona

c) Injetados por via venosa:

Meninges de aparência normal. Vasos congestos. Células de Purkinje inalteradas. Fibras nervosas separadas por edema. Oligodendroglia com tumefação hidrópica. Astrocistos discretamente hipertrofiados. Microglia sem alterações.

d) Injetados por via peritoneal:

As lesões se superpoem às observadas em c.

e) Testemunhas — injetados com germes suspensos em água destilada, congelados e descongelados 6 vezes consecutivas, separados os germes por centrifugação, o sobrenadante injetado em camundongos por via venosa e peritoneal, nas mesmas doses acima.

1) por via venosa:

Meninges de aspecto normal. Congestão vascular. Edema da substância branca. Células piramidais de aparência normal. Oligodendroglia com tumefação hidrópica. Astrocistos e microglia de aparência normal.

2) por via intraperitoneal.

Lesões superponíveis a 1.

DISCUSSÃO

Apresentam as brucelas afinidade para certos órgãos ou tecidos, nos quais promovem lesões bem estudadas por ARIAS (1), BRAUDE & ANDERSON (2), MAZZA & JORG (5) e outros mais. Dependem tais alterações da colonização nos tecidos ou órgãos, o que vale dizer da presença de germe e de produtos de seu metabolismo. Sobre o tecido nervoso propriamente, somente NUNNO assinala a existência de lesões observadas em coelhos inoculados experimentalmente com brucelas, vivas ou mortas e examinados vários meses após. As alterações encontradas por êle consistiram em tumefação da parede vascular, aumento dos espaços linfáticos com linfocitose e trombose dos vasos. Neuroglia aparentemente normal e aumento de volume das células satélites da camada de células piramidais. Mais acentuadas se mostraram nas células gangliais e nas células piramidais pequenas e médias, as quais se apresentavam profundamente lesadas — núcleo tumefeito, nucleolo apagado, protoplasma espumoso e de limites indefinidos. Entre elas havia infiltração de pequenas células extensivas à camada das grandes células piramidais. Desaparecimento das granulações, deformações e tumefações nucleares de vários tipos e vacuolização do protoplasma, foram também observados. Redução do número das fibrilas e sua segmentação. Portanto, cromatolise, cariolise, destruição das neurofibrilas e do retículo, infiltração leucocitária.

As alterações observadas por NUNNO tanto o foram nos animais injetados com culturas vivas quanto com suspensões de germens mortos. Excluiu êle a influência traumática pelo longo tempo decorrido (mês) entre a introdução do germe e o exame cadavérico.

As verificações de NUNNO se fizeram, pois, com germens vivos ou mortos. Nós as observamos com filtrados de culturas ou extratos bacterianos separados dos germens. Com justeza podemos atribuir as alterações por nós vistas à ação de produtos tóxicos dos germens ou seja das brucelas. Como averiguou NUNNO, após ação prolongada dos produtos metabólicos do germe, as alterações encontradas foram de natureza grave e indicativas de lesões reversíveis ou irreversíveis do tecido nervoso, particularmente das células nobres e dos elementos condutores do influxo nervoso, num grau suficiente a explicar perturbações de natureza funcional tal qual observamos na intoxicação pelas toxinas gangrenosas (7, 8, 9).

As que nós observamos se aproximam e se identificam às de NUNNO em muitos pontos, indicativos de lesões extensas no sistema nervoso central.

As referidas por NUNNO se relacionam a alterações de ação demorada, enquanto nós as observamos em curto prazo, mas sempre presentes nos animais intoxicados. Isto significa que atuando rápida ou lentamente, a toxina brucelosa promove alterações somáticas e provavelmente funcionais no sistema nervoso que viriam explicar a multiplicidade de sintomas de origem nervosa observados na brucelose.

BIBLIOGRAFIA

1. ARIAS-STELA, J., 1951, *An. Fac. Med.*, Lima, Peru, 34 : 429-517.
2. BRAUDE, A. I. & ANDERSON, D., 1950, Em "Brucellosis. A Symposium", Bethesda, Sept., 1949 : 50-61.
3. HARRIS, J. H., 1950, *Brucellosis (Undulant fever)*. 2 ed., rev. Paul B. Hoeber. Inc. New York: 617 pp.
4. HARRIS, J. H., 1954, *Psychos. Medicine*, 16(5) : 414-425.
5. MAZZA, S. & JÖRG, M. E., 1948, *Publ. n.º 19, M. E. P. R. A.* : 63 pp.
6. NUNNO, R., 1914, *Deut. Arch. Klin. Med.*, 116 : 275-294.
7. PACHECO, G., COSTA, G. A.; MOUSSATCHÉ, I. & THIAGO DE MELLO M., 1947., *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 45(3) : 609-617.
8. PACHECO, G.; CARDOSO, RITA A. A. & COSTA, G. A., 1947, *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 45(4) : 881-889.
9. PACHECO, G.; COSTA, G. A. & THIAGO DE MELLO, M., 1950, *Anais do 5.º Congr. Intern. Microb.*; em impressão.
10. ROGER, H. & POURSIENES, Y., 1938, *Les meningo-neurobrucelloses*. Masson et Cie., Paris : 248 pp.
11. VALENTÍ, P. F., 1943, *Neurobrucellosis*. Estudio de las manifestaciones nerviosas de la Fiebre de Malta y Enfermidad de Bang. Manuel Marin, Ed., Barcelona : 116 pp.