

# ALTERAÇÕES NUCLEOLARES EM ALGUMAS NEUROVIROSES HUMANAS<sup>1</sup>

**ALEXANDRE ALENCAR \***

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Guanabara  
(Com 82 figuras)

**SUMÁRIO:** Neste trabalho estudamos alguns conceitos básicos sobre o nucléolo. Em seguida à apresentação do material de estudo, constante de casos de neuroviroses humanas, é feita uma descrição pormenorizada das alterações nucleares e nucleolares encontradas nas seguintes entidades mórbidas: polioencefalite subaguda com inclusões de DAWSON, leucoencefalite subaguda esclerosante de VAN BOGAERT, panencefalite nodular de PETTE-DORING, poliomielite anterior aguda e raiva.

As alterações nucleolares encontradas constam de hipertrofia inicial, a que se seguem profundas alterações em sua estrutura interna, sob a forma de vacuolizações e condensações granulares (os chamados nucleolinos) de número e tamanhos variados. Alguns destes corpúsculos granulares, fortemente basófilos e que apresentam as mesmas características citoquímicas dos nucléolos, são lançados no carioplasma sob a forma de volumosos corpúsculos basófilos esferoidais. São feitos comentários sobre a natureza do fenômeno, concluindo-se que, tratando-se de uma ocorrência somente encontrada nas viroses, em certas formas de intoxicações e em determinados distúrbios genéticos, o seu aparecimento em um quadro histopatológico encefalítico ou mielítico permite, com segurança atribuir sua etiologia a um vírus.

De todos os processos estudados, o que apresentou tais alterações nucleolares com maior exuberância foi a panencefalite nodular de PETTE-DORING.

O estudo do nucléolo tem despertado, nos últimos anos, enorme interesse, pois demonstrou-se ser este organito celular um importante elemento participante do metabolismo das nucleoproteínas celulares. Variações importantes em tamanho, forma, composição química e ultra-estrutura, em condições fisiológicas como patológicas têm sido relatadas, avolumando-se

nos últimos anos, as publicações dedicadas a esta estrutura celular. Particularmente importantes são as alterações nucleolares devidas a intoxicações com antibióticos (actinomicina D, mitomicina C), substâncias carcinógenas (aflatoxina B<sub>1</sub>, N-óxido de 4-nitroquinolina) e infecções virais, como as causadas pelo vírus do herpes simples, pelo chamado SV-40 e outros.

---

<sup>1</sup> Recebido para publicação a 25 de junho de 1973.

\* Chefe da Divisão de Neuropatologia do Instituto de Neurologia da U.F.R.J. Chefe do Laboratório de Fisiopatologia do Departamento de Patologia e Doenças Tropicais do Instituto Oswaldo Cruz. Professor Titular de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina de Vassouras, F.U.S.F.

Nas páginas que se seguem fazemos um pequeno estudo relativo à estrutura e funções nucleolares, lembrando alguns conceitos modernos, a fim de situarmos o problema das alterações nucleolares observadas nas viroses em geral e nas neuroviroses em particular. Não temos a pretensão de termos esgotado toda a literatura referente ao tema. Foram consultados apenas os trabalhos que nos pareceram mais significativos.

Estudando, já há vários anos algumas formas especiais de encefalites de possível etiologia viral, constatamos alterações na estrutura nucleolar que nos animaram a pesquisar neste sentido. Alguns resultados foram obtidos, que serão relatados nas páginas que se seguem.

Sabe-se que o nucléolo origina-se de um "locus" bem definido, uma constrição cromossômica secundária chamada, usualmente, "organizador nucleolar", que se encontra em determinado cromossomo. É este organizador nucleolar que, logo após o ciclo mitótico, começa a sintetizar RNA sob a forma de pequenos grânulos chamados "corpos pré-nucleolares". Estes, acabam fundindo-se no corpúsculo que conhecemos sob o nome de nucléolo.

Este "organizador nucleolar", às vezes, pode ser múltiplo em um mesmo cromossomo, ou existir mais de um cromossomo com "organizador nucleolar", assim explicando-se a ocorrência de células bi ou multinucleoladas. De enorme importância em biologia celular, a discussão quanto à origem do nucléolo e sua dinâmica, escapa à finalidade deste trabalho. Por este motivo, furtamo-nos a prosseguir neste sentido, enviando os

interessados aos tratados de citologia (1).

Células em crescimento ou em atividade secretora apresentavam nucléolos volumosos. Em células embrionárias e em células de tumores malignos, que são linhagens celulares em crescimento, bem como em células hepáticas, dos ácinos glandulares do pâncreas e em neurônios, que são células em grande atividade metabólica, o volume extraordinário dos nucléolos fazia supor ter este organito algo a ver com a intensa atividade metabólica destas células. Foram os trabalhos de **Caspersson** (2), condensados em seu magnífico livro "Cell growth and cell function", editado em 1950, que esclareceram, em suas linhas gerais, as funções nucleolares. Com o método da microespectrofotometria com luz ultravioleta por ele criado, verificou que o nucléolo apresentava uma faixa de absorção em torno de  $2.600 \text{ \AA}$ , da mesma forma que o restante do núcleo celular e a substância basófila citoplasmática. Esta faixa de absorção corresponde à de nucleoproteínas e deve-se às bases púricas e pirimídicas que entram na composição dos ácidos nucleicos. Verificou o Autor sueco que, em condições de exaustão celular, quando todas as nucleoproteínas citoplasmáticas desaparecem, não se observando mais a absorção em  $2.600 \text{ \AA}$ , desaparecia, também, a absorção nucleolar. Permanecia, porém, a absorção no restante do núcleo, formado por desoxiribonucleoproteínas (cromatina) e não por ribonucleoproteínas, como o nucléolo e a substância basófila citoplasmática.

Sugeriu **Caspersson** (2) que a principal função do nucléolo fosse a sín-

tese de ribonucleoproteínas, as quais, após atravessarem o carioplasma, concentravam-se em torno da membrana nuclear, daí difundindo-se e espalhando-se pelo restante do citoplasma. Estas idéias de **Caspersson** (24), se bem que modificadas na atualidade, permanecem válidas em suas linhas gerais. O nucléolo, realmente, tem, sob sua responsabilidade, a síntese da maior parte das ribonucleoproteínas celulares, notadamente das que se encontram no citoplasma. Não foi possível demonstrar-se, morfológicamente, quer por meio de microscopia óptica, quer por meio de microscopia eletrônica, como tentaram **Bannasch** e **Thoenes** (3), a não ser em casos muito especiais (4-8), a passagem de substâncias nucleares e nucleolares para o citoplasma. Estudos feitos com citidina H<sub>3</sub> todavia, evidenciaram a concentração no citoplasma, mostrando sua passagem para este último (9-15). A íntima relação entre nucléolo e citoplasma, na síntese protéica, explica, porque, células em grande atividade metabólica, apresentam nucléolos volumosos.

Quanto à composição química do nucléolo, pensava **Caspersson** (2) que fosse formada, além das ribonucleoproteínas, por proteínas do tipo histona. Estudos posteriores, feitos em nucléolos isolados por **Vincent** (16) e por **Baltus** (17), não confirmaram aquela hipótese. A coloração pelo "Fast Green" alcalino, típica para histonas, é negativa, segundo **Alfert** e **Geschwind** (18). Possivelmente, a maior parte das proteínas nucleolares, que formam o maior contingente da estrutura nucleolar (o RNA contribui com apenas 3% a 5% da totalidade da

massa nucleolar), são fosfoproteínas (16, 17, 19, 21).

O ponto de partida para os trabalhos modernos sobre a estrutura nucleolar nos é dado por **Estable** e **Sotelo** (22-25). Descreveram, estes dois Autores uruguaio, a existência, no interior do nucléolo da célula nervosa, de uma estrutura filamentosa, enrolada sobre si mesma e aparentemente contínua, à qual deram o nome de "nucleolonema". Este "nucleolonema" estaria imerso em uma matriz protéica, aparentemente sem estrutura, que foi chamada "pars amorpha". Os estudos de **Estable** e **Sotelo** (22-25) foram feitos com impregnação argêntica e despertaram, na época, grande curiosidade. De acordo com **Estable** (26), o "nucleolonema" tem individualidade própria, permanecendo como tal durante toda a vida da célula, mesmo por ocasião da mitose, quando a maior parte, senão todo o material nucleolar, se perde no carioplasma. **Estable** (26) admite que o nucleolonema deve multiplicar-se por bipartição durante o ciclo mitótico, conservando sua individualidade nas células filhas e, desta maneira, transmitindo-se de geração em geração. Algumas microfotografias de **Estable** (26) mostram o "nucleolonema" em processo de brotamento múltiplo (48; Plate 20, figs. n.<sup>os</sup> 13-18), o que é de extrema importância em relação ao nosso trabalho, como veremos no decorrer deste estudo.

As idéias do Autor uruguaio, quanto à individualidade genética do "nucleolonema", não foram bem aceitas pela maior parte dos citologistas, embora o "nucleolonema" em si tenha sido considerado como real, popularizando-se o termo entre os citologistas.

Os trabalhos de **Estable e Sotelo** (22-25), aparentemente, tiveram confirmação nos estudos de **Bernhard e cols.** (27, 28), feitos com microscopia eletrônica. Verificaram que os nucléolos de hepatócitos de rato, quando estudados em cortes ultrafinos e ao microscópio eletrônico, apresentavam-se como corpúsculos formados por filamentos enrolados sobre si mesmos, contínuos e que não se ramificavam e nem se anastomosavam, imersos em uma substância eletronicamente menos densa e de natureza finamente granulosa. As estruturas filamentosas foram identificadas por **Bernhard e cols.** (27, 28) como sendo o "nucleolonema" de **Estable e Sotelo** (22-25) e a substância menos densa como a "pars amorpha". Estudando outras espécies celulares, como sarcomas experimentais (sarcoma de **Ehrlich**), constataram que o "nucleolonema", muitas vezes, podia não se apresentar sob a forma de filamentos bem individualizados como no caso do fígado de rato, mas, sim, como massas compactas, grosseiras, imersas na "pars amorpha".

Um importante capítulo no estudo da estrutura nucleolar foi dado quando se verificou que determinados antibióticos (actinomicina D, mitomicina C), certas substâncias cancerígenas (aflatoxina B<sub>1</sub>, N-óxido de 4-nitroquinolina) e certos vírus (vírus do herpes simples, vírus SV 40) tinham a propriedade de interferir no metabolismo nucleolar, separando os seus constituintes e provocando aquilo que **Bernhard e cols.** (29) chamaram de "segregação nucleolar".

O ponto de partida para o estudo das alterações nucleolares induzidas por antibióticos do grupo da actino-

micina foi o trabalho de **Bierling** (30). Verificou este Autor que as várias actinomicinas (C, D, E, F<sub>3</sub>) tinham um efeito letal sobre culturas de tecidos tumorais ("Hela cells") e sobre tecido ovariano humano normal, inibindo a divisão mitótica na concentração de 0,01 gama/ml e que os efeitos tóxicos eram detectáveis nos nucléolos das células, que se apresentavam alterados dentro de poucas horas, vendo-se modificações nas dimensões nucleolares e muitas vezes sua desintegração.

Um interessante trabalho feito por **Perry** (9, 10, 11), em 1963, mostrou que a ação da actinomicina D (a que melhor se prestava a estudos experimentais) se fazia inibindo a síntese do RNA, agindo sobre os "templados" de DNA que controlam a síntese do RNA. A actinomicina D inibia a síntese do RNA nucleolar e citoplasmático, que, em sua maior parte, é de origem nucleolar, como já demonstrara **Caspersson** (2), há muitos anos. O RNA cromatínico, ligado aos cromossomos, não sofria interferência.

O passo seguinte foi dado por **Reynolds e cols.** (31) ao constatarem que uma substância cancerígena, o N-óxido de 4-nitroquinolina produzia alterações características nos nucléolos de certas linhagens celulares ("Chang liver cells"). Entre as alterações nucleolares verificaram diminuição de seu volume e a produção de uma modificação característica, que consistia em condensações eletronicamente densas e claras nos nucléolos. Estas condensações foram chamadas de "barretes nucleolares" ("nucleolar caps") e, de acordo com suas propriedades de maior ou menor densidade ao feixe eletrônico, receberam as designações

de “barrete nucleolar claro” (“light nucleolar cap” LNC) e “barrete nucleolar escuro” (“Dark nucleolar cap” DNC). Parecia que a substância havia induzido uma alteração dos constituintes nucleolares, separando o “nucleolonema” da “pars amorpha”.

No ano seguinte, novamente, Reynolds e cols. (32) voltaram ao assunto, mostrando que a actinomicina D causava alterações nucleolares semelhantes às induzidas pelo N-óxido de 4-nitroquinolina, com a produção de “barretes nucleolares” claros e escuros (LNC e DNC), os quais podiam, inclusive, ser vistos ao microscópio óptico de contraste de fase.

Stevens (33), trabalhando com glândulas salivares de *Chironomus thummi*, chegou a conclusões semelhantes, mostrando que a actinomicina D induzia, nos nucléolos das glândulas salivares da larva deste animal, uma separação dos constituintes normais da estrutura nucleolar, semelhante às obtidas por Reynolds e cols. (31, 32).

Bernhard e cols. (29) verificaram este mesmo fenômeno da separação dos constituintes nucleolares com a aflatoxina B<sub>1</sub> agindo sobre as células hepáticas de ratos parcialmente hepatectomizados. Observaram ao microscópio eletrônico que a estrutura nucleolar mostrava-se dissociada em grânulos, fibrilas e uma substância finamente granular, de pouca densidade eletrônica. Este trabalho é importante, pois nele foi proposto o termo “segregação nucleolar”, hoje universalmente aceito, para significar a separação dos constituintes normais da estrutura nucleolar.

O fenômeno da “segregação nucleolar” foi, também, observado com a azaserina por Hruban, Swift e Sle-

sers (34), com a mitomicina C por Lapis e Bernhard (35) e em dietas hipoprotéicas no fígado de ratos por Svoboda e Higginson (36).

Radiações ultravioletas, também, podem provocá-las, segundo Montgomery, Reynolds e McKendron (37). Digase de passagem que estas alterações nucleolares podem ser reversíveis, desde que as doses das substâncias empregadas não tenham sido excessivas ou agido por tempo demasiadamente longo.

Simultaneamente a estes estudos que se realizavam sobre a dissociação da estrutura nucleolar induzida, outros pesquisadores investigavam a estrutura nucleolar em condições ditas “normais”. Assim Marinozzi e Bernhard (38) e Marinozzi (39) verificaram que os nucléolos de *Pisum* mostravam uma ultra-estrutura consistindo em grânulos e em matriz protéica. Vistos ao microscópio eletrônico, os nucléolos apareciam constituídos por grânulos que, muitas vezes, apresentavam uma distribuição irregular, formando agrupados em determinadas regiões, ou podiam ocupar totalmente a massa nucleolar sem região preferencial. Habitualmente, porém, estes grânulos encontravam-se nas partes periféricas do “nucleolonema”. Envolvendo o nucléolo, encontravam-se capas de desoxiribonucleoproteínas, FUELGEN positivas, que formam parte da chamada “cromatina associada ao nucléolo” e que serão comentadas mais adiante. Além dos grânulos encontram-se, formando a massa nucleolar, fibras e matriz protéica.

Os grânulos nucleolares, que apresentam um diâmetro de 150 Å, em média, são muito parecidos com os ri-

bosomas citoplasmáticos, sendo, todavia, um pouco menores e de forma mais irregular. Após a digestão pela ribonuclease, desaparecem parcialmente, dissolvendo-se totalmente se, à digestão pela ribonuclease, segue-se digestão pela pepsina. Conclui-se, que são formados basicamente por RNA de mistura com proteínas.

As fibras têm um diâmetro médio de 50 a 80 Å, variando um pouco seu aspecto de acordo com a fixação usada. Mais nítidas na fixação pelo tetraóxido de ósmio, menos nítidas nas fixações pelos aldeídos. Estas fibras são vistas em toda a estrutura nucleolar, porém, tendem a se concentrar nas malhas do nucleolonema. São muito sensíveis à digestão pela ribonuclease, sendo, portanto, constituídas essencialmente por RNA. Algumas destas fibras parecem ser longas, pois, apesar da dificuldade da avaliação de seu comprimento, devido aos cortes ultrafinos, utilizados em microscopia eletrônica, já foram vistas fibras com 500 Å de comprimento. Em muitos casos vê-se transições entre estas fibras e os grânulos já referidos.

Após digestão prolongada pela ribonuclease, o nucléolo é, ainda, perfeitamente reconhecível, sendo visíveis as malhas do "nucleolonema". Todavia, após digestão pela pepsina desaparece totalmente. Conclui-se que, além das nucleoproteínas, o nucléolo apresenta grande contingente protéico. Trabalhos já antigos, realizados por Vincent<sup>(16)</sup>, mostraram que se tratava de fosfoproteínas. De acordo com Marinozzi<sup>(39)</sup> cerca de 20% destas proteínas da matriz nucleolar são proteínas básicas, não histonas, ainda não identificáveis.

Granboulan e Granboulan<sup>(40, 41)</sup> constataram que a capa de desoxirribonucleoproteínas que envolve os nucléolos ("nucleolus associated chromatin") FUELGEN positiva, e que corresponde à antiga "substância basófila" de LEVI, penetra no interior da massa nucleolar sob a forma de estrias ou filamentos. Perry<sup>(10, 11)</sup> demonstrou que estas lâminas de cromatina são continuações da "cromatina associada ao nucléolo" e locais de ativa síntese de DNA. Este fato é de grande importância, pois a síntese do RNA nucleolar faz-se ao nível do DNA associado ao nucléolo.

As infecções por vírus costumam provocar marcadas alterações nucleolares, que vão desde a simples hipertrofia até à dissolução completa desta estrutura. Tais alterações nucleolares ocorrem não somente em vírus RNA de desenvolvimento exclusivamente citoplasmático<sup>(42, 43)</sup>, sem participação do núcleo celular, como, também, em vírus DNA, igualmente citoplasmáticos puros como, por exemplo, os vírus do grupo pox<sup>(44, 45)</sup>. De modo geral, pode-se dizer que as modificações estruturais dos nucléolos nas infecções causadas pelos vírus DNA são mais graves e pronunciadas que as causadas pelos vírus RNA<sup>(46)</sup>.

Um dos vírus mais exaustivamente estudados sob este ponto de vista, quer em microscopia óptica quer em microscopia eletrônica, é o vírus SV 40 ("simian vírus 40"), assim chamado por ter sido o quadragésimo vírus isolado de símios<sup>(47)</sup>. As modificações na estrutura nucleolar vão desde a hipertrofia, que ocorre nas 10 primeiras horas após a infecção, até a vacuolização e condensação de partículas grosseiras, culminando com a comp...

ta dissolução do nucléolo. Em relação a este vírus SV 40, observou-se que a síntese do RNA é completamente inibida a partir da 10.<sup>a</sup> hora, mas muito alta depois da 18.<sup>a</sup>. Parece que o nucléolo é um importante elo na cadeia de síntese deste vírus, sendo possível que também intervenha na síntese de outros vírus DNA e RNA. Esta é a única explicação possível para as modificações nucleolares observadas em vírus DNA e RNA, exclusivamente citoplasmáticos.

Um outro vírus, bem estudado em relação às alterações nucleolares é o do herpes simples. Estudos realizados por **Love e Wildy** (48) mostraram que aparecem marcadas alterações nos constituintes nucleolares, reveláveis sob a forma de corpúsculos esferoidais de dimensões variáveis. A linhagem celular infectada com vírus herpético estudada por **Love e Wildy** (70) foi a das "Hela cells". As variações nas dimensões nas granulações intranucleolares reveláveis pelo método do TBM (49) são muito evidentes. **Love** chama estes grânulos de "nucleolinos", em lugar de nucleolonema. Os termos, porém, são equivalentes. As modificações nas dimensões dos nucleolinos foi chamada "anisonucleolinose", para diferenciar da "isonucleolinose", fenômeno semelhante, no qual os nucleolinos mostram-se hipertrofiados, mas de tamanho uniforme. Na infecção pelo vírus herpético, verificaram **Love e Wildy** (48), juntamente com a já mencionada anisonucleolinose, a chamada "extrusão dos nucleolinos", que é a passagem de nucleolinos hipertrofiados para o carioplasma. Os estudos de **Love e Wildy** (48) serão novamente referidos, dada a sua importância em relação a este trabalho, por ocasião dos comentários que faremos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material de estudo que serviu de base ao nosso trabalho é constituído por casos de necrópsias que realizamos no Instituto de Neurologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro e que consta dos Arquivos da Divisão de Neuropatologia desse Instituto e por casos, também de necrópsias, cedidos por Colegas.

O material é constituído por quatro (4) casos de polioencefalite subaguda de **DAWSON** com inclusões, três (3) casos de leucoencefalite subaguda esclerosante de **VAN BOGAERT**, quatro (4) casos de panencefalite nodular de **PETTE-DORING**, dois (2) casos de poliomielite anterior aguda e doze (12) casos de encefalomielite rábica que nos foram cedidos por nosso ilustre Colega Dr. **JOSÉ PAULO CARVALHAL**. Os casos de polioencefalite subaguda de **DAWSON** com inclusão, de leucoencefalite subaguda esclerosante de **VAN BOGAERT** e de panencefalite nodular de **PETTE-DORING** já constaram de algumas publicações e comunicações a Congressos Médicos de que participamos (50-54). Destes, alguns ainda não foram publicados.

Além deste material, utilizamos, também, dois (2) casos de esclerose lateral amiotrófica, dois (2) casos de doença de Parkinson e quatro (4) casos de arteriosclerose cerebral. Estes processos degenerativos foram, também, estudados para que as alterações nucleolares vistas nas viroses pudessem ser comparadas com as possíveis modificações estruturais vistas em processos degenerativos.

A distribuição de nosso material de estudo pode ser melhor compreendida vendo-se os Quadros n.ºs 1 e 2.

O material foi fixado em solução de formol neutro a 10%, imergindo-se as peças no líquido fixador por um período de tempo nunca menor de 4 dias. A inclusão foi feita em parafina, utilizando-se cortes com a espessura variando entre 10 e 15 micra, de acordo com a finalidade a que nos propúnhamos. Usamos, também, cortes feitos no micrótomo de congelação, para as técnicas de impregnação argêntica, neste caso, em cortes com 25 micra.

## QUADRO I

Tipo	Número	Origem Registro (INUFRJ)
DAWSON		
1	A — 402	R — 7285
2	A — 491	R — 13406
3	A — 542	R — 17480
4	A — 544	R — 17959
VAN BOGAERT		
1	A — 366	R — 5511
2	A — 409	R — 8204
3	A — 459	R — 9832
PETTE-DORING		
1	A — 394	R — 6606
2	A — 460	R — 11706
3	A — 480	R — 12505
4	A — 534	R — 16268
Poliomielite anterior aguda		Arquivos da Divisão de Neuropatologia do INUFRJ
1	A — 363	
2	A — 367	
Encefalomielite rábica		
1	A — 2/61	
2	A — G/62	
3	A — F/62	
4	A — E/62	
5	A — H/63	
6	A — 64/64	Material cedido pelo Dr. J. P. Carvalhal
7	A — 70/65	
8	A — 79/65	
9	A — 80/65	
10	A — 81/65	
11	A — 85/65	
12	A — 86/65	

## ENCEFALOMIELITES.



## QUADRO II

Tipo	Número	Origem Registro (INUFRJ)
Esclerose lateral amiotrófica		
1	A — 471	Arquivos da Divisão de Neuropatologia
2	A — 536	R — 16606
Doença de Parkinson		
1	A — 411	R — 1989
2	A — 428	R — 8291
Arteriosclerose cerebral		
1	A — 385	R — 7128
2	A — 417	R — 6960
3	A — 433	R — 9646
4	A — 434	R — 9730

## PROCESSOS DEGENERATIVOS.

Como processos de coloração além da clássica hematoxilinaeosina, utilizada para a triagem do material, empregamos também, rotineiramente, o método tricrômico de Gomori, o método de cresil-violeta para evidênciação da substância cromófila de Nissl, o método de Heidenhain-Woelke para a demonstração das bainhas de mielina, os métodos da ribonuclease e do verde de metilpironina, segundo Brachet (55) para a demonstração do RNA, a técnica da reação nuclear de Fuelgen segundo Gomori (56) para a demonstração do DNA, a técnica do "Fast Green" alcalino para a demonstração de proteínas do tipo histona, o método do "Chromotrope 2 R" (57) modificado e adaptado à demonstração morfológica dos nucléolos e o método do carbonato de prata de Rio Hortega segundo Polak (58) em suas diversas variantes para a impregnação das estruturas do tecido nervoso em cortes realizados por congelação, com a espessura mé-

dia de 25 micra. Foi a impregnação argêntica, juntamente com a coloração pelo método de Brachet (55), que nos permitiu, inicialmente, a constatação das alterações nucleolares observadas, que constituem motivo deste trabalho.

Usamos, preferencialmente, cortes de medula espinhal ao nível dos intumescimentos cervical e lombar, bem como bulbo raquiano. As alterações foram encontradas, principalmente, nos grandes motoneurônios bulbares e medulares, embora também possam ser observadas nos neurônios corticais.

## RESULTADOS

a) Alterações nucleolares em algumas neuroviroses humanas.

1) Polioencefalite subaguda de Dawson.

Esta entidade mórbida descrita por **Dawson** (<sup>59, 60</sup>) no início da década de 30 (1933, 1934) vem despertando grande interesse entre os neuropatologistas, desde o estudo inicial daquele Autor. Motivou esta curiosidade o aspecto histopatológico caracteristicamente inflamatório com a presença de inclusões, tanto intranucleares como intracitoplasmáticas. As inclusões mostravam uma notável semelhança com as causadas pelo vírus do herpes simples. Muitos Autores, baseando-se nesta semelhança, admitiram ser este vírus o responsável pelo quadro infeccioso. Todavia, era desconcertante a evolução clínica, totalmente diferente da apresentada pela encefalite provavelmente herpética. Com efeito, esta última é de evolução aguda, com o parênquima nervoso apresentando grandes áreas necróticas, levando o paciente, em poucos dias, a êxito letal. A polioencefalite de **Dawson** (<sup>59, 60</sup>), ao contrário, tinha evoluir subagudo, ou mesmo crônico, morrendo os pacientes em caquexia após uma evolução de meses. Acresce a isto o fato de ninguém ter conseguido isolar vírus herpético, o que foi tentado pelo próprio **Dawson** (<sup>59, 60</sup>), com resultados negativos. Somente em nossos dias, direi mesmo recentemente, foi possível reconhecer-se a etiologia do processo. Trabalhos feitos por **Bouteille** e cols. (<sup>61</sup>), **Dayan** e cols. (<sup>62</sup>), **Nagel** (<sup>63</sup>) e por **Perier** e **Vanderhaeghen** (<sup>64</sup>) com microscopia eletrônica, mostraram que as inclusões apresentavam-se como aglomerados de partículas virais cujo aspecto individual sugeria tratar-se de um mixovírus, ou, mais precisamente, um pseudomixovírus. Posteriormente, estudos com imunofluo-

rescência (<sup>65, 66</sup>) permitiram identificar este vírus com o do sarampo.

A polioencefalite subaguda de **Dawson** (<sup>59, 60</sup>) apresenta quadros transicionais com a leucoencefalite subaguda esclerosante de **Van Bogaert** (<sup>67, 68, 69</sup>), havendo, no momento, forte tendência a pensar-se serem os dois processos devidos a um mesmo agente etiológico, no caso o vírus do sarampo ou um pseudomixovírus muito próximo a ele. Por este motivo, as alterações nucleares e nucleolares observadas nas duas entidades serão descritas em conjunto.

Macroscopicamente, a polioencefalite subaguda de **Dawson** (<sup>59, 60</sup>) nada mostra de característico, a não ser congestão vascular e edema, como todo processo encefalítico. Observa-se intensa congestão dos vasos sanguíneos corticais, destacando-se nitidamente a vascularização das leptomeninges. Em pleno parênquima nervoso encontram-se numerosas hemorragias punctiformes, ditas "em picada de pulga". O edema do tecido é bem acentuado, tomando o encéfalo um aspecto suculento, ou sumarento, devido ao acúmulo de água.

Microscopicamente, observa-se, distribuída por toda a substância nervosa cinzenta, numerosos nódulos gliais, formados por microgliócitos mobilizados, sem localização preferencial. No interior dos neurônios, que nem sempre são os mesmos, em torno dos quais, a micróglia aparece concentrada, vêem-se as características inclusões intranucleares ou intracitoplasmáticas, as primeiras mais frequentemente. Estas inclusões, que podem ser simples ou múltiplas, são acidófilas, cercadas por um halo claro e deslocam o nucléolo para a periferia do

núcleo, caracterizando-se como inclusões do tipo A de **Cowdry**. Os aspectos macroscópico e microscópico desta encefalite podem ser vistos na ilustração correspondente (Fig. n.º 1).

2) Leucoencefalite subaguda esclerosante de **Van Bogaert**.

Estudada por **Van Bogaert** (67, 68, 69), trata-se de um quadro mórbido do tipo encefalítico, de evolução subaguda, isolada do grupo das escleroses difusas. Doença de crianças ou de adolescentes, costuma mostrar alterações eletroencefalográficas características (69), conhecidas como “complexo de **Redemecker**”. Do ponto de vista anatomopatológico, as modificações estruturais são encontradas, principalmente, na substância branca cerebral, notadamente nos lobos frontais e occipitais, porém, muitas vezes distribuídas de modo difuso. Observam-se áreas de rarefação da substância branca, irregulares, de pequenas dimensões, com aspecto fibroso devido à intensa proliferação glial, donde o nome “esclerosante”, dado por **Van Bogaert** (67, 68, 69). Em torno aos vasos sanguíneos, nota-se a presença de infiltrados de natureza inflamatória, salientando-se os corpos grânulo-gordurosos. As alterações são encontradas, notadamente, na substância branca, que, nas áreas de gliose, mostra-se desmielinizada, porém, também, vê-se, em grau variável, comprometimento da substância cinzenta. Os aspectos gerais macro e microscópicos da leucoencefalite subaguda esclerosante de **Van Bogaert** (67, 68, 69) podem ser apreciados na ilustração correspondente (Fig. n.º 2). A importância desta enfermidade deve-se ao fato de que, em muitos casos, foi possível a demonstração de inclusões intranucleares, se-

melhantes às encontradas na polioencefalite subaguda de **Dawson** (59, 60), admitindo-se atualmente que as duas entidades são apenas variantes de um mesmo processo mórbido, causado por um pseudomixovírus muito próximo ao vírus do sarampo (65, 66).

3) Alterações dos núcleos e nucléolos na polioencefalite subaguda de **Dawson** (59, 60) e na leucoencefalite subaguda esclerosante de **Van Bogaert** (67, 68, 69).

O núcleo celular aparece como formação vesicular, com nucléolo único, no centro do carioplasma, cercado de grânulos de cromatina, geralmente muito finos, havendo um ou outro mais volumoso. O primeiro indício de que o metabolismo celular foi afetado, é constituído pelo aumento numérico e de volume dos grânulos cromatínicos, podendo, ou não, ocorrer pequena cariólise. Lentamente, começam a rarear os finos grânulos cromatínicos, persistindo apenas os mais volumosos, ao mesmo tempo em que, no centro do núcleo, condensa-se um corpúsculo arredondado, acidófilo, de dimensões iguais ou menores que as do nucléolo. Apresenta-se cercado por um halo claro, tornando-se cada vez maior, deslocando o nucléolo e acolando-o à membrana nuclear. A esta altura, a membrana do núcleo pode tornar-se irregular, pela diminuição do conteúdo cromatínico, persistindo, apenas, os grânulos mais volumosos de cromatina.

As inclusões são acidófilas, **Fuelgen** e **Brachet** negativas, mostrando não conterem ácidos nucléicos. Nisto se diferenciam, de inclusões semelhantes, vistas em cultura de tecido (“Hela cells”) e produzidas pelo vírus do herpes simples que, de acordo com

as observações de **Love e Wildy** (48) mostram partículas **Fuelgen** positivas em sua estrutura. Os grânulos grosseiros e volumosos de cromatina podem ser aglomerados de ácido desoxiribonucléico (DNA), do próprio núcleo celular, ou aglutinados de partículas virais ainda não incorporadas à inclusão, admitindo-se ser esta última um verdadeiro conglomerado de partículas elementares como foi visto com microscopia eletrônica (63, 64).

O nucléolo pode ser de tamanho normal ou mostrar-se hipertrofiado. A coloração pelo TBM (49, 70, 74), segundo **Love** (71), mostra que ocorre uma anisonucleolinose moderada, não havendo extrusão de nucleolinos, a não ser excepcionalmente. As partículas perinucleolares são grânulos grosseiros de cromatina, **Fuelgen** positivos, mostrando o seu conteúdo em DNA.

A evolução das alterações nucleares acima referidas pode ser melhor compreendida observando-se as ilustrações correspondentes (Figs. n.ºs 3 e 4).

#### 4) Panencefalite subaguda nodular de **Pette-Doring**.

Encefalite do tipo subagudo, descrita por **Pette e Doring** (74), em 1939, foi, desde o início, atribuída a um vírus que os dois Autores citados não puderam identificar. Atribuíram, porém, a um agente etiológico diferente dos responsáveis pelas encefalites do tipo **Von Economo** (75) e japônica, pois, não somente a evolução clínica era diferente como, também, o quadro histopatológico.

Macroscopicamente, nota-se edema e congestão dos vasos sanguíneos, não apenas das meninges moles co-

mo, também, do parênquima nervoso. Ao contrário da leucoencefalite subaguda esclerosante de **Van Bogaert** (67, 68, 69), a substância branca apresenta aspecto normal, salientando-se apenas a congestão dos vasos. O edema e a congestão são, todavia, mais acentuados na substância cinzenta.

Microscopicamente, vêem-se, disseminados, por toda a substância cinzenta, numerosos nódulos gliais, alguns formando típicas figuras de neuronofagia. Não se encontram inclusões intracelulares. A mielina conservada. Diferindo da encefalite letárgica de **Von Economo** (75), a substância negra peduncular mostra-se conservada. **Pette-Doring** (74) assinalaram a grande semelhança dos nódulos gliais com os encontrados na encefalite japônica, mas o evoluer clínico da entidade era diferente; agudo na japônica, subagudo nos casos que estudaram. O aspecto anátomo-patológico macro e microscópico desta forma de encefalite pode ser visto na ilustração correspondente (Fig. n.º 5).

Muitos Autores (65, 69) pensam que a encefalite subaguda nodular de **Pette-Doring** (74) deva ser englobada no mesmo grupo da leucoencefalite subaguda esclerosante de **Van Bogaert** (67, 68, 69) e da polioencefalite subaguda com inclusões de **Dawson** (59, 60) sob o nome de "panencefalite subaguda esclerosante", admitindo para as três uma etiologia comum.

#### 5) Alterações dos núcleos e nucléolos na panencefalite nodular de **Pette-Doring** (74).

Inicialmente, o núcleo celular torna-se mais escuro, devido ao aumento do número de grânulos de cromatina, podendo haver ou não mo-

derada cariólise. Em seguida, aparecem grânulos volumosos de cromatina, FUELGEN positivos, ao mesmo tempo que rareiam os grânulos cromatínicos menores, tomando o núcleo uma aparência vacuolizada. A membrana nuclear torna-se ondulada e irregular pela diminuição do conteúdo cromatínico do núcleo (ver Fig. n.º 6). O nucléolo começa a hipertrofiar-se, aparecendo, em seguida, volumosos corpúsculos, alguns bem grandes e fortemente basófilos, próximos ao nucléolo, diferentes da cromatina. Em coloração rotineira pela hematoxilina-eosina o nucléolo mostra-se hipertrofiado e um pouco vacuolizado, corando-se mais claro que o habitual. A coloração por métodos específicos evidencia numerosas modificações nesta estrutura, como sejam: quando o nucléolo começa a se hipertrofiar, pode-se ver, em seu interior, vários corpúsculos arredondados (“nucleolonema” de **Estable e Sotello**) (22-25), sendo um mais volumoso, podendo ser ou não central, estando os outros na periferia (ver Fig. n.º 7). Este aspecto, visto por impregnação argêntica, é confirmado pela coloração pelo TBM (ver Fig. n.º 8) e pela técnica do “Chromotrope 2 R”, mostrando tratar-se de uma violenta anisonucleolinose. À proporção que os nucléolos aumentam de tamanho, estes corpúsculos, chamados “nucleolinos” por **Love e cols** (46-49, 73, 76), que reviveram o termo (“nucleolinos” — nucleolonema) podem destacar-se do nucléolo, sendo lançados no carioplasma. Dá-se a este fenômeno o nome de “extrusão de nucleolinos”, vindo a constituir aqueles volumosos corpúsculos basófilos em posição peri ou paranucleolar, que parecem diferentes

da cromatina nuclear. O nucléolo desintegra-se como se fosse uma grana-da, vindo os nucleolinos a constituírem os grandes corpúsculos basófilos. Que estes corpúsculos procedem, realmente, do nucléolo, pode-se demonstrar evidenciando-se nucleolinos em seu interior pela técnica do TBM (49, 70, 72) e pela demonstração do RNA, segundo **Brachet** (55) (ver Fig. n.º 9), que desaparece após tratamento pela ribonuclease. Pela técnica do “Chromotrope 2 R” vê-se que sua coloração, em vermelho vivo, é idêntica à de nucléolo. Além disso, pela técnica do “Fast Green” alcalino para a demonstração de histonas (**Pearse**), nota-se que se apresentam quase incolores pela pobreza neste tipo de proteínas da mesma forma que o nucléolo. A sua negatividade contrasta fortemente com a positividade dos grânulos cromatínicos próximos, os quais, como se sabe, são muito ricos em histonas.

#### 6) Poliomielite anterior aguda.

Os principais aspectos histopatológicos da poliomielite anterior aguda e a correlação com as manifestações clínicas foram magnificamente estudados por **Bodian** (77-82) que, em uma série brilhante de estudos, praticamente esgotou o assunto. Trabalhando com material humano e experimental, estabeleceu **Bodian** (77-82) a seqüência das alterações nucleares e nucleolares que se observam na poliomielite anterior aguda, paralelamente às modificações citoplasmáticas. Ao iniciar-se a dissolução da substância cromófila de **Nissl**, o núcleo celular pode tornar-se excêntrico, havendo, progressivamente, condensação dos grânulos cromatínicos, que se tornam grosseiros, culminando com a picnose

nuclear. Antes que isto aconteça em muitos neurônios, pode-se observar uma inclusão acidófila, geralmente de pequenas dimensões, coincidindo com pequena hipertrofia nucleolar. **Bodian** admite que a inclusão nada tem a ver com o vírus responsável, tratando-se de um produto da degeneração nuclear.

Os dois casos de poliomielite anterior aguda por nós estudados encontram-se nos Arquivos da Divisão de Neuropatologia do INUFRJ e têm os n.ºs A-363 e A-367. As lesões são absolutamente típicas (ver Fig. n.º 10), tendo sido este o diagnóstico clínico dos pacientes. Em ambos os casos, nos segmentos medulares lombares, as lesões eram muito extensas e graves, do tipo amolecimento superposto ao quadro inflamatório. É uma ocorrência já descrita há muitos anos por **Harbitz** e **Scheel** (83) e costuma acontecer em casos extremamente graves desta virose, devendo-se a uma "isquemia local resultante da aglutinação do sangue circulante", segundo **Knisely** e cols. (84), explicação esta aceita por **Bodian** (82). Nos segmentos mais altos e, notadamente, nas porções bulbares, onde os fenômenos de natureza circulatória eram menos intensos, via-se que os neurônios com cromatólise inicial mostravam as células com o conteúdo cromatínico fino, sem condensações grosseiras. Em todas as células, os nucléolos mostravam-se hipertrofiados em graus variados de intensidade. Em alguns raros núcleos, porém, ao lado de um nucléolo fortemente hipertrofiado, observava-se um corpúsculo arredondado, basófilo, corando-se intensamente em vermelho pela técnica do "Chromotrope 2 R". A mesma coloração vermelha intensa

via-se pela coloração com o tricrômico de **Gomori**. Este corpúsculo, que se assemelhava a um nucléolo acessório, foi visto em duas oportunidades como que "brotando" da superfície nucleolar (ver Fig. n.º 10, 3, c e d). Tratava-se de uma verdadeira "extrusão" de material nucleolar para o carioplasma, com aspecto muito semelhante ao que observamos nos casos de panencefalite subaguda nodular de **Pette-Doring** (74).

#### 7) Encefalomyelite rábica.

Não são muito comuns, na atualidade, os relatos de casos de encefalite rábica humana com estudo necroscópico, pois esta virose, praticamente, desapareceu da Europa Ocidental e Estados Unidos, graças à vacinação e ao combate dos reservatórios naturais do vírus, tais como cães, raposas e morcegos. Em nosso país, porém, as medidas de combate a esta virose ainda são deficientes, ocorrendo sempre, anualmente, certo número de casos fatais. Os doze (12) casos de que nos utilizamos neste estudo pertencem ao Dr. JOSÉ PAULO CARVALHAL, que os estudou e os cedeu para complementar nosso trabalho. Graças à alta compreensão e espírito científico deste ilustre Colega, foi-nos possível estender, à encefalite rábica, fenômenos importantes de alterações nucleolares e nucleares que já havíamos observado em outras viroses.

O quadro histopatológico da encefalomyelite rábica não difere, em suas linhas gerais, das outras encefalomyelites virais agudas, vendo-se os mesmos infiltrados inflamatórios perivascularares, os nódulos gliais, as figuras de neuronofagia, bem como o forte edema e congestão dos vasos sanguíneos (ver Fig. n.º 11). Histopatologi-

camente, o diagnóstico só pode ser feito com a demonstração dos “corpos de NEGRI”, que são patognomônicos. Na ausência destes, que na raiva humana somente aparecem em 19 a 20% dos casos (85), o diagnóstico é feito pela história clínica típica e pela demonstração do vírus mediante inoculação intracerebral do material suspeito em camundongo. Nos 12 (doze) casos que estudamos os “corpos de NEGRI” somente foram encontrados em um caso, porém, todos tinham história de mordedura por cão raivoso.

O quadro histopatológico destes casos era de uma mielite aguda, com enorme infiltração inflamatória. Concentramos nossa atenção no estudo dos núcleos neuronais. Constatamos em alguns casos, ao lado de uma hipertrofia nucleolar constante, a presença de um ou dois corpúsculos volumosos, próximos ou ao lado do nucléolo, corando-se em vermelho pela técnica do “Chromotrope 2 R”, em vermelho pelo tricrômico de **Gomori**, em avermelhado pela técnica de **Brachet** (55) para demonstrar da mesma forma que o nucléolo, e **FEULGEN** negativos, mostrando não conterem DNA. A coloração para histonas pelo “Fast Green” alcalino, todavia, foi francamente positiva.

Estes corpúsculos, muitas vezes, apresentavam-se aos pares e, por compressão recíproca, passavam a ter uma superfície plana e outra convexa, assemelhando-se, grosseiramente, a um diplococo. Estes corpúsculos apareciam em neurônios cercados por intensa reação inflamatória.

Na pesquisa bibliográfica que realizamos, o único trabalho moderno que encontramos a respeito da anatomo-

patológica da encefalomielite rábica foi o de **Bernsten e Stevenson** (86). Tratava-se de uma criança do sexo masculino, com 4 anos de idade, com extensas lesões no rosto e que faleceu com encefalite rábica 38 dias após mordedura por cão raivoso. Neste trabalho, muito minucioso, há uma referência à tumefação e irregularidade dos nucléolos neuronais, mas não a corpúsculos intranucleares.

Os “corpos de Negri” apresentam uma distribuição citoplasmática e têm uma estrutura interna facilmente demonstrável por métodos citoquímicos. São encontrados no citoplasma neuronal ou nos axônios e dentritos, neste último caso sua forma tornando-se ovalada, seu grande eixo tornando-se paralelo ao eixo da expansão celular. Inicialmente, aparecem sob a forma de corpúsculos diminutos, basófilos, **Fuelgen** positivos nas fases iniciais da infecção (87), mostrando grande atividade fosfatástica e colinesterásica. À proporção que o “corpo de Negri” aumenta de tamanho, vai se tornando acidófilo, podendo haver um ou mais corpúsculos basófilos em seu interior (“Innenkoerper”).

Estes grânulos basófilos (“Innenkoerper”) são **Fuelgen** positivos. À proporção que a inclusão envelhece, desaparecem, progressivamente, os “Innenkoerper” basófilos, terminando por se tornar intensamente acidófila, aparentemente sem estrutura interna. A estas inclusões acidófilas e sem estrutura interna dá-se o nome de “corpos da raiva” (Lyssa bodies).

Os corpos esferoidais que encontramos dentro dos núcleos neuronais seriam “corpos de Negri” intranucleares? Acreditamos que não. Com efeito, a sua extrema basofilia, tão inten-

sa quanto a dos próprios nucléolos, fala contra esta hipótese. Os "Innenkoerper" são grânulos diminutos, imersos em uma massa acidófila. Além disso, os grânulos mostram-se **Fuelgen** negativos e com forte basofilia, ao contrário dos "corpos da rai-va" (Lyssa bodies), que são acidófilos. Embora não tenhamos visto o "brotamento" destes corpúsculos a partir da superfície nucleolar, tal como na poliomielite anterior aguda, acreditamos que derivem do nucléolo pelas características tintoriais semelhantes às deste último, que se apresentava constantemente hipertrofiado.

b) Alterações nucleolares em alguns processos degenerativos.

Os processos degenerativos estudados foram aqui incluídos para que as alterações porventura encontradas pudessem servir como termo de comparação com as observadas nas neuroviroses. Escolhemos a esclerose lateral amiotrófica, a doença de Parkinson e a arteriosclerose cerebral. Esta última, apesar de não ser um processo primariamente neurológico, e sim vascular, apresenta, não obstante, importantes repercussões sobre o parênquima nervoso. Nestes processos degenerativos os nucléolos mostraram hipertrofiados (na esclerose lateral amiotrófica), de aspecto normal (na doença de Parkinson) ou ligeiramente aumentados de volume e com alguns pequenos vacúolos (na arteriosclerose cerebral) (ver Fig. n.º 12). Não encontramos corpúsculos basófilos peri ou paranucleolares volumosos, mesmo no caso da esclerose lateral amiotrófica em que eles se mostravam hipertrofiados. Da mesma forma, jamais constatamos desintegração nucleolar

ou expulsão de partículas da superfície nucleolar. Estes fatos já eram esperados, pois o fenômeno da anisonucleolinose<sup>(73)</sup> com extrusão de partículas nucleolares somente é observado em infecções virais<sup>(46, 48)</sup>, em certas intoxicações<sup>(29-32, 34-36)</sup> e em células com alterações em seu genômio, o que não é o caso dos processos degenerativos que estudamos.

### DISCUSSÃO

As alterações nucleolares são, como vimos, uma alteração constante nos processos inflamatórios virais, traduzindo-se por hipertrofia inicial, seguindo-se profundas alterações em sua estrutura interna. Na polioencefalite subaguda de **Dawson**<sup>(59, 60)</sup> observa-se uma anisonucleolinose moderada, sendo rara a expulsão de material nucleolar para o carioplasma. A presença de inclusões, todavia, permite ao patologista uma orientação diagnóstica segura quanto à etiologia do processo. Na leucoencefalite subaguda esclerosante de **Van Bogaert**<sup>(67, 68, 69)</sup> o quadro inflamatório, a enorme gliose e a presença, igualmente, de inclusões orientam o diagnóstico. Na panencefalite de **Pette-Doring**<sup>(74)</sup>, na qual não se encontram inclusões, o estudo das alterações nucleolares reveste-se da maior importância. Trata-se de um quadro inflamatório, com nódulos gliais, neuronofagia, infiltrados perivasculares e alterações nucleolares acentuadas, levando a suspeita de virose, pois a anisonucleolinose com expulsão de nucleolinos é uma condição que somente ocorre em viroses<sup>(46, 48)</sup>, em certas intoxicações<sup>(29-32, 34-36)</sup> e em células com alterações em seu genômio<sup>(76)</sup>. O exuberante comprometimento nucleolar



mostra que, realmente, deve tratar-se de um vírus, talvez diferente do causador das encefalites de **Dawson** (59, 60) e **Van Bogaert** (67, 68, 69), apesar da tendência atual em admitir uma etiologia comum para as três (65, 69).

Na poliomielite anterior aguda nota-se, também, hipertrofia nucleolar e, em duas oportunidades, foram vistos "brotamentos" de partículas a partir da superfície nucleolar. Estes corpúsculos que estudamos são diferentes da inclusão acidófila descrita por **Bodian** (82), sendo extremamente basófilos. Sua origem nucleolar parece indiscutível, vendo-se as fotomicrografias apresentadas.

Na raiva, além da hipertrofia nucleolar, encontram-se, também, volumosos corpúsculos basófilos paranucleolares, simples ou múltiplos. Apesar de não termos visto o seu "brotamento" a partir da superfície nucleolar, como no caso da poliomielite anterior aguda, acreditamos em sua origem nucleolar, pois as reações tintoriais destas partículas são idênticas às apresentadas pelos nucléolos.

Estes corpúsculos paranucleolares podem parecer inclusões basófilas. Seu conteúdo, rico em RNA (**Brachet** positivo) e não em DNA (**Fuelgen** negativo) mostra a sua origem nucleolar, distinguindo-se, claramente, dos grânulos cromatínicos perinucleolares que são constituídos por DNA e, portanto, **Fuelgen** positivos. Quando estão próximos ao nucléolo, sua origem, a partir deste último, pode ser vista nos preparados com impregnação argêntica e, principalmente, com a coloração pelo TBM.

A possibilidade de confusão com a cromatina sexual pode ser afastada,

sabendo-se que esta última, nos neurônios humanos, fica por baixo da membrana nuclear e não em posição paranucleolar, como foi descrito nos neurônios do gato por **Barr e Bertram** (88) e por **Moore** (89). Além disso, ela é **Fuelgen** positiva pelo seu conteúdo em DNA e **Brachet** negativa por não conter RNA, ao contrário dos corpúsculos de que nos ocupamos.

O satélite nucleolar de **Cajal** (90, 91), como se sabe, é DNA e RNA negativo, não contendo quaisquer dos ácidos nucléicos (ver Quadro III).

Qual a significação destas alterações nucleolares nas viroses? Certamente a infecção viral afeta de tal forma a síntese de proteínas celulares que o nucléolo se desorganiza, pois, como se sabe, a síntese de ribonucleoproteínas celulares é uma importante função nucleolar. Tratando-se de um vírus RNA, citoplasmático ou não, sua replicagem deve alterar profundamente a síntese protéica celular, levando à desintegração do nucléolo, dadas as íntimas relações existentes entre este último e a síntese de ribonucleoproteínas. Os vírus DNA, igualmente, devem afetar o metabolismo protéico celular interferindo no nucléolo, pois a síntese do RNA nucleolar inicia-se ao nível do DNA associado ao nucléolo (10, 11, 40, 41).

A expulsão de partículas nucleolares, talvez, seja um fenômeno normal, exacerbado em condições patológicas. **Estable** (26) mostrou, em nucléolos neuronais normais do gato, o "brotamento" do nucleolonema, e, entre os caracóis, este fato é regra em sua ovogênese, segundo foi abundantemente constatado por **Serra e Queiroz Lopes** (92) entre os *Helicidae* e por **Arvy** (93) no *Dentalium entale*.

## QUADRO III

Posição		RNA (Brachet)	DNA (Fuelgen)	Número
Corpúsculos basófilos (nucleolinos expulsos)	Intra, peri ou paranucleolares	++	-	1 a 4
Grânulos de cromatina	Dispersos no cario- plasma, peri ou pa- ranucleolares	-	++	Numerosos e diminutos
Cromatina sexual	Por baixo da mem- brana nuclear (neu- rônios do homem)	-	++	1
Corpo acessório de CAJAL	Peri ou paranucleo- lares	-	-	1 (raramente 2)

## CONCLUSÕES

O comprometimento do nucléolo no quadro histopatológico das neuroviroses parece ser constante.

A participação nucleolar traduz-se, inicialmente, por hipertrofia, a que se seguem profundas alterações na estrutura interna deste organito celular.

Estas alterações constam de vacuolizações e de condensações granulares de número e tamanhos variados (nucleolinos).

Alguns destes grânulos são lançados no carióplasma sob a forma de volumosos corpúsculos basófilos esferoidais.

Estes corpúsculos apresentam as mesmas características citoquímicas dos nucléolos.

Tratando-se de um fenômeno que somente ocorre em viroses (além de algumas raras intoxicações e distúrbios genéticos), somos da opinião de que o seu aparecimento em um quadro histopatológico encefalítico ou mielítico permite, com segurança, atribuir sua etiologia a uma infecção viral.

Dos processos estudados — polioencefalite subaguda com inclusões de **Dawson**, leucoencefalite subaguda esclerosante de **Van Bogaert**, panencefalite nodular de **Pette-Doring**, poliomielite anterior aguda e raiva, o que apresentou tais alterações com maior exuberância foi a panencefalite nodular de **Pette-Doring**, parecendo fazer parte constante do quadro histopatológico desta enfermidade.

## SUMMARY

*Nucleolar alterations in some human viral infections of the nervous system*

In this paper we studied the classic and modern concepts concerning the structure, composition, origin and function of the nucleole particularly in relation to the neuronal cells.

The material of study consisted of a number of cases of human neuroviroses. A detailed description of the nuclear and nucleolar alterations verified in the following diseases was made: Dawson's Subacute Polioencephalitis, van Bogaert's Sclerosing Subacute Leucoencephalitis, Pette Döring's Subacute Panencephalitis, Acute Anterior Poliomyelitis and Rabies.

The nucleolar lesions found consisted of early hypertrophy followed by deep changes in its internal struc-

ture with a shape of vacuoles and granular condensations (the so called nucleolines) varying in number and size. Some of this deeply basophile granular corpuscles which show the same citochemical characteristics of the nucleoles are thrown in the choricplasma developing great spheroidal basophilic corpuscles.

Commentaries about the nature of the phenomenon were made. Since such a finding is present only in virosis and in certain forms of intoxication and in genetic disturbances, its occurrence in an encephalitic or myelitic histopathologic pattern surely allows to admit its etiology as being due to a virus.

From all the studied specimens the one which showed such nucleolar alterations mostly exuberant was the Pette Döring's Nodular Panencephalitis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — DE ROBERTIS E. D. P., NOWINSKI, W. & SAEZ, F. A. — *Biologia Celular*. Libreria "El Ateneo" Editorial, 1965.
- 2 — CASPERSSON, T. O. — *Cell growth and cell function. A cytochemical study*. W. W. Norton & Company Inc., 1950.
- 3 — BANNSCH, P. and THOENES, W. — Zur Problem der Nucleolären Stoffabgabe Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Pankreas der weissen Maus. *Z. Zellforsch.* 67 : 674-692, 1965.
- 4 — IZQUIERDO, L. and VIAL, J. D. — Electron microscope observations on the early development of the rat. *Z. Zellforsch.* 56 : 157-179, 1962.
- 5 — SZOLLOSI, D. — Extrusion of nucleoli from pronuclei of the rat. *J. Cell. Biol.* 25 : 545-562, 1965.
- 6 — GONZALEZ-RAMIREZ, J. — Consideration on nucleolar physiology: the importance of time-lapse cinemicrography. I Cinemicrography, *in Cell Biology* (Rose, G. C. ed.) New York, Academic Press Inc., 429-443, 1963.
- 7 — WEISSENFELS, N. — Struktur und Verhalten der Nucleolen von Hühnerherzmyoblasten in Gewebekulturen während des Interphasewachstums und der Mitose. *Z. Zellforsch.* 62 : 667-700, 1964.
- 8 — PRESCOTT, D. M. and BENDER, M. A. — Synthesis and behaviour of nuclear proteins during the cell life cycle. *J. Cell. Comp. Physiol.* suppl. I, 175-194, 1963.
- 9 — PERRY, R. P., ERRERA, M. H. and DURWALD, H. — Kinetics of nucleoside incorporation into nuclear

- and cytoplasmic RNA. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 11 : 1-13, 1961.
- 10 — PERRY, R. P. — The cellular sites of synthesis of ribosomal and 4S RNA. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 48 : 2179-2186, 1962.
- 11 — PERRY, R. P. — Selective effects of actinomycin D on the intracellular distribution of RNA synthesis in tissue culture cells. *Exp. Cell. Res.* 29 : 400-406, 1963.
- 12 — AMANO, M. and LEBLOND C. P. — Comparison of the specific activity time curves of ribonucleic acid in chromatin, nucleolus and cytoplasm. *Exp. Cell. Res.* 20 : 250-253, 1960.
- 13 — HARRIS, H. — The initiation of deoxyribonucleic acid synthesis in the connective tissue cell with some observations on the function of the nucleolus. *Biochem. J.* 72 : 54-60, 1959.
- 14 — SIRLIN, J. L. — The nucleolus of the cell nucleus. *Endeavour* XX, 79 : 146-153, 1961.
- 15 — SIRLIN, J. L. — Function, development and evolution of the nucleolus. *Nature (London)* 195 : 114-117, 1962.
- 16 — VINCENT, W. S. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 38 : 139, 1952. (In DE ROBERTIS (23)).
- 17 — BALTUS, E. — Observations sur le rôle biochimique du nucléole. *Bioch. et Biophys. Acta* 15 : 263-267, 1954.
- 18 — ALFERT, M. and GESCH WIND, I. I. — A selective staining method for the basic proteins of cell nuclei. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 39, 10 : 991-999, 1953.
- 19 — TANDLER, C. J. — Acerca de nueva técnica para la localización de los nucleótidos ácido-solubles (ésteres fosfóricos) y de los ácidos grasos en el nucléolo. *Arch. Hist. Norm. y Path.* 4 : 275-292, 1951.
- 20 — TANDLER, C. J. — An argentaffin component of the nucleolus. *J. Histochem. and Cytochem.* 2 : 165-166, 1954.
- 21 — TANDLER, C. J. — The silver reacting property of the nucleolus and the formation of prenucleolar material during mitosis. *Exp. Cell. Res.* 17 : 560-564, 1959.
- 22 — ESTABLE, C. — Estructura del nucleolo y algunas experiencias tendientes a demostrar su significación biológica. *Primer Congr. Int. Biol. y Congr. Med. del Centenario*, 9 : 950-953, 1930.
- 23 — ESTABLE, C. y SOTELO, J. R. — Una nueva estructura celular: el nucleololema. *Pub. Inst. Invest. Cien. Biol. Montevideo*, 1 : 105-126, 1951.
- 24 — ESTABLE, C. y SOTELO J. R. — Technical procedures for the study of the nucleolonema. *Stain Techn.* 27 : 307-312, 1952.
- 25 — ESTABLE, C. y SOTELO J. R. — The behavior of the nucleolonema during mitosis. In *Fine Structure of Cells*. Groningen, P. Noordhoff, 170-190, 1955.
- 26 — ESTABLE, C. — Morphology, structure and dynamics of the nucleolonema. International Symposium. In *The Nucleolus. Its Structure and Function*, 9-105, 1966. National Cancer Institute Monograph. 23.
- 27 — BERNHARD, W., HAGUENAU, F. and OBERLING, CH. — L'ultrastructure du nucléole de quelques cellules animales, révélée par le microscope électronique. *Experientia* 8 : 58-63, 1952.
- 28 — BERNHARD, W., BAUER, A; GROPP, A., HAGUENAU, F. and OBERLING, CH. — L'ultrastructure du nucléole des cellules normales et cancéreuses. *Exp. Cell. Res.* 9 : 88-100, 1955.
- 29 — BERNHARD, W., FRAYSSINET, C., LAFARGE, C. and LE BRETON, E. — Lésions nucléolaires précoces provoquées par l'aflatoxine dans les cellules hépatiques du rat., *Comp. Rend. Acad. Sci. (Paris)* 261 : 1785-1788, 1965.

- 30 — BIERLING, R. — Die Wirkung von Actinomucinen auf menschliche Gewebe "in vitro". *Z. Krebsforsch.* 63 : 519-522, 1960.
- 31 — REYNOLDS, R. C. MONTGOMERY, P. O. and KARNEY, D. H. — Nucleolar "caps" — a morphologic entity produced by the carcinogen 4-nitroquinoline N-oxide. *Cancer Res.* 23 : 535-538, 1963.
- 32 — REYNOLDS, R. C., MONTGOMERY, P. O. and HUGUES, B. — Nucleolar "caps" produced by actinomycin D. *Cancer Res.* 24 : 1269-1278, 1964.
- 33 — STEVENS, B. J. — The effect of actinomycin D on nucleolar and nuclear fine structure in the salivary gland cell on *Chironomus thummi*. *J. Ultrastruct. Res.* 11 : 329-353, 1964.
- 34 — HRUBAN, Z., SWIFT, H. and SLESERS, A. — Effect of azaserina on the fine structure of the liver and pancreatic acinar cells. *Cancer Res.* 25 : 708-723, 1965.
- 35 — LAPIS, K. and BERNHARD, W. — The effect of mytomicin-C on the nucleolar fine structure of KB cells in cell culture. *Cancer Res.* 25 : 628-645, 1965.
- 36 — SVOBODA, D. and HIGGINSON, J. — Ultrastructural changes produced by protein and related deficiencies in the rat liver. *Amer. J. Path.* 45 : 353-379, 1964.
- 37 — MONTGOMERY, P. O., REYNOLDS, R. C. and McLENDON, D. E. — Nucleolar "caps" produced by ultra-violet flying spot irradiation. *J. Cell Biol.* 27 : 69 A, 1965.
- 38 — MARINOZZI, V. and BERNHARD, W. — Présence dans le nucléole de deux types de ribonucléoprotéines morphologiquement distinctes. *Exp. Cell Res.* 32 : 595-598, 1963.
- 39 — MARINOZZI, V. — Cytochimie ultrastructurale du nucléole, RNA et protéines intranucléolaires. *J. Ultrastruct. Res.* 10 : 433-456, 1964.
- 40 — GRANDOULAN, N. et GRANDOULAN, P. — Cytochimie ultrastructurale du nucléole. I — Mise en évidence de chromatine à l'intérieur du nucléole. *Exp. Cell. Res.* 34 : 71-87, 1964.
- 41 — GRANDOULAN, N. et GRANDOULAN, P. — Cytochimie ultrastructurale du nucléole. II — Étude des sites de synthèse du RNA dans le nucléole et le noyau. *Cell Res.* 38 : 604-619, 1965.
- 42 — FRANKLIN, R. M. and BALTIMORE, D. — Patterns of macromolecular synthesis in normal and virus infected mammalian cells. *Sympos. Quant. Biol.* 27 : 175-198, 1962.
- 43 — HINZ, R. N., BARSKI, G. and BERNHARD, W. — An electron microscopic study of the development of encephalomyocarditis (E. M. C.) virus propagated in vitro. *Exp. Cell Res.* 26 : 571-586, 1962.
- 44 — DOURMASHKIN, R. and BERNHARD, W. — A study with the electron microscope of the skin tumour of molluscum contagiosum. *J. Ultrastruct. Res.* 3 : 11-38, 1959.
- 45 — LEDUC, E. H. and BERNHARD, W. — Electron microscope study of mouse liver infected by ectromelia virus. *J. Ultrastruct. Res.* 6 : 466-488, 1962.
- 46 — LOVE, R., RABSON, A. S. and WILDY, P. — Changes in the nucleolus of normal and neoplastic cells infected with ribovirus and deoxyriboviruses. *Acta Unio Int. Cancr.* 20 : 1384-1387, 1964.
- 47 — LOVE, R. and FERNANDES, M.V. — Cytological and cytochemical studies of green monkey kidney cells infected in vitro with simian virus 40. *J. Cell Biol.* 25 : 529-543, 1965.
- 48 — LOVE, R. and WILDY, P. — Cytochemical studies of the nucleoproteins of HeLa cells infected with herpes virus. *J. Cell Biol.* 17 : 237-254, 1963.

- 49 — LOVE, R. and WALSH, R. J. — Studies of the cytochemistry of nucleoproteins: improved staining methods with toluidine blue and ammonium molybdate. *J. Histochem. Cytochem.* 11 : 188, 1963.
- 50 — ALENCAR, A., BROCK, M. and CAVALCANTI, J. L. S. — Encefalites atípicas. Estudo anátomo-clínico de 4 casos. Rio de Janeiro, 1.º Congresso Nacional de Medicina, Julho de 1962.
- 51 — ALENCAR, A., BROCK, M. and CAVALCANTI, J. L. S. — Encefalites atípicas. II — Estudo anátomo-clínico de 6 casos. VII Congr. Inter. Med. Trop. Malária, Rio, 1963.
- 52 — ALENCAR, A., OLIVEIRA, C. and COUTO, D. — Encefalites atípicas. *Jornal Brasileiro de Neurologia*, vol. 16, 1965 (em publicação).
- 53 — ALENCAR, A., OLIVEIRA, C. and COUTO, D. — Considerações sobre as encefalites atípicas. Sociedade Paulista de Medicina, Hospital São Paulo, 1969.
- 54 — ALENCAR, A. — Alterações nucleares e nucleolares nas panencefalites subagudas esclerosantes. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo), 27, 3 : 159-173, 1969.
- 55 — BRACHET, J. — The use of basic dyes and ribonuclease for the cytochemical detection of ribonucleic acid. *Quart. J. Micr. Scien.* 94 : 1, 1963.
- 56 — GOMORI, G. — Microscopic histochemistry. Principles and Practice. The University of Chicago Press, 1952.
- 57 — WAGNER, B. M. and SHAPIRO, S. H. — Application of alcian blue as a histochemical method. *Lab. Invest.* 6 : 472-477, 1957.
- 58 — POLAK, M. — Blastomas del sistema nervioso central y periférico. Lopez Libreros Editores, Junin 901, Buenos Aires, 1966.
- 59 — DAWSON JR. J. R. — Cellular inclusions in cerebral lesions of lethargic encephalitis. *Am. J. Path.* 9 : 7, 1933.
- 60 — DAWSON JR. J. R. — Cellular inclusions in cerebral lesions of epidemic encephalitis: second report. *Arch. Neurol. & Psychiat.* 31 : 685, 1934.
- 61 — BOUTEILLE, M., FONTAINE, C., VEDRENNE, C. et DELAURE, J. — Sur un cas d'encéphalite subaigüe à inclusions: étude anatomoclinique. *Rev. Neurol.* 113, 454, 1965.
- 62 — DAYAN, A. D., GORTLING, J. V. T., GREAVES, J. L., STEVENS, D. W. and WOODHOUSE, M. A. — Evidence of a pseudomyxovirus in the brain in subacute sclerosing leucoencephalitis. *Lancet*, 1 : 7497, 1967.
- 63 — NAGEL, I. T. — Subacute sclerosing leucoencephalitis: ultrastructure of intranuclear and intracytoplasmic inclusions. *Science* 154 : 899, 1966.
- 64 — PERIER, O. et VANDERHAEGHEN, J. J. — Indications etiologiques apportées par la microscopie électronique dans certaines encephalites humaines. *Rev. Neurol.* 115 : 250, 1965.
- 65 — Meales Virus and Subacute Sclerosing Panencephalitis, Conference — *Neurology* 18, 1, 2, 1968.
- 66 — SHAW, C. M., BUCHAN, G. C. and COLDEVIN, B. C. — Myxovirus as a possible etiologic agent in subacute inclusion body encephalites. *New England J. Med.* 277 : 511, 1967.
- 67 — BOGAERT, L. VAN — Une leuco-encéphalite sclérosante subaigüe. *J. Neurol. Neurosurg. & Psychiat.* 8 : 101, 1945.
- 68 — BOGAERT, L. VAN — Sur une leucoencéphalite sclérosante subaigüe (deuxième mémoire). *Rev. Neurol.* 87 : 1, 1952.
- 69 — BOGAERT, L. VAN — Encephalites. In *Encephalites*. L. Van Bogaert, J. Hozay e A. Löwenthal, editores. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1961.

- 70 — LOVE, R. and LILES, R. H. — Differentiation of nucleoproteins by inactivation of protein bound amino groups and staining with toluidine blue and ammonium molybdate. *J. Histochem. Cytochem.* 7 : 174, 1959.
- 71 — LOVE, R. and RABOTI, G. — Studies of the cytochemistry of nucleoproteins: demonstration of deoxyribonucleic acid complexes in mammalian cells. *J. Histochem. Cytochem.* 11-603, 1963.
- 72 — LOVE, R. and SISKIND, R. G. — Characterization of nine types of ribonucleoproteins in the cell by the toluidine blue-molybdate stain. *Ann. Histochem.* 6 : 437, 1962.
- 73 — LOVE, R. — Anisonucleolinos in mammalian cell culture. *National Cancer Institute Monograph*, 23, 167, 1966.
- 74 — PETTE, H. & DORING, G. — Über einheimische Panencephalomyelitis von Charakter der Encephalitis japonica. *Dtsch. A. Nervenheilk.* 149, 7, 1939.
- 75 — ECONOMO C. VON — *Encephalitis Lethargica: ist Sequellae and Treatment.* Oxford University Press, London, 1931.
- 76 — LOVE, R. — Differences in the internal structure of nucleoli of diploid transformed or neoplastic cells in vitro. *Exp. Cell Res.* 40 : 188, 1965.
- 77 — BODIAN, D. — Poliomyelitis. Neuropathologic observations in relation to motor symptoms. *J.A.M.A.* 134 : 1148, 1947.
- 78 — HOWE, H. A. and BODIAN, D. — Neuropathological evidence on the portal of entry problem in human poliomyelitis. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 49 : 183, 1941.
- 79 — BODIAN, D. and HOWE, H. A. — Neurotropism and the genesis of cerebral lesions in poliomyelitis: an experimental study. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 68 : 58, 1941.
- 80 — BODIAN, D. and HOWE, H. A. — An experimental study of the role of neurones in the dissemination of poliomyelitis virus in the nervous system. *Brain*, 63 : 135, 1940.
- 81 — BODIAN, D. and HOWE, H. A. — Experimental non paralytic poliomyelitis frequency and range of pathological involvement. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 76 : 1, 1945.
- 82 — BODIAN, D. — Histopathologic Basis of Clinical Findings in Poliomyelitis. *Am. J. of Med.* VI, 5 : 563-578, 1949.
- 83 — HARBITZ, F. and SCHEEL, O. — Pathologische-anatomische Untersuchungen über akut Poliomyelitis and verwandte Krankheiten. Christiania, 1907, J. Dybwad. In BODIAN (104).
- 84 — KNISELY, M. H., BLOCH, E. H., ELIOT, T. S. and WARNER, L. — Sludged blood. *Science* 16, 1913.
- 85 — JOHNSON, H. N. — The significance of the Negri Body in the Diagnosis and Epidemiology of Rabies. *Illinois Med. J.*, 81 : 382, 1942. (in BERNSTEN and STEVENSON, 108).
- 86 — BERNSTEN, C. A. and STEVENSON, L. D. — Human rabies. A case report with necropsy studies wherein brain and salivary gland yielded virus: Notes on the viral tissue distribution. *J. Neuropath.* 12, 169, 1953.
- 87 — WOLMAN, M. and BEHAR, A. — A cytochemical study of the nature of Negri bodies. *J. Infec. Dis.* 91, 1; 69-71, 1952.
- 88 — BARR, M. R. and BERTRAM, E. G. — A morphological distinction between neurones of the malol and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. *Nature* ((London) 163 : 676, 1939.
- 89 — MOORE, K. L. — *The sex chromatin.* W. B. Saunders Co., Philadelphia, London, 1966.

- 90 — HAGGAR, R. A. — Behaviour of the accessory body of Cajal during axon reaction. *J. Comp. Neurol.* 108 : 269, 1957.
- 91 — THOMPSON, B. K., HAGGAR, R. A. and BARR, M. L. — The accessory body of Cajal in nerve cell nuclei of the cat. *J. Comp. Neurol.* 108 : 253, 1957.
- 92 — SERRA, J. A. and QUEIROZ LOPES, A. — Données pour une cytophysiologie du nucléole. I — L'activité nucléolaire pendente la croissance de l'oocyte chez des Helicidae. *Portugaliae Acta Biol.* I, A. 2 : 51-94, 1945.
- 93 — ARVY, L. — Données histologiques sur l'ovogénèse chez *Dentalium entale* Deshayes. *Arch. de Biol.* LXI, 2, 187-195, 1950.

---

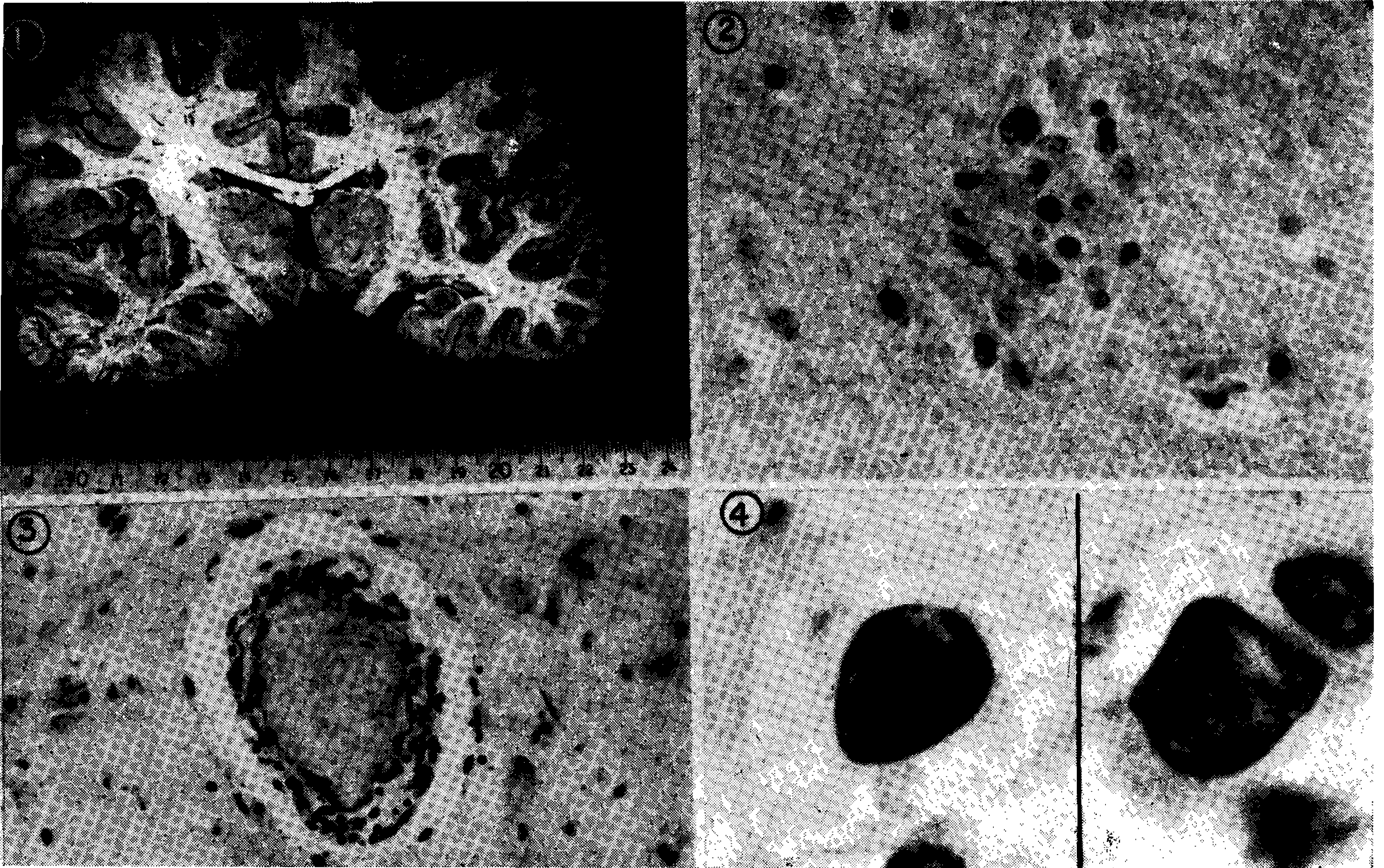
#### ESTAMPA I

Fig. 1 — Polioencefalite subaguda de DAWSON (R-7285). 1 — Aspecto macroscópico do encéfalo. Corte passando pelos tálamos ópticos. Observa-se edema da substância cinzenta e algumas hemorragias punctiformes; 2 — Nódulo glial na substância cinzenta cortical; 3 — Vaso sangüíneo com infiltrado inflamatório perivascular; 4 — Nucleos de neurônios com inclusões acidófilas cercadas por halo claro (tipo A de COWDRY), vendo-se à esquerda inclusão típica e à direita, inclusão já em fase de dissolução.

Colorações: 2 e 4, hematoxilina-eosina, 3, cresil-violeta.

Aumentos: 2 e 3, Oc. 10 x Obj. 24 x Leitz. 4, Oc. 10 x Obj. 93 x IM. Leitz.





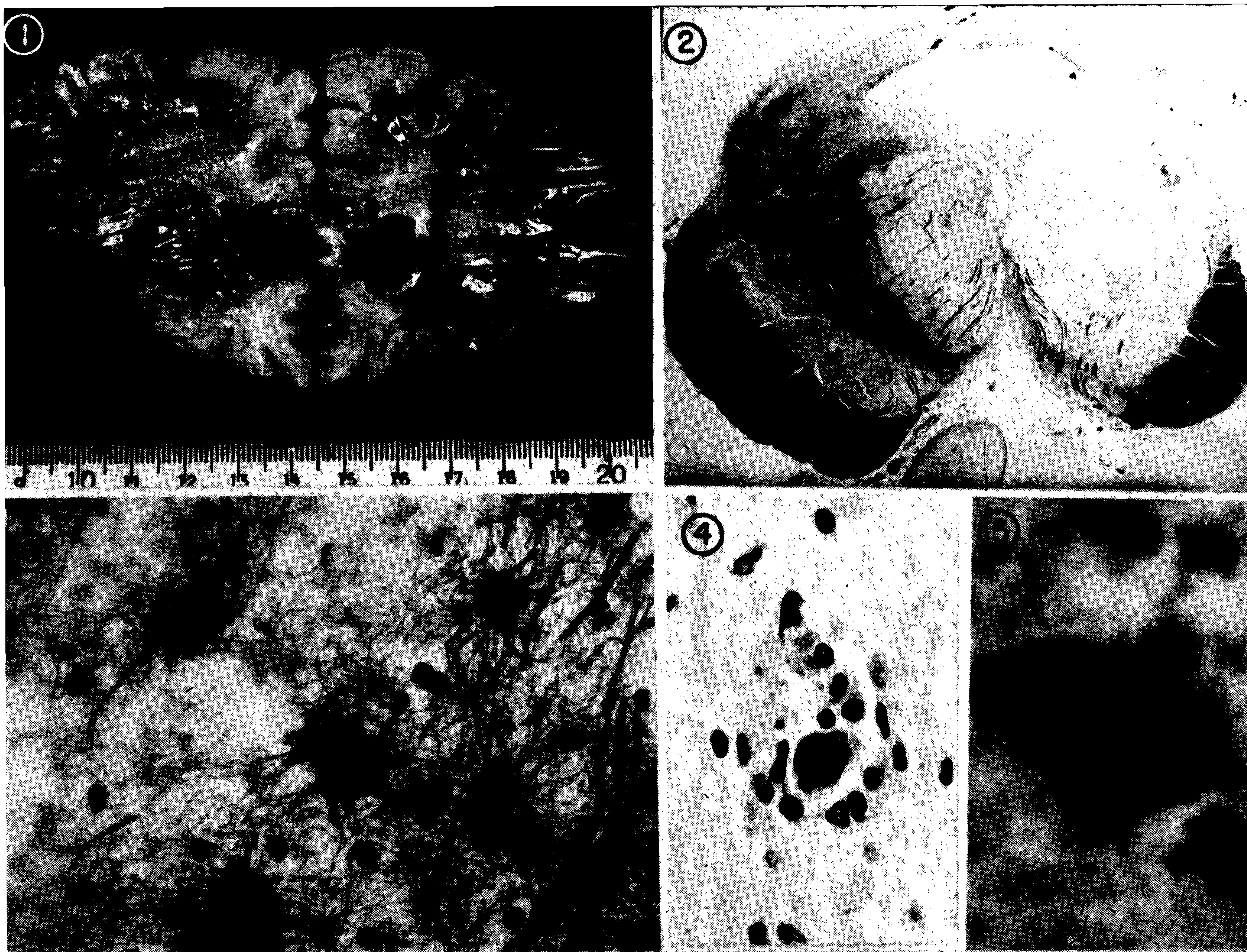
Alencar: Neuroviroses Humanas

## ESTAMPA II

Fig. 2 — Leucoencefalite subaguda esclerosante de VAN BOGAERT (R-9832). 1 — Aspecto macroscópico do encéfalo. Corte passando pelos Lobos frontais. Nota-se intensa gliose da cortiça e da substância branca cerebral; 2 — Leucoencefalite subaguda esclerosante de VAN BOGAERT (R-5511). Corte passando pelo mesencéfalo. Notar duas grandes áreas de desmielinização; 3 — Leucoencefalite subaguda esclerosante de VAN BOGAERT (R-5511). Gliose cortical intensa, vendo-se astrocitos hipertrofiados e com grande diferenciação de gliofibrilas; 4 — Leucoencefalite subaguda esclerosante de VAN BOGAERT (R-9832). Figura de neuronofagia em célula nervosa bulbar; 5 — Leucoencefalite subaguda esclerosante de VAN BOGAERT (R-9832). Inclusão acidófila intranuclear em neurônio cortical.

Colorações: 2, evidenciação das bainhas de mielina (HEIDENHAIN-WOELKE). 3, carbonato de prata de RIO HORTEGA (técnica para macroglia). 4 e 5, hematoxilina-eosina.

Aumentos: 2, aproximadamente 5 x 3, Oc. 10 x Obj. 45 x Leitz. 4 Oc. 10 x Obj. 24 x 5, Oc. 10 x Obj. 93 x Im. Leitz.



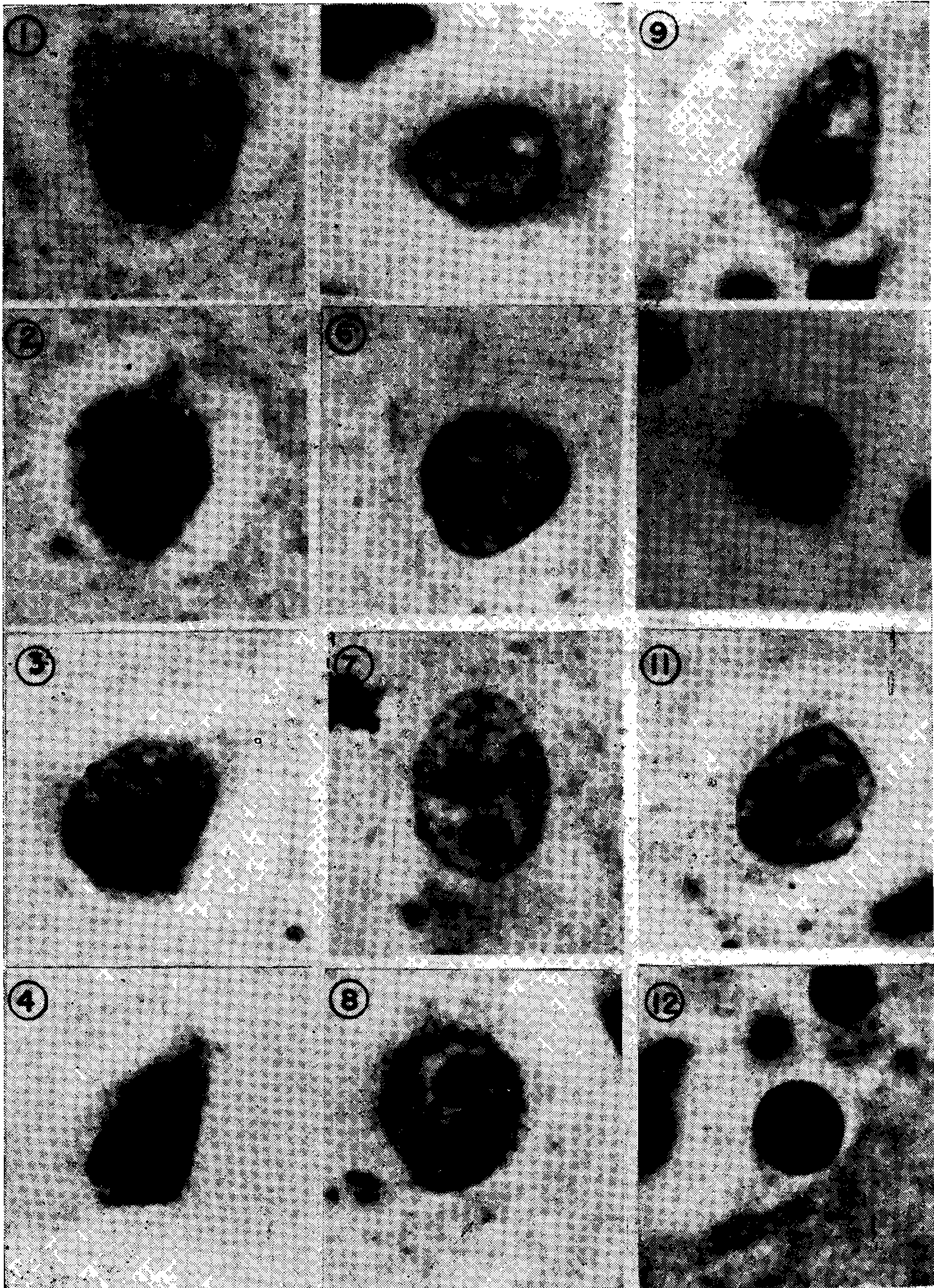
Alencar: Neuroviroses Humanas

### ESTAMPA III

Fig. 3 — Polioencefalite subaguda de DAWSON: em 1, núcleo neuronal normal, vendo-se o nucléolo e finos grânulos dispersos de cromatina; em 2 e 3, aumento do conteúdo cromatínico do núcleo, com o aparecimento de grânulos volumosos de cromatina; em 4, cariólise incipiente; em 5, 6 e 7, diminuição gradativa dos grânulos cromatínicos finos, com persistência dos volumosos, e início de condensação de inclusão acidófila, deslocando o nucléolo; em 8, inclusão acidófila, cercada por halo claro; em 9, 10 e 11, inclusões acidófilas, com halo claro, membrana nuclear irregular e persistência de glânulos cromatínicos volumosos; em 12, inclusão em núcleo de célula glial.

Coloração: Hematoxilina-eosina.

Aumentos: Oc. 10 x Obj. 93 x Im. Leitz.



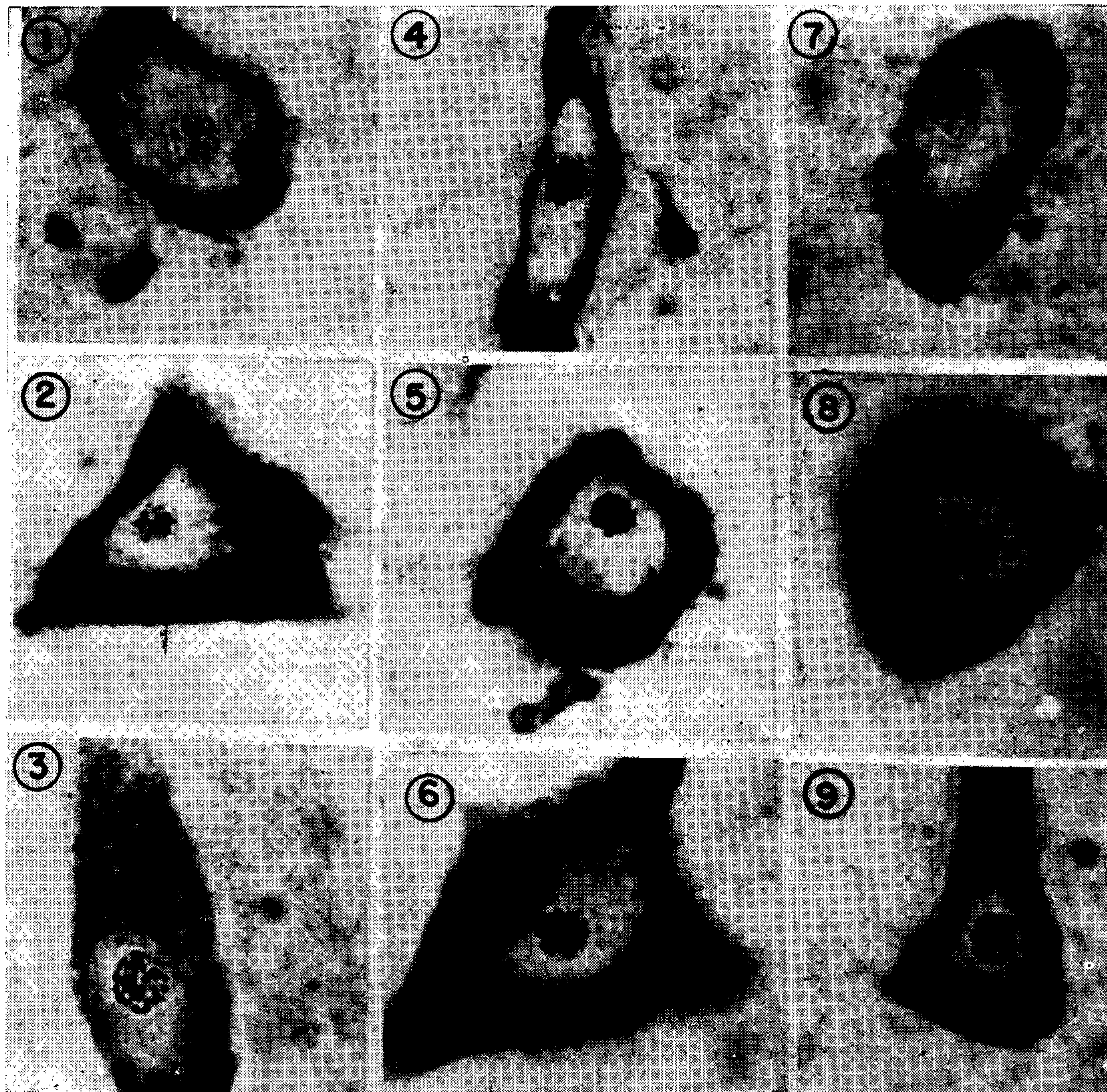
Alencar: Neuroviroses Humanas

#### ESTAMPA IV

Fig. 4 — Polioencefalite subaguda de DAWSON. Variações quantitativas e qualitativas dos nucleolinos. Em 1, 2, 3, 6 e 9 observa-se discreta variação nas dimensões e no número dos nucleolinos (nucleolinose moderada). Em 4, 5, 7 e 8 observa-se variação acentuada nas dimensões dos nucleolinos (anisonucleolinose)

Coloração: TBM

Aumentos: Oc. 10 x Obj. 93 x Im. Leitz.



Alencar: Neuroviroses Humanas

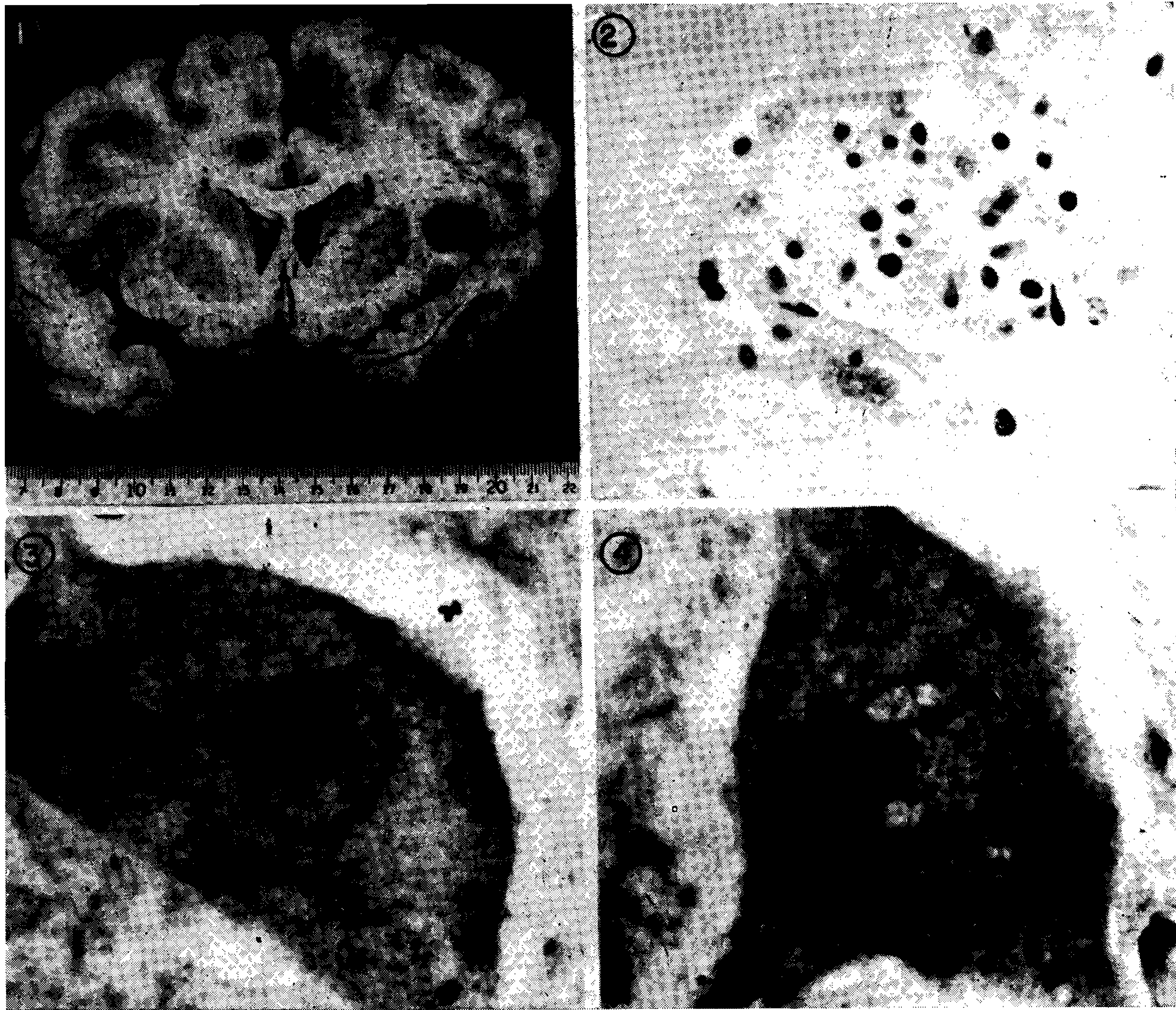
## ESTAMPA V

Fig. 5 — Panencefalite nodular de PETTE-DORING (R-11706). 1 — Corte do encéfalo passando pelos polos temporais. Notar edema da substância cinzenta e intensa congestão dos vasos sangüíneos; 2 — Nódulo glial constituído nas proximidades de um capilar da cortiça cerebral; 3 e 4 — Neurônios motores medulares com dissolução da substância cromofila de NISSL citoplasmática e evidentes alterações nucleares (ver texto).

Colorações: 2, cresil-violeta. 3 e 4, hematoxilina-eosina.

Aumentos: 2, Oc. 10 x Obj. 24 x Leitz. 3 e 4, Oc. 10 x Obj. 93 x Im. Leitz.





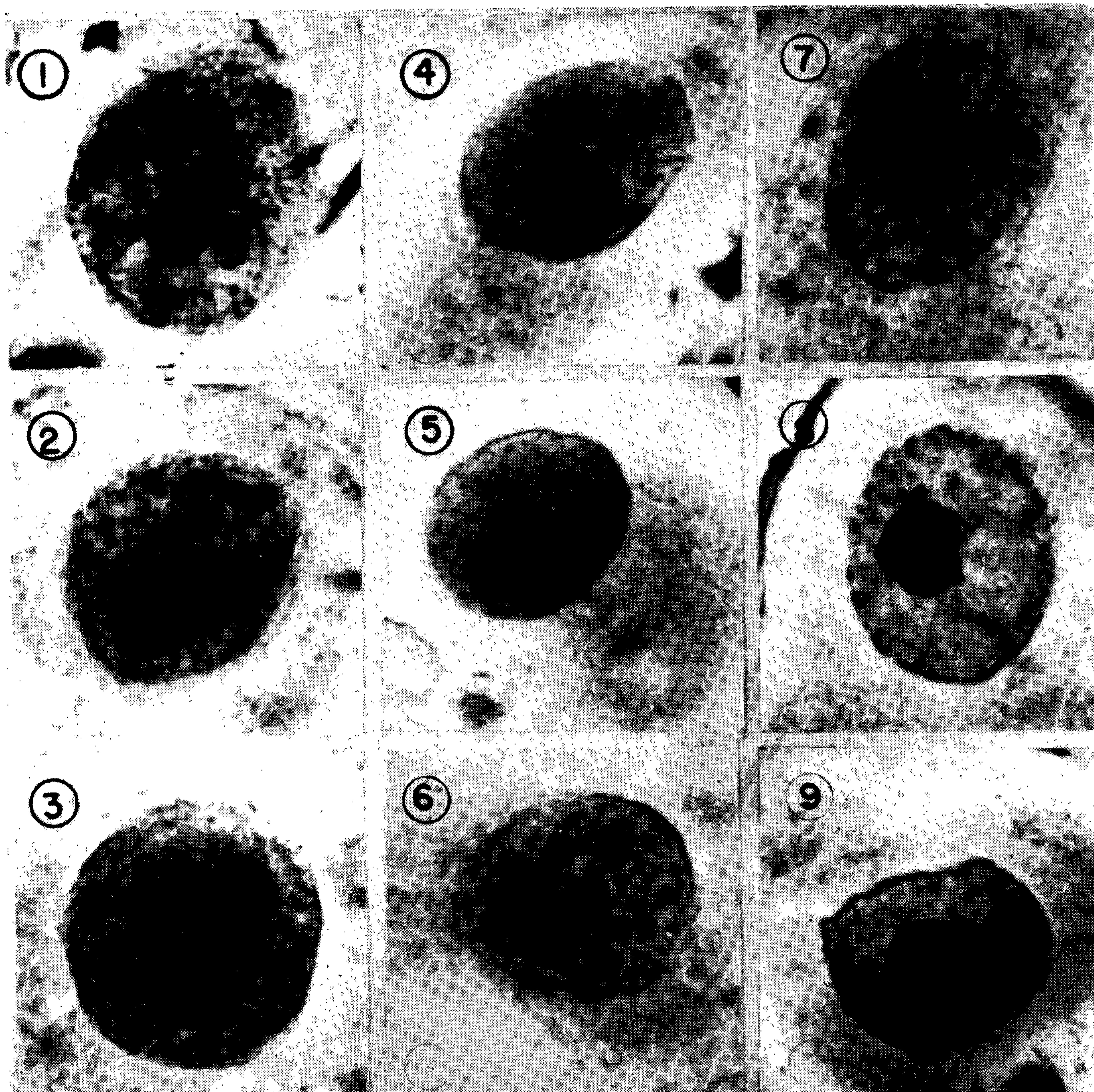
Alencar: Neuroviroses Humanas

## ESTAMPA VI

Fig. 6 — Panencefalite nodular de PETTE-DORING. Observa-se em 1, 2 e 3, aumento do conteúdo cromatínico do núcleo; em 4, 5, 6 e 7, aumento do conteúdo cromatínico nuclear, cariólise e persistência de grânulos volumosos; em 8 e 9, diminuição do conteúdo cromatínico do núcleo, com persistência de grânulos volumosos, a membrana nuclear tornando-se ondulada e o nucléolo começando a hipertrofiar-se.

Coloração: Impregnação argêntica pelo carbonato de prata de RIO HORTEGA (dupla Impregnação).

Aumentos: Oc. 10 x Obj. 93 x Im. Leitz.



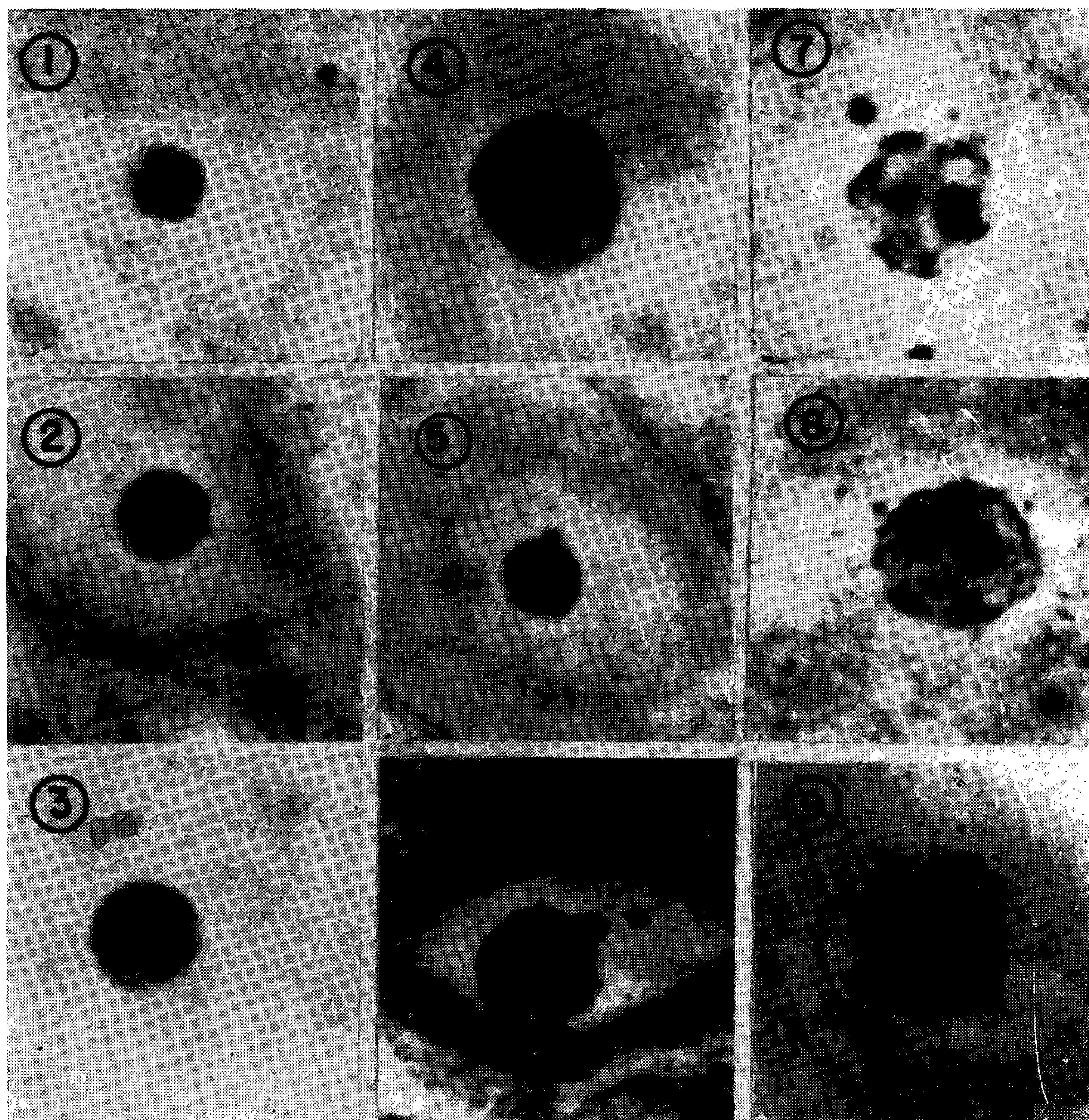
Alencar: Neuroviroses Humanas

## ESTAMPA VII

Fig. 7 — Panencefalite nodular de PETTE-DORING. Observa-se em 1, 2, 3 e 4, hipertrofia progressiva dos núcleos, vendo-se em seu interior grânulos mais volumosos (nucleolinos) alguns em posição central outros na periferia. Em 5 e 6 observa-se o “brotamento” de uma partícula nucleolar que vai ser lançada no carioplasma (extrusão de nucleolino). As fotomicrografias 7, 8 e 9, mostram a progressiva desintegração do nucléolo, com a libertação de partículas nucleolares volumosas no carioplasma.

Coloração: Impregnação argêntica pelo carbonato de prata de RIO HORTEGA (dupla Impregnação).

Aumentos: Oc. 10 x Obj. 93 x Im. Leitz.



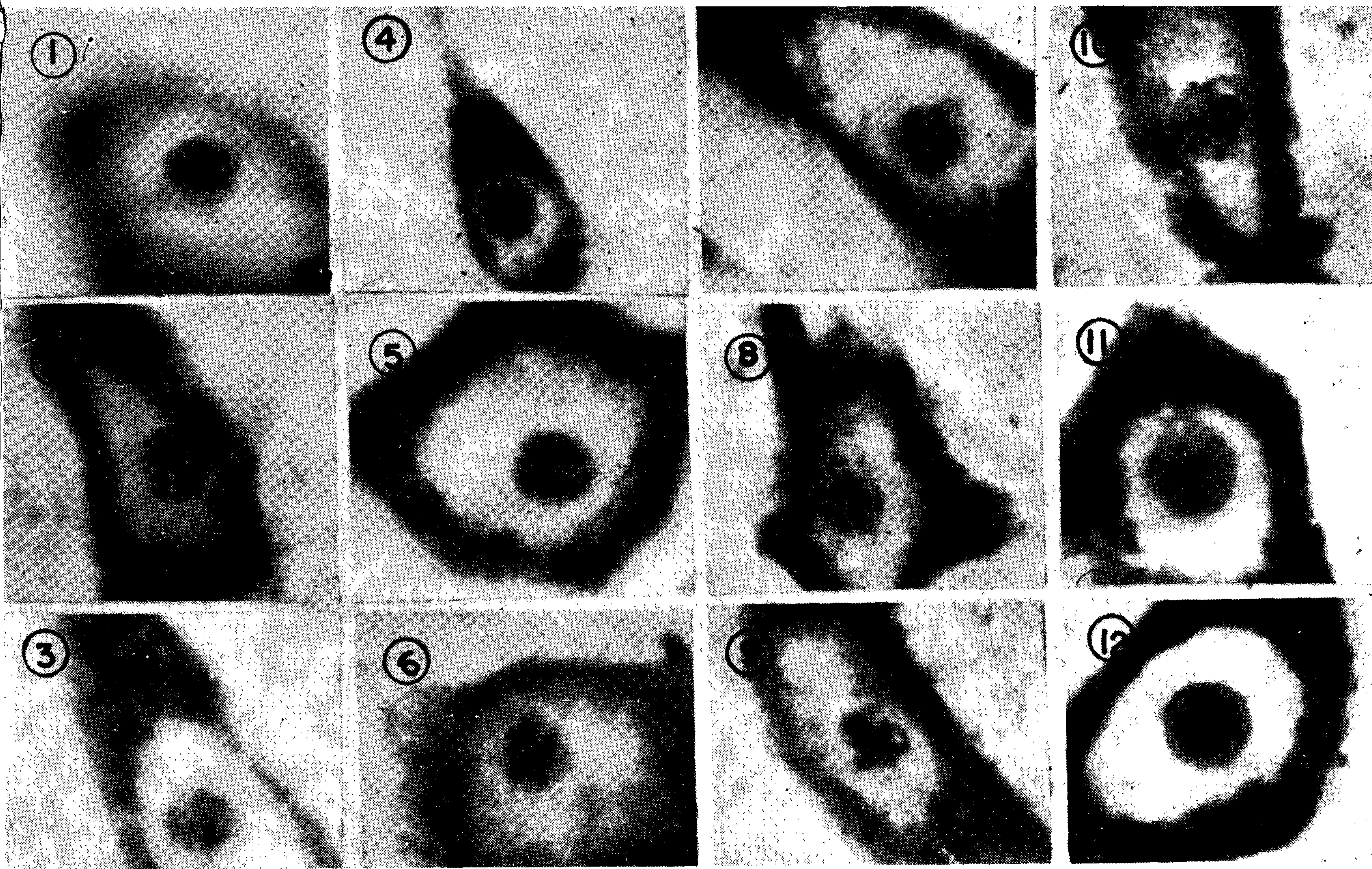
Alencar: Neuroviroses Humanas

## ESTAMPA VIII

Fig. 8 — Panencefalite nodular de PETTE-DORING. De 1 a 10, anisonucleolinose acentuada, com extrusão de nucleolinos para o carioplasma. Em 11 e 12, grande hipertrofia nucleolar, com desaparecimento gradativo dos nucleolinos.

Coloração: TBM (LOVE).

Aumentos: Oc. 10 x Obj. 93 x Im. Leitz.



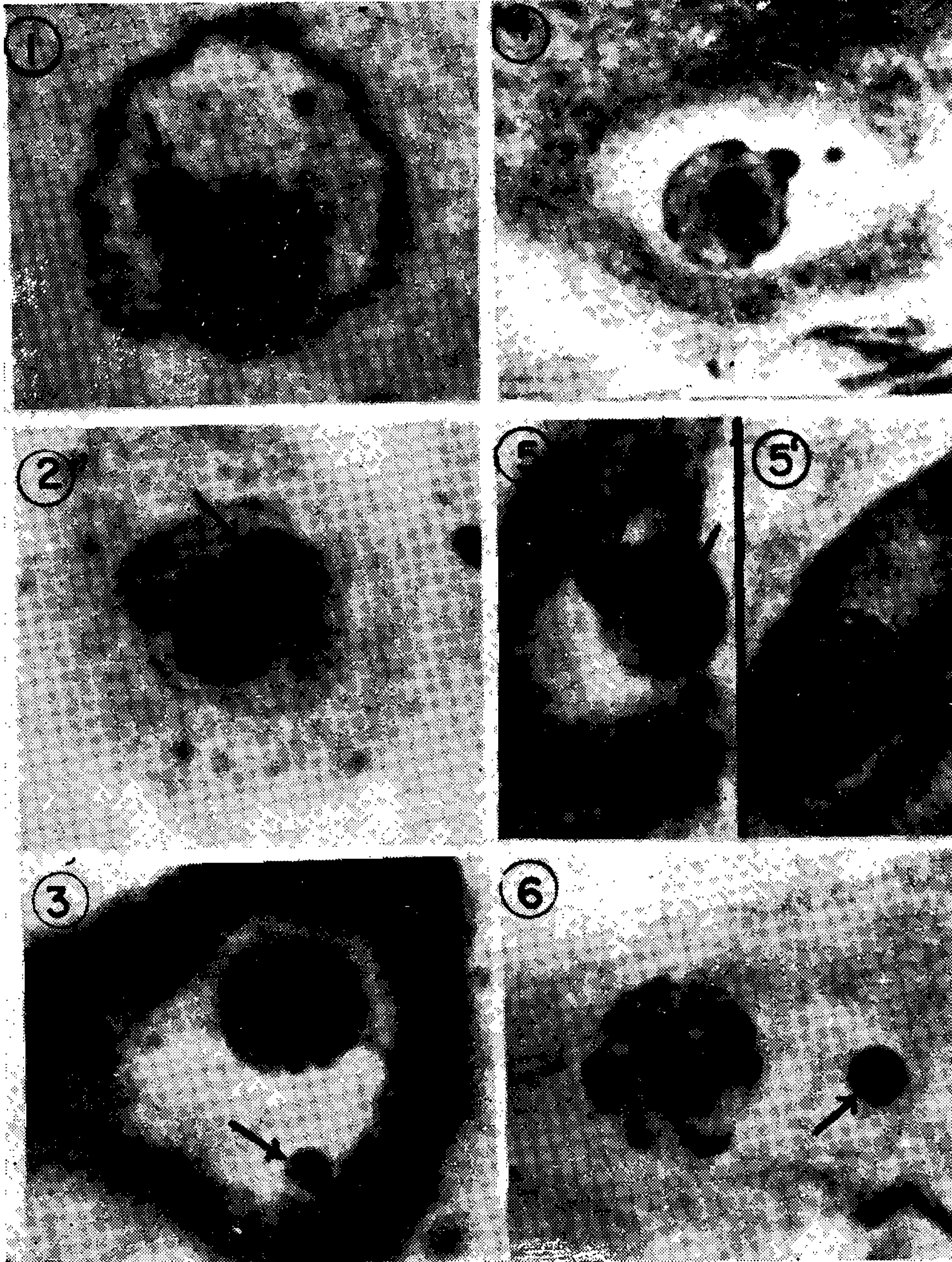
Alencar: Neuroviroses Humanas

## ESTAMPA IX

Fig. 9 — Panencefalite nodular de PETTE-DORING. Em 1, núcleo neuronal, com o nucléolo em desintegração, vendo-se volumoso corpúsculo basófilo paranucleolar (Col.: H. & E.); em 2, núcleo neuronal com volumoso corpúsculo paranucleolar fortemente basófilo (Col.: Cresil-violeta); em 3, núcleo neuronal, com corpúsculo basófilo paranucleolar contendo RNA, corado em vermelho da mesma forma que o nucléolo (na preparação original), o qual se mostra muito hipertrofiado (Col.: Método de BRACHET — verde de metila-pironina); em 4, núcleo neuronal contendo nucléolo hipertrofiado e vacuolizado, com grande nucleolino em seu interior e outro sendo expulso para o carioplasma (Col.: Dupla impregnação pelo carbonato de prata de RIO HORTEGA); em 5 e 5', anisonucleolinose, vendo-se, assinalados pelas setas, nucleolinos intranucleolares e no interior de partícula que está sendo expulsa para o carioplasma (Col.: TBM, segundo LOVE); em 6, vê-se um nucléolo enormemente hipertrofiado, contendo grande nucleolino. A seta mostra uma partícula esférica, já expulsa, e em pleno carioplasma (Col.: Dupla impregnação pelo carbonato de prata de RIO HORTEGA).

Aumentos: Oc. 10 x Obj. 93 x Im. Leitz.

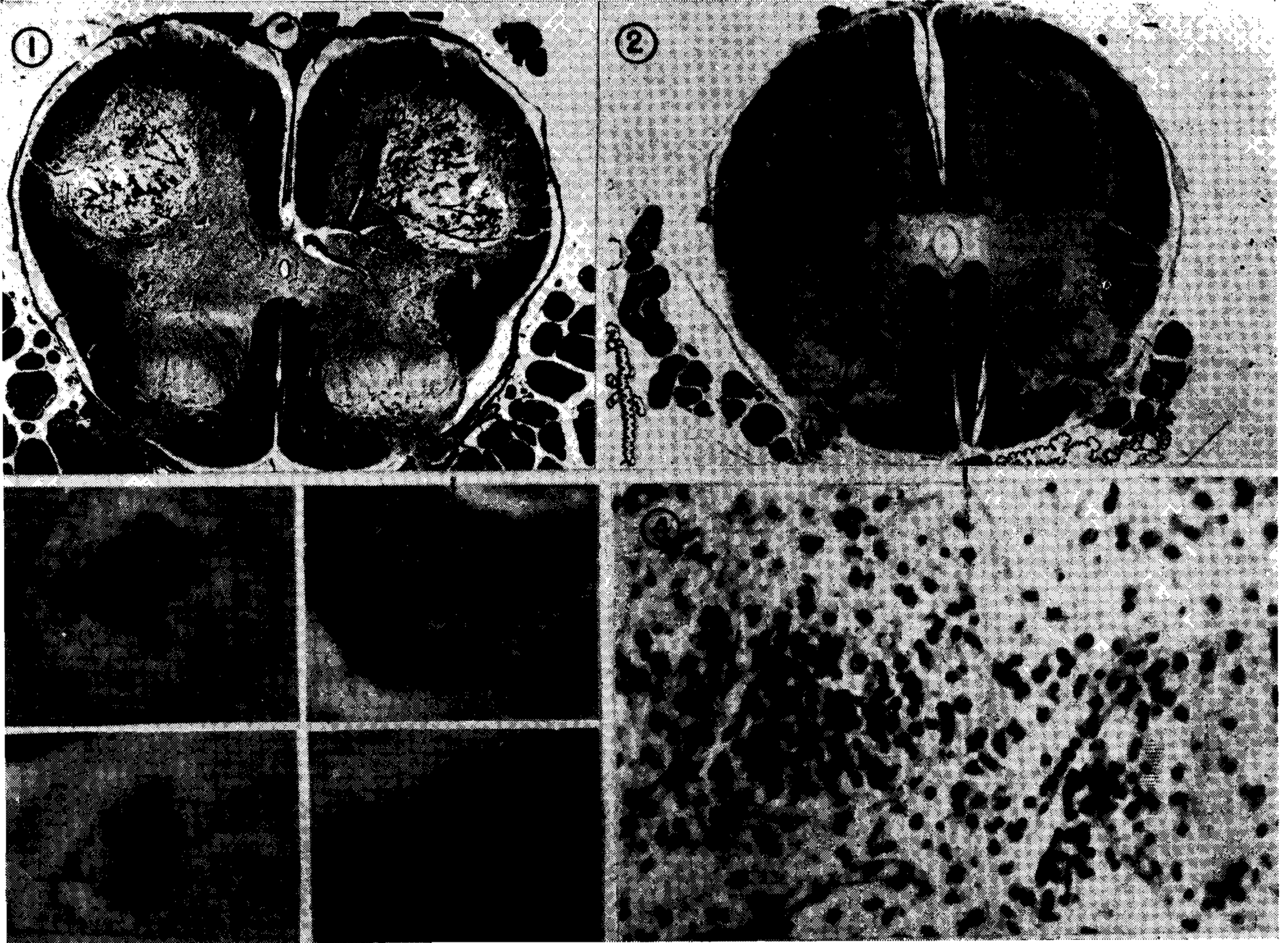




Alencar: Neuroviroses Humanas

## ESTAMPA X

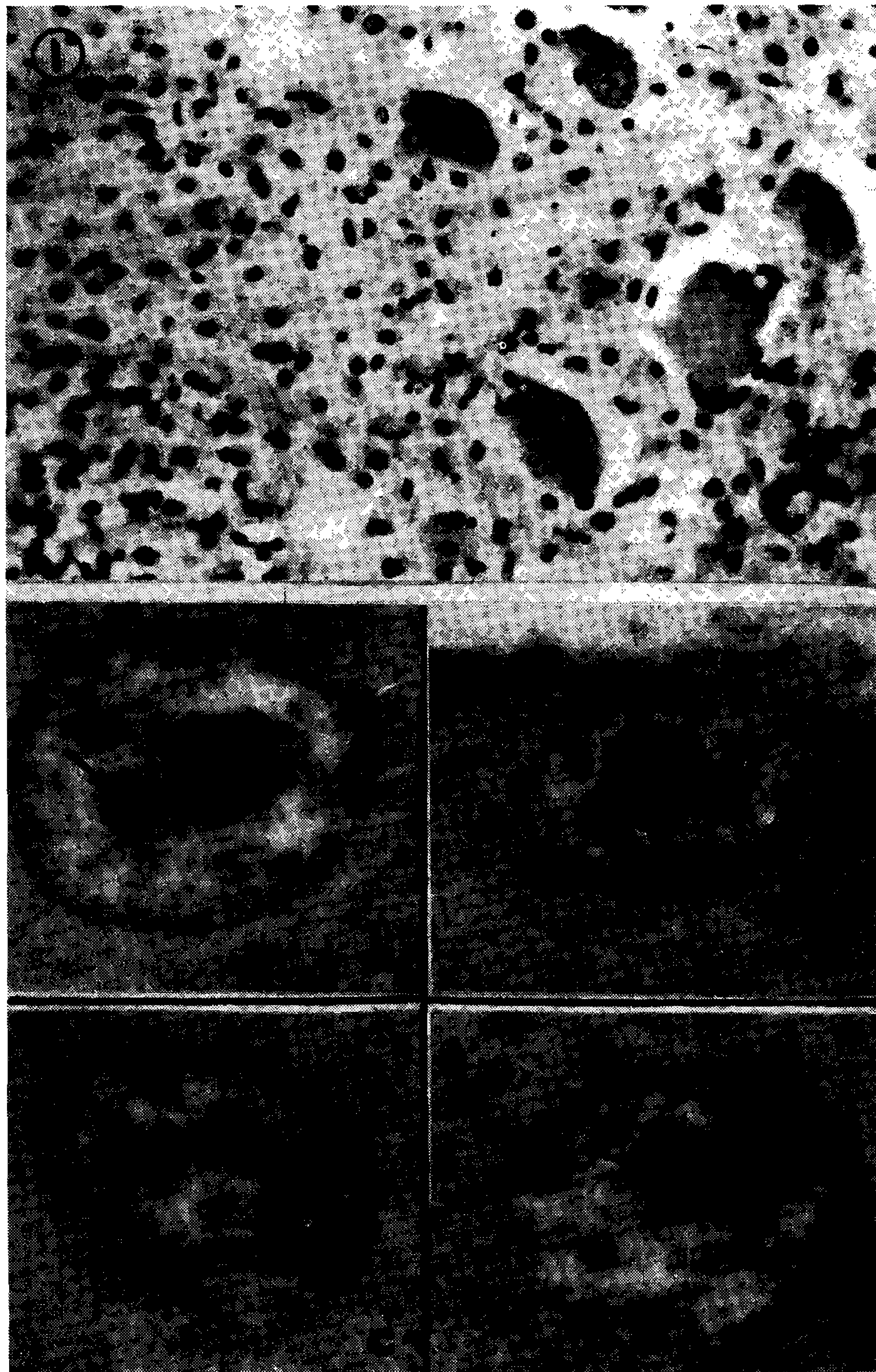
Fig. 10 — Poliomielite anterior aguda. 1 — Melula lombar (A-363). Observa-se intenso processo inflamatório, com amolecimento e edema dos cornos anteriores. Col.: Impregnação argêntica pelo carbonato de prata de RIO HORTEGA (Impregnação para fibras reticulares) e Sudan IV. Aproximadamente 5x. 2 — Medula sacra (A-367). Edema e congestão dos cornos anteriores. Col.: Sudan IV. 3 — Núcleos neuronais com corpúsculos basófilos paranucleolares (em *a* e *b*), em processo de “brotamento” (em *c* e *d*). Col.: *a* e *c*, Chromotrope 2 R; *b* e *d*, cresil-violeta. Oc. 10 Obj. 93 x Im: Leitz. 4 — Campo microscópico em médio aumento, mostrando infiltração inflamatória encontrada nos cornos anteriores, com nódulo glial. Col.: Cresil-violeta. Oc. 10 x Obj. 24 x Leitz.



Alencar: Neuroviroses Humanas

## ESTAMPA XI

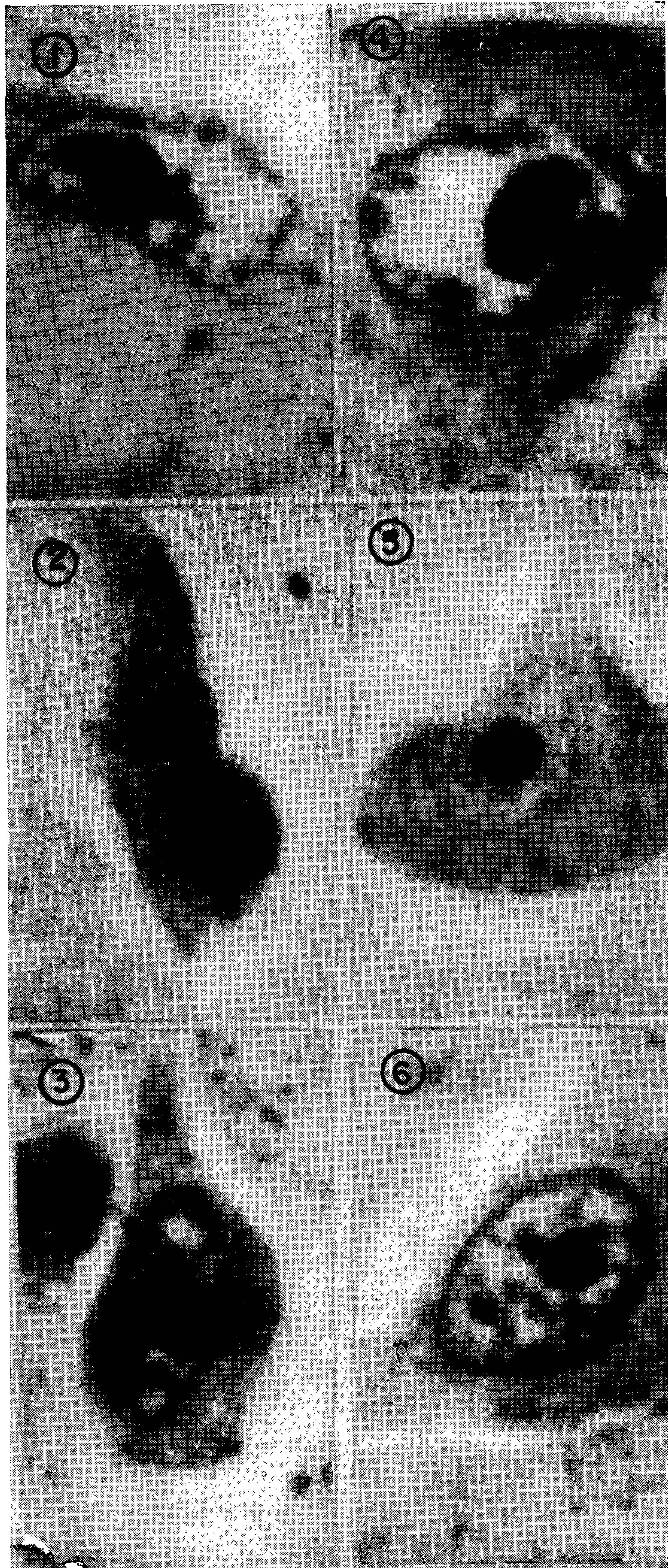
Fig. 11 — Mielite rábica. Medula lombar. 1 — Processo inflamatório intenso, com participação de neurônios motores, que se mostram alterados. Col.: Tricrômico de GOMORI. Oc. 10 x Obj. 24 x Leitz. 2 — Núcleos de neurônios motores, vendo-se corpúsculos arredondados simples (*a* e *c*) ou múltiplos (*b* e *d*) próximos ao nucléolo. Col.: Chromotrope 2 R. Oc. 10 x Obj. 93 x Im. Leitz.



Alencar: Neuroviroses Humanas

## ESTAMPA XII

Fig. 12 — Processos degenerativos. 1 e 4: Esclerose lateral amiotrófica. Observa-se hipertrofia nucleolar, mas não desintegração ou extrusão de nucleolinos, ou “brotamento” nos nucléolos. Col.: Tricrômico de GOMORI. 2 e 5: Arteriosclerose cerebral. Observa-se pequena hipertrofia nucleolar e vacuolização discreta. Col.: Cresil-violeta, 3 e 6: Doença de Parkinson. Núcleos e nucléolos aparentemente normais. Col.: Tricrômico de GOMORI. Oc. 10 x Obj. 93 x Im. Leitz.



Alencar: Neuroviroses Humanas