

# CERES

Janeiro e Fevereiro - 1941

VOL. II

N. 10

Escola Superior de Agricultura e  
Veterinária do Estado de Minas Gerais

VIÇOSA — E. F. Leopoldina

DIRETORES :

Prof. Nello de Moura Rangel  
Prof. Geraldo G. Carneiro  
Prof. Octávio A. Drummond  
Prof. Joaquim F. Braga  
Prof. Edgard Vasconcellos  
Prof. Arlindo P. Gonçalves

## NAS FRONTEIRAS DA VIDA

### Bacteriófago e proteína-vírus

Prof. ANDRÉ DREYFUS (\*)

**I. Introdução** — Felizes os naturalistas de outros tempos, quando o microscópio ainda não havia sido inventado. Nada era mais simples do que a identificação de um ser vivo e sua distinção em relação aos sistemas não-vivos. Os menores seres então conhecidos, apresentavam caracteres como a nutrição, a capacidade de se reproduzirem, a sensibilidade, uma forma específica, que os separavam com clareza do mundo da matéria bruta.

Aconteceu, porem, que o microscópio foi inventado e com ele veio a confusão. Muito teríamos a dizer, se entdessemos passar em revista o valor de todas as diferenças apontadas pelos modernos biólogos para a identificação de um ser vivo. Aqui só versaremos algumas delas e, mais particularmente, as que decorrem da existência de seres vivos muito pequenos.

Tal descoberta foi um verdadeiro desastre para as pessoas que gostam de ter idéias claras e precisas sobre todas as cousas e o desastre deve-se, em primeiro lugar, ao microscópio. Entre parêntesis, e ninguém nos ouvindo, devo confessar que para muitos pesquisadores, um dos grandes

(\*) Conferência proferida pelo Prof. André Dreyfus, lente de Biologia Geral na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de S. Paulo, a convite da Diretoria da ESAV.



atrativos da ciência está em que, graças a ela, as cousas mais evidentes, são tornadas cada vez menos simples, e a natureza, à proporção que nos vamos embrenhando na pesquisa da verdade, cada vez mais obscura, complexa, ininteligível.

Aqui está, diante de mim, uma mesa. Para o homem comum é um objeto sólido, massiço, impenetravel, com determinados atributos de forma e côr. Para o físico é um agregado de particulas muito pequenas, os átomos, decomponíveis em outras particulas ainda muito menores, menores do que tudo quanto a imaginação humana possa imaginar: eléctrons, protons, neutrons, girando com velocidades increíveis umas em torno das outras.

Pudéssemos juxtapor todas essas particulas, existentes na mesa, e resultaria um comprimido menor do que a cabeça de um alfinete, dimensões a que, então, se reduziria a parte, por assim dizer, material da mesa, da qual todo o resto é formado de nada.

E o mais notavel é que, para os fisicos de hoje, essas particulas são tambem ondas e não se sabe dizer, num dado momento, se estão aquí ou ali.

Compreende-se assim a perplexidade do leigo, mesmo quando excepcionalmente inteligente, diante das teorias científicas, já que desconhece os motivos que levam os sábios a acreditar em cousas aparentemente tão paradoxais. E' assim que Bernard Shaw, no magnifico prefácio da «Santa Joana», se exprime da seguinte forma: Na Idade Média, as pessoas acreditavam que a terra era chata, crença que ao menos se baseava na evidência dos sentidos. Nós, ao contrário, acreditamos que é redonda, não por que um por cento dentre nós possa dar as razões físicas de uma crença tão bizarra, mas porque a ciência moderna nos convenceu de que nada que é evidente é verdadeiro; e que tudo que fôr mágico, improvavel, extraordinário, gigantesco, microscópico, cruel ou ultrajante, é científico.

«Não se deve, seja dito de passagem, supor que eu pretenda que a terra é chata ou que toda ou parte de nossa credulidade seja ilusão ou impostura. Defendo somente minha época da acusação de ser menos imaginativa do que a Idade Média. Afirmo que o século XIX e mais ainda o século XX, podem por o século XV no chinelo, no que respeita a capacidade de crer em maravilhas e milagres, em santos e profetas, em mágicos e monstros e em contos de fada de todo gênero.

«Os doutores em divindade da Idade Média, que abso-



lutamente não tinham a pretensão de fixar o número de anjos capazes de dansar na ponta de uma agulha, fariam bem triste figura, quanto à credulidade romanesca, ao lado dos físicos modernos, que fixaram, com uma precisão de bilionésimo de milímetro, cada movimento e cada posição da dança dos electrons (1). Não vejo porque os homens que acreditam nos eléctrons, se consideram menos crédulos do que os homens que acreditam nos anjos»,

**II. O microscópio e suas revelações** — Não há acordo entre os autores sobre o primeiro responsável pela invenção do microscópio. Atribuído sucessivamente a Hans e Zacharias Janssen (1590 a 1610); Galileu (1610) que utilizou a luneta astronômica por ele inventada e levemente modificada em occhialino, afim de observar objetos muito pequenos; Fontana (1618); Cornelius Drebbel (1621): o certo é que tal invento «estava no ar», isto é «estava maduro» em consequência das descobertas que então haviam sido feitas.

Utilizando o microscópio, o físico inglês Roberto Hooke (1665) viu pela primeira vez que um fragmento de cortiça era constituído por um sem número de cavidades muito pequenas, microscópicas, a que muito logicamente denominou células (diminutivo de cela — cavidade). A existência de unidades muito pequenas, constituindo «elementos» presentes nos seres vivos começou então a ser verificada por vários pesquisadores, tanto nas plantas, quanto nos animais; as «vesículas» de Nehemia Grew (1671), os «utrículos azotados», de Malpighi (1675) e elementos do mesmo género são vistos nos embriões por Gaspar Frederico Wolff (1759). Ficou então claro que o nome «célula» era errado, pois fazia abstracção da parte propriamente viva de que se compõe tal unidade, levando em conta apenas a membrana, ou melhor, derivados dela, isto é, simples esqueletos. Aos poucos chegou-se então a concluir que os seres vivos, tanto animais, quanto plantas, tanto adultos, quanto embriões, são formados por células ou produtos delas derivados. Tal é a opinião de Dutrochet (1824) segundo a qual: «Tudo deriva da célula no tecido organizado dos vegetais e a observação vem nos provar que o mesmo se dá nos animais». «Todos os tecidos, todos os órgãos não passam de um tecido de células diversamente modificadas», e é notavel que Turpin (1826) haja escrito: «uma árvore, bem como um ser organizado qual-

---

(1) O «prefácio» foi escrito muito antes de ter Heisenberg estabelecido o princípio de indeterminação.



quer, começa por um só globulo ou vesicula-mãe». Brisseau de Mirbel, Raspail, além dos já citados, facilitaram assim a obra de Schleiden (1838) e Schwann (1839) tidos, um tanto injustamente, como acabamos de vêr, como os fundadores da teoria celular. Estabeleceram então que todo ser vivo é constituído por células ou substâncias delas derivadas.

A primeira descrição clara e satisfatória do conteúdo gelatinoso da célula, isto é, de seu conteúdo vivo, deve-se ao zoologista francês Dujardin que assim se exprimiu (1835): «Propenho chamar assim (sarcódio) o que outros observadores designaram geléia viva, esta substância glutinosa, diáfana, insolúvel na água, contraindo-se em massas globulosas, prendendo-se às agulhas de dissecação e se deixando estirar como muco, encontrando-se enfim em todos os animais inferiores, interposta aos elementos de estructura». Apenas, os sucessores de Dujardin preferiram chamar a geléia que enche a célula viva, protoplasma e não sarcódio.

Em tal época tornou-se corrente a noção de que, além da geléia que Dujardin tão bem descreveu e da membrana, mais ou menos diferenciada que, em volta dela se podia vêr, havia em toda célula outra geléia, com propriedades diferentes da primeira, o núcleo, cujo estudo aprofundado tão brilhantes resultados trouxe à cito-genética contemporânea.

Schleiden e Schwann tinham, como muitos seus precursores e contemporâneos (nem todos, é verdade) idéias falsas sobre a origem das células. Muito embora as primeiras divisões celulares tivessem sido observadas desde 1841 (Remak), a noção de que só por divisão se podem originar células, sendo portanto este o único processo de formação celular, deve-se a Wirchow (1857), que afirmou «omnis célula e célula».

Ficou assim estabelecido que o mundo dos seres vivos é um mundo a parte, pois apesar da extrema variedade de seres vivos que nos cercam, no fundo todos eles se reduzem a um fator comum, a célula. A imensa diversidade da natureza viva encobriria no fundo uma monótona homogeneidade: a célula, sempre a célula, havendo, é verdade, pequenas diferenças entre os vários tipos de células. Comprehende-se então com clareza que todos seres vivos tenham processos comuns, e serão aqueles que forem subordinados a fatores presentes em toda e qualquer célula, ao lado de processos especiais, dependentes de dispositivos próprios à determinadas células. Do primeiro grupo servem de exemplo as leis da genética, hereditariedade e variações que dependem de mecanismos cromosômicos, absolutamente



universais; do segundo, a diferença entre o tipo de nutrição da planta e do animal, devido a presença da clorofila, inexistente neste último.

Até aqui, tudo corria bem: o ser vivo é formado por uma ou muitas células, e este critério parecia suficiente para distingui-lo do sistema não-vivo.

**III. Primeiras dificuldades — Os micróbios** — Os primeiros micróbios foram vistos por um dos mais extraordinários pioneiros da microscopia: Antonio van Leeuwenhoek em 1677. É notável que só muito mais tarde se suspeitou e depois provou o papel dos mesmos na gênese de numerosas doenças. Antigamente eram as doenças atribuídas a causas sobrenaturais, tais como maus espíritos ou vontade dos Deuses; a seguir foram elas ligadas a causas naturais: cometas, terremotos, estações do ano, etc., Voltamos porém aos micróbios. Antes de vos mostrar como foram descobertos, deixai-me ler um trecho da biografia de Leeuwenhoek por de Kruif, além de que possais vos representar, com clareza, as dificuldades com que lutavam os homens que, naquela época, procuravam investigar a natureza: «Em nossos dias, quem se dedica ao estudo das ciências é respeitado e admirado. Os cientistas pertencem hoje à classe eleita da população, seus laboratórios existem no mundo inteiro, suas descobertas têm lugar de honra nos jornais, ainda quando anunciadas prematura ou mesmo erradamente. Qualquer jovem inteligente se pode dedicar aos estudos científicos e progredir até chegar à cátedra Universitária, ganhar vencimentos dignos e receber honorários.

Bem diversas eram as cousas a 250 anos, no tempo de Leeuwenhoek. Reportando-vos a esse tempo, imaginai que vos encontráis convalescendo de uma crise de cachumbas. Perguntando ao vosso pai a causa da doença, responder-vos-ia: as cachumbas são devidas a um espírito maligno, chamado espírito das cachumbas, que em vós penetrou.

Ainda quando uma tal explicação não vos satisfizesse, deveríeis fingir estar dela convencido, já que qualquer dúvida vos poderia custar muito caro. O pai era a autoridade. Assim era o mundo, quando nasceu Leeuwenhoek».

Leeuwenhoek era de origem humilde. Trabalhou com o conta-fios e, aperfeiçoando este instrumento, passou a examinar toda a sorte de objetos e a fazer interessantes descobertas. Tais descobertas, tendo interessado alguns de seus contemporâneos, procurou-se encontrar um jeito para que Leeuwenhoek pudesse trabalhar socegradamente e assim foi



nomeado bedel da câmara dos vereadores de Delft, por onde se vê que emprego público, já de ha muito, vem sendo solução salvadora.

E' notavel a grande ignorância de Leeuwenhoek. Assim, a única lingua que falava era o holandês, considerado então como um vulgar dialecto, desprezado pelas pessoas cultas e bom para pescadores e mercadores. As pessoas cultas escreviam, então, em latim do qual Leeuwenhoek não sabia uma só palavra, ignorância provavelmente providencial, já que o deixou ao abrigo dos absurdos da cultura da época e livre de se dirigir apenas por suas faculdades pessoais de observação e raciocínio. Toda a biblioteca de Leeuwenhoek consistia numa Biblia holandesa. E quanto a instrumentos de observação, Leeuwenhoek só trabalhou com microscópios feitos por ele mesmo e por processos rudimentares. Numerosissimos foram os microscópios de Leeuwenhoek e, por vezes, deixava um mesmo objecto, dias ou semanas em observação. E tão notáveis foram suas observações que um seu conterrâneo de Delft, Régnier de Graaf, entusiasmado com elas, induziu-o a que as communicasse a Royal Society, da qual Leeuwenhoek se tornou membro correspondente.

Toda a obra científica de Leeuwenhoek consiste em sua correspondência à Royal Society, correspondência onde as descobertas scientificas vêm misturadas com histórias relativas à familia e à saude do próprio autor.

Um dia perguntou-se Leeuwenhoek, qual seria a causa do sabor picante da pimenta. Não seriam pontas que iriam ferir a bôca? Para resolver isso pôe a pimenta na água e ao cabo de alguns dias examina a infusão ao microscópio e fica estupefato com a presença de "miríades de toda a espécie de animalículos, que graciosamente se movem para cá e para lá, girando e regirando para um lado e para o outro". Estavam descobertos os primeiros micróbios.

Feita a comunicação à Royal Society, tal foi a surpresa suscitada que esta designa dois de seus membros, Roberto Hooke (um dos inventores do microscópio) e Nehemia Grew (um dos descobridores da célula vegetal) para repeti-la. E foi assim que, no dia 15 de Novembro de 1677, os membros da Royal Society viram os primeiros micróbios. Enviou então a Royal Society um de seus membros, Molyneux, a Delft, já que Leeuwenhoek não queria vir a Londres, afim de vêr os microscópios e os preparados do extraordinário investigador. E quando Molyneux exclamou: "Mas os seus instrumentos são maravilhosos. Vêm-se os objectos mil vezes mais nítidos do que com os melhores microscópios ingleses," respondeu



Leeuwenhoek: "Que pena que eu não lhe possa mostrar meus melhores microscópios e meu especial sistema de observar neles, mas isso é exclusivamente para mim e não os mostro a ninguém, nem mesmo a minha família!"

Leeuwenhoek viu os primeiros micróbios e o que isso representa foi bem posto em evidência por de Kruiff:

«Alexandre o grande, chegado a Índia, deparou com poderosos elefantes, isto é, animais que nenhum olho grego jamais vira, mas, para os indianos, o elefante era tão vulgar como o cavalo para os gregos.

César, desembarcado na Inglaterra, deu com selvagens que o deixaram estupefacto, mas os britânicos eram para seus irmãos tão comuns como os centuriões romanos para César.

E como não se devia sentir envaidecido Balboa, quando primeiro entre os europeus, lançou seus olhares sobre o Oceano Pacífico. No entanto, este oceano era tão familiar aos indígenas da América Central, como o Mediterrâneo para Balboa.

Completamente diversa é a situação de Leeuwenhoek! O ingênuo porteiro de Delft, tinha lançado seus olhos para um mundo fantástico de seres minúsculos, criaturas que haviam vivido, lutado, se multiplicado e morrido, desde os tempos mais remotos, sem que nenhum homem tivesse jamais suspeitado sua existência.

Entre eles havia alguns capazes de destruir, aniquilar populações inteiras de seres humanos, cada um dos quais era milhões e milhões de vezes maior do que eles próprios.

Muito mais terríveis do que os dragões que vomitam fogo e as hidras de cem cabeças, eram assassinos que não respeitam a criança no berço ou o rei entre seus guardas!

Tal era o mundo invisível, por vezes implacável, por vezes útil, que Leeuwenhoek foi o primeiro a observar.»

Convém, no entanto, salientar que a prova experimental do papel dos micróbios, só foi dada na segunda metade do século XIX. Não nos cabe aqui lembrar as controvérsias então havidas, relativamente às fermentações, à teoria microbiana das doenças e à geração espontânea, que sobrevieram às críticas de Redi e de Spallanzani. Como é sabido, a solução foi dada, principalmente, graças aos trabalhos de Pasteur, Koch, Tyndall, Davaine, etc. e então ficou perfeitamente claro que certas doenças são realmente devidas a determinados micróbios. O que deve ser assinalado neste momento, é que a descoberta dos micróbios veio mostrar que existem seres vivos nos quais não se pode pro-



var a existência de uma estrutura celular típica. Não nos interessam as discussões sobre a matéria, mas o simples fato de que existam tais discussões é a prova de que ha micróbios onde o núcleo ou outras particularidades características das células típicas não são encontradas. Em conclusão, ha seres vivos, os micróbios nos quais não se pode provar a presença de uma estrutura celular típica.

**IV. Novas dificuldades — Os vírus —** Tendo ficado perfeitamente claro que certas doenças são devidas a determinados micróbios, pensou-se que todas doenças pudessem ter por causa um germen específico. Em 1892 Ivanowsky mostrou que o suco de plantas atacadas pelo mosaico era infectuoso. O nome mosaico foi dado por Adolpho Meyer a uma série de estados mórbidos, observados em várias plantas: fumo, tomate, cana de açúcar, batata, etc. e que têm de comum o fato de apresentarem, as folhas da planta doente, o limbo maculado de verde e pardo e, além disso, deformações mais ou menos aparentes (fig. 1). Viu-se que o período de incubação da doença é aproximadamente de 6 a 15 dias.

Procurou-se então o "micróbio" do mosaico, mas tal pesquisa nenhum resultado deu. Mais ainda, viu-se que, o filtrado do suco da planta doente, feita num filtro de poros tão pequenos que nenhum germen o atravessasse, ainda assim conserva esse suco seu poder infectuoso. Chegou-se, pois, ao conceito de "virus filtráveis", ou seja, sistemas que tinham pontos de contacto com os micróbios, mas que eram invisíveis.

O mosaico e a raiva foram os primeiros virus identificados, mais tarde ajuntaram-se-lhes a febre aftosa e a febre amarela e, a seguir, os agentes causais de várias outras doenças de plantas e animais, o homem inclusive (variola, psitacose, encefalite epidêmica, poliomielite, certos tumores, etc.,).

A expressão virus filtráveis foi substituída pelo nome virus, já que em alguns casos foi visto que certos virus não passavam em filtros, permeáveis a determinados germes. Ainda em relação aos virus foi verificado que não se cultivam nos meios onde habitualmente vicejam os micróbios; necessitam, para viver, de células vivas e por isso só podem ser estudados no laboratório, fóra dos animais de inoculação, quando inoculados em culturas de tecidos ou, mais simplesmente (pelo menos para alguns deles), na membrana cório-alantóide do ovo da galinha.

Vemos assim que as principais propriedades dos virus, são, por assim dizer, propriedades negativas: são invisíveis



ao microscópio comum, não se cultivam nos meios onde habitualmente o fazem os micróbios comuns. Têm, no entanto, capacidade de se reproduzir e produzir doenças que os aproximam dos micróbios patogênicos.

E' notavel que o desenvolvimento de muitos virus esteja ligado ao aparecimento das chamadas inclusões, nas quais vislumbramos corpúsculos elementares, tidos como as próprias unidades do virus; as inclusões sendo grupos deles, aglomerados por produtos elaborados pelas células (fig. 2). Utilizando aparelhos com poder resolvente maior do que o microscópio comum, foi possível "vêr" com mais clareza as unidades de que se compõem os virus, para tal fim foram usados o microscópio fluorescente, o microscópio de raios ultra-violetas (Barnard) e o microscópio electrónico.

São particularmente interessantes os dados fornecidos por este último aparelho. Como é sabido o poder resolvente do microscópio comum encontra um limite intransponível no comprimento de onda da luz com que se ilumina o microscópio; logo, um processo lógico para augmentá-lo seria usar luzes com comprimento de onda inferiores aos habitualmente empregados. Os resultados, obtidos, com o uso, por exemplo, dos raios ultravioletas, não corresponderam às esperanças dos experimentadores que tanto trabalho desperdiçaram nesse sentido. O emprego de raios muito mais curtos, como os raios X ou gamma do rádio, não pode ser feito, pois, embora possam tais radiações ser difractadas pelas estruturas cujas imagens pretendemos obter (e a difracção em questão é, precisamente, a primeira condição para obtenção da imagem da estrutura difractante), tais raios, depois de difractados, não podem ser refractados, por nenhum meio ao nosso alcance. E, sem esse desvio, é impossível uma imagem augmentada do objecto, como decorre das leis da óptica geométrica. Tratava-se, portanto, de encontrar uma radiação que fosse muito mais curta do que a luz branca (que comprehende ondas de 4.000 a 8.000 Angströms) e passível de ser em seguida desviada, isto é, refractada.

Ora, estabelecido por Einstein, que, no fenómeno luminoso, tido como ondulatorio, devemos tambem considerar unidades discretas de luz ou fotons dotados de certo comprimento de onda aos quais estão associadas propriedades corpusculares, foi por de Broglie postulado que tambem ao electron, que possui propriedades corpusculares, devesse estar associado um certo comprimento de onda, comprimento que será função da velocidade deste mesmo electron (tanto menor, quanto mais veloz o electron).



Pois bem, um feixe de electrons (raios catódicos) formado por elementos de comprimento de onda extremamente pequeno, pode ser lançado (iluminar) sobre uma estrutura que o difratará e, em seguida, ser desviado (refractado) seja por um campo magnético, seja por um campo elétrico. Foi verificado que um electron acelerado por um campo de 50.000 volts tem um comprimento de onda de ordem de 0,1 Angström, o poder resolvente sendo então muitíssimo maior do que o que se consegue com a luz visível, permitindo assim utilizar aumentos da ordem de 50.000 diâmetros ou mesmo mais. (E. e H. Ruska, H. Borries, Brücke, E. e Haagen, E.).

As dificuldades técnicas que apresenta o microscópio electrónico são consideráveis. As imagens são focalizadas sobre uma placa fluorescente que é, em seguida, substituída pela chapa fotográfica. Todo o sistema, desde o manancial dos raios até a chapa fotográfica, precisa estar no vazio, pois o ar não deixaria passar os raios catódicos. A confecção do preparado exige cuidados muito especiais. Finalmente, é necessário que as correntes tenham intensidade praticamente constante, pois tal seja a aceleração dos electrons, tal será seu comprimento de onda, e tal seja a intensidade dos campos magnéticos (ou elétricos) nas bobinas-lentes, tal será a distância focal. A fig. 3 mostra alguns resultados relativos aos virus fotografados com o microscópio electrónico, (notamos a escala, que é 1 micra). Os corpúsculos elementares podem ser então nitidamente reconhecidos, sem que, no entanto, dentro deles se possa provar a existência de um núcleo ou partícula individualizada.

Em conclusão: o exame dos virus com o auxilio do microscópio electrónico, mostra a existência de corpúsculos elementares sem ter, no entanto, provado possuírem eles uma estrutura celular típica.

Antes de prosseguir, procuremos nos representar as dimensões dos elementos de que nos estamos ocupando. Para tanto, tomemos como ponto de partida um elemento que nos seja familiar, o ovo da galinha por exemplo, cujo grande diâmetro orça por 7 cm.. O óvulo humano é uma esferazinha de 0,2 mm (200 micra) de diâmetro, ou seja, está no limite da visibilidade a olho desarmado. Se fizéssemos crescer este óvulo de sorte a dar-lhe 1 cm de diâmetro, então o ovo da galinha atingiria 3,5 metros de diâmetro. Mas o óvulo humano, a maior célula do corpo humano, é um objeto grande demais para dar idéia das dimensões dos elementos de que nos estamos ocupando. Melhor seria que nos reportemos ao glóbulo vermelho humano. E' ele bastante pequeno (disco de 7,5 micra de diâmetro) pois que em  $1\text{mm}^3$  de nosso



sangue ha 5.000.000. desses glóbulos (constituindo um pouco menos de metade da massa do sangue). Pois bem, se fizermos crescer o glóbulo vermelho de sorte a fazê-lo passar de 7,5 micra a um cm. de diâmetro, então o óvulo humano mediria 27 cm. e o da galinha 94,5 metros de diâmetro. Demos agora um último passo. Façamos crescer o glóbulo vermelho humano até que seu diâmetro seja de 22,5 cm. então o óvulo humano seria uma esfera de 6 metros e o ovo da galinha passará a ter seu grande diâmetro de 2 quilômetros e 100 metros.

Em tal escala, células comuns, os micróbios e os virus (pelo menos os maiores deles) serão visíveis a olho nú. E' assim que o bacilo do carbúnculo que é dos maiores micróbios e tem 5 a 10 micra de comprimento, passaria a ter 15 a 20 cm. de comprimento; o da peste com 1,5 micra teria 4,5 cm.; o da influenza que figura entre os menores micróbios (0,2 a 0,5 micron) teria 6 mm. a 1,5 cm. Os grânulos dos estafilococos (micróbios do pus comum), com 0,7-1,2 micron, passariam a 2,1-3,6 cm. Finalmente os corpúsculos elementares dos virus, cujas dimensões são de 0,3 micron (Rickettsia) a 8 a 12 milimicron (milésimos de micron) teriam de 9 mm. a 0,24 mm, isto é, seriam pontos no limite da visibilidade a olho desarmado (fig. 2). Logo, se um ovo de galinha fosse aumentado até ter um grande diâmetro de cerca de 2 quilômetros, os menores virus (e os bacteriófagos, de que nos ocuparemos dentro em pouco, têm dimensões da mesma ordem de grandeza) seriam apenas visíveis a olho nú. A fig. 4 dá ideia do tamanho dos principais virus, bacteriófagos e moléculas protéicas.

Não menos sugestiva, quanto as dimensões dos elementos de que nos estamos ocupando, é a imagem que devemos a H. J. Müller. Admitindo-se que a futura geração de homens, que irá suceder diretamente à atual, seja formada, aproximadamente, por 2 bilhões de individuos (é aproximadamente a atual população da terra), os 2 bilhões de óvulos que irão engendrar a futura geração ocuparão um volume de 4,5 litros (um garrafão). Agora, os 2 bilhões de espermatozóides, que os irão fecundar, considerando-se apenas sua cabeça, que é a parte que intervem diretamente na fecundação, ocupariam um volume igual a 1/2 comprimido de aspirina. Ora, como a substância hereditária (cromática) contida naqueles 2 bilhões de óvulos ocupa aproximadamente o mesmo volume que a cromatina dos espermatozóides, teremos finalmente que toda a substância hereditária, que irá determinar os caracteres da geração de amanhã, cabe em um volume igual ao de uma aspirina.



**V. Outras dificuldades — O bacteriófago** — O «bacteriófago» entrevisto por Twort (1915) foi posto em evidência de modo claro graças aos trabalhos de d'Hérèlle (1917). Em síntese trata-se do seguinte: d'Hérèlle verificou que se, a um caldo de cultura, repleto de bacilos da disenteria e por isso mesmo, turvo, ajuntarmos uma gota do filtrado de fezes de um convalescente de disenteria, observaremos, se deixarmos o tubo numa estufa a 37°, ao fim de algumas horas, uma dissolução dos germens e consequente desaparecimento da turvação. Podíamos pensar em alguma substância química, presente nas fezes dos indivíduos que se defenderam vitoriosamente contra a injeção disintérica e que teria a faculdade de determinar a lise dos micróbios. Tal explicação se torna inadequada quando se verifica que uma gota do caldo tornado transparente, pingada em um segundo tubo contendo como o primeiro, caldo e germens da disenteria, basta para, em algumas horas a 37°, promover a lise desse segundo lote de germens e assim por diante, indefinidamente. Ora, uma substância química, se exgotaria progressivamente, de sorte a deixar de agir, depois de determinada diluição.

Fez então d'Hérèlle a hipótese seguinte: o indivíduo convalesce de disenteria porque nele se desenvolve um inframicrobio que vai se nutrir a custa do bacilo da disenteria. Assim, este «bacteriófago» penetra no bacilo e nele se reproduz transformando-o num como que saco de bacteriófagos. Explodido este, ficam livres os bacteriófagos, cada um dos quais parasita um segundo germen e assim por diante até completa lise de todos os micróbios e, naturalmente, grande enriquecimento do caldo em bacteriófagos. Eis porque uma gota de caldo, após a lise dos micróbios basta para lisar um novo tubo.

Não nos cabe aqui discutir esta teoria de d'Hérèlle, aceita por alguns e combatida por muitos (Bordet, Costa Cruz, etc.). Lembremos apenas que outras interpretações foram dadas para o fenómeno, também conhecido como «lise em série». Assim, pensou-se numa modificação do metabolismo do microbio, de tal maneira que entre os produtos desse novo metabolismo, figurasse uma substância que iria determinar a lise da bactéria, tal substância uma vez libertada, estimularia esse mesmo metabolismo viciado, donde lise de novos micróbios, e assim sucessivamente, até lise total.

D'Hérèlle no entanto, continuou a defender seu ponto de vista, isto é, que o fenómeno da lise em série seria devido a um ser vivo fagócito da bactéria e entre outros





Fig. 1 — Folhas de fumo (*Nicotiana glutinosa*) mostrando lesões cada vez mais marcadas de «mosaico». (Stanley).

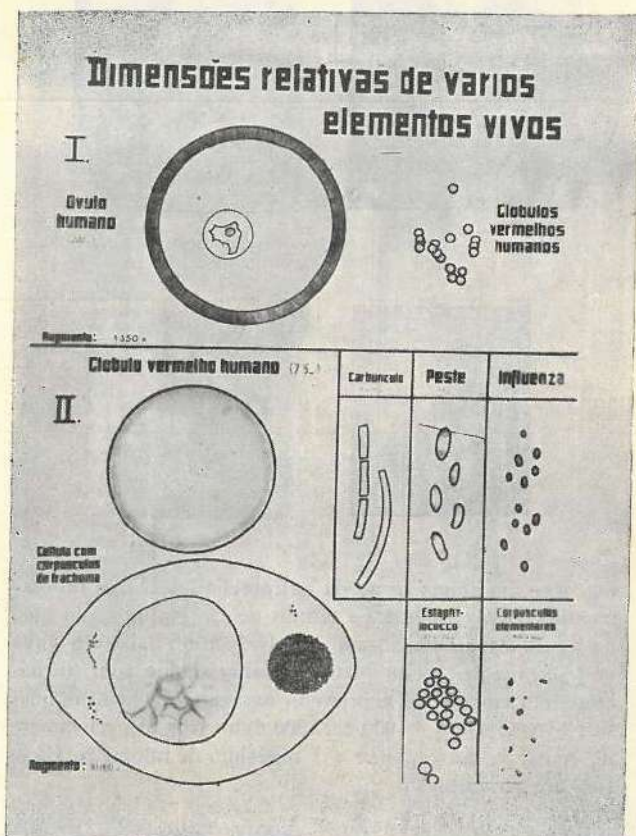


Fig. 2 — Dimensões relativas de vários elementos vivos. Explicação no texto (Dreyfus).



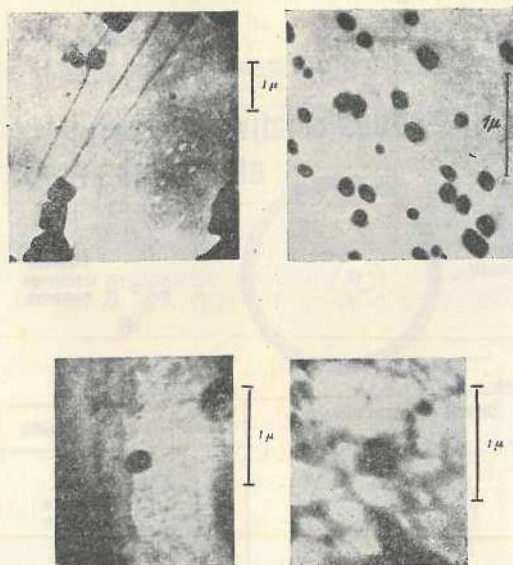


Fig. 3 — Em cima: vírus da ectromelia infecciosa do camandongo, à esquerda ha cristais de cloreto de sódio que, na figura da direita, foram dissolvidos; em baixo: o vírus do mixoma do coelho. Ambos fotografados com o microscópio electrónico, o primeiro aumentado 11.500 diâmetros e o segundo 19 000 e 22.000 diâmetros respectivamente. A escala corresponde a 1 milésimo de milímetro (Borries, Ruska e Ruska).



## Tamanhos comparativos dos virus - Stanley 1930

(tomados esfericos para comparacao)



\* Molecula solidamente muito simetrica

Fig. 4 — Tamanhos comparativos de virus, bacteriófagos e algumas moléculas orgânicas (Stanley).





Fig. 5 - Cristais do mosaico do fumo, fotografado com o microscópio electrónico. Aumento 20.000 diâmetros. Escala: 1 milésimo de milímetro. (Kausche, Pfankuck e Ruska).



argumentos lembra que 50 bacteriófagos diferentes agindo sobre a mesma raça de bacilos coli, dão 50 bacteriófagos diferentes e não um único, o que provavelmente ocorreria si se tratasse de um produto da bactéria; além disso, lembra que Sertic conseguiu filtros que retinham o bacteriófago, deixando passar suas lisinas, (logo o «bacteriófago» não se confundiria com a substância lítica por ele secretada).

Cabe aqui referir os notáveis trabalhos de Northrop (1937-1938) que estudou a fundo o bacteriófago de um estafilococo, utilizando para tal fim as técnicas de Northrop, Kunitz e Herriot para o estudo da tripsina (1934) e pepsina (1936-1938). Northrop isolou do lisado do estafilococo uma nucleoproteína de peso molecular compreendido entre 500.000-30.000.000. É uma substância muito instável, com caracteres físicos e químicos perfeitamente definidos e com atividade bacteriófaga, o que lhe permitiu tirar a seguinte conclusão: «a formação do bacteriófago é mais simplesmente explicada pela analogia com a formação autocatalítica da pepsina e tripsina, do que com a analogia com sistemas mais complicados, como os seres vivos». (Northrop, J.— Concentration and purification of Bacteriophage — The Journal of General Physiology — Vol. 21. 1937-38).

Em síntese, podemos comparar o que acontece com a nucleoproteína de Northrop ao que sucede com as proteínas ordinárias das células. É sabido que a célula (ou o organismo) crescendo, determina o aumento das proteínas nela contidas, o que se explica por um fenômeno de autocatálise. O mesmo acontece com a nucleoproteína em questão, com uma diferença apenas, é que no presente caso estamos diante de uma substância que não é um constituinte normal das células; é necessário inoculá-la na bactéria para que então sua produção comece a se dar. Fosse o bacteriófago um constituinte habitual do germen e o teríamos como análogo às demais proteínas componentes do micróbio. Apenas acrescentariamos às propriedades do germen em questão, esta: é um micróbio que se dissolve espontaneamente com grande facilidade.

Interpretação semelhante é admitida hoje em relação aos anticorpos (ou seja, produtos formados pelos seres vivos e graças aos quais se defendem contra agressões de toxinas, venenos ou micróbios). Provavelmente (Hooker e outros) não passam de globulinas normais das células, que, sob a influência dos antígenos (substâncias capazes de provocar a formação de anticorpos) são agora — em consequência de uma modificação do metabolismo provocada por esses mesmos antígenos — formadas pelas células, inundando a se-



guir o organismo todo (Hooker, J. B.—The Nature of antibodies — Journal of Immunology, Vol. 33 — 1937).

**VI. Últimas dificuldades — a proteína vírus** — Já vimos que muitas doenças infecto-contagiosas, são devidas a agentes que receberam o nome de vírus. Embora invisíveis pelos processos comuns de observação, capazes de nos mostrar os micróbios patogênicos, e incultiváveis nos meios onde habitualmente se cultivam esses micróbios, foram, pela totalidade dos especialistas, interpretados como seres vivos comparáveis a micróbios patogênicos e isso pela sua capacidade de produzir doenças, de se reproduzirem e de se propagarem do indivíduo doente para o sã.

Acabamos de mostrar que o bacteriófago interpretado pelo seu descobridor como um ser vivo, foi considerado pela maioria dos especialistas como um sistema não vivo, análogo a fermentos celulares, o que se pode considerar como confirmado pelos trabalhos de Northrop, concluindo ser a atividade bacteriófaga devida á uma *substância química pura*.

Tal descoberta não causou tão grande espanto como a que agora vamos referir, porque, como já dissemos, desde a descoberta do fenômeno da lise em série, foi o mesmo, por muitos autores, interpretado em termos de uma explicação onde nenhum ser vivo intervinha.

O mesmo não se deu com a descoberta notavel de W. M. Stanley, pois, como acabamos de lembrar, os vírus foram desde longa data (Ivanowski em 1892) tidos como sistemas vivos.

Partindo do fato bem observado, de que a planta (fumo) doente de mosáico possui 5 a 10 vezes mais proteína do que a planta sã, Stanley após 4 anos de trabalhos insanos, ponde (1935) obter, a partir do suco da planta doente, uma substância pura, utilizando-se para tanto dos métodos acima referidos para obtenção dos fermentos (Northrop). Esta proteína extraída do vegetal doente, representa 80% a 90% das proteínas próprias da planta doente.

Para se ter uma vaga idéia do trabalho que tal isolamento representa, lembraremos que as seguintes manipulações foram necessárias para tal fim: 1) Congelação das folhas frescas de fumo turco infectadas pelo mosáico; trituração destas folhas por um moinho; adição á polpa vegetal assim obtida de uma solução de fosfato bisódico na taxa de 0,1 M e extração do suco por uma prensa; diluição da torta na mesma solução de fosfato bisódico e nova extração, de tal maneira que, partindo de cerca de 1.300 gr. de polpa, recolhem-se cerca de 2 litros de suco; 2) neste líquido dis-



solvem-se cerca de 600 grs. de  $\text{SO}^4(\text{NH}^4)^2$  e, assim, precipita-se uma espécie de globulina que é retirada por filtração sob pressão em papel Schleicher. Obtem-se assim 4 grs. de globulina que são dissolvidas em 500 cc. de solução de fosfato bisódico (pH 7) e tal líquido é filtrado sobre delgada camada de celite, disposta num funil Buchner; lava-se a camada de celite com 100 cc. de solução de fosfato e junta-se o novo filtrado ao precedente; nestes 600 cc. dissolvem-se 120 grs. de sulfato de amônia e obtem-se um novo precipitado e depois de ter repetido esta mesma manipulação 2 vezes, obtem-se um líquido opalescente e levemente pardo contendo 2,5 grs. de globulina. 3) o líquido, no qual a globulina é ainda impura, é adicionado de ácido sulfúrico para que o pH chegue a 4,5; forma-se um precipitado que é retido por uma camada de celite; o precipitado e a celite são postos em suspensão em 300 cc. de água e o pH é levado a 8 por adição de CaO; a suspensão é filtrada, a proteína está contida agora num líquido quasi incolor ao qual se junta  $\text{SO}^4(\text{NH}^4)^2$ , até o teor de 10% e ácido acético até pH 4,5, condições apropriadas para obter-se a cristalização. Após várias operações, o rendimento a partir de 1.300 grs. de polpa é de cerca de mais ou menos 2 grs. de proteína, em forma de agulhas microscópicas de 20 a 30 micra de comprimento.

Tais agulhas seriam o empilhamento de unidades menores, o que foi confirmado pelo exame no microscópio eletrônico. E' assim que Kausche, Pfankuch e Ruska, fotografaram (fig 5) os cristais do virus do mosaico do fumo e de acordo com o que fôra previsto, viram elementos com 10 a 25 mili-micra de largura por 300 mili-micra de comprimento. Viram tambem cristais cujas dimensões são um múltiplo desses valores, por exemplo 1.800 mili-micra de comprimento; trata-se de uma fileira de cristais. Foi possível recristalizar até 15 vezes a proteína em questão, sem que a mesma se alterasse. E', incontestavelmente, um corpo puro. Seu isolamento foi mais tarde, tambem obtido por processos físicos, como a ultracentrifugação (Wyckoff e Cory). E' um corpo de altíssimo peso molecular (da ordem de 17.000.000, segundo Svedberg, determinação baseada na velocidade de sedimentação pela ultracentrifugação). Sua mais notavel propriedade é que transporta a atividade do virus, ou melhor, é o *próprio virus*, sendo 100 vezes mais ativo do que o suco da planta doente. 1 cc. de solução contendo uma parte de virus para 10 bilhões de tampão de fosfato, basta para infectar uma planta, sendo a doença o mosaico típico. Da planta doente pode-se novamente isolar a proteína e recomeçar. Stanley fez uma análise exhaustiva para vêr se a proteína é o pró-



prio virus. De acordo com os mais rigorosos métodos químicos, físicos e bacteriológicos, concluiu que proteína e virus são uma e mesma cousa.

Já referimos a semelhança entre fermentos e proteína-virus. A mais notável diferença entre estas duas categorias de corpos é que a proteína só aumenta (cresce) na presença de células vivas, o que, segundo Stanley, seria devido ao facto de que a formação da proteína virus (como a dos virus em geral) é uma síntese, exigindo assim energia de origem celular.

E' notável que a proteína-virus do mosaico tenha sido encontrada na batata americana, onde nada produz. Tal facto é um indicio a favor da idéia de que essa proteína tenha sido formada em virtude de acaso e só ao se formar ou ser levada ao contacto da planta sensível, tenha produzido a doença.

Tal como já foi tido em relação ao bacteriófago, aqui também podemos estar certos de que só se pensou em «microbio» (sendo essa proteína, no fundo, comparavel ás proteínas comuns das células) pelo facto de produzir doença. Não apparecesse tal doença, e o «crescimento», ou seja, a «reprodução» desta substância no interior do ser vivo nenhuma surpresa especial teria causado. Proteína-virus, bacteriófago, anticorpos, nada mais seriam, do que novas proteínas, resultantes da alteração do metabolismo celular e capazes, como quaesquer proteínas, de crescer autocataliticamente. E assim, processos antagônicos, ou seja produção de doenças de um lado, (proteína virus) e defesa contra as doenças, de outro (anticorpos bacteriófagos), dever-se-iam a um mesmo mecanismo.

Tratando-se a proteína-virus por agentes brandos (água oxigenada, formol) perde a virulência (morre!), conservando suas propriedades físicas e químicas, o que significa que sofreu modificações (já que não mais produz a doença) tão pequenas que escapam aos atuais métodos de estudo.

Submetida à ação dos raios X ou ultra-violeta, é, em exposição prolongada, inativada; doses menores produzem «mutações», isto é, a proteína determina agora uma «nova doença».

Não é possível deixar de assinalar aqui, que tais métodos (especialmente o emprego dos raios X) têm sido usados com successo afim de promover «mutações» no patrimônio hereditário de animais e plantas. Compreende-se assim que Gowen e Price tivessem aproximado a proteína-virus dos gens,



tanto mais quanto conhecem-se «mosaicos» semelhantes aos infecciosos, devidos a gens (*Pelargonium zonale*). Ha, no entanto, uma diferença capital entre gens e proteina-virus, a saber: os gens são prisioneiros do núcleo das células, ao contrário da proteina-virus que pôde circular em liberdade através da planta onde se encontra.

Em resumo, a proteina-virus é uma substância química pura. Podemos conservá-la a vontade, como um corpo químico puro qualquer. Todavia, também é um ser vivo, cresce, se reproduz, produz uma doença, é sensível a agentes aos quais os seres vivos costumam ser sensíveis.

Afinal, é uma substância ou um ser vivo?

Stanley responde assim (Harvey Lectures, 1937—38): «Alguns pesquisadores recusam-se a aceitar a idéia de ser a proteina o próprio virus, porque têm repugnância em admitir que uma molécula de proteina, possa apresentar propriedades, como a capacidade de se reproduzir e mutar, que eles gostam de atribuir com exclusividade aos seres vivos. Todavia é loucura desprezar factos experimentais e esquecer que não ha uma única propriedade tida como característica dos seres vivos que não tenha sido identificada em algum sistema não-vivo.

Não quero dizer que o vivo não difira do não-vivo. O que acho é que não nos devemos deixar influenciar demais pelos critérios convencionais sobre o vivo.

Há entidades intermediárias. Assim a proteina-virus seria intermediária entre enzimas e hormônios de um lado e protoplasma do outro »

Em conclusão, parafaseando Stanley, diremos:

A proteina-virus é uma fronteira extremamente perturbadora entre o vivo e o não-vivo. Seu estudo é o ponto de encontro dos mais diversos sábios: interessa ao patologista, por produzir doenças; ao microbiologista, pela semelhança que apresenta com os germens; ao físico, entre outras particularidades, por se comportar como uma macromolécula; ao químico, por ter muitas propriedades das moléculas e outras que não se encontram nas moléculas comuns; ao geneticista, por mostrar fenômenos semelhantes às mutações; ao biologista, por ter propriedades tidas como características dos seres vivos; ao filósofo, finalmente, por fazer ainda uma vez renascer a velha e angustiosa pergunta, sempre repetida e jamais respondida: Que é a vida?