

8. Análise das células por microscopia eletrônica

A análise morfológica das células infectadas, por microscopia eletrônica, revelou alterações nas células com efeitos citopáticos característicos de infecção com vírus ocluso positivo (vRen) e vírus ocluso negativo (vRenbac).

A análise ultraestrutural das células High five e Sf21 infectadas com os diferentes vírus às 72 hp.i., é apresentada nas Figuras 39 a 46 e 48 a 57, respectivamente. Após infecção, ocorre hipertrofia do núcleo (N), fazendo com que o citoplasma (C) seja restrito a um pequeno espaço. A cromatina apresenta-se dispersa, com corpúsculos densos concentrados na face interna da membrana nuclear. A região de síntese de DNA e também de capsídeos no núcleo das células, denominada de estroma virogênico (EV), é observada. Espaçadores eletrodensos (EE) e estruturas fibrilares (P10), são visualizados tanto no citoplasma, quanto no núcleo.

Uma alteração morfológica importante que foi observada nas duas linhagens de células, Sf21 e High five, infectadas com o vírus vRen, foi praticamente a ausência de vírions no interior do poliedro. Entre vários poliedros analisados apenas um apresentou alguns vírions em seu interior (Figura 43). Possivelmente a inserção da pré-pró-renina no genoma do vírus levou a uma alteração do vírus que interferiu na oclusão dos vírions na matriz protéica. Foram observados vários vírions soltos no interior do núcleo. O poliedro foi visualizado como uma estrutura densa de cor mais intensa (escura) com formato irregular. Para garantir que os poliedros formados por este vírus realmente não apresentavam vírions em seu interior, foi feita a purificação dos poliedros e estes analisados por microscopia eletrônica sem a interferência de outras estruturas celulares. Outras estruturas foram observadas nestas células, as quais não estão presentes nas células controle (*mock infected*), como espaçadores eletrodensos e estroma virogênico no núcleo e citoplasma muito fragilizado.

As células Sf21 e High five infectadas com o vRenbac apresentaram alterações típicas de infecção com vírus não ocluso. Foram notadas várias alterações ultraestruturais, como formação do estroma virogênico, região de montagem do vírus com a presença de vários vírions envelopados no interior do núcleo e presença de P10 no núcleo e citoplasma.

Células controle, High five (Figura 38) e Sf21 (Figuras 47), não apresentaram as alterações morfológicas descritas acima.

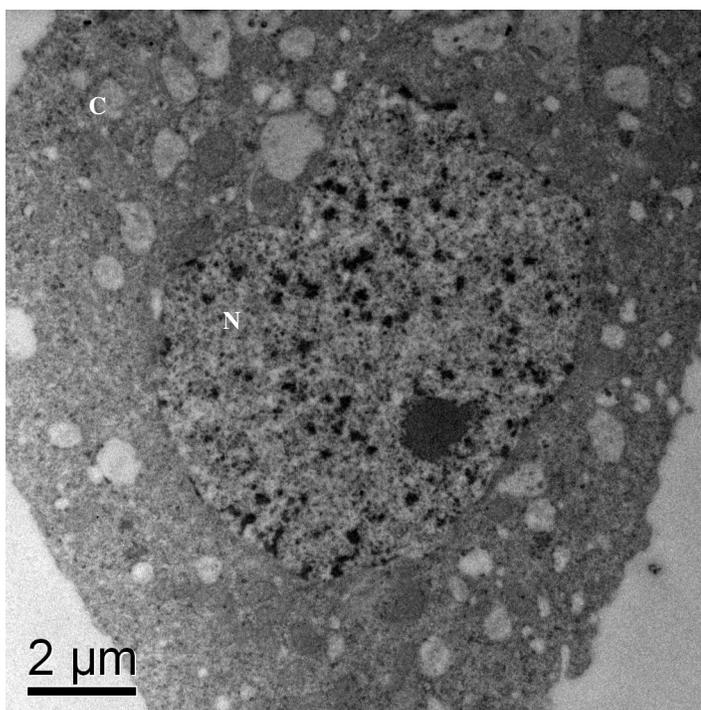


Figura 38 - Células High five controle (aumento de 10.000x), mostrando o citoplasma íntegro e o núcleo. C- citoplasma, N- núcleo.

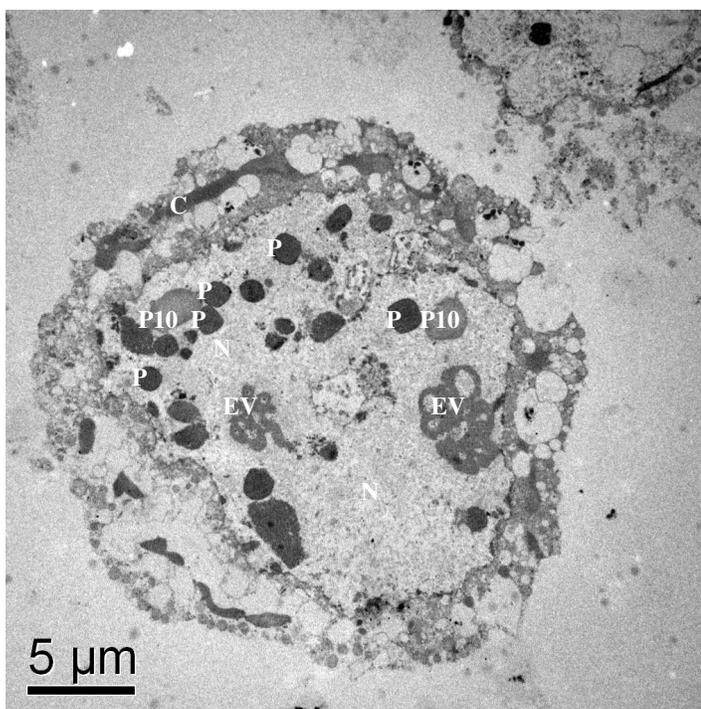


Figura 39 - Células High five infectadas com vRen (aumento de 4.000x), mostrando o citoplasma (C) rompido e o núcleo (N) com a presença de estruturas virais com poliedros (P), proteína p10 (P10) e estroma virogênico (EV).

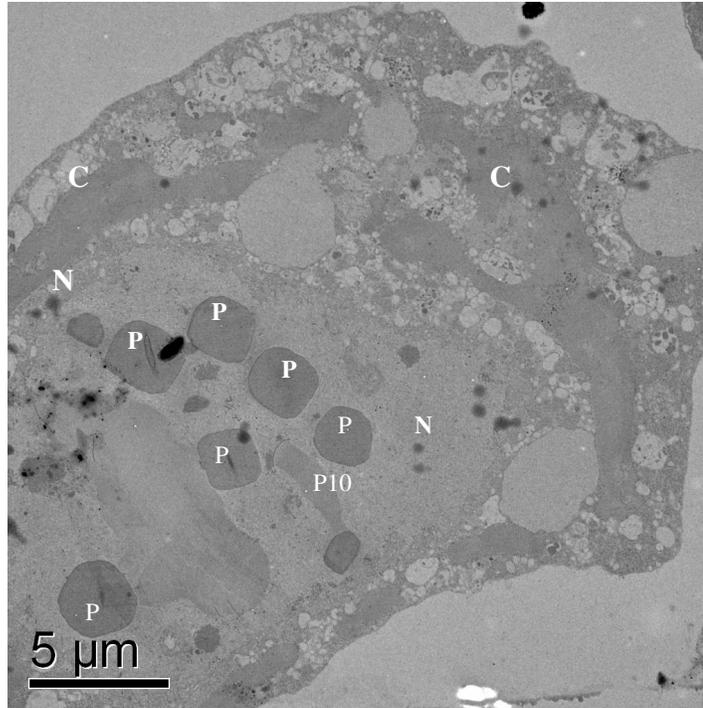


Figura 40 - Células High five infectadas com vRen (aumento de 5.000x), mostrando o citoplasma (C) rompido e o núcleo (N) com a presença de estruturas virais com poliedros (P) e proteína p10 (P10).

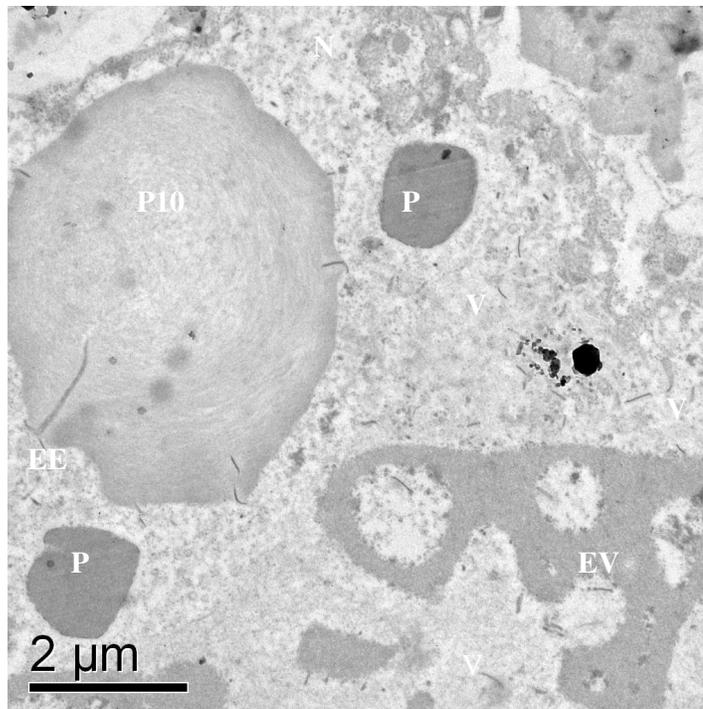


Figura 41 - Células High five infectadas com vRen (aumento de 15.000x), mostrando em detalhe o núcleo (N) com a presença de estruturas virais com poliedros (P), proteína p10 (P10), estroma virogênico (EV), espaçadores eletrodensos (EE) e vírions soltos (V).

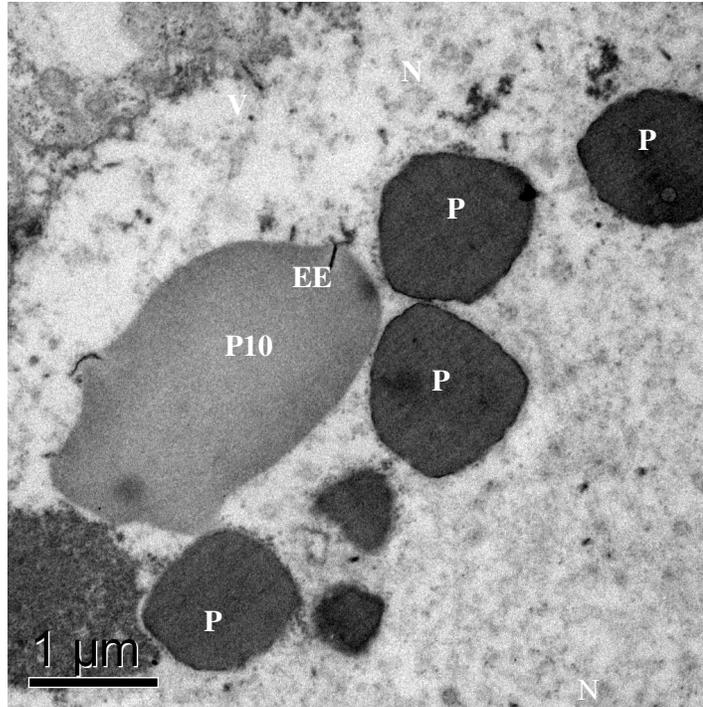


Figura 42 - Células High five infectadas com vRen (aumento de 25.000x), mostrando em detalhe o núcleo (N) com a presença de estruturas virais com poliedros (P), proteína p10 (P10), espaçadores eletrodensos (EE) e vírions soltos (V).

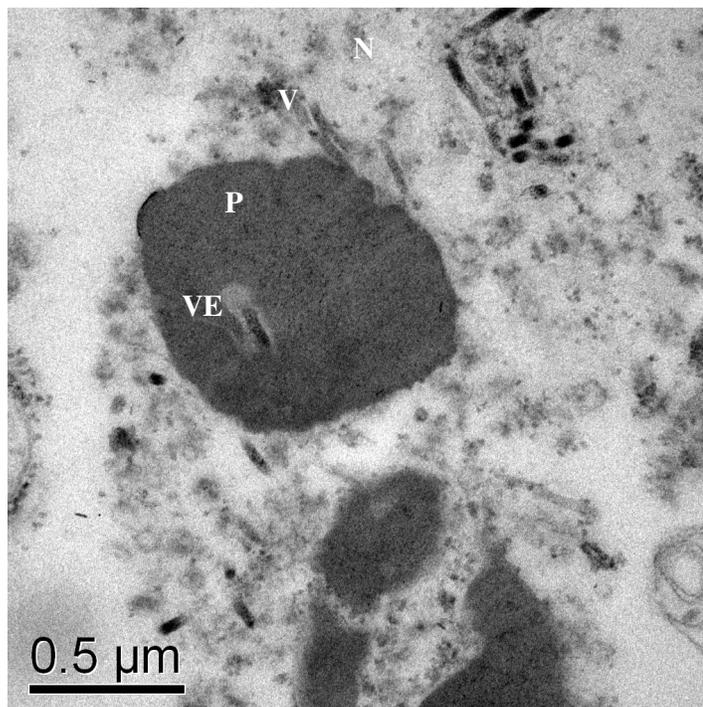


Figura 43 - Células High five infectadas com vRen (aumento de 60.000x), mostrando em detalhe um poliedro (P) no núcleo (N) com a presença de vírion envelopado (VE) incrustado na poliedrina e alguns vírions (V) dispersos no núcleo.

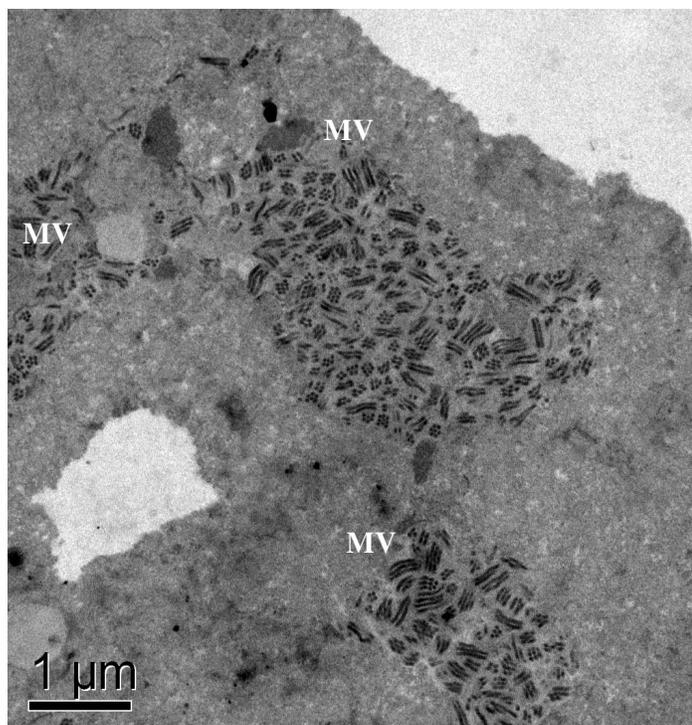


Figura 44 - Células High five infectadas com vRenbac (aumento de 20.000x), mostrando local de montagem dos vírus (MV) com a presença de várias estruturas virais envelopadas com diferentes números de vírions.

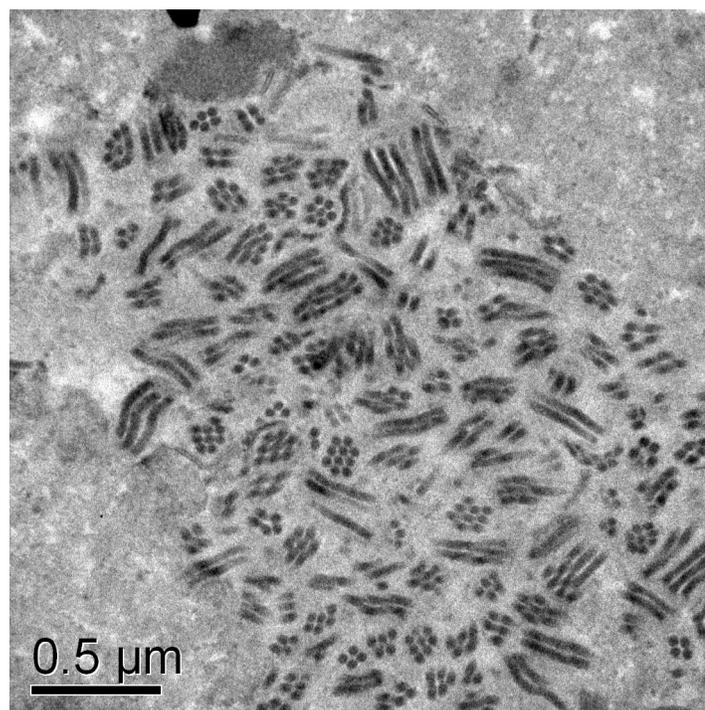


Figura 45 - Células High five infectadas com vRenbac (aumento de 50.000x), mostrando em detalhe a região de montagem do vírus mostrada na Figura 44.

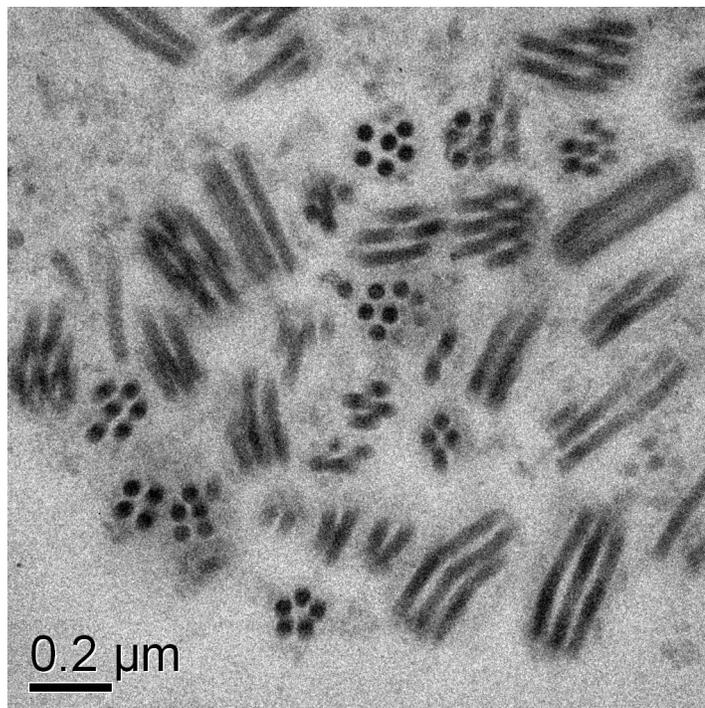


Figura 46 - Células High five infectadas com vRenbac (aumento de 80.000x), mostrando em maior detalhe a região de montagem dos vírions mostrada nas Figuras 44 e 45.

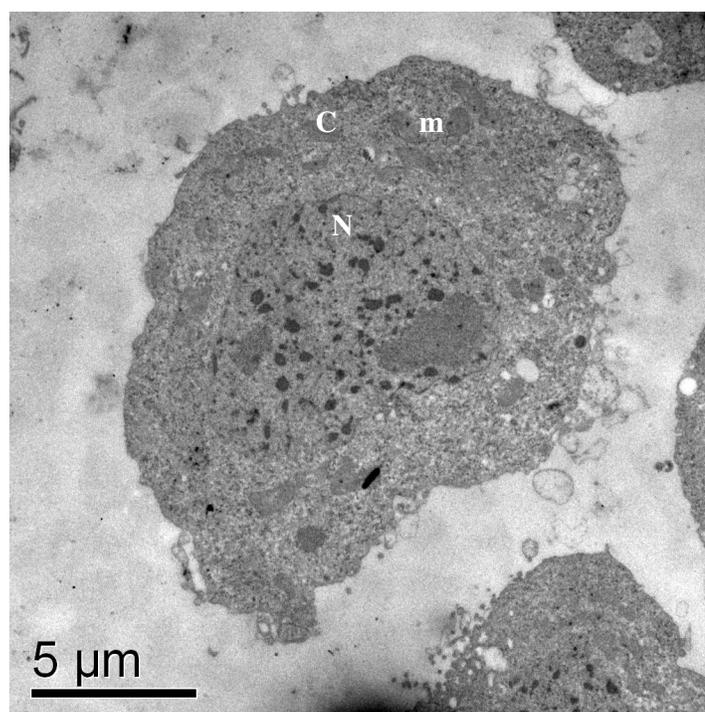


Figura 47 - Células Sf21 controle (aumento de 6.000x), mostrando o citoplasma (C) íntegro com algumas mitocôndrias (m) e o núcleo (N).