

Sobre o cyclo endogeno da *Haemogregarina leptodactyli* Lésage 1908 (*Karyolysus?*)

pelos

DRS. ARISTIDES MARQUES DA CUNHA e JULIO MUNIZ

(Com as estampas 165—168.).

Estudando os hemoparasitas do *Leptodactylus ocellatus*, encontramos um exemplar intensamente parasitado com uma *Haemogregarina* que julgamos identica a descripta em 1908 na Argentina por LÉSAGE e que CARINI mais tarde teve occasião de observar no Estado de S. Paulo (Brasil).

A grande infecção que apresentava o exemplar por nós examinado, permittiu que fizéssemos um estudo completo da evolução do parasita no hospedador vertebrado, o que até hoje não fôra feito. As fórmas encontradas no sangue foram estudadas não só pelo exame a fresco como em preparados fixados e corados pelo methodo de Giemsa, sendo as fórmas encontradas nos órgãos estudadas em material fixado pelo sublimado alcool e corado pelos processos de Giemsa e Hematoxilina-eosina, após inclusão em parafina.

As fórmas do sangue apresentam aspectos differentes conforme se acham livres no plasma ou no interior das hematias. Temos a notar que no nosso material as fórmas livres são em maior numero que as fórmas endoglobulares. As fórmas em liberdade no plasma se apresentam alongadas, vermiformes e quando examinadas a fresco dotadas de movimento semelhantes ao das Gregarineas. Pelo processo de Giemsa o plasma apresenta-se corado em azul podendo se notar em raros exemplares granulações disseminadas no seu interior e que se coram em vermelho. O parasita nesta phase apresenta uma das extremidades mais afilada que a outra e mede 18 a 20 micra de comprimento por 2 a 3 de largura.

O nucleo é alongado, achando-se collocado na parte média, muitas vezes, porém, mais proxima da extremidade afi-

lada. Elle occupa toda a largura do parasita e mede 4 a 5 micra de comprimento. A sua estrutura é geralmente compacta, podendo-se vêr em alguns exemplares que a chromatina se apre-

senta em fôrma de grandes massas, irregularmente dispostas, não sendo possível distinguir a existencia de um Karyosoma.

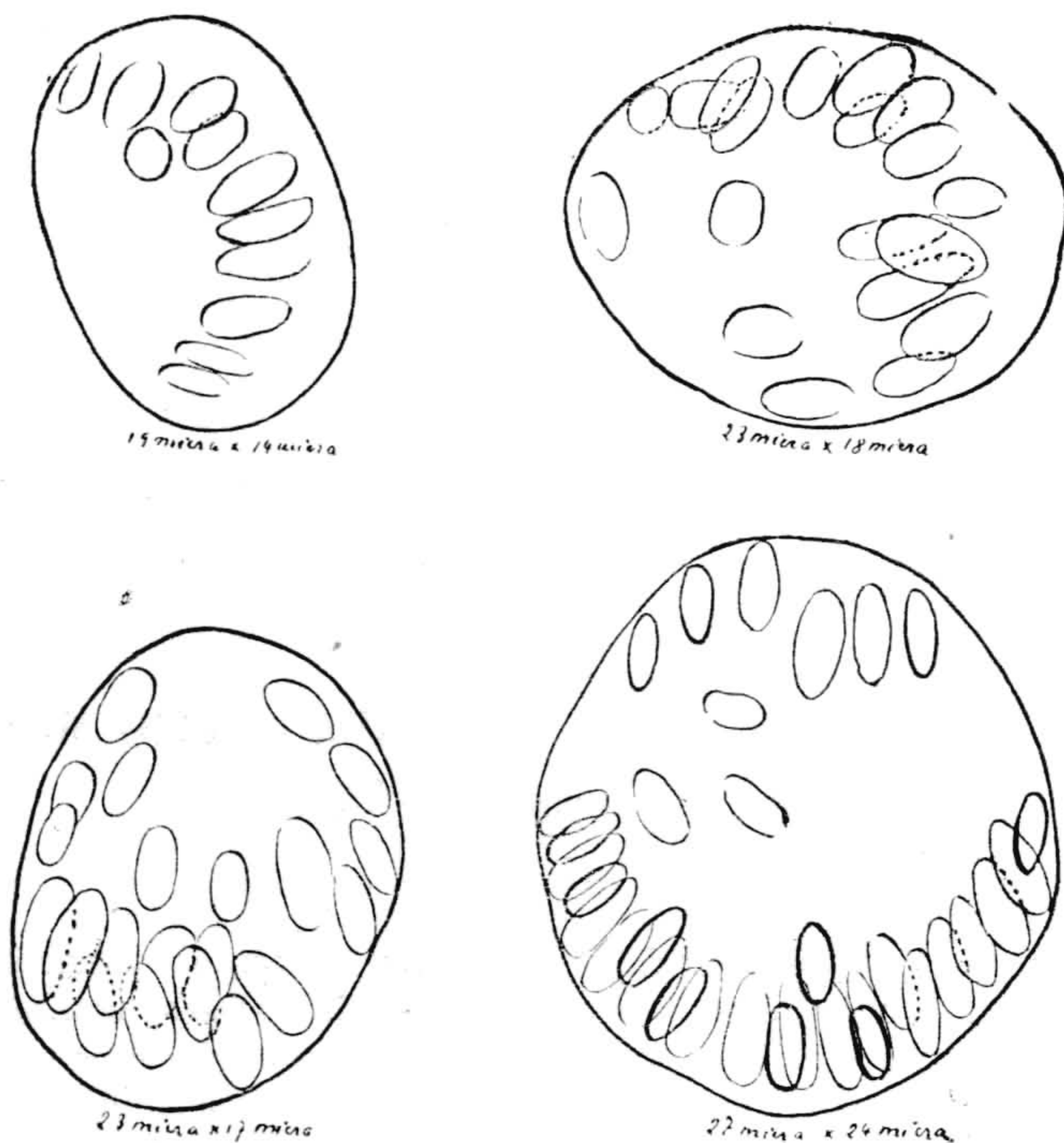


Fig. 1

As fôrmas endoglobulares são mais curtas e mais largas, medindo 12 a 13 micra de comprimento por 3,5 a 5 micra de largura. Apresentam-se incurvadas, de aspecto reniforme alongado ou em fôrma de salsicha. No interior das hemáticas ellas se dispõem ou lateralmente recalcando o nucleo para um dos lados ou n'uma das extremidades ficando o nucleo do globulo na extremidade oposta. O protoplasma destas fôrmas apresenta quasi sempre um aspecto igual ao das fôrmas extra-globulares sendo de observar porém uma maior frequencia de granulações no seu interior. Uma membrana bastante nitida cercando o plasma

póde ser observada em grande numero de exemplares. O nucleo acha-se collocado quasi sempre mais proximo de uma das extremidades do parasita, podendo ocupar posição terminal em certos casos. Elle se apresenta ora com a fôrma arredondada ora em faixa, occupando neste ultimo caso toda a largura do parasita. A chromatina aparenta estrutura menos compacta que nas fôrmas extra-globulares não se podendo pelo processo de Giemsa distinguir um Karyosoma. Apesar do parasita recalar na maioria dos casos o nucleo das hemáticas parasitadas, não exerce sobre elle nenhuma acção destrutiva. As fôrmas endoglobulares se

originam das fórmulas livres existentes no plasma, pela penetração destas no interior das hemáticas. Essas fórmulas logo após a penetração no globulo, apresentam uma das extremidades dobrada, excepcionalmente as duas. Essa extremidade se funde mais tarde com o resto do plasma e d'ahi resulta as fórmulas largas endoglobulares que descrevemos.

O exame dos cortes dos órgãos do animal parasitado nos permittiu o estudo das fórmulas de multiplicação do parasita. Ellas se encontram no intestino, no figado e no pulmão, sendo muito mais abundantes nestes dois ultimos órgãos.

Apezar desses órgãos apresentarem-se grandemente parasitados não se nota nelles nenhuma fórmula de reacção.

A multiplicação do parasita se faz sempre por schizogonia que assume dois aspectos que se differenciam nitidamente quer pelo numero de merozoitos quer pelas dimensões e estructura destes. Em ambos os casos porém, existe uma membrana que envolve os merozoitos formando um Kysto. Esses Kystos apresentam dimensões variaveis que estão em relação com o numero de merozoitos formados e com a natureza d'estes. Em uma das schizogonias formam-se pequeno numero de merozoitos, 2 a 8, alongados, ligeiramente encurvados em fórmula de salicha e que medem 16 a 20 micra de comprimento por 6—10 de largura.

O plasma é finamente reticulado e o nucleo relativamente pequeno, de fórmula arredondada, com a chromatina disposta em fórmula de granações e distribuidas irregularmente no interior e junto da membrana nuclear, sendo por isso difficil verificar a existencia de um Karyosoma central. Algumas vezes no interior do Kysto observa-se uma massa de plasma arredondada e de estructura alveolar pouco compacta que contitue o corpo residual.

Os merozoitos crescem no interior

do Kysto sendo que o crescimento se faz sobretudo no sentido da largura conforme se póde vêr comparando as figuras 3 e 4 da Estampa 167.

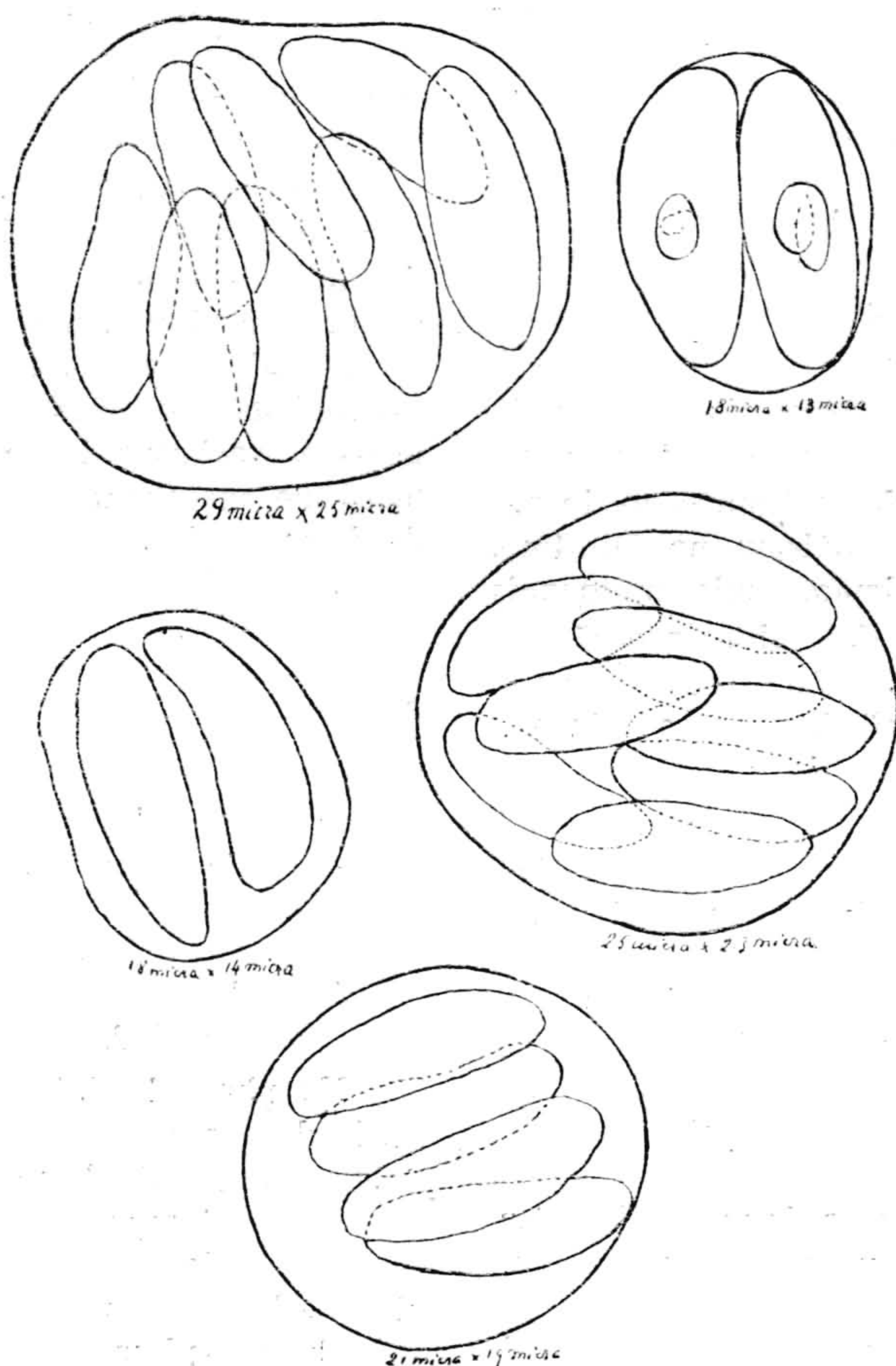
Esse crescimento parece se fazer a custa do corpo residual pois as fórmulas de maiores dimensões são encontradas sempre em Kystos nos quaes não se observa mais esse elemento. Conforme já assignalamos os Kystos apresentam dimensões variaveis de accordo com o numero de merozoitos que contém e são de fórmula ellipsoide ou ovoide sendo os que apresentam menor numero de elementos, mais alongados. O que acabamos de dizer, póde ser observado na figura 2 do texto.

Os merozoitos provenientes dessa chizogonia se dispõe quasi sempre em feixe e pódem ser encontradas livres nos capillares dos órgãos. As fórmulas que dão lugar a essa schizogonia apresentam-se arredondadas e com um plasma de estructura reticulada.

Na phase inicial apresentam-se uninucleadas com um nucleo relativamente volumoso constituido por um Karyosoma (figura 1 estampa 167) redondo, central, pouco corado, cercado de granulos de chromatina que se coram intensamente pela hematoxilina.

Em outros estadios mais adiantados pode-se encontrar fórmulas com o numero de nucleos variando entre 2 a 8 e dispostos irregularmente no plasma. (Estampa 167 figura 2).

Na outra fórmula de schizogonia o numero de merozoitos formados é sempre maior, variando entre 16,32 ou mais. Elles são mais finos, pois, medem 2,5 a 3 micra de largo. O plasma é condensado sem nenhuma estructura apreciavel. O nucleo relativamente grande de fórmula alongada, occupa toda a largura do parasita dispondo-se a chromatina em torno da membrana nuclear, ou senão sob a fórmula de uma verdadeira rede.



Fig, 2

As fôrmas que dão origem a essa schizogonia se confundem no início de sua evolução com as da fôrma larga, não sendo possível distinguir as duas fôrmas de multiplicação senão em um estado mais adiantado de seu desenvolvimento. N'essa phase ellas se apresentam sob a fôrma de massas plasmáticas grosseiramente reticuladas com granulações refringentes em grande numero no seu interior e possuindo numerosos nucleos que se dispõem irregularmente de preferencia na sua peripheria.

Esses nucleos se grupam mais tarde nos polos de schizonte dando-se então a condensação do plasma em torno d'elles (Estampa 166 fig. 5) para depois por meio de divisão que se processa de fóra para dentro se constituirem os merozoitos.

Na phase final desta schizogonia ao lado dos numerosos merozoitos dispostos irregularmente, encontra-se uma massa de plasma residual.

O que ficou dito para os Kystos de pequeno numero de merozoitos no que se refere a fôrma e tamanho se applica

tambem a esta schizogonia com a differença que para Kystos de iguaes dimensões corresponde no caso presente numero muito maior de merozoitos.

Filiando as diversas fórmulas observadas, podemos concluir que a multiplicação do parasita se dá a principio pela schizogonia com poucos merozoitos. Essa phase de evolução do protozoario se passa sómente no interior das cellulas dos órgãos, pois no sangue peripherico não se encontram fórmulas de morphologia e dimensões correspondentes. Ella representa a phase schizogonica do cyclo do protozoario tambem chamada agamogonia. Os merozoitos d'ella resultante, uma vez postos em liberdade penetram n'outra cellula para reproduzir identica schizogonia. Depois de um certo numero de multiplicações semelhantes, algumas fórmulas vão dar lugar a schizogonias com grande numero de merozoitos os quaes postos em liberdade penetram na corrente circulatoria e parasitam as hematias. Esse facto é comprovado pela semelhança de estrutura e dimensões entre as fórmulas do sangue e os merozoitos provenientes desta ultima schizogonia. Corresponde essa phase a uma gametogonia e as fórmulas que se originam d'ella e que são encontradas na circulação, representam os gametos do parasita. Assignalaremos aqui que no nosso caso foi de todo impossivel estabelecer differenças morphologicas entre o macro e o microgameto.

Conforme acabamos de vêr, o cyclo endogeno desse parasita se assemelha ao do genero *Karyolysus*, faltando contudo para confirmação desse ponto de vista o estudo do cyclo exogeno. Embora a evolução do parasita que estudamos se emquadre perfeitamente no cyclo que REICHONOW descreveu para o *Karyolysus* dos lacertilios, não podemos deixar de assignalar algumas particularidades pelas quaes elle se distingue das especies descriptas. E' assim que a evolu-

ção do parasita por nós estudado se faz no interior das cellulas dos órgãos parasitados e não no endothelio dos vasos. Esse facto é comprovado pelo exame das fórmulas iniciaes da evolução (schizontes uninucleados) que são encontradas no interior das cellulas hepaticas como é o caso da figura 1 estampa 167.

Por outro lado a presença do parasita não acarreta alterações no nucleo das hematias parasitadas como acontece geralmente com os parasitas do genero *Karyolysus*.

Além disso a Gamogonia e a agamogonia se distinguem por caracteres bem nitidos taes como o numero de merozoitos e estrutura destes. Por esse lado aproxima-se a especie que estudamos do *Karyolysus biretortus*, sendo que no nosso caso as differenças morphologicas dos merozoitos são ainda mais accentuadas.

Além d'isso a differenciação das duas fórmulas se faz facilmente não só pelo numero de elementos em relação as dimensões do Kysto, mas ainda pelo numero absoluto d'estes pois emquanto nas fórmulas agamogonicas o numero de merozoitos é de 2 a 8 nunca excedendo esse ultimo numero na gamogonia não foram observadas fórmulas com menos de 16 elementos. Finalmente assignalaremos que apesar de termos examinado grande numero de exemplares de *Leptodactylus ocellatus*, só encontramos um exemplar parasitado por esse protozoario. Por esse facto não nos foi possivel até hoje emprehender o estudo do cyclo exogeno desse parasita.

Achamos provavel que esse cyclo se passe n'um *Acaro* da familia dos *Hydrachnideos*. Esse parasita se encontra algumas vezes sob a fórmula de pontos vermelhos na região ventral do corpo ou na superficie interna das coxas dos batrachios. Elles já foram incriminados por *Ducceschi* como transmissores da *Lankesterella leptodactyli* descripta por esse auctor.

E de crêr que a infecção se processe por ingestão dos acaros pelo batrachio e a penetração do esporozoitos se faça através as paredes do intestino donde seriam levados, pela circulação porta para

o figado e dahi depois para o pulmão. Em favor d'essa hypothese fala a presença das fórmias de multiplicação do parasito n'esses treis órgãos, conforme já assignalamos, predominando maior numero d'ellas no figado.





Fig. 1



Fig. 2

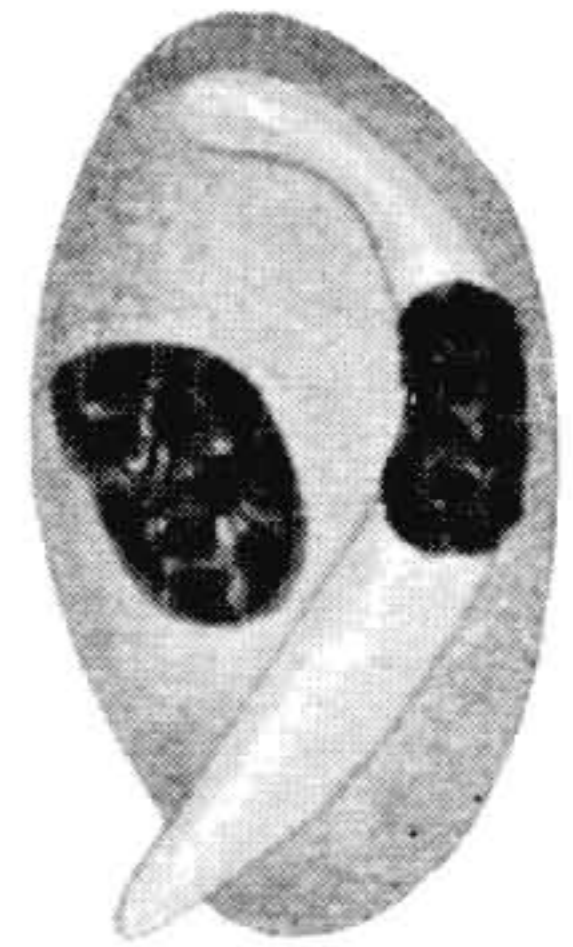


Fig. 3

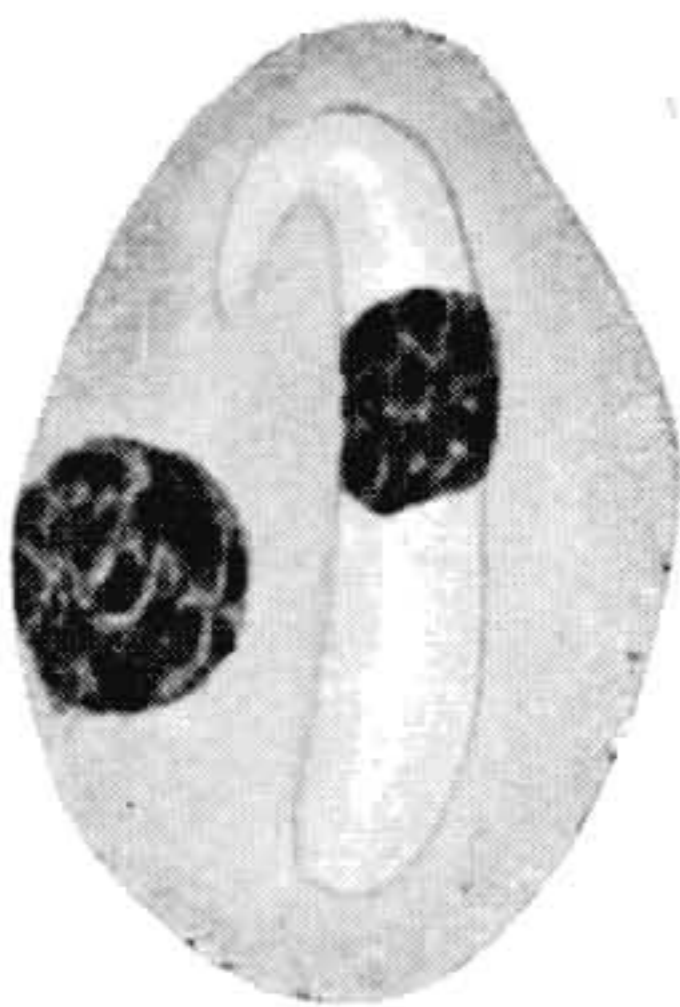


Fig. 4

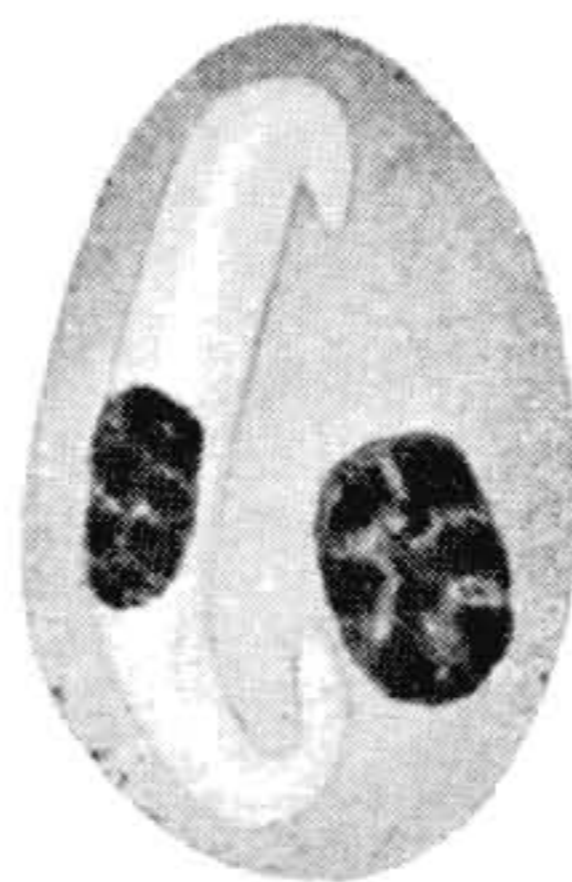


Fig. 5

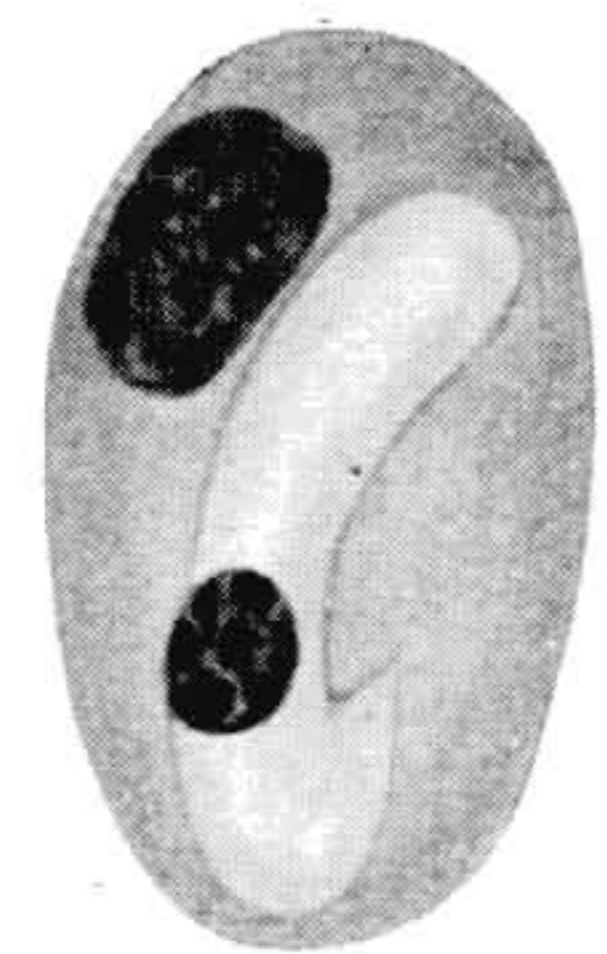


Fig. 6

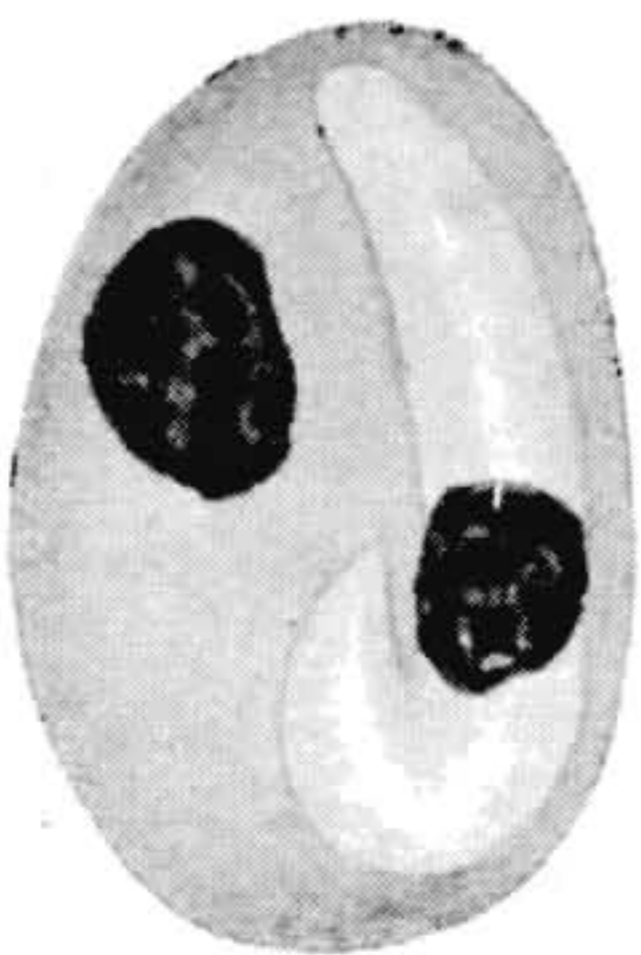


Fig. 7

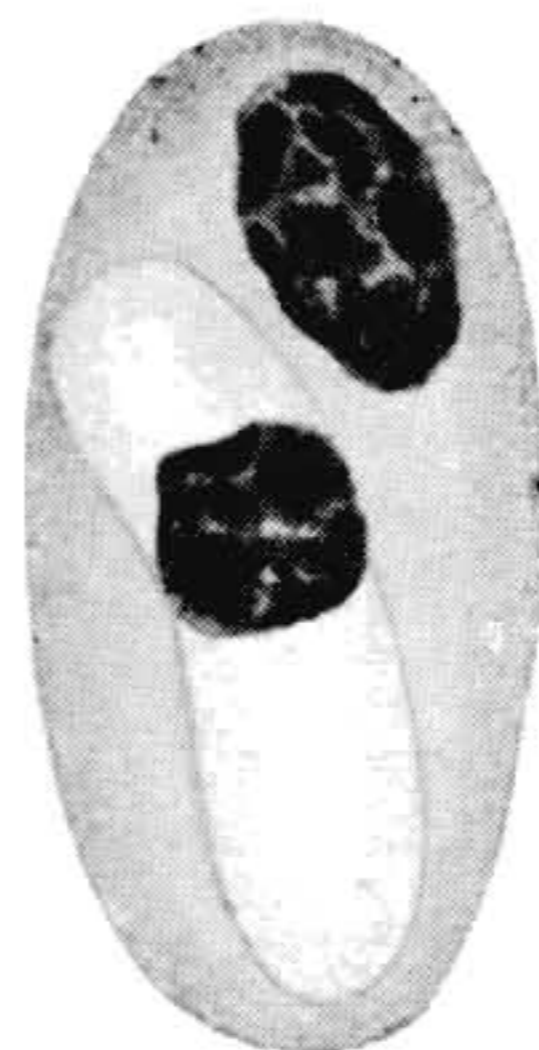


Fig. 8

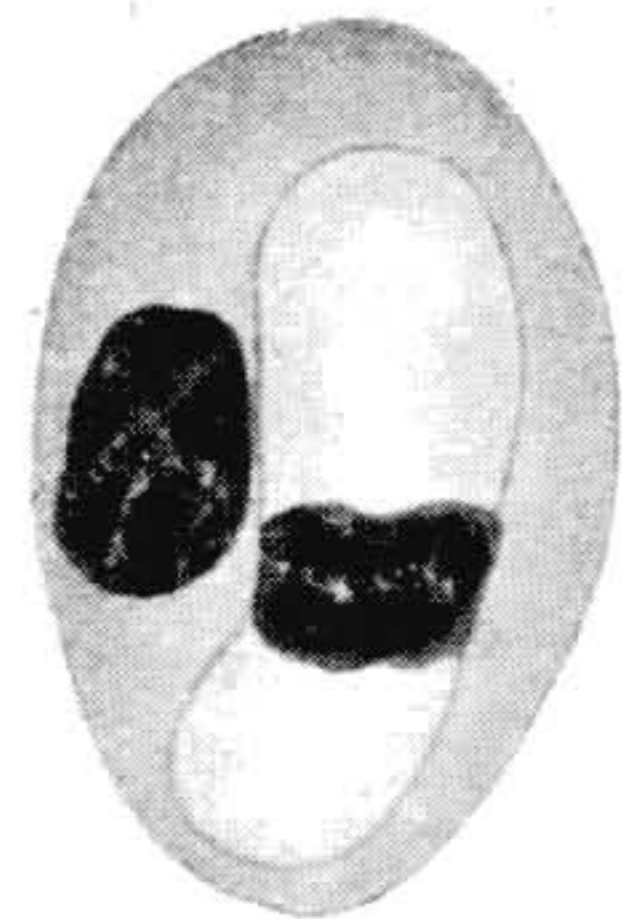


Fig. 9

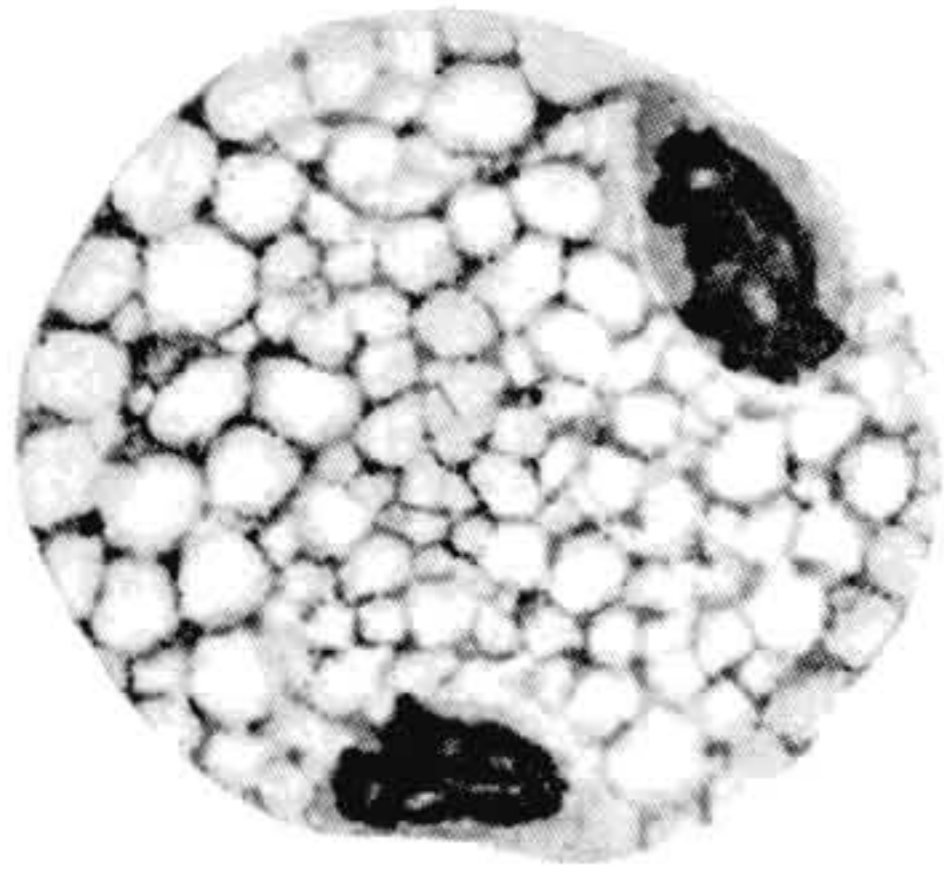


Fig. 1

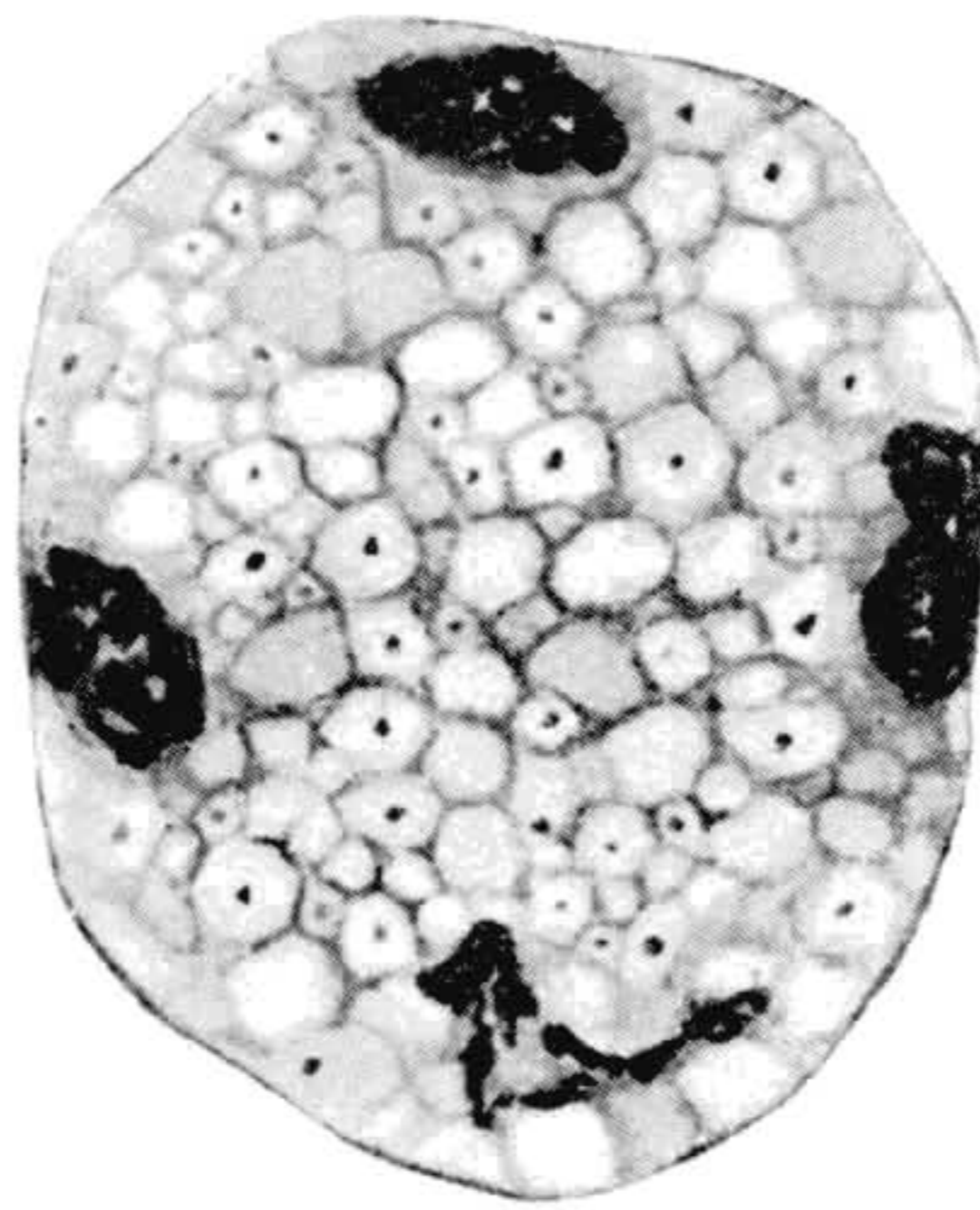


Fig. 2

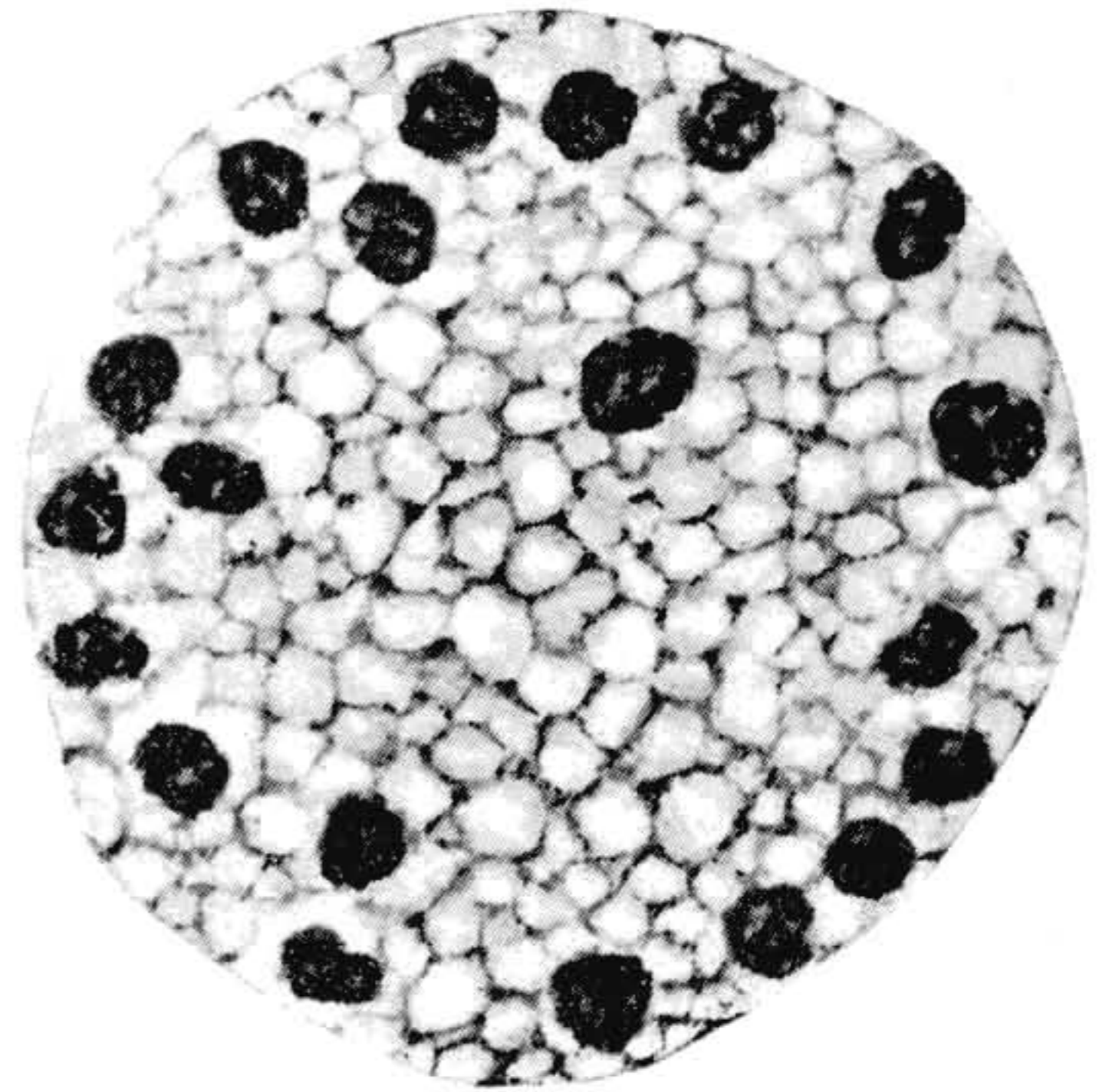


Fig. 3

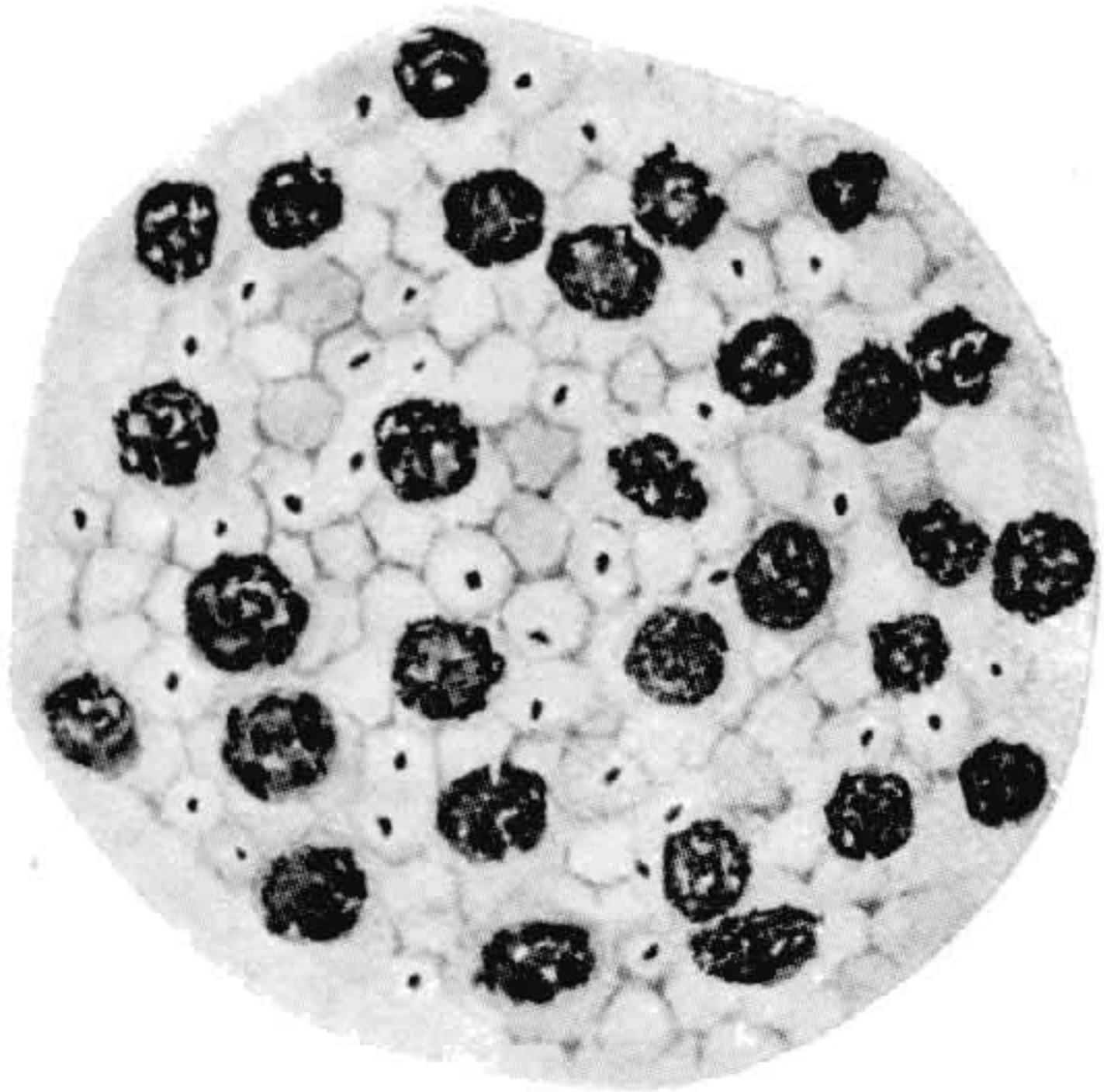


Fig. 4



Fig. 5

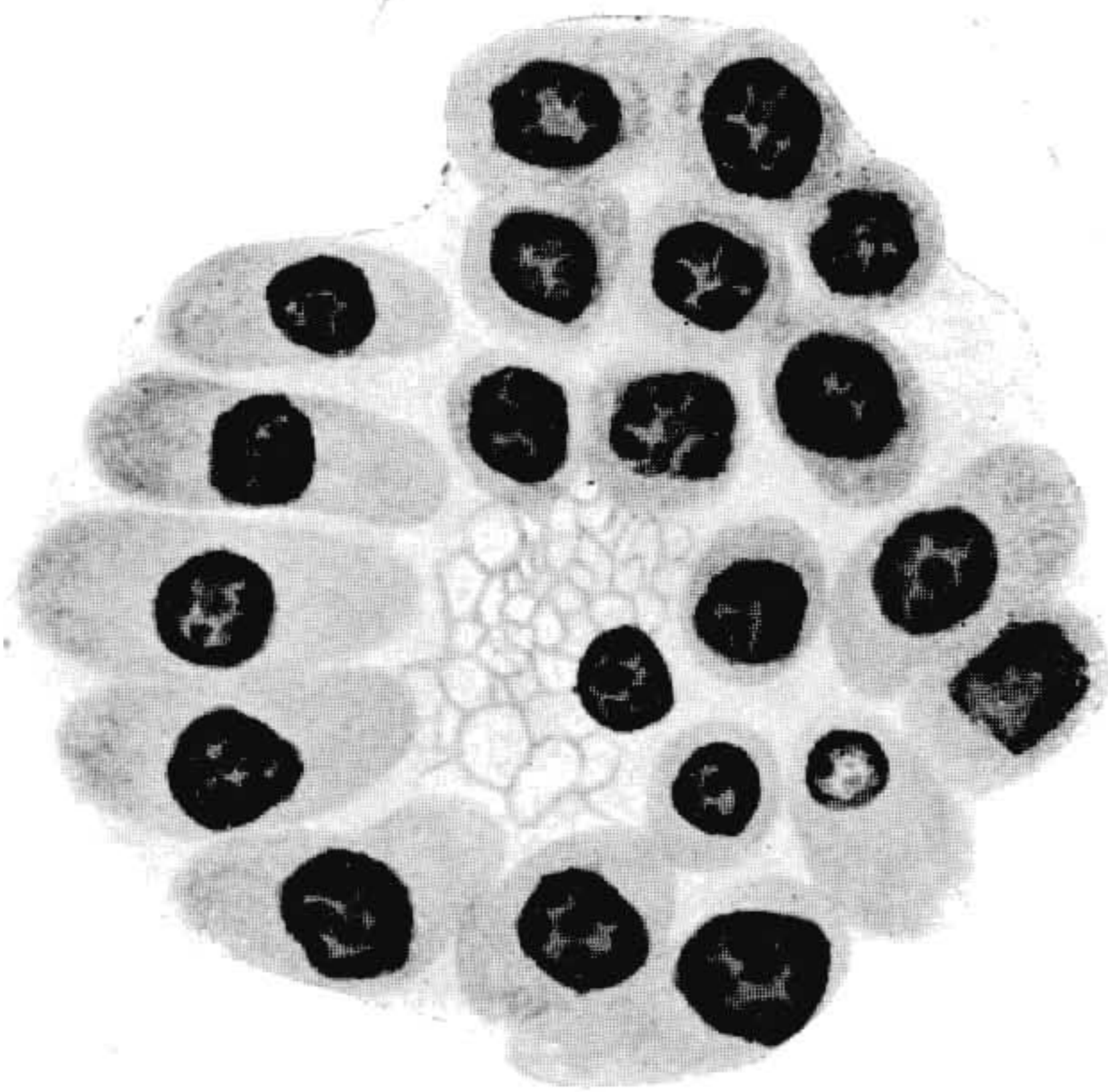


Fig. 6

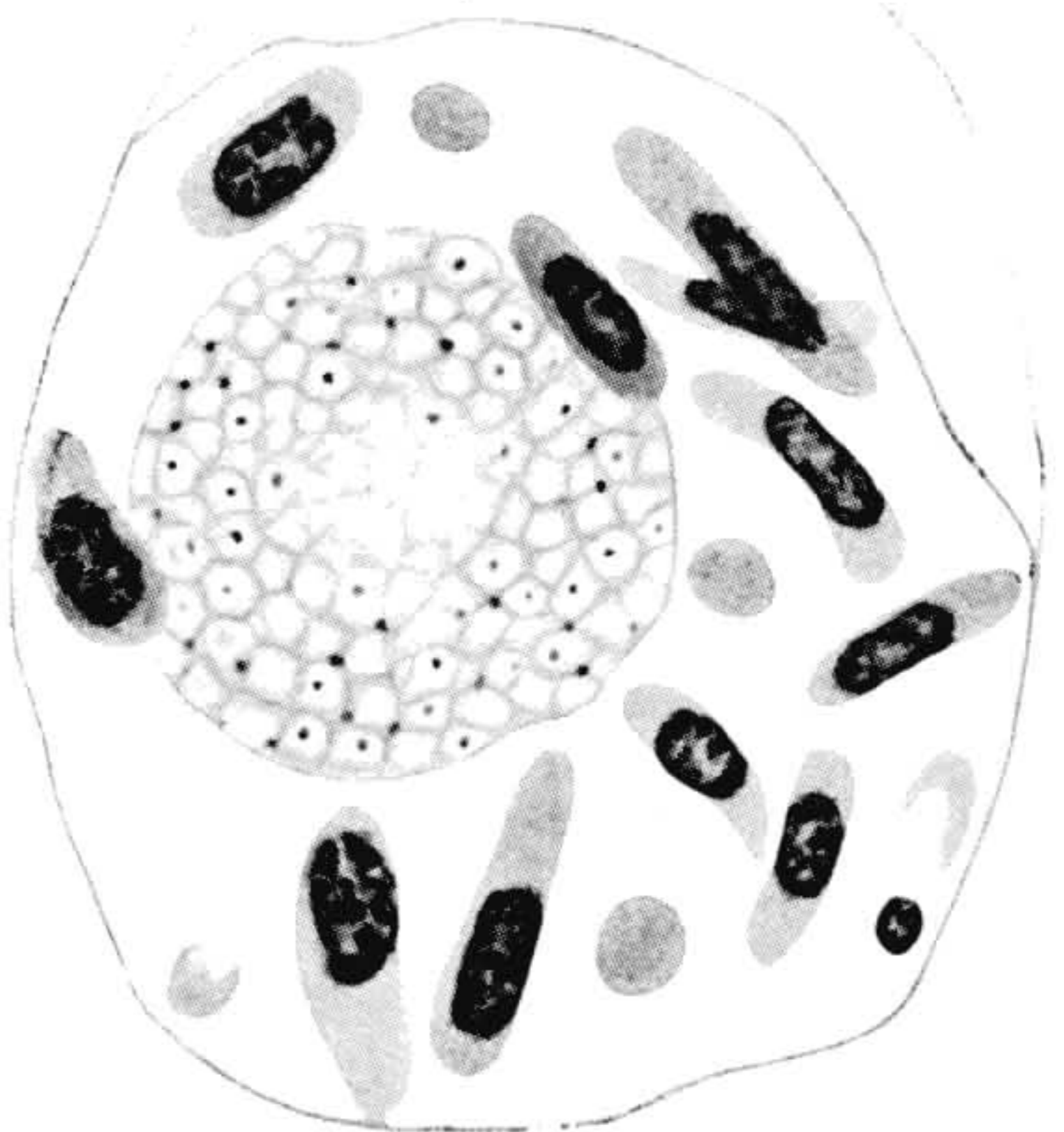


Fig. 7

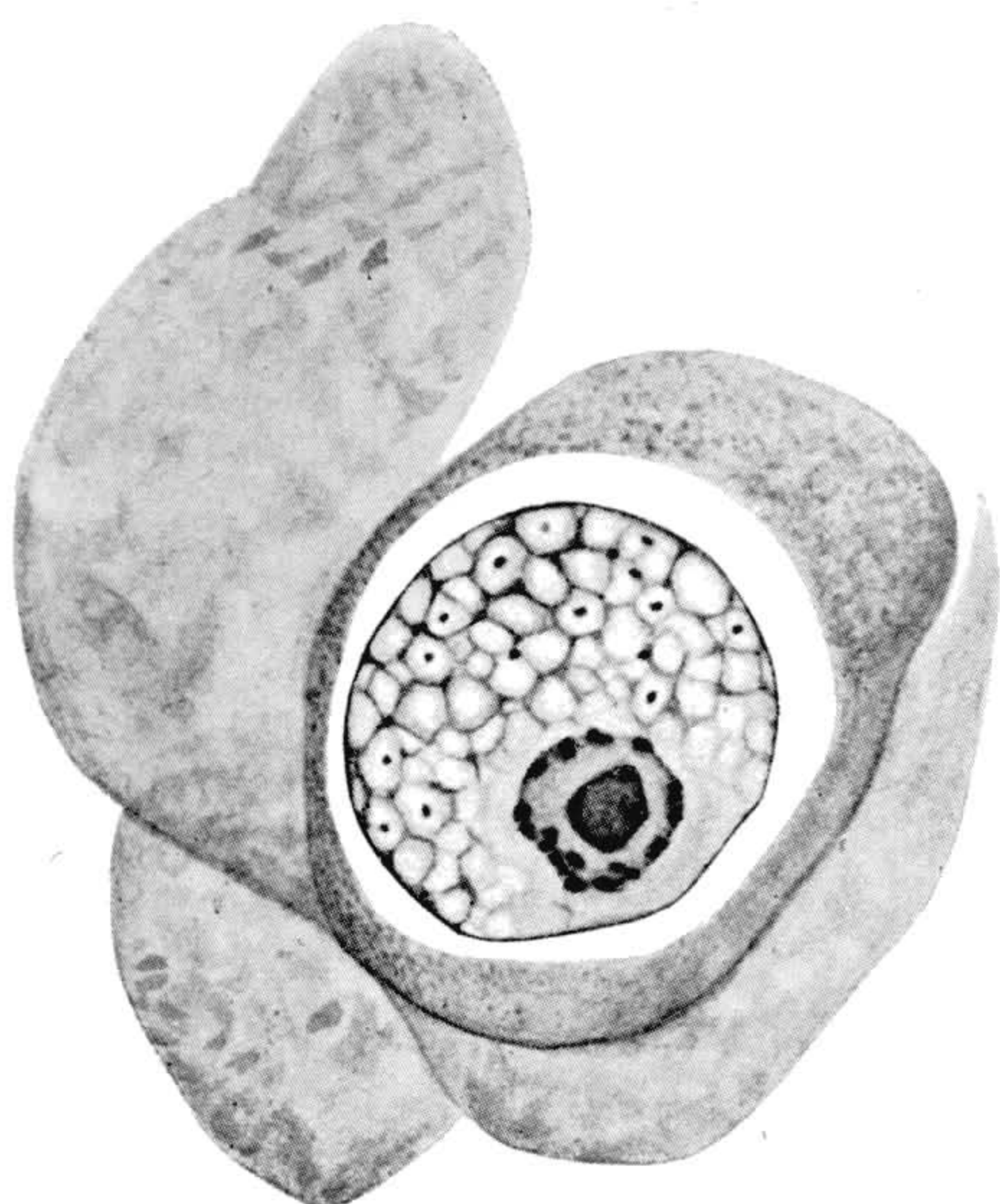


Fig. 1

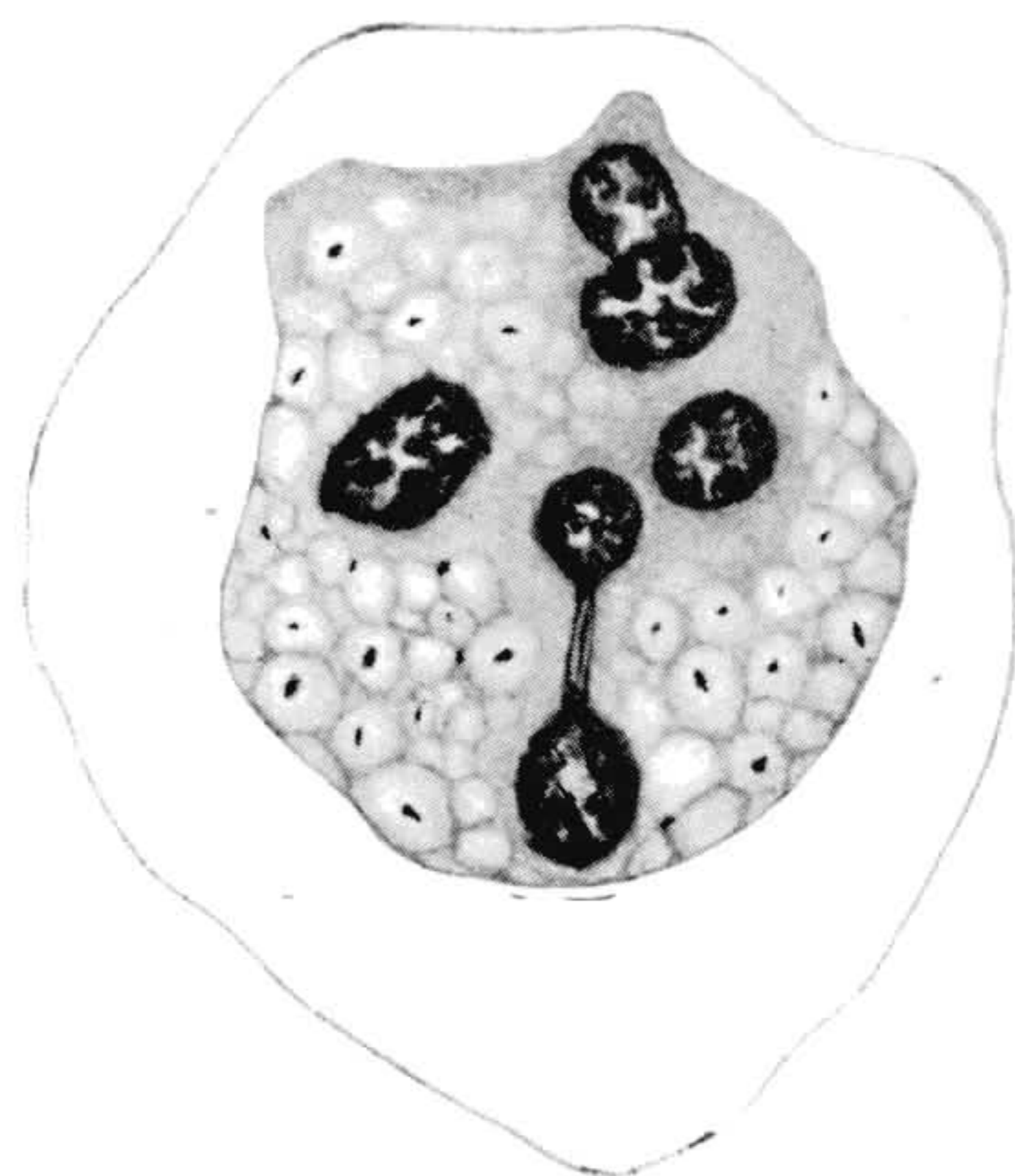


Fig. 2

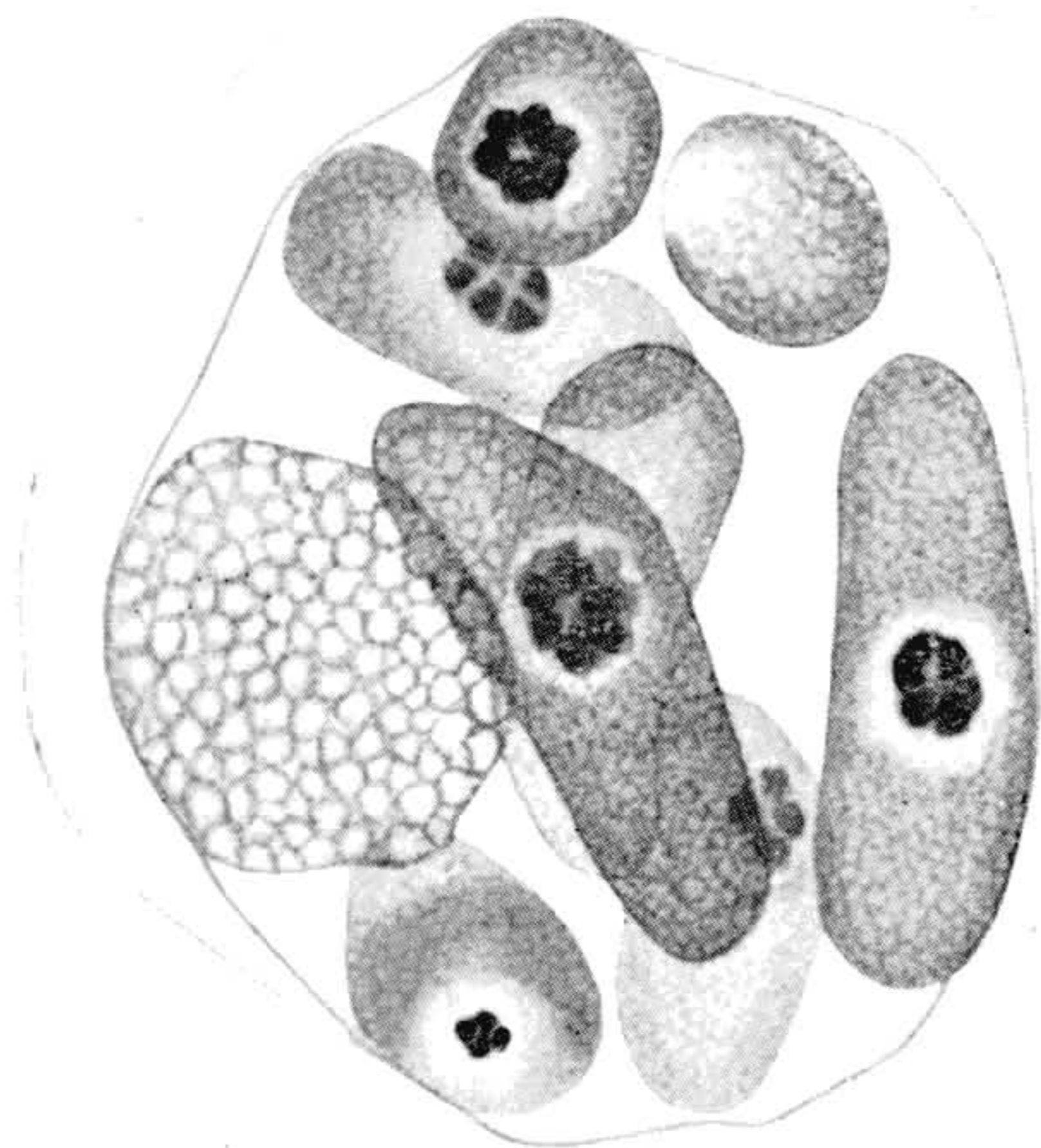


Fig. 3

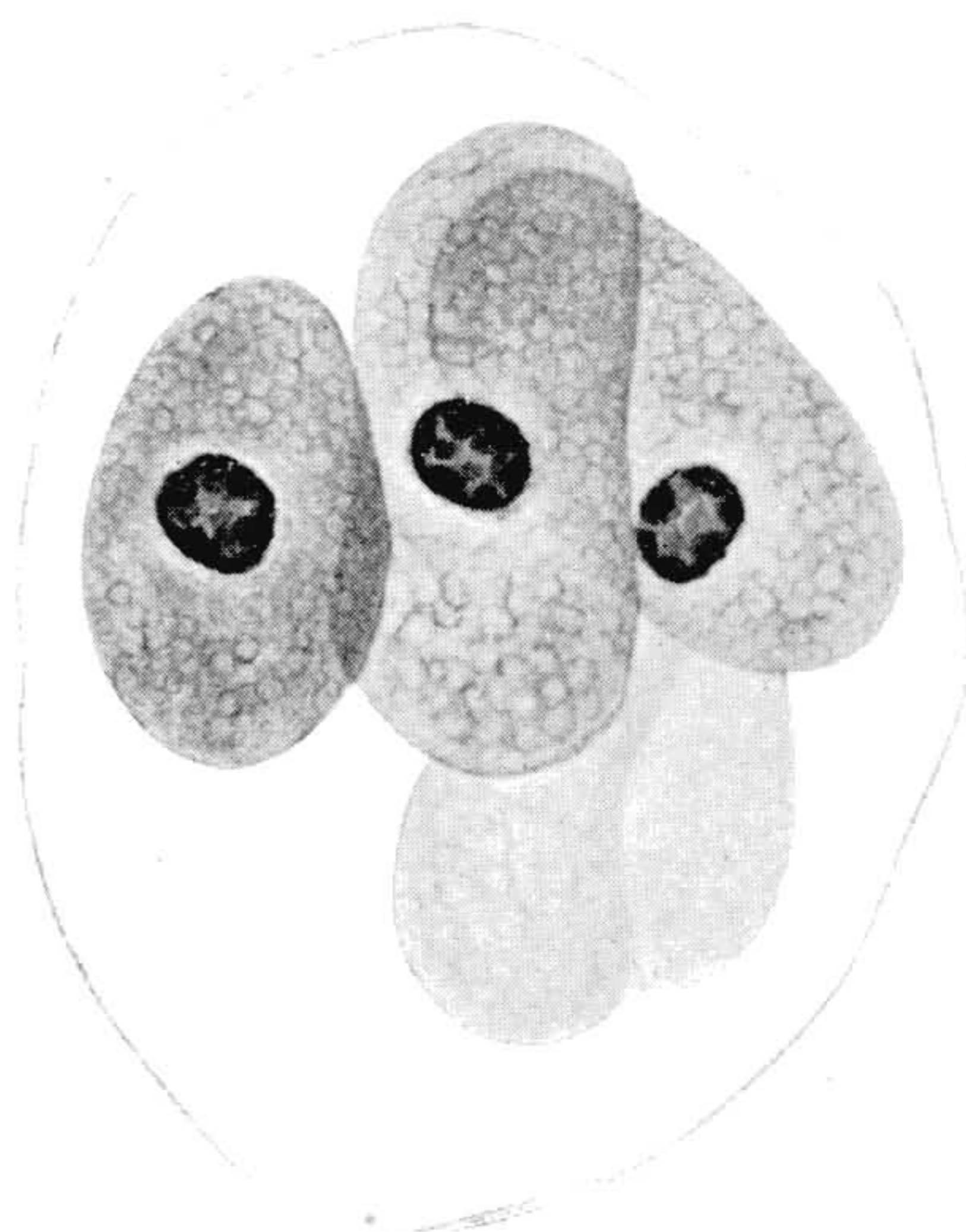


Fig. 4

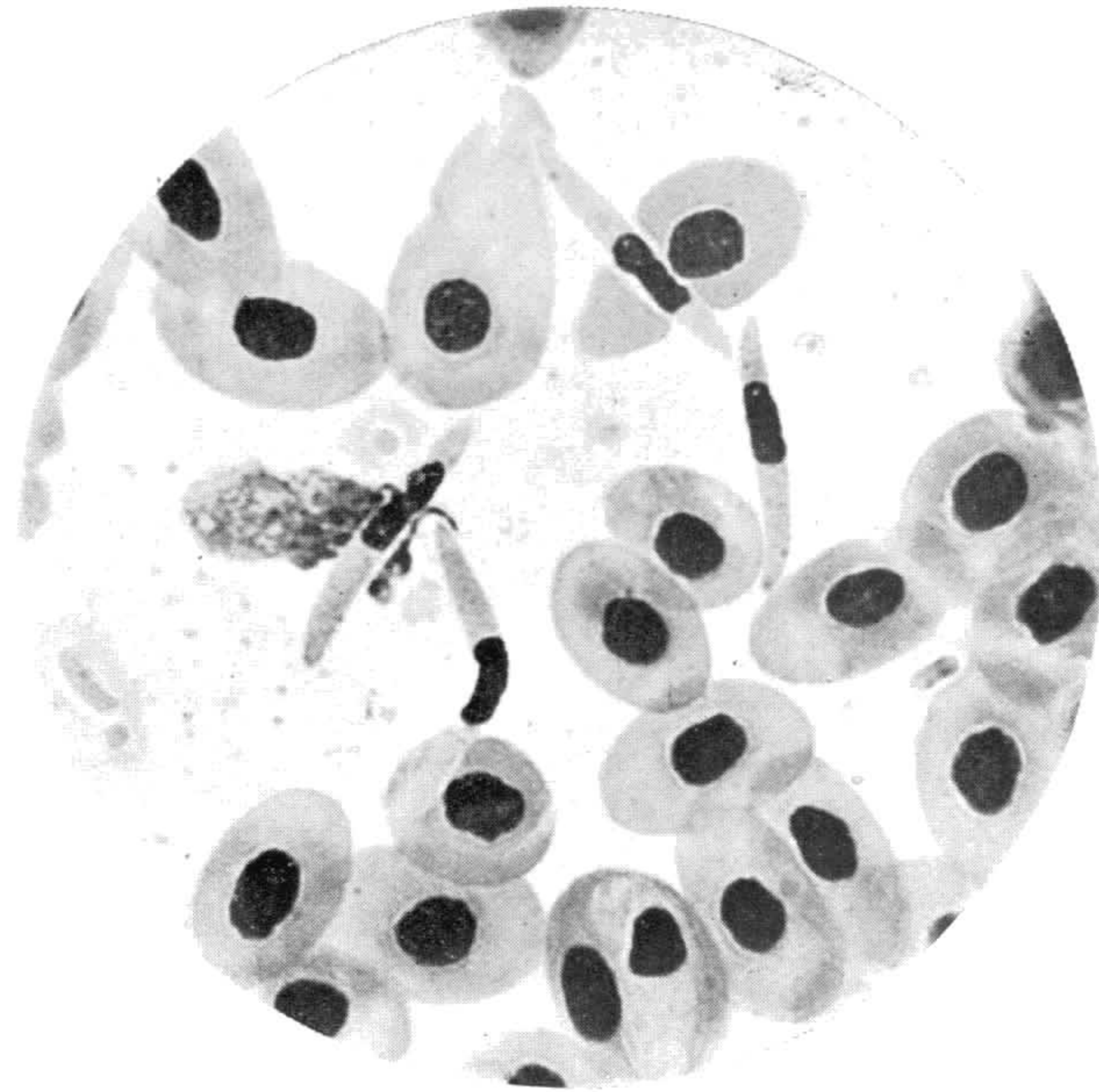


Fig. 1

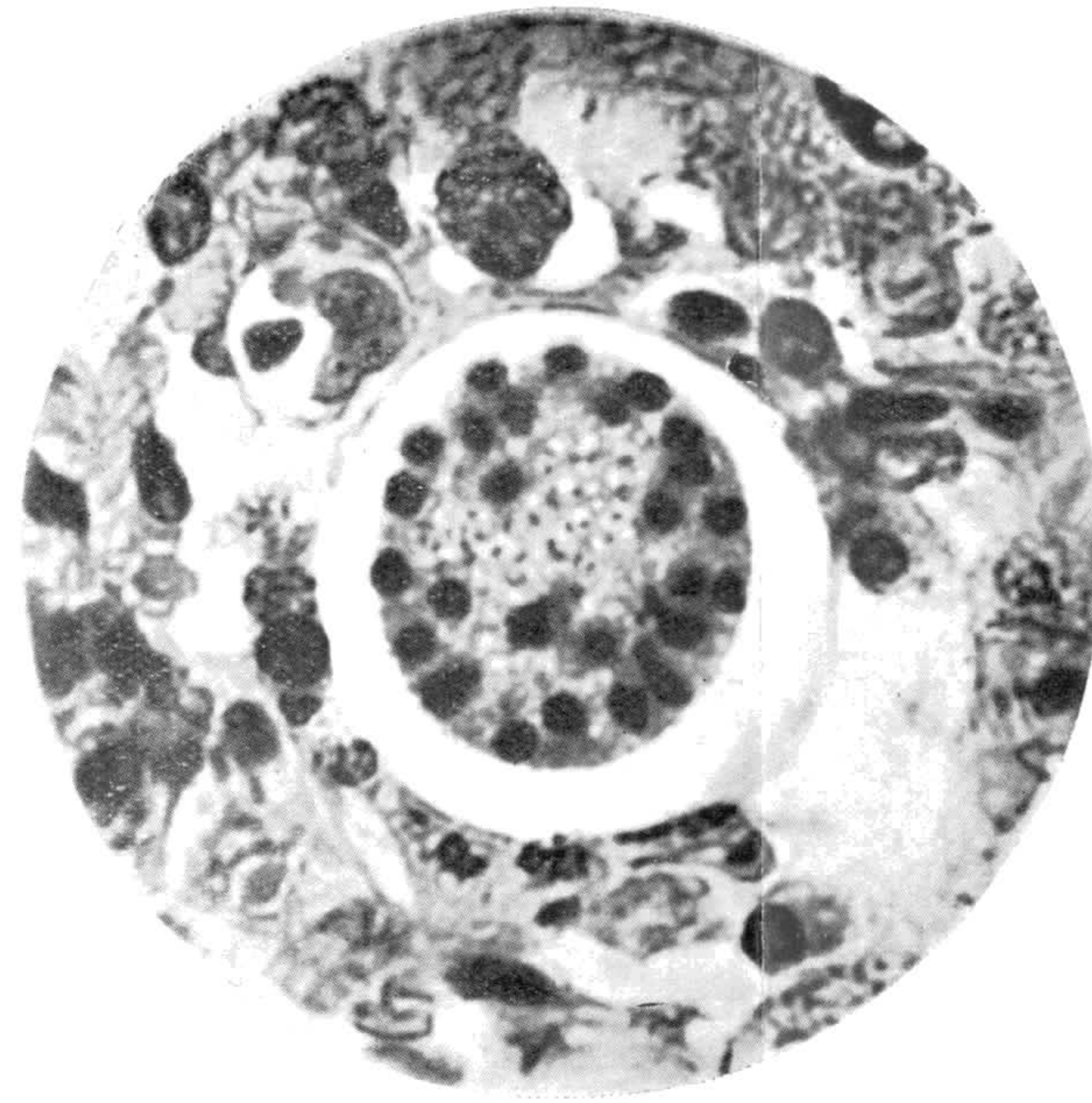


Fig. 2

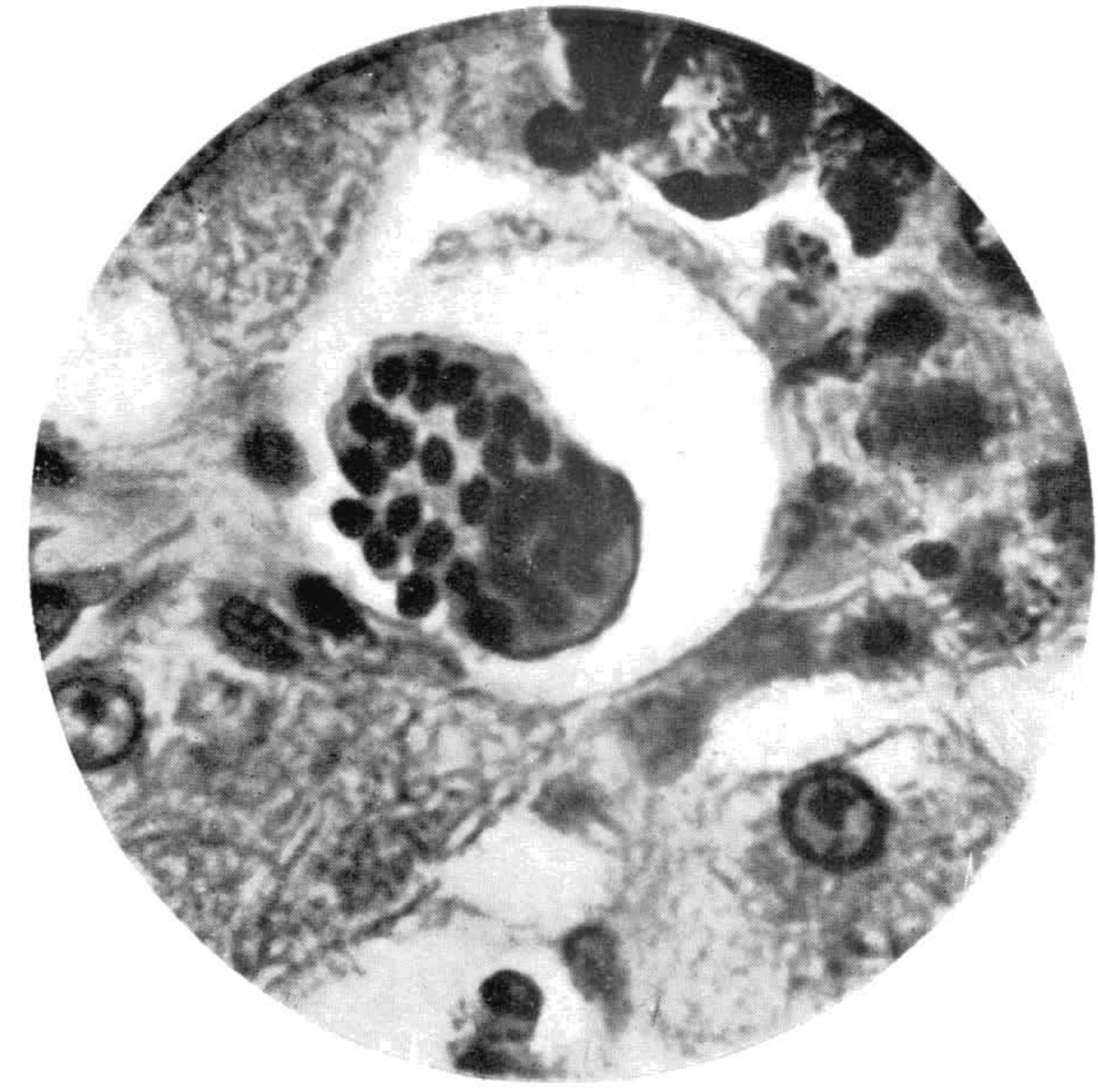


Fig. 3

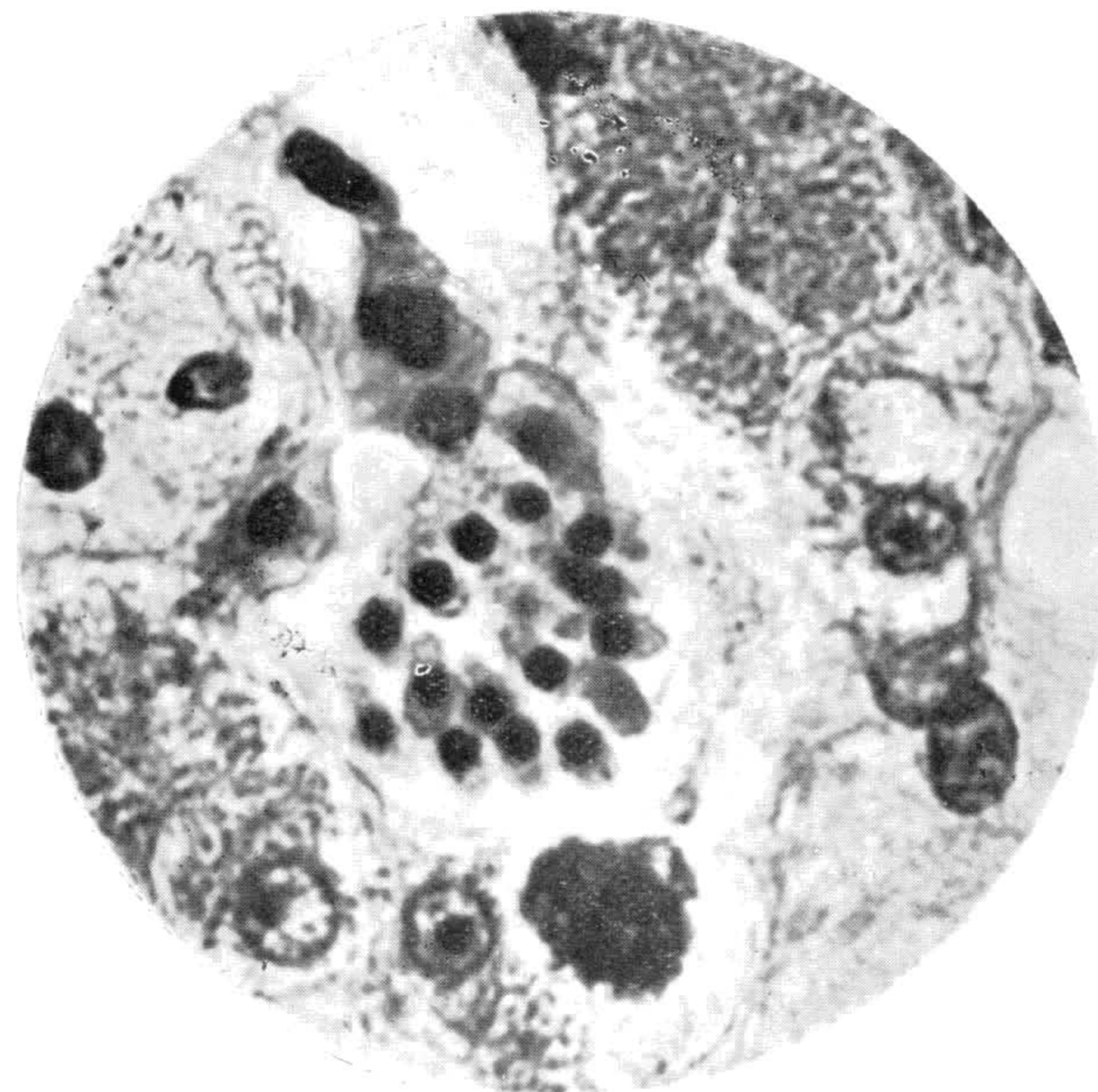


Fig. 4

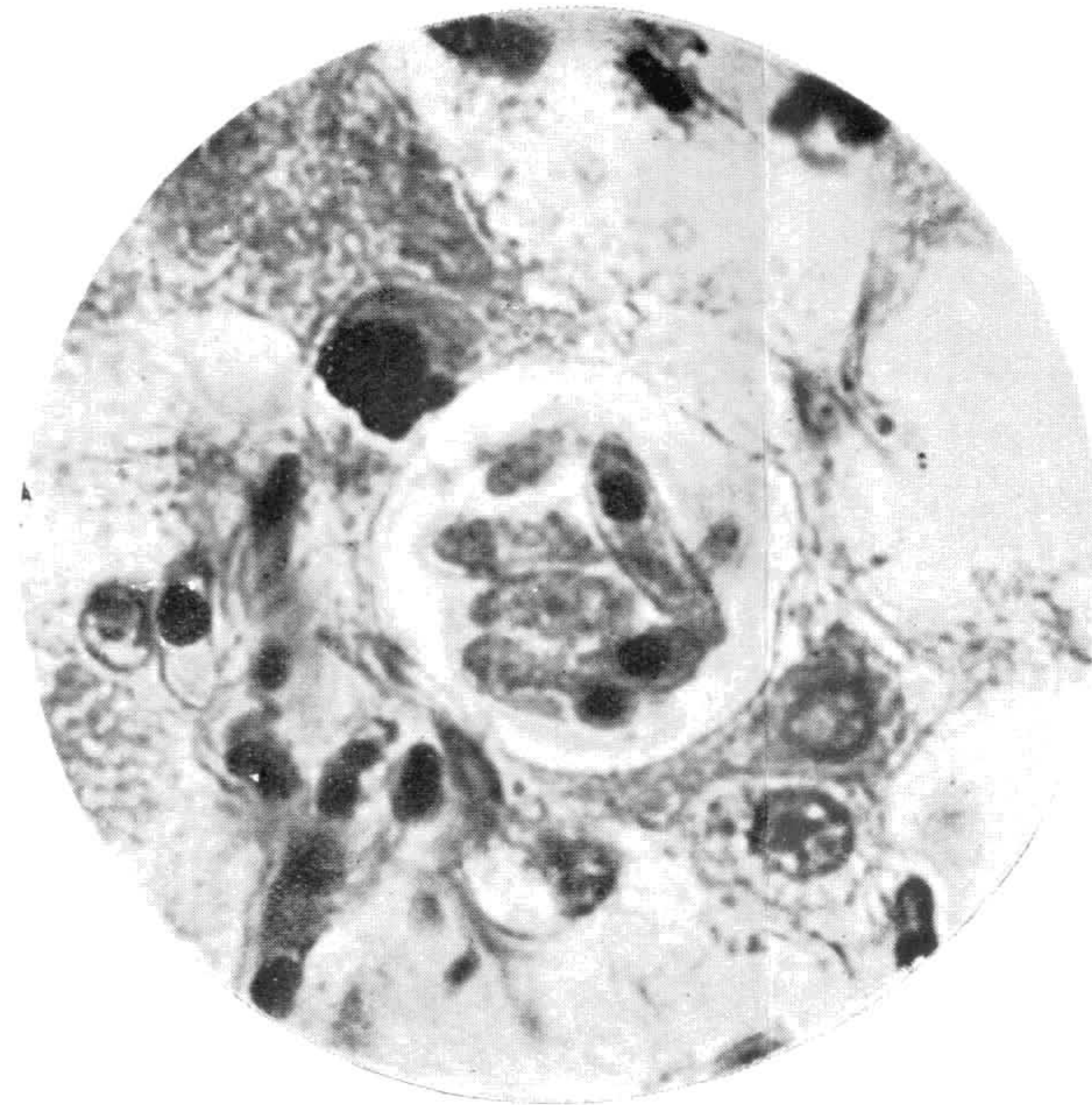


Fig. 5

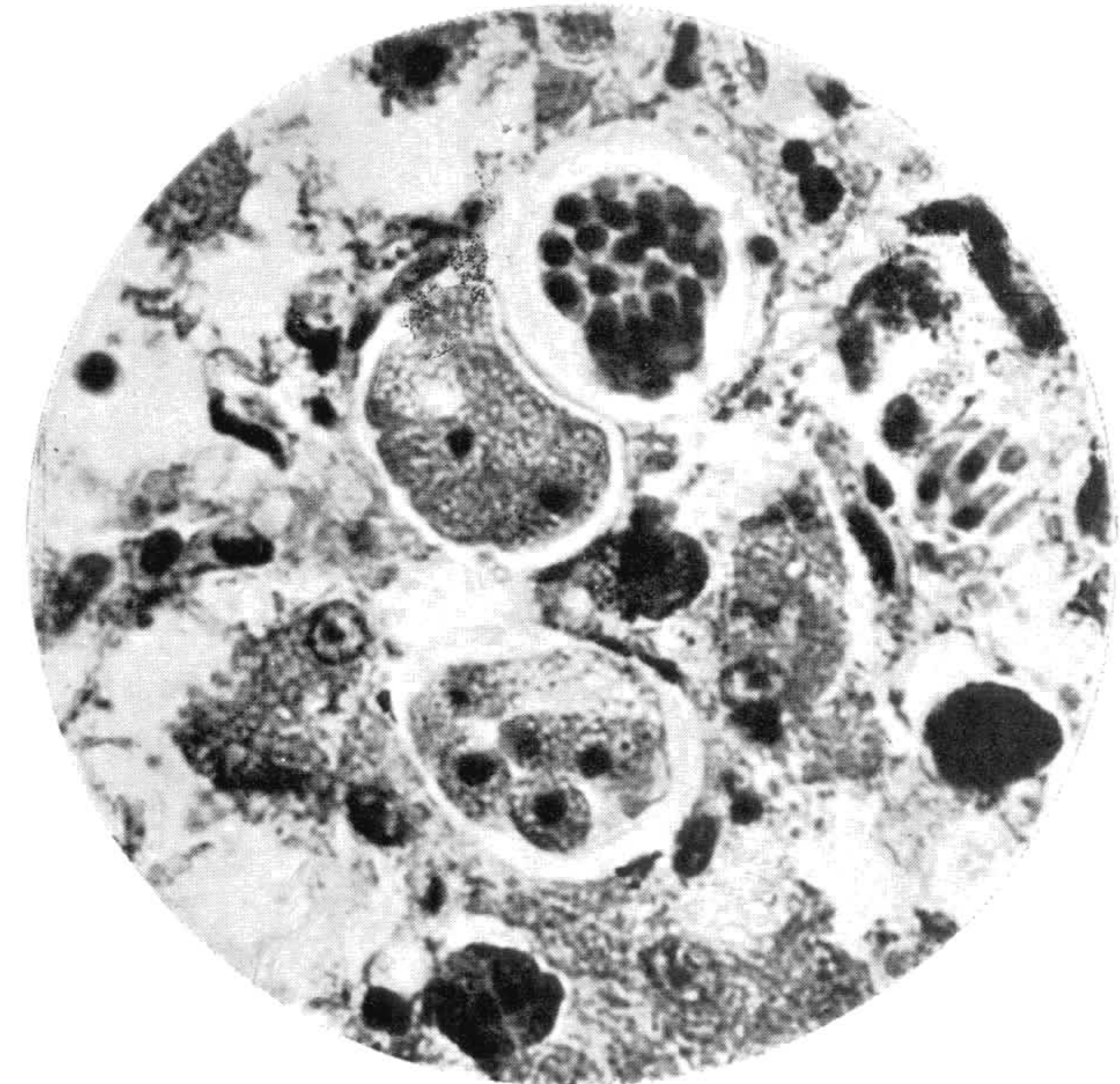


Fig. 6

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

TEXTO

Fig. 1.—Kystos gamogonicos desenhados com o mesmo augmento (oc. 12 comp. obj. $\frac{1}{12}$ imm.) com o fim de mostrar as variações de tamanho por elles apresentados de accôrdo com o numero de merozoitos. Dentro dos Kystos estão representados os nucleos dos merozoitos.

Fig. 2.—Kystos agamogonicos desenhados com o mesmo augmento (oc. 12 comp. obj. $\frac{1}{12}$ imm.) com o fim de mostrar as variações de tamanho por elles apresentados de accôrdo com o numero de merozoitos. Dentro dos Kystos estão representados os merozoitos.

ESTAMPA 165

Fórmulas encontradas no sangue.

Figs. 1 e 2.—Fórmulas livres no plasma.

Fig. 3.—Fórmula em via de penetração na hematia.

Figs. 4, 5, 6, 7.—Fórmulas apresentando as extremidades recurvadas após penetração nas hematias.

Figs. 8, 9.—Fórmulas largas no interior das hematias.

ESTAMPA 166

Gamogonia

Figs. 1 e 2.—Fórmulas iniciaes com 2 e 4 nucleos (E' de notar que nesta phase, não nos foi possível estabelecer si estas fórmulas se destinam a dar Kystos gamogonicos ou agamogonicos.

Figs. 3 e 4.—Fórmulas multinucleadas antes da individualisação dos merozoitos.

Fig. 5.—Forma na qual se pôde notar o inicio da individualisação dos merozoitos.

Fig. 6.—Fórmula apresentando uma individualisação mais completa dos merozoitos.

Fig. 7.—Kysto gamogonico com os merozoitos já individualizados, notando-se a existencia de um corpo residual.

ESTAMPA 167

Agamogonia

Fig. 1.—Fórmula uninucleada no interior de uma cellula hepatica.

Fig. 2.—Fórmula multinucleada com um dos nucleos em divisão.

Fig. 3.—Kysto agamogonico com 8 merozoitos e corpo residual.

Fig. 4.—Kysto agamogonico sem corpo residual.

ESTAMPA 168

Microphotographias

Fig. 1.—Fórmulas no sangue.

Fig. 2.—Fórmulas multinucleadas de gamogonia.

Fig. 3.—Inicio da individualisação dos merozoitos na gamogonia.

Fig. 4.—Gamogonia. Merozoitos já individualizados.

Fig. 5.—Agamogonia. Merozoitos já individualizados.

Fig. 6.—Kystos de gamogonia e de Agamogonia no mesmo campo microscopico.

Nota—Todos os desenhos das estampas 165, 166 e 167 foram feitos com camara clara a altura da meza com a ocular comp. 12 e obj. imm. $\frac{1}{12}$ representando um augmento de cerca de 2 800 vezes.