

MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo XXIV

Setembro — 1930

Fasciculo 2

Evolução dos gametos do *Plasmodium falciparum* (*)

(Nota preliminar)

pelo

DR. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO

(*Chefe de Serviço*)

(Com a estampa XIX)

A evolução dos gametos do *Plasmodium falciparum* é um problema de parasitologia ainda não completamente esclarecido, máo grado os numerosos trabalhos já feitos sobre o assumpto, por varios auctores, entre os quaes se podem citar Watson ¹, Maurer ², Von der Borne ³, Perekropow ⁴, Swellengrebel ⁵, Thomson ⁶, etc. e mais recentemente Ioff ⁷. Em grande parte se deve esta escassez de conhecimentos sobre a evolução das fórmãs sexuadas do *Plasmodium falciparum* á condição peculiar da sua biologia que leva este hematozoario a preferir os órgãos centraes para

(*) Recebido para publicação a 30 de Junho de 1930.

¹ Watson, L. 1903, The Journal of Trop. Med., vol. 6, pag. 221.

² Maurer, G. 1902, Zentralblatt für Bakteriologie, Orig., v. 32, pag. 695.

³ v. Der Borne, C. 1907, Archiv. f. Schiffs-und Trvpenhygiene.

⁴ Perekropow, G., 1914, Archiv. für Protistenkunde, vol. 35, pag. 139.

⁵ Swellengrebel, N., 1913, Zentralblat für Bakteriologie, vol. 70, pag. 179.

⁶ Thomson, D., 1913, Ann. of Trop. Med., pag. 85.

⁷ Ioff, I., 1930, Zentralblatt für Bakteriologie, Vol. 116, pag. 225.

nelle se desenvolver tanto na sua phase schizogonica como na gametogonica. Decorre disso que normalmente só se encontrem no sangue peripherico dos doentes atacados por esse hematozoario ou fórmulas jovens do parasito, os anneis, ou apenas gametos adultos. Nas infecções graves, em que a abundancia de parasitos nos órgãos centraes se torna muito grande, é que succede a passagem das differentes fórmulas da phase sexuada do parasito para o sangue peripherico. Serve assim de indice seguro da gravidade do caso o apparecimento de taes fórmulas na periphéria e tão depressa o doente melhora logo ellas dahi desaparecem. Em geral, porém, mesmo em taes casos, ellas não são extremamente abundantes. A esse tão accentuado splanchnotropismo do hematozoario da febre tropical se deve, em grande parte ainda permanecer incompleto o conhecimento de sua evolução.

Desejando estudar o assumpto, nos pareceu logico procurar o hematozoario nos seus focos de predilecção, nos órgãos, e de preferencia no individuo vivo pois que, no cadaver, o parasito rapidamente se altera e se apresenta com a morphologia modificada, mesmo nas autopsias recentes como tivemos repetida occasião de observar e se pode ver no trabalho de Thomson acima citado. Até mesmo no material colhido em doentes em coma, os hematozoarios já apparecem, ás vezes, bastante modificados.

Mereceu nossa preferencia para o estudo do hematozoario da febre tropical, o baço, por ser um dos órgãos de maior predilecção do parasito e pela relativa facilidade de acesso.

Havia a objecção do perigo de taes puncções, mas a esse respeito não tivemos, até agora, nenhum accidente desagradavel e isso devido a pericia com que as têm executado o nosso distincto collega e amigo Dr. Sylvio Moniz em cuja enfermaria, na Santa Casa do Rio de Janeiro, sempre encontramos a melhor acolhida, sendo nella feito grande parte deste trabalho. Até agora foram ahi punccionados cerca de 15 doentes sem nenhum inconveniente. E' com todo o prazer que deixamos aqui consignados os nossos mais sinceros agradecimentos ao Dr. Sylvio Moniz e a todos os seus assistentes, especialmente aos Drs. Dario Pinto e Dr. Dauro Mendes pelo valioso auxilio e grande interesse prestados ás pesquisas que realizamos na 9^a. enfermaria.

A puncção do baço nem sempre é efficaz sob o ponto de vista parasitologico, pois ás vezes dá mais sangue do que polpa do órgão propriamente dita que é o material ideal para os frottis quando nelle existem as desejadas fórmulas de evolução do parasita. Frequentemente, nos casos agudos recentes, as puncções do baço dão apenas fórmulas schizogonicas e, outras vezes sómente crescentes muito desenvolvidas, em certos

casos porém, se encontram no órgão, em profusão, as mais variadas fórmulas de evolução dos gametos. Foram estes casos que permittiram a seriação de parasitos que apresentamos neste trabalho e que a nosso vêr representam muitas das phases da evolução dos gametos de ambos os sexos do *Plasmodium falciparum*.

Os preparados de material do baço devem ser feitos, tão depressa quanto possivel, após a punção do órgão com a agulha e aspiração do material com seringa. Obtida um pouco de polpa, são feitos com ella os esfregaços tendo-se o cuidado de não exercer pressão nem fricção violenta no material, para não deformar os hematozoarios nelle existentes.

Deve-se cuidar que o material fique secco rapidamente e, uma vez isso conseguido, são as laminas fixadas pelo alcool absoluto e depois coradas pelo Giemsa usando nós 3 gottas de corante para cada centimetro cubico de agua. Desta fórmula ao cabo de 1 hora se tem um preparado perfeitamente corado tanto em relação aos parasitos como ás células. Os preparados seccos, fixados pelo alcool e corados pelo Giemsa são os que dão melhores aspectos aos parasitos. A fixação humida não é absolutamente recommendada para estas pesquisas. O exame destes frottis de baço comparado com os de sangue peripherico dos mesmos doentes e de outros, nos permittiram grupar algumas das differentes phases de evolução dos gametos do *Plasmodium falciparum*, de modo a dar de sua evolução e variações morphologicas, um esboço que se nos afigura bastante approximado da realidade e que esperamos sirva de schema para ultteriores pesquisas sobre o assumpto.

A seguir passamos a descrever a evolução dos gametos masculinos e femininos do *Plasmodium falciparum* de accôrdo com o resultado do exame de nossas preparações e o modo porque as interpreta-mos.

EVOLUÇÃO DOS GAMETOS MACHOS

As menores fórmulas de evolução destes gametos são, a nosso vêr, mentos ameboides, que se encontram no baço. Seu aspecto é o de pequenas constituidas pelos pequenos hematozoarios arredondados, sem prolongamentos parasitos arredondados, sem vacuolo nutritivo com protoplasma homogeneo corando-se em azul pelo Giemsa e com uma massa de chromatina um tanto grande, unica e de colorido vermelho rubi. Estas fórmulas não têm ás vezes mais de 2 μ de diametro (Est. XIX, fig. 1).

Fórmulas mais adeantadas do que estas attingem a 3 μ apresentando a chromatina fragmentada e agglomerada num ponto. Já se notam no

seu protoplasma começo de formação de pigmento (Est. XIX, fig. 2). Em phase de evolução mais adiantada do parasito elles se apresentam um pouco maiores que os precedentes e com a chromatina mais ou menos abundante, fragmentada ou não e disposta ora na periphéria ora no interior do corpo do hematozoario, em posição variavel, e com aspectos diversos. O pigmento apparece então muito abundante e disseminado pelo protoplasma do hematozoario sem nenhuma localisação especial nem tendencia a agglomeração. O protoplasma se apresenta azul sem vacuolos e o parasito tem uma fôrma arredondada ou ligeiramente alongada e augmenta sensivelmente de volume, podendo attingir a 4 a 5 μ de diametro.

Daqui em deante o futuro gameto macho começa a tomar uma fôrma alongada, ovoide ou elyptica. A chromatina se fragmenta e se espalha pelo protoplasma tanto na periphéria como na zona central delle. O pigmento, ainda mais abundante e com fôrma de granulos ou de pequenos bastonetes de côr parda amarellada, se apresenta tambem disseminado pelo protoplasma. O parasito nesta phase tem maior volume do que nos periodos anteriores (Est. XIX, figs. 8 e 9).

Em seguida o parasito começa a tomar a fôrma distincta de crescente. A principio elle se alonga e toma a fôrma de uma ellipse com o comprimento duplo da largura. O protoplasma apresenta-se corado em azul claro muito regularmente contornado e sem vacuolos de especie alguma. A chromatina sempre fragmentada se apresenta agglomerada numa zona qualquer do protoplasma. O pigmento com o aspecto já descripto é visto na porção do protoplasma não occupada pelo nucleo (Est. XIX, fig. 10).

Começa então o gameto masculino a se encurvar ligeiramente esboçando-se pela primeira vez nelle a fôrma em crescente. Este ainda é bastante pequeno e occupa o interior do globulo. Quanto ao protoplasma, á chromatina e ao pigmento elles mantêm os mesmos caracteristicos da phase anterior (Est. XIX, fig. 12).

Finalmente o crescente se desenvolve, toma a sua fôrma typica e distende o globulo vermelho do qual então só uma parte apparece na sua concavidade. O gameto macho typico e completamente desenvolvido se apresenta com o aspecto de crescente ou chouriço encurvado de 9 a 12 μ de comprimento e tem as extremidades grossas. Seu protoplasma é azul claro e no interior delle se vê a chromatina fragmentada e disseminada, salvo nas extremidades e de permeio a chromatina se vê o pigmento do gameto. Este gameto por sua fôrma mais curta e espessa, pelo protoplasma mais claro e pela distribuição

seminada do pigmento e da chromatina se distingue perfeitamente do gameto femea (Est. XIX, fig. 12).

EVOLUÇÃO DO GAMETO FEMEA

A evolução do gameto feminino é muito característica e em diversos pontos bastante diferente do crescente masculino. As fórmulas mais jovens do crescente femea se apresentam com o aspecto de faixas longas e delgadas que não são raras em certos casos de paludismo tropical, tanto nos órgãos como mesmo no sangue peripherico. Estas fórmulas já têm sido frequentemente vistas, representadas por diversos auctores que, no entanto, não as relacionaram com a evolução sexuada do *Plasmodium falciparum*. Ellas se dispõem sob a fórmula de longas faixas delgadas que atravessam o globulo de uma borda a outra, dividindo-o ás vezes, em metades sensivelmente eguaes. Estas faixas embora mais finas lembram, no entanto, pela disposição, as faixas equatoriaes do hematozoario da quartã. Podem ser vistas nos preparados a fresco com seu aspecto caracteristico e, quando coradas, se mostram constituídas por um delgado filamento regular de protoplasma, sem prolongamento algum pseudopodico e tendo, na parte média ou numa das extremidades, uma porção de chromatina alongada ou arredondada (Est. XIX, figs. 13 a 15). Aos poucos estas fórmulas do parasito se espessam, conservando porém sua morphologia primitiva. (Est. XIX, fig. 16). Nas fórmulas jovens ainda não ha pigmento, desde porém que o hematozoario se torna um pouco mais volumoso começa a se notar, no seu protoplasma, o apparecimento deste com o aspecto de finos granulos (Est. XIX, fig. 17).

Em phase mais adiantada de sua evolução o parasito se apresenta alongado, fusiforme, mais rico de pigmento que apparece então disseminado pelo protoplasma. A chromatina é vista como uma massa num ponto do protoplasma do gameta e é menos compacta do que nas fórmulas anteriores (Est. XIX, fig. 18). Wenyon ⁸ no seu tratado de prozoologia representa uma fórmula que lembra a que aqui figuramos.

O gameto continuando a se desenvolver perde a fórmula em fuso regular e apresenta uma das bordas relativamente recta ao passo que a outra se encurva para fóra. A chromatina torna-se mais abundante e começa a se fragmentar ao passo que o pigmento, sob a fórmula de granulos ou pequenos fragmentos pardo-escuros ou amarellados, apparece disseminado por todo o parasito. Estas fórmulas crescem até tomar cerca de me-

⁸ Wenyon C. M. 1926. Protozoology.

tade do globulo vermelho que até então, não se apresenta deformado (Est. XIX, figs. 17 a 24).

Daqui em deante nota-se que o gameto feminino principia a se alongar fortemente e o globulo o acompanha deformando-se tambem. As extremidades do parasito se tornam agudas e elle se apresenta com um tamanho e largura duplos das fórmulas anteriores (Est. XIX, figs. 16 e 24), podendo attingir a 13 a 15 μ . Toma então o gameto feminino a fórmula muito caracteristica de um fuso alongado ou de charuto já vistas por differentes auctores e para as quaes novamente chama a attenção Ioff, sem lhes dar uma interpretação precisa. O protoplasma do gameto se apresenta em todas estas fórmulas homogêneo corado em azul, ao passo que o pigmento apparece disseminado e a chromatina mostra já tendencia a se condensar e se approximar da parte central do parasito (Est. XIX, figs. 25 a 28).

Continuando a evolução observa-se no gameto que se tinha alongado muito, até então, a tendencia para se encurvar e tomar a futura fórmula em crescente. O pigmento continua ainda disperso e a chromatina mais condensada desloca-se para a parte média do gameto (Est. XIX, fig. 29).

Progredindo ainda mais o desenvolvimento do crescente accentua-se o curvamento delle e sua concavidade passa a ser então occupada pela parte livre do globulo vermelho. A chromatina se reúne na parte média do crescente e nota-se que, em torno della, começa a vir se agglomerar o pigmento até aqui disperso por todo o protoplasma do gameto. A fórmula em crescente com as extremidades finas e o protoplasma azul intenso se caracteriza do modo o mais evidente (Est. XIX, figs. 30 e 31).

Finalmente o gameto se encurva ainda mais e assim se vae accentuando a fórmula typica de crescente femêa com as extremidades finas. Na sua concavidade permanece a porção livre o globulo vermelho que elle parasita e o pigmento se condensa definitivamente em torno da chromatina collocada na parte central do parasito. O protoplasma têm a cor azul muito mais intensa que o do gameto macho e se apresenta livre de quaesquer vacuolos e granulações, salvo as de pigmento. O crescente femêa é sempre bem limitado e regular nos seus contornos e mede 12 a 14 μ de comprimento por 2 a 3 μ de largura na parte média.

Tomando o parasito o aspecto que acabamos de descrever completa-se a evolução do gameto femêa que é toda ella bastante interessante, caracteristica e bem differente do que succede á fórmula masculina.

Merecem aqui ainda menção algumas fórmulas curiosas de crescentes

que tivemos ocasião de reparar no decurso de nossas pesquisas em frottis de baço de doentes de paludismo tropical.

Nos preparados não são raros as já conhecidas fórmulas de dous crescentes num mesmo globulo como o documentam as figuras juntas (Est. XIX, figs. 33 a 35) em que apenas procuramos assignalar fórmulas jovens desses crescentes duplos, ainda com o pigmento disperso, pois as adultas já são bem conhecidas.

Além destas fórmulas queremos aqui deixar assignaladas outras sobre as quaes é difficil dar uma interpretação segura e que se acham representadas nas figs. 36 a 40 da est. XIX. Taes fórmulas são evidentemente fórmulas de evolução de gametos femeas mas em que os parasitos apresentam ao longo de uma das bordas uma faixa vermelha muito regular, mas não sabemos bem se isso constitue formação especial pela sua regularidade ou se um simples deposito de material corante devido a uma alteração ou degeneração do hematozoario. Estas fórmulas bizarras dos gametos da febre tropical se apresentaram, nos casos em que as observamos, misturadas a fórmulas communs e normaes.

A fig. 41 da estampa XIX representa tambem uma fórmula curiosa de gameto masculino em que observamos um excessivo augmento da chromatina e a figura 42 da mesma estampa um gameto arredondado encontrado num frottis de baço onde elles em geral são muito raros.

As differentes fórmulas dos gametos masculinos e femininos do hematozoario da febre tropical de *Plasmodium falciparum* acima descriptas representam, a nosso vêr, apenas um esboço da evolução desses parasitos para o qual chamamos a attenção daquelles que se dedicam a estudos parasitologicos sobre paludismo, esperando que, uma observação mais aprofundada do assumpto, possa vir a esclarecel-o definitivamente.

Antes de terminar queriamos assignalar que, como outros auctores, tambem verificamos nos frottis de baço a phagocytose de hematozoarios por leucocytos polynucleares mas o que notamos, a mais, é que taes leucocytos apenas englobam fórmulas de divisão do hematozoario ou fórmulas muito jovens e nunca fórmulas schizogonicas ou gametos desenvolvidos.

Rio, 30/VI/930.

EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA XIX.

Evolução dos gametos do *Plasmodium falciparum*.

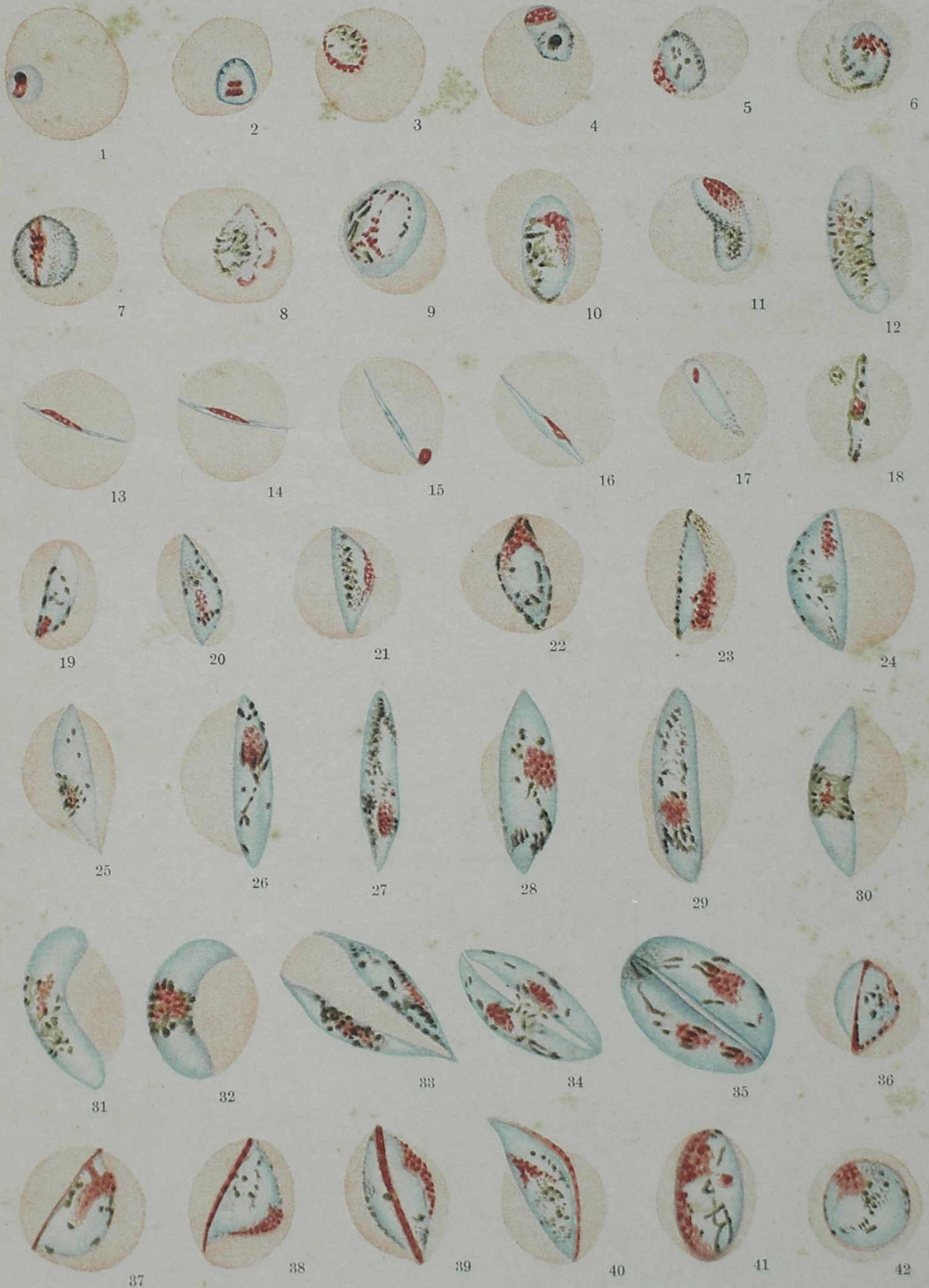
Figs. 1 e 2—Fórmulas muito jovens dos gametos machos.

Figs. 3 a 8—Fórmulas diversas da evolução dos mesmos gametos.

Figs. 9 e 10—Fórmulas de gametos machos em começo de alongamento.

- Fig. 11 —Gameto macho começando a encurvar-se.
Fig. 12 —Gameto macho completamente desenvolvido.
Figs. 13 a 16 —Fórmulas muito jovens em faixa estreita do gameto fêmea do *Plasmodium falciparum*.
Figs. 17 e 18 —Fórmulas em faixa mais larga dos mesmos gametos.
Figs. 19 a 24 —Fórmulas sucessivas da evolução do gameto fêmea no interior do globulo vermelho antes de se alongar.
Fig. 25 —Começo do alongamento do gameto fêmea.
Figs. 26 á 28 —Gametos fêmeas alongados com a fórmula de charuto.
Fig. 29 —Começo do encurvamento do gameto fêmea ainda com o pigmento disseminado.
Fig. 30 —Encurvamento do gameto fêmea e concentração do pigmento na parte mediana delle.
Figs. 31 e 32 —Gameto fêmea completamente desenvolvido.
Figs. 33 a 35 —Duplicidade de gametos fêmeas no mesmo globulo vermelho.
Figs. 36 a 40 —Gametos fêmeas com uma faixa vermelha num dos bordos.
Figs. 41 e 42 —Gameto macho com a chromatina extremamente desenvolvida, e uma fórmula redonda de um gameto.

Desenhos feitos a altura da mesa com a ocular compensadora 6 e a objectiva de imersão 1/12 Zeiss.



Porciuncula Moraes del.

COMPL. LITH. YPIRANGA - S. PAULO - R. 10