

# Aspectos interessantes de phagocytose observados na leishmaniose visceral e na malaria \*

por

L. Deane e F. N. Guimarães

(Com 2 estampas)

## 1. LEISHMANIOSE VISCERAL

O encontro de leishmanias no interior de leucocytos polymorpho-nucleares neutrophilos, com bem maior frequencia do que contidas em monocytos, no sangue peripherico de pacientes de leishmaniose visceral americana nos periodos prodromico e de invasão, nos levou a observar com certo detalhe, em esfregaços de medulla ossea obtida por punção de esterno de um delles (633 obs., prodromos), a localização e o aspecto dos parasitos contidos nos elementos da série granulocytica ahi existentes.

Na coloração do material de exame empregamos sómente o May-Grünwald-Giemsa.

Ahi encontramos leishmanias no interior não só de neutrophilos como tambem de eosinophilos, e ainda dentro de lymphocytos e macrophagos.

Chamou a atenção ainda o facto de os granulocytos continentes de leishmanias serem quasi sempre os immaturos, metamyelocytos neutrophilos e eosinophilos de nucleo em bastão e jovens (de Schilling).

1— Afim de obter dados numericos relativos a essas variantes de localização parasitaria, resolvemos contar especificamente os granulocytos encontrados em um dos esfregaços, e estabelecer percentagens para aquelles que continham leishmanias.

---

\* Recebido para publicação a 15 de Janeiro de 1938 e dado á publicidade em Agosto de 1938.

O quadro abaixo resume a observação:

	Exemplares contados	Contendo leishmanias	Percentagem especifica	Percentagem global
Granulocytos	116	19	16,38 %	16,38 %
a) Neutrophilos:	85	12	14,11 %	10,34 %
myelocytos	21	0	0,00 %	0,00 %
metamyelocytos j.	18	3	16,66 %	2,58 %
metamyelocytos b.	32	8	25,00 %	6,09 %
adultos	14	1	7,14 %	0,86 %
b) Eosinophilos:	31	7	22,57 %	6,00 %
myelocytos	10	1	10,00 %	0,86 %
metamyelocytos j.	6	3	50,00 %	2,58 %
metamyelocytos b.	9	3	33,33 %	2,58 %
adultos	6	0	0,00 %	0,00 %

2 — Procuramos notar ainda o aspecto dos leucocytos que englobavam leishmanias, tendo observado o seguinte:

	Contendo leishmanias	Alterados	Sem leishmanias	Alterados
a) Neutrophilos:				
myelocytos	0	0	21	0
metamyelocytos j.	3	1	15	1
metamyelocytos b.	8	3	24	1
adultos	1	0	13	0
b) Eosinophilos:				
myelocytos	1	0	9	0
metamyelocytos j.	3	1	3	0
metamyelocytos b.	3	0	6	0
adultos	0	0	6	0

As alterações mencionadas parecem incidir preponderantemente sobre o plasma dos leucocytos. Consistiram na perda mais ou menos accentuada de nitidez do contorno do globulo, com distribuição anarchica das granulações, dispostas em blocos irregulares e formando em seu conjunto areas escuras e pallidas; o nucleo tambem de contornos imprecisos tingia-se menos intensamente pelas côres basicas.

3 — Julgando muito interessante a relação entre os granulocytos e as leishmanias nelles contidas e o aspecto por estas ahi apresentado, descrevemos abaixo o que pudemos notar a respeito:

*Granulocyto 1:* — Neutrophilo metamyelocyto b., de aspecto normal, contendo 5 leishmanias, grandes, arredondadas, de contorno pouco nitido, plasma descorado inteiramente, nucleos ora mais ora menos picnó-

licos, sempre menores e mais corados que normalmente, blepharoplasto em bastonete curto em uma e arredondado nas demais, menos corado que o nucleo em todas e de tonalidade francamente rosea (Microphoto).

*Granulocyto 2:* — Neutrophilo metamyelocyto j., de plasma muito alterado, contendo 1 leishmania grande, arredondada, plasma descorado, nucleo quasi normal, blepharoplasto roseo curto.

*Granulocyto 3:* — Neutrophilo metamyelocyto b., de plasma quasi destruido, com prolongamentos irregulares, granulos distribuidos anarchicamente, ora em blocos formando areas escuras, ora rarefeitos originando zonas muito claras. Continua 3 leishmanias.

A primeira de contorno nitido, ovalado, plasma corado em azul claro, mostrando tres areas mais pallidas com aspecto de vacuolos, nucleo de tamanho regular e chromatina bem visivel, coloração normal, blepharoplasto em bastonete, longo, muito mais intensamente corado que o nucleo, aspecto normal.

Uma segunda de contorno nitido quasi redondo, tamanho mais ou menos igual ao da precedente, plasma descorado, nucleo de diametro approximadamente igual a  $2/3$  da precedente, bem mais corado e sem estructura chromatica nitida; blepharoplasto fusiforme, um pouco mais longo e mais largo do que a precedente, e corado em roseo.

Uma terceira, de plasma invisivel, sem contorno, nucleo medindo cerca de  $1/2$  do da primeira, absolutamente sem estructura visivel e de coloração bem mais escura que o da segunda; blepharoplasto reniforme, curto, grosso, quasi redondo, de volume talvez igual ao da primeira e de coloração rosea porém mais escura que na segunda.

*Granulocyto 4:* Neutrophilo metamyelocyto b., com plasma pouco alterado, (granulações raras em alguns trechos, contorno irregular). Continua 3 leishmanias, todas grandes, globulosas, de plasma descorado, nucleo quasi normal aparentando ligeira picnose, e blepharoplasto apenas talvez um pouco mais claro que commumente.

*Granulocyto 5:* Metamyelocyto neutrophilo b., de aspecto normal, incluindo uma leishmania grande, globulosa, de contorno não nitido, plasma descorado, nucleo peripherico e estirado, delgado, intensamente corado, de apparencia picnotica; blepharoplasto grande, arredondado, roseo.

*Granulocyto 6:* Neutrophilo metamyelocyto j., de aspecto normal, contendo 1 leishmania grande, globulosa, de plasma descorado, nucleo

constituído por simples granulo escuro (resto nuclear?), bem menor que o grande blepharoplasto redondo, de contorno não nitido e coloração rosea.

*Granulocyto 7:* Neutrophilo metamelocyto b., não alterado, contendo 2 leishmanias alongadas, acoladas, formando um conjuncto grande e globuloso em uma e fragmentado na outra (caryorrhesis?), blepharoplasto invisível em uma e se apresentando na outra sob a forma de um granulo mais escuro juxtaposto ao nucleo.

*Granulocyto 8:* Neutrophilo metamyelocyto b., aspecto normal, contendo 1 leishmania arredondada mas de tamanho normal, plasma azul muito pallido, nucleo normal, blepharoplasto redondo e roseo.

*Granulocyto 9:* Neutrophilo adulto de nucleo bilobado, aspecto normal, contendo 1 leishmania globulosa e de plasma descorado, nucleo mais claro do que normalmente, blepharoplasto normal, nitido.

*Granulocyto 10:* Neutrophilo metamyelocyto b., normal, contendo 2 leishmanias grandes, globulosas acoladas de plasma descorado, de nucleos normaes, blepharoplastos muito pequenos, em bastonetes, muito escuros, localizados na periphèria das leishmanias.

*Granulocyto 11:* Neutrophilo metamyelocyto j., normal, contendo 1 leishmania grande e globulosa, de plasma descorado, nucleo longo e estreito, de apparencia picnotica, blepharoplasto redondo, roseo, periphèrico.

*Granulocyto 12:* Eosinophilo metamyelocyto j., de plasma rompido e granulações parcialmente espalhadas. Continha 2 leishmanias: 1 de contorno nitido, plasma descorado, globuloso, nucleo picnotico, blepharoplasto redondo e um pouco mais claro do que o nucleo; outra de contorno indeterminado (coberta pelas granulações eosinophilas), nucleo e blepharoplasto normaes.

*Granulocyto 13:* Eosinophilo metamyelocyto j., normal, contendo 1 leishmania grande, globulosa, arredondada, plasma descorado, nucleo fragmentado e blepharoplasto invisível.

*Granulocyto 14:* Eosinophilo metamyelocyto b., normal, contendo 1 leishmania grande de contorno nitido, plasma descorado, nucleo maior do que normalmente, blepharoplasto aparentemente pequeno, bem corado, em bastonete.

*Granulocyto 15:* Eosinophilo metamyelocyto b., quasi normal, contendo 1 leishmania grande, de contorno nitido, globulosa, plasma descorado, nucleo alongado escuro, blepharoplasto normal. Ao lado do leucocyto e quasi acoladas á superficie de seu plasma viam-se 3 leishmanias normaes.

*Granulocyto 16:* Eosinophilo metamyelocyto b., normal, contendo 1 leishmania arredondada, de contorno não nitido, plasma descorado, nucleo pouco alterado, blepharoplasto roseo, arredondado e grande.

*Granulocyto 17:* Eosinophilo metamyelocyto j., normal, contendo 2 leishmanias; uma de plasma globuloso e descorado, contorno irregular, nucleo com a chromatina concentrada em uma das metades, blepharoplasto globular, grande e roseo; outra sob a forma de um vacuolo de contorno regular, grande e globuloso, apresentando duas formações granulares pequenas muito coradas que não pudemos saber se representam restos nucleares ou se constituem nucleo e blepharoplasto.

*Granulocyto 18:* Eosinophilo myelocyto normal, contendo 1 leishmania de contorno nitido, plasma azulado, nucleo de tamanho normal mas de chromatina irregularmente distribuida, blepharoplasto pequeno e delgado embora de coloração normal.

*Granulocyto 19:* Neutrophilo metamyelocyto b., de plasma e nucleo alterados contendo 6 leishmanias.

Uma dellas, grande, globulosa, de contorno nitido, de plasma descorado, nucleo de aspecto mais ou menos normal, blepharoplasto em bastonete mas de coloração menos intensa que normalmente. Uma segunda sem contorno nitido, de plasma descorado, nucleo medindo a metade do da primeira e muito intensamente corado (francamente picnótico), blepharoplasto em bastonete curto, de coloração igual á do precedente.

Uma terceira, de tamanho equivalente ao da primeira, globulosa, de plasma descorado, contorno nitido, nucleo normal, blepharoplasto fusiforme, muito mais curto, largo e pallido que normalmente.

Uma quarta, grande, globulosa, de contorno nitido, plasma levemente azulado mas muito mais claro que normalmente, nucleo e blepharoplasto mais ou menos normaes.

Uma quinta, de contorno indelimitavel, plasma descorado, nucleo em inicio de picnose, blepharoplasto curto e largo, de contorno irregular mostrando 3 granulos escuros envoltos em area rosea.

Uma sexta de contorno indeterminavel, nucleo grande de forma irregular e coloração mais clara que normalmente, blepharoplasto em bastonete longo, menos nitido que nas formas communs.

Na peripharia do leucocyto, em ponto onde o plasma deste parece rompido, nota-se uma leishmania sem contorno visivel, plasma descorado, nucleo ligeiramente picnótico, blepharoplasto ausente.

4—Foram visto 3 lymphocytos portadores de leishmanias, sendo que um delles continha 3 parasitos.

5 — Dentre os 10 macrophagos encontrados, 4 continham leishmanias e assim os descrevemos:

*Macrophago 1.* — Pouco alterado: prolongamentos irregulares e um grande vaculo em uma das extremidades. Dentre as 27 leishmanias contidas o plasma era em todas difficilmente visivel, 2 mostravam blepharoplasto redondo, grande e claro e 1 blepharoplasto longo e claro; as demais, blepharoplasto normal; nucleos aparentemente normaes em todas.

*Macrophago 2.* — Aspecto normal, contendo 14 leishmanias, 2 normaes, 9 com plasma descorado mas nucleo e blepharoplasto normaes, 3 sem blepharoplasto visivel.

*Macrophago 3.* — Plasma rompido com fragmentos ao lado. Continha 6 leishmanias, 2 normaes e as demais com plasma descorado, nucleo normal e blepharoplasto arredondado e roseo.

*Macrophago 4.* — Ligeiramente alterado, contendo 21 leishmanias, todas sem contorno nitido e de plasma descorado, 9 com blepharoplasto e nucleo normaes.

Os 6 demais macrophagos mostraram-se inalterados.

6 — Sob o ponto de vista do numero de leishmanias incluidas e do aspecto por ellas apresentado, organisou-se o esquema seguinte:

		Numero de leishmanias contidas	Leishmanias normaes	Leishmanias pouco alteradas	Leishmanias muito alteradas
Neutrophilos:					
myelocytos	— 0	0	0	0	0
metamyelocytos j.	— 1	1	0	0	1
	— 1	1	0	0	1
	— 1	1	0	0	1
metamyelocytos b.	— 1	2	0	2	0
	— 1	6	0	1	5
	— 1	5	0	0	5
	— 1	3	1	0	2
	— 1	3	0	3	0
	— 1	1	0	0	1
	— 1	2	0	2	0
	— 1	1	0	1	0
adultos	— 1	1	0	1	0
Eosinophilos:					
myelocytos	— 1	1	0	1	0
metamyelocytos j.	— 1	2	1	0	1
	— 1	1	0	0	1
	— 1	2	0	0	2
metamyelocytos b.	— 1	1	0	0	1
	— 1	1	0	1	0
	— 1	1	0	0	1
adultos	— 0	0	0	0	0
<b>Numeros totaes</b>	<b>19</b>	<b>36</b>	<b>2</b>	<b>12</b>	<b>22</b>

- 7 — Algumas deducções podem ser tiradas do supraexposto, a saber :
- a) — Os chamados « microphagos » mostraram intensa capacidade phagocytaria deante de elementos relativamente grandes como são as leishmanias.
  - b) — Não só neutrophilos (11,90 %) mas tambem eosinophilos (22,57 %) apresentaram essa propriedade em alto grau.
  - c) — A phagocytose foi mais notavel nos globulos immaturos, especialmente metamyelocytos tanto neutrophilos como eosinophilos, do que nos elementos adultos.
  - d) — O phenomeno deve ser na realidade uma phagocytose; os granulocytos pareceram francamente activos pois as leishmanias não demonstram multiplicar-se em seu interior e apresentam-se quasi sempre como elementos em via de destruição.
  - e) — As leishmanias contidas nos granulocytos foram muito raramente normaes (5,55 %), mostraram bastante vezes alterações pequenas (33,33 %) e mais frequentemente grandes modificações de estructura (61,12 %).
  - f) — Estas modificações pareceram se processar na seguinte ordem : O parasito torna-se primeiro globuloso, depois o plasma perde a colorabilidade, no nucleo inicia-se um processo de picnose enquanto o blepharoplasto vae ficando mais curto, largo e pallido, tornando-se fusiforme, ou ellipsoide e enfim arredondado e grande, apresentando no decorrer deste processo, areas de coloração mais densa.  
As leishmanias muito alteradas mostraram-se, assim, globulosas, com plasma sem contorno nitido, nucleo em franca picnose, blepharoplasto quasi do tamanho do nucleo, redondo e roseo. Mais tarde nucleo e blepharoplasto podem se fragmentar e desaparecer.
  - g) — Comparando-se as leishmanias contidas nos granulocytos com

as incluídas em macrophagos, notam-se diferenças interessantes: aqui, ellas parecem multiplicar-se intensamente, mostram com maior frequencia aspecto normal, sendo muito raras as que apresentam signaes de soffrimento.

- h)* — Os granulocytos que continham leishmanias mostraram as vezes alterações em sua estructura, o que pareceu demonstrar tambem uma certa acção do parasito sobre o phagocyto.
- i)* — Interessante tambem se tornou o encontro de leishmanias no plasma de lymphocytos.

\*\*

## 2. MALARIA

Aproveitamos o encontro dos quadros acima descriptos na leishmaniose como oportunidade para relatar observações semelhantes feitas a 18 mezes atraz em um caso de malaria.

No sangue peripherico de uma mulher no 9.º mez de gravidez e accommetida de terçã maligna (M. C. F. — Maternidade da Santa Casa do Pará, Ex. de lab. n.º 39.289) pudemos encontrar, além de elementos abundantes do cyclo eschizogonico e da evolução completa dos gametocytos do *P. falciparum* (o que constituirá assumpto de nota a parte), grande numero de schizontes, merozoitos e rosaceas inteiras do mesmo parasito além de granulos de hemozoina incluídos não sómente em monocytos, mas tambem e, principalmente, em granulocytos neutrophilos e até mesmo em lymphocytos.

As preparações de sangue obtido por punção digital em periodo de franca pyrexia (39º5) foram corados pelos methodos de Leishman e Giemsa.

Fizemos a contagem especifica percentual dos leucocytos obtendo:

Neutrophilos		82,50 %
myelocytos	2,00 %	
metamyelocytos j.	10,00 %	
metamyelocytos b.	48,00 %	
adultos	22,50 %	
Eosinophilos		1,00 %
myelocytos	0,50 %	
metamyelocytos j.	0,50 %	
metamyelocytos b.	0,00 %	
adultos	0,00 %	
Basophilos		0,00 %
Lymphocytos		14,00 %
Monocytos		2,50 %



Sobre os numeros totaes e percentuaes das diversas especies de granulocytos encontradas contendo parasitos ou hemozoina, organisamos o quadro a seguir:

	Exemplares contados	Contendo parasitos ou hemozoina	Percentagem especifica	Percentagem global
Granulocytos	600	108	18,00 %	18,00 %
a) Neutrophilos	595	108	18,15 %	18,00 %
myelocytos	12	1	8,33 %	0,16 %
metamyelocytos j.	53	8	15,09 %	1,33 %
metamyelocytos b.	344	74	21,51 %	12,33 %
adultos	186	25	13,51 %	4,16 %
b) Eosinophilos	5	0	0,00 %	0,00 %
myelocytos	2	0	0,00 %	0,00 %
metamyelocytos j.	1	0	0,00 %	0,00 %
metamyelocytos b.	1	0	0,00 %	0,00 %
adultos	1	0	0,00 %	0,00 %

2 — Dentre os agranulocytos estabelecemos o seguinte esquema:

	Elementos contados	Contendo parasitos ou hemozoina	Percentagem especifica	Percentagem global
Agranulocytos	100	7	7,00 %	7,00 %
a) Lymphocytos	75	3	4,00 %	3,00 %
Monocytos	27	4	14,81 %	4,00 %

3 — Embora tenhamos contado 108 granulocytos neutrophilos contendo parasitos ou hemozoina em 600 desses globulos brancos, escolhemos apenas 20 delles, que nos pareceram os mais communs ou mais interessantes, para a descripção que segue:

*Granulocyto 1:* Neutrophilo metamyelocyto b., com plasma apresentando granulações aparentemente diminuidas, nucleo de limite menos precisos do que normalmente. Continha uma rosacea de contorno nitido, de plasma corado embora não tão intensamente quanto no normal, mas sem mostrar segmentação, e 7 nucleos dos quaes 2 eram normaes, 2 apresentavam picnose, 1 era um pouco augmentado e mais claro, e 2 muito augmentados, pallidos, de contorno impreciso, apresentando em seu interior pontos mais escuros; na peripheria da rosacea, um bloco grande e compacto de hemozoina.

Além da rosacea englobava mais 8 merozoitos livres e espalhados sem ordem, todos de plasma descorado, 1 com nucleo picnotico, 1 com nucleo normal, 3 mostrando um halo roseo na peripheria, 2 com nucleo muito volumoso e pallido, e 1 no qual este elemento, embora

muito grande e claro, apresentava a periphéria bem mais escura a ponto de lhe dar um contorno nitido e regularmente arredondado.

*Granulocyto 2:* N. metam. b., com plasma mal delimitado, granulações pouco visíveis. Continha um plasmodio com aspecto de schizonte, de plasma descorado e nucleo de aspecto normal em via de divisão.

*Granulocyto 3:* N. metam. b., com plasma vacuolado, granulações arbitrariamente espalhadas. Englobava 1 rosacea de contorno nitido e de plasma descorado, contendo 5 nucleos, um dos quaes normal, e os 4 demais grandes, pallidos e de limites pouco precisos. Um bloco de hemozoina formado de bastonetes frouxamente dispostos. Além da rosacea mais 8 merozoitos livres; 1 de nucleo picnótico, 3 de nucleo normal, e 4 de nucleo augmentado, pallido e de contorno mal definido; todos com o plasma descorado.

*Granulocyto 4:* N. adulto, de plasma pouco alterado, limite nitido a não ser na proximidade dos parasitos englobados; granulações aparentemente não diminuidas, embora pallidas e dispostas sem grande regularidade. Nucleo bilobado, de lobos grandes, chromatina mal delineada, e apresentando 3 vacuolos.

Continha 3 rosaceas, todas desorganizadas, com merozoitos dispostos de modo anarchico. Contou-se 3 blocos arredondados de granulos de hemozoina, 2 grandes e um pequeno, bem delineados todos. Dos 26 merozoitos existentes, o plasma era descorado em todos, apresentando-se como simples area mais clara em torno do nucleo; 17 nucleos eram normaes, e 9 mostravam-se bem augmentados, pallidos, com zonas mais escuras preponderantes quer na parte central, deixando então em torno um halo roseo, quer na periphéria, dando ao nucleo um limite nitido.

*Granulocyto 5:* N. metam. b., com plasma de contorno nitido e granulações dispostas um tanto arbitrariamente, chromatina nuclear formando blocos super-corados entremeados de areas pallidas.

Continha 5 merozoitos, todos de plasma indelimitavel e descorado, 2 com nucleo picnotico e os demais com nucleo normal. Além disso 4 grandes blocos de hemozoina, em 2 dos quaes o pigmento se dispunha de modo a conferir ao todo um aspecto frouxo, grupando-se compactamente nos 2 demais.

*Granulocyto 6:* N. metam. b., com plasma de contorno nitido e muito vacuolado, granulações dispostas de modo anarchico formando manchas escuras e zonas claras e sendo mais abundante perto do nucleo, que se apresentava mais ou menos normal.

Continha 2 schizontes, 1 dos quaes com nucleo mais pallido normalmente.

*Granulocyto 7*: N. metam. b., contendo 2 granulos de hemozoina a um lado do nucleo, e 2 blocos de 3 merozoitos cada, de plasma descorado e nucleo em todos mais pallido que normalmente.

*Granulocyto 8*: N. metam., englobava 1 rosacea de plasma de contorno regularmente arredondado e nitido, de coloração pouco mais pallida que normalmente, sem mostrar segmentação interna e apresentando 8 nucleos de aspecto normal.

*Granulocyto 9*: N. metam. b., de contornos imprecisos, granulações diminuidas em numero; nucleo com zonas escuras contrastando com outras coradas pallidamente, vendo-se ainda, na parte central, 2 pequenas areas descoradas.

Encerrava 2 rosaceas e 1 schizonte. A 1.<sup>a</sup> rosacea tinha contorno nitido, plasma nitidamente corado em azul e segmentado de modo a formar 6 merozoitos, entre os quaes via-se granulos de hemozoina. A 2.<sup>a</sup> rosacea achava-se rompida, e os merozoitos (em numero de 12) e os granulos de hemozoina encontravam-se espalhados sem ordem na massa protoplasmica do leucocyto. O nucleo de alguns desses merozoitos mostrava-se corado pallidamente. O schizonte tinha nucleo volumoso e plasma exiguo corado pallidamente e apresentando vacuolo nitido.

*Granulocyto 10*: N. metam. b., de contornos imprecisos, granulações desaparecidas; nucleo apresentando areas descoradas ao lado de zonas coradas umas menos outras mais intensamente.

Continha 10 merozoitos, 6 agglutinados e 5 esparsos no plasma. Nenhum delles apresentava plasma nitido. Dos 5 ultimos o nucleo era corado pallidamente e augmentado de volume, sendo que um delles, o maior de todos, offerencia um aspecto francamente esponjoso.

*Granulocyto 11*: N. metam. jovem, de plasma de limites imprecisos; em torno do nucleo, de aspecto normal, 18 merozoitos de diferentes tamanhos, alguns corados menos intensamente.

*Granulocyto 12*: N. metam. j., com plasma de contornos regulares, granulações pouco diminuidas em numero; nucleo de aspecto normal.

Continha 1 granulo de hemozoina e 3 schizontes, estes com limites nitidos e o plasma corado pallidamente. O nucleo de um delles demonstrou pouca avidéz para o corante.

*Granulocyto 13*: N. metam. b., de limites regulares, granulações quasi desaparecidas; nucleo corado pallidamente na parte central, e apresentando nas extremidades pequenas areas escuras.

Contidos no plasma, 4 granulos de hemozoina e 16 merozoitos. O

nucleo do leucocyto atravessava-o diametralmente, offerecendo um bordo convexo e outro concavo. No plasma, em relação com o 1.º, viam-se 2 merozoitos e 2 granulos de hemozoina, estes collocados 1 proximo de cada extremidade nuclear. Em relação com o bordo concavo do nucleo contava-se no protoplasma 14 merozoitos dispostos irregularmente em torno de 2 granulos de hemozoina. Dos merozoitos, cujo plasma era irreconhecivel e cuja falta de uniformidade do diametro nuclear era frizante, alguns tomaram pallidamente as côres basicas. Do quadro acima descripto a impressão que ocorre é a juxtaposição de 2 rosaceas.

*Granulocyto 14*: — N. metam. b., de contorno regular; nucleo e granulações de aspecto normal.

Continha 4 schizontes e 1 granulo de hemozoina. Dos schizontes, cujo plasma se mostrava pallidamente corado, 1 tinha nucleo pequeno e pallido.

*Granulocyto 15*: N. metam. b., de limites imprecisos, granulações diminuidas de numero ausentes no centro do globulo; nucleo em ferradura, apresentando pequenas areas descoradas contrastando com outras que se tingiram avidamente.

Continha 2 merozoitos sem plasma, e 1 granulo de hemozoina.

*Granulocyto 16*: N. metam. j., de contorno regular, granulações raras; nucleo com o mesmo aspecto do acima descripto.

Continha 24 merozoitos sem plasma nitido, e cujos nucleos mostravam-se corados uns mais e outros menos intensamente, sendo justamente estes que offereciam maior volume.

*Granulocyto 17*: N. adulto, de contornos irregulares, granulações diminuidas de numero; nucleo mais ou menos normal.

Encerrava em seu plasma 5 merozoitos, cujo protoplasma apresentava-se descorado.

*Granulocyto 18*: N. adulto, de contornos imprecisos, granulações de aspecto normal; nucleo bilobado, apresentando pequenas areas coradas em escuro.

Continha 1 merozoito envolto por um pequeno halo sem coloração, representando provavelmente o plasma do parasito.

*Granulocyto 19*: N. metam. b., grandemente alterado, com contorno de limites irregulares, granulações diminuidas de numero e dispostas anarchicamente; nucleo apresentando areas descoradas ou coradas pallidamente ao lado de outras escuras que, vistas ao maior augmento, mostravam-se constituídas por uma série de granulos.

Encerrava 20 merozoitos e 2 pequenos accumulos de granulos ba-

cilliformes de hemozoina. Os nucleos dos merozoitos eram de diferentes tamanhos, e se coravam uns mais e outros menos intensamente. Verificou-se que os nucleos aumentados de volume eram os que se coravam com menos avidéz, chegando alguns delles a apresentar um aspecto esponjoso semelhante ao citado para o granulocytos 10; todavia, em alguns delles, mais ou menos em sua parte central, observava-se um ponto mais intensamente corado. Note-se que os nucleos cuja forma e tamanho se apresentavam mais ou menos normaes offereciam uniformidade de coloração. Destes um unico parecia mostrar inicio de ptenose.

4— O quadro abaixo demonstra a frequencia maior ou menor dos variados elementos englobados pelos granulocytos:

	Hemozoina	Schizontes	Merozoitos ou rosaceas
a) Neutrophilos:			
myelocytos	1	0	0
metamyelocytos j.	4	1	4
metamyelocytos b.	39	7	40
adultos	9	0	16
b) Eosinophilos	0	0	0

5— Da applicação de chave semelhante para os *agranulocytos* resultou:

	Hemozoina	Schizontes	Merozoitos ou rosaceas
a) Lymphocytos	2	1	0
b) Monocytos	1	1	2

6— Procurando verificar a relação entre os elementos englobados e as alterações demonstradas pelos leucocytos, contamos 20 exemplares de granulocytos incluindo hemozoina, 20 contendo plasmodios (schizontes, merozoitos livres de rosaceas) e 20 que não demonstravam no momento, no seu interior nem parasitos nem pigmento; resumimos a seguir os resultados:

	Livres de parasitos ou hemozoina	Contendo somente hemozoina	Contendo plasmodios, com ou sem hemozoina
Granulocytos de aspecto normal	14	13	5
Granulocytos alterados	6	7	15

Estas relações encontradas tanto nos globulos livres de inclusões parasitarias ou pigmentares como nos que continham estes elementos no seu interior consistiram ora numa simples diminuição de numero e da colorabilidade e na distribuição anarchica das granulações plasmaticas, ora na perda de nitidez do contorno e na vacuolisação do plasma; as

alterações foram representadas por uma menor colorabilidade ou pelo apparecimento de areas escuras e pallidas devidas a localizaçãõ desordenada da chromatina.

O encontro de granulocytos livres de inclusões extranhas e alterados não exclue a possibilidade de terem alguns delles contido previamente plasmodios ou hemozoina.

Alem disto o valor deste parographo torna-se diminuido pelo facto das preparações examinadas já serem um tanto antigas.

7 — As alterações dos plasmodios contidos nos granulocytos, embora não nos fosse possivel observal-as seriamente e com maior minucia e rigor, pareceram consistir na perda de contorno, de colorabilidade e até mesmo no completo desapparecimento do plasma e na picnose ou lyse nucleares.

Realmente pode-se ver englobados com menor frequencia rosaceas inteiras e de aspecto e coloraçãõ normaes e mais frequentemente estas formações já rompidas, distribuindo-se desordenadamente os merozoitos, que apresentavam em geral plasma descorado ou desapparecido e cujo nucleo, que no mais das vezes foi o unico elemento a os identificar, era raramente normal, mostrando-se em alguns casos pequeno e super-corado (picnóse), e mais frequentemente muito augmentado e pallido, com um aspecto francamente esponjoso, denunciando um processo de lyse; esta lyse pareceu se fazer da peripheria para o centro, razão do encontro muito commum de nucleos augmentados de diametro e mostrando um halo roseo pallido circumdando uma parte central intensamente corada; menos vezes entretanto nos nucleos grandes e pallidos pode-se ver uma linha superficial de coloraçãõ mais escura constituindo um limite nuclear nitido.

8 — Julgamos poder tirar dos factos acima mencionados deducções seguintes:

- a) — Tambem aqui, no sangue peripherico, se observou em « microphagos » phagocytose intensa de elementos volumosos (rosacea, blocos de hemozoina).
- b) — Englobavam com maior frequencia merozoitos e rosaceas, vindo a seguir granulos de hemozoina, e, em grau bem menor, schizontes.
- c) — Embora abundantissimos nas preparações, não se pode ver gametocytos incluidos em leucocytos.

*d)* — A phagocytose foi mais activamente exercida por globulos imaturos como os metamyelocytos de nucleo em bastão do que pelos adultos, e por estes mais que pelos metamyelocytos jovens e myelocytos.

*e)* — O phenomeno não foi apreciado em eosinophilos, aliás muito raros nas laminas vistas.

*f)* — A percentagem de monocytos em phagocytose (14,81) foi menor do que a de neutrophilos (18,15).

Se os viu englobando não sómente hemozoina, como schizontes e rosaceas.

*g)* — No caso presente se encontrou por duas vezes hemozoina e em uma vez um schizonte no interior do plasma de lymphocytos.

*h)* — Não se pode aqui, ao contrario do que se deu no caso de leishmaniose, notar differença entre o aspecto dos parasitos incluídos por microphagos e macrophagos.

Em ambos os typos de leucocytos os plasmodios mostraram-se raramente normaes, e no mais das vezes alterados, o que demonstra uma acção do globulo branco sobre elles.

Essas alterações pareceram se processar pelo desapparecimento do contorno e da colorabilidade do plasma seguido de karyolyse ou de pienenose.

*i)* — Os granulocytos contendo hemozoina apresentaram alterações pouco mais frequentes (35 %) do que quando livres de elementos englobados (30 %); os que incluíam plasmodios mostraram modificações estructuraes mais commumente (75 %).

Tambem os monocytos contendo plasmodios mostravam signaes patentes de soffrimento.

Isto parece provar uma certa acção nociva dos parasitos deante dos leucocytos que os englobam.

### 3. COMMENTARIO

Pelas observações feitas no presente trabalho, verificou-se que, tanto na intimidade dos órgãos hemoformadores como no sangue peripherico, granulocytos de Ehrlich são capazes de, contrariando a concepção classica de phagocytose, englobar com intensidade notavel elementos relativa-

mente volumosos, inertes ou vivos (leishmanias, blocos de hemozoina, rosaceas inteiras).

Destes leucocyots foram os elementos immaturos os que exerceram tal actividade em grau mais apreciavel, o que está de accôrdo com as idéas em voga, segundo as quaes cellulas jovens possuem maior capacidade phagocytaria do que as adultas ou envelhecidas.

Julgamos interessante assignalar que macrophagia em alto grau foi observada entre eosinophilos, elementos tidos como incapazes de exercer até mesmo microphagia.

Do mesmo modo factos dignos de nota foram observados para o lado dos agranulocyots. Assim, no plasma de lymphocyots, pode-se encontrar não só granulos de hemozoina como schizontes de plasmodios e leishmanias; destas foram vistos até 3 exemplares englobados, occupando quasi totalmente o plasma e rechassando o nucleo para o polo opposto da cellula. Esse facto nos leva a pensar numa verdadeira phagocytose exercida pelos lymphocyots, pois é difficil crer que, por mero acaso, 3 leishmanias tenham penetrado no mesmo globulo cuja plasma, aliás, não lhes deve constituir meio favoravel.

Por outro lado os monocytos, tidos como elementos preponderantemente macrophagicos no caso presente exerceram tal actividade em grau muito menor do que outros para ella considerados menos aptos (neutrophilos) e até incapazes (eosinophilos).

Verificou-se finalmente que tanto parasitos quanto leucocyots continentes mostraram no mais das vezes signaes de alteração. Os parasitos, quer leishmanias quer plasmodios, quando contidos nos granulocyots apresentaram quasi sempre modificações estructuraes mais ou menos nitidas incidindo tanto no nucleo quanto no plasma. Os granulocyots mostraram tambem alterações quer plasmaticas quer nucleares, embora menos frequentemente do que os parasitos englobados. O facto demonstra que esses leucocyots exercem verdadeira phagocytose, destruindo os parasitos contidos, como tambem estes oppõem elementos de defesa, alterando os granulocyots continentes. A favor desta ultima idéa observou-se ainda que neutrophilos contendo hemozoina apresentaram alterações com frequencia quasi igual á dos que se mostravam livres de inclusões.

#### 4. CONCLUSÕES

- a) — Os chamados « microphagos » são capazes de exercer a macrophagia.
- b) — Destes elementos são os immaturos os que a exercem em grau mais elevado.

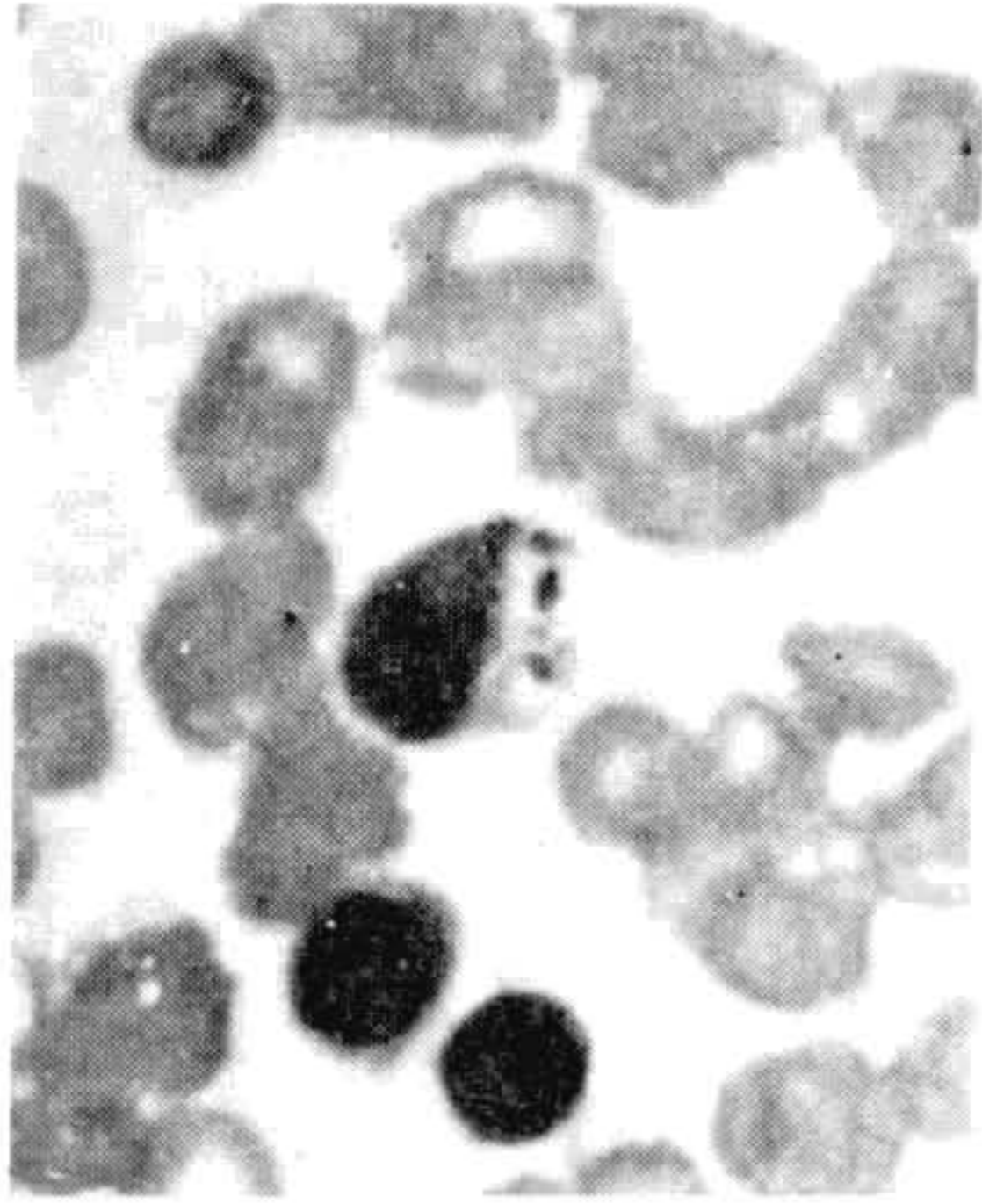


- c)* — A macrophagia é possível, e em alto grau, entre os próprios eosinófilos.
  - d)* — Julgamos que até os lymphocytos possuem tal propriedade, embora raramente.
  - e)* — Os monocytos em certos casos exercem macrophagia menos intensamente do que os granulocytos.
  - f)* — Entre os granulocytos e os parasitos englobados existe aggressividade reciproca.
-

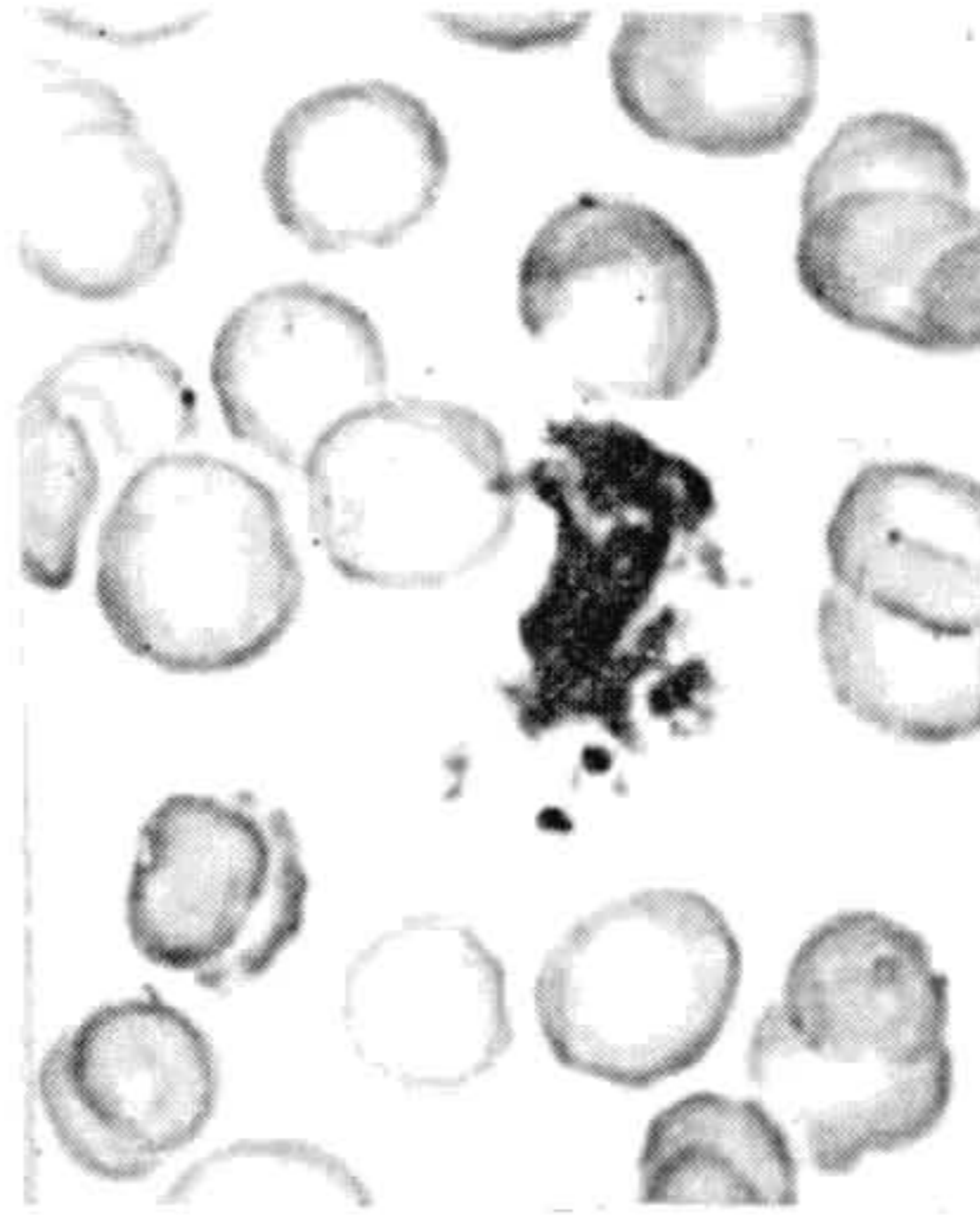
### Estampa 1

- Fig. 1 — Lymphocyto contendo tres leishmanias.
- Fig. 2 — Neutrophilo metamyelocyto de nucleo em bastão contendo tres leishmanias.
- Fig. 3 — Eosinophilo metamyelocyto de nucleo em bastão apresentando tres leishmanias englobadas.
- Fig. 4 — Neutrophilo metamyelocyto de nucleo em bastão contendo tres leishmanias.
- Fig. 5 — Eosinophilo metamyelocyto jovem englobando uma leishmania.
- Fig. 6 — Neutrophilo metamyelocyto de nucleo em bastão contendo cinco leishmanias.
- Fig. 7 — Neutrophilo metamyelocyto de nucleo em bastão contendo seis leishmanias.

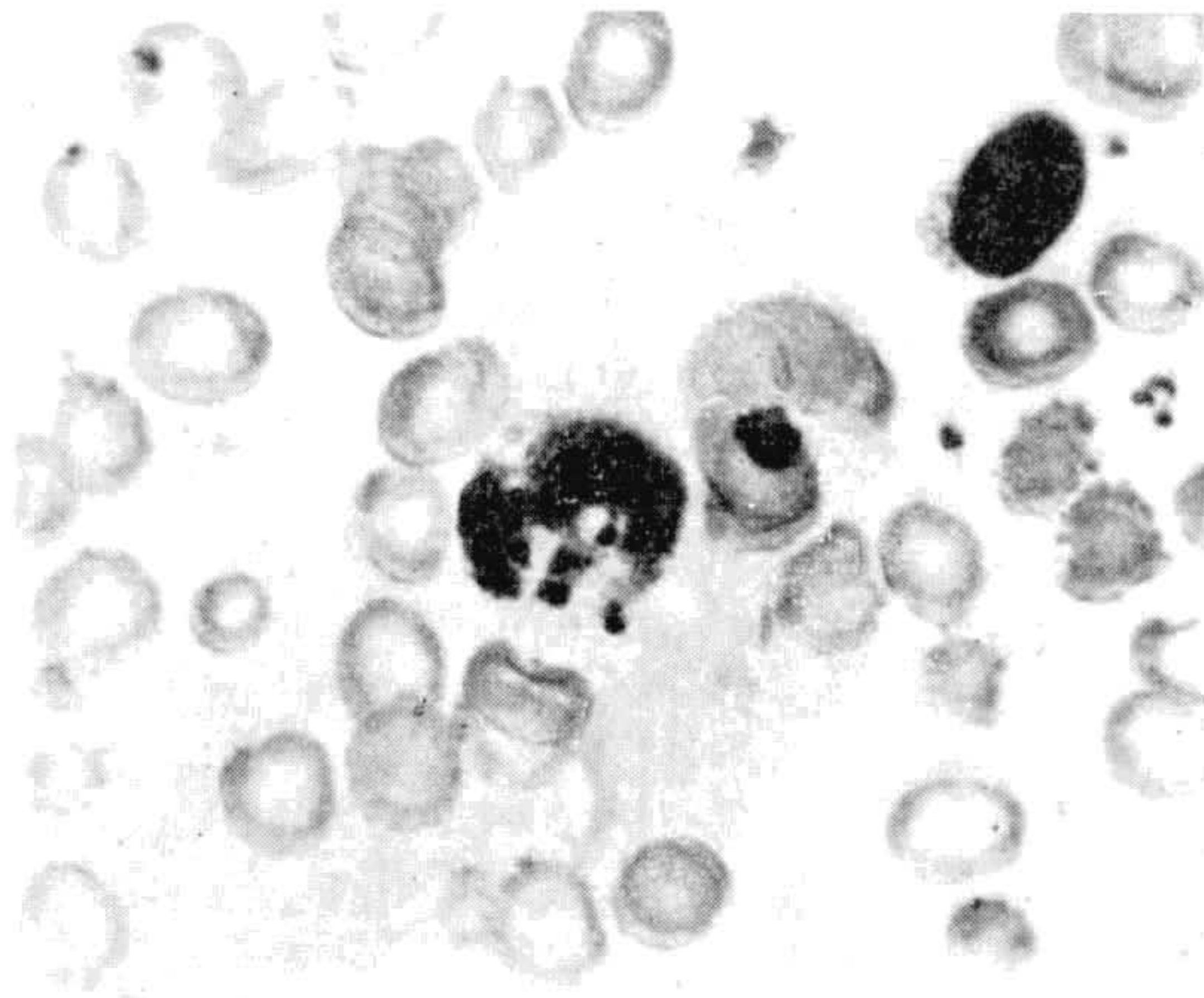
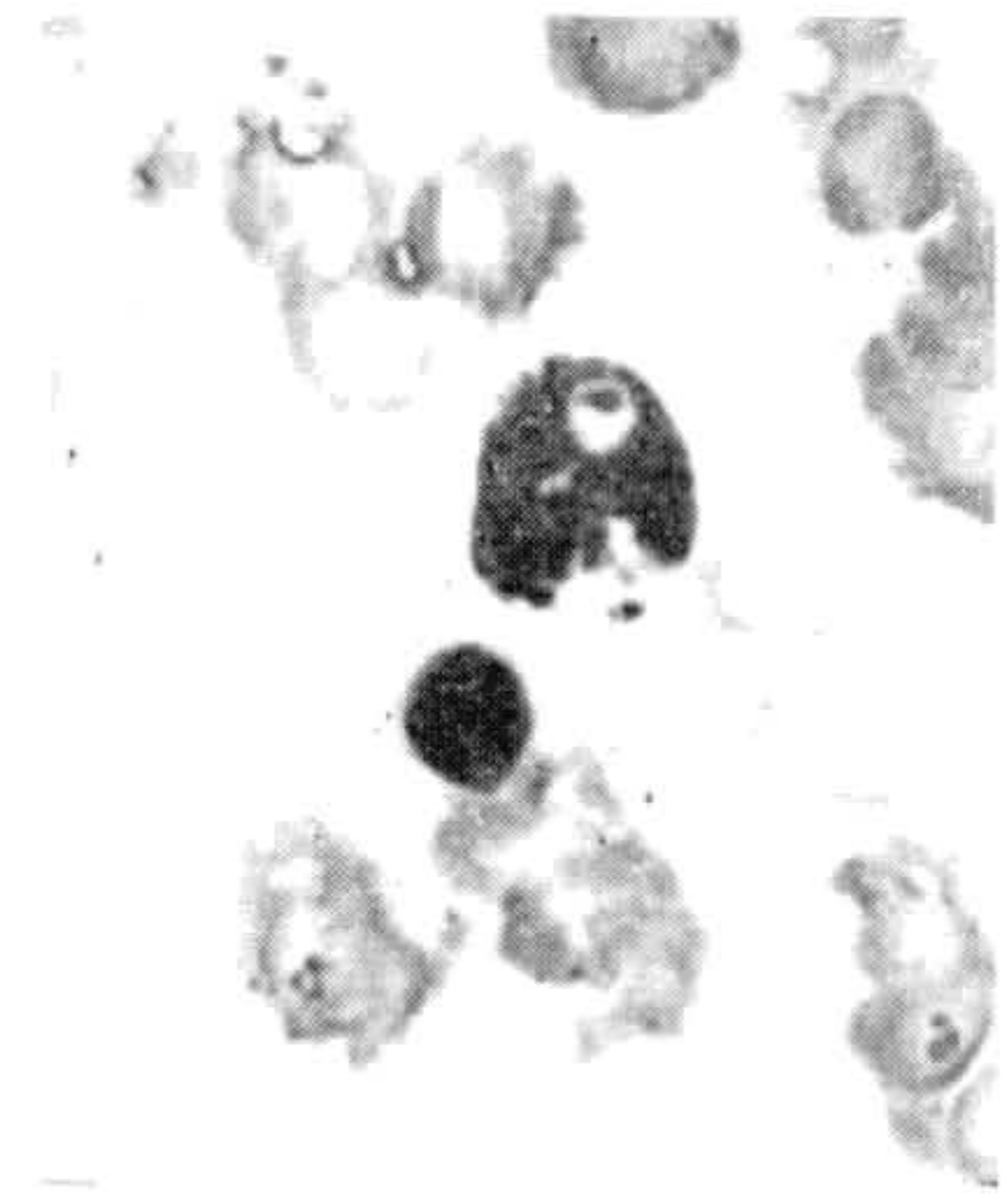
1



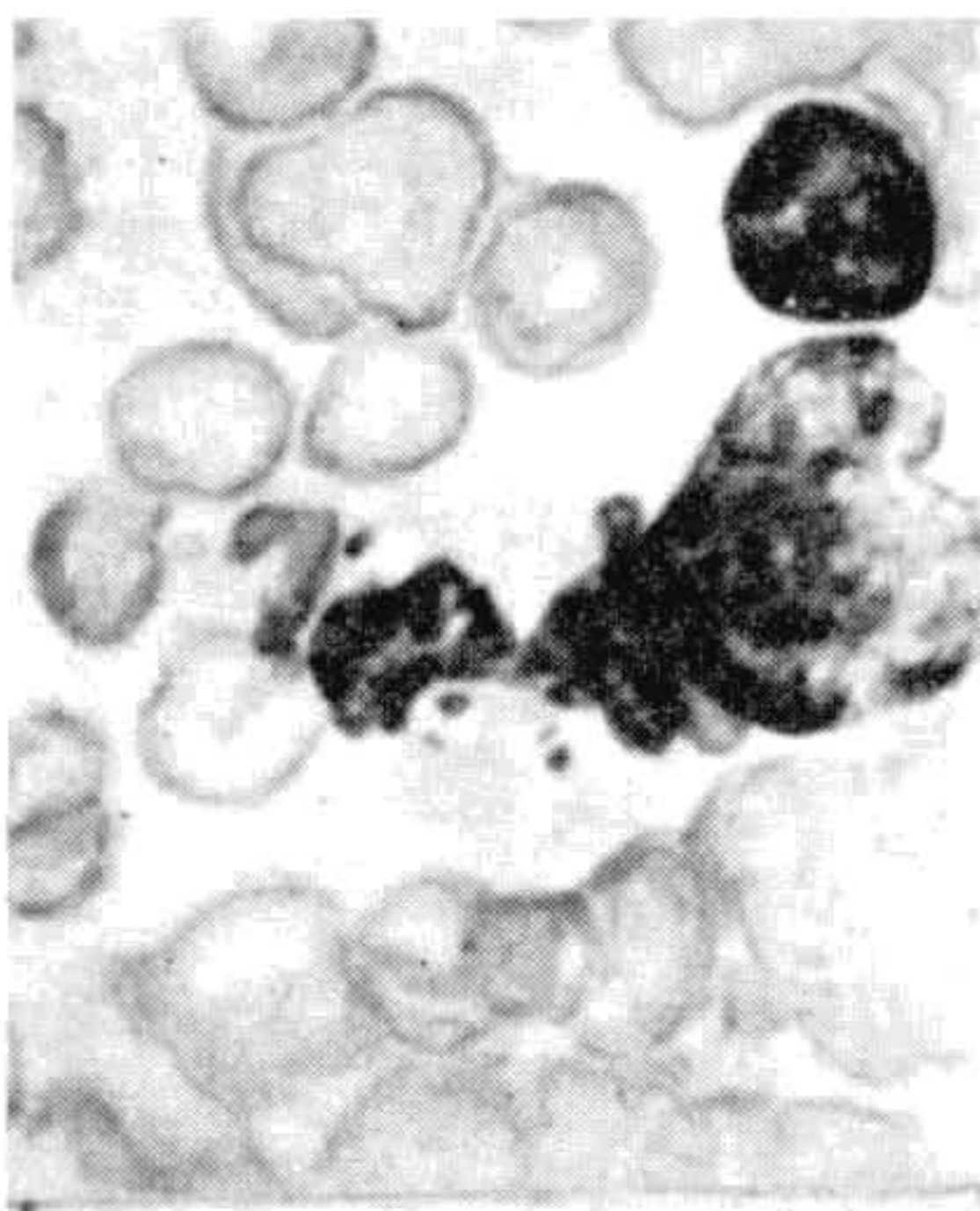
2



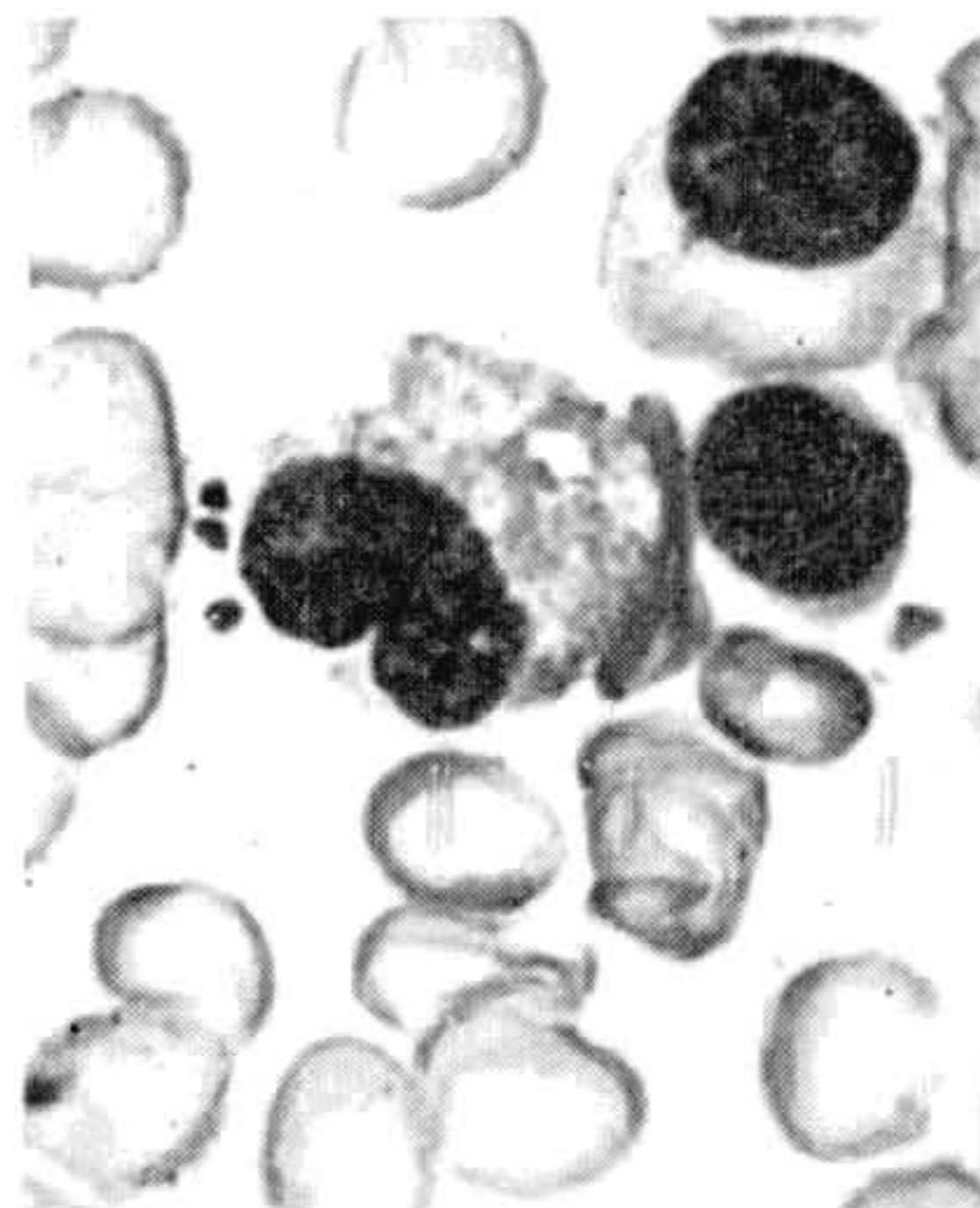
3



7



4



5

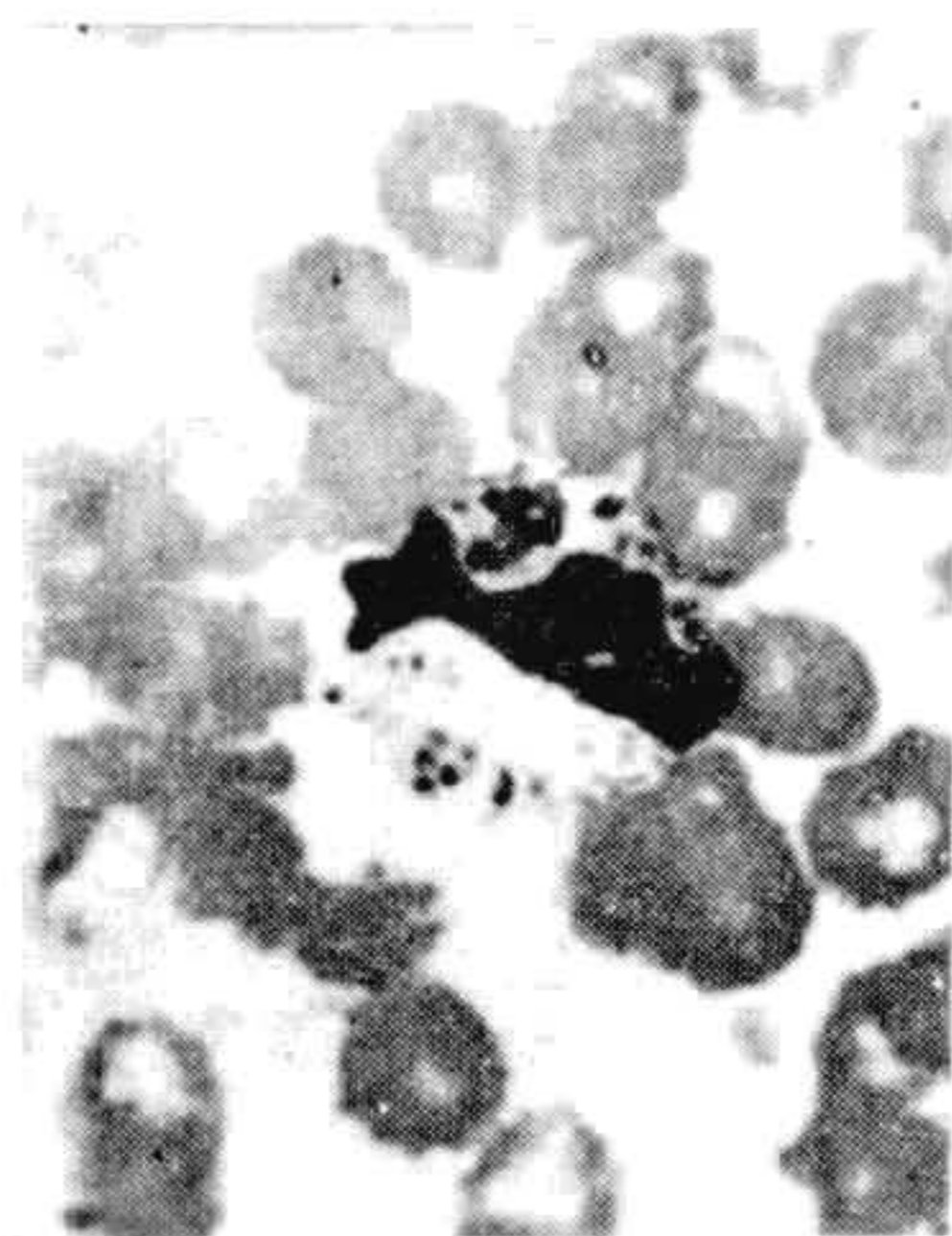


6

## Estampa 2

- Fig. 8 — Neutrophilo metamyelocyto de nucleo em bastão contendo uma rosacea inteira e outra fragmentada.
- Fig. 9 — Neutrophilo metamyelocyto de nucleo em bastão contendo uma rosacea.
- Fig. 10 — Neutrophilo metamyelocyto de nucleo em bastão englobando uma rosacea rompida.
- Fig. 11 — Neutrophilos metamyelocytos de nucleo em bastão contendo blocos de hemozoina.
- Fig. 12 — Schizonte contido no plasma de um lymphocyto.
- Fig. 13 — Neutrophilo metamyelocyto de nucleo em bastão com o plasma quasi inteiramente tomado por merozoitos.
- Fig. 14 — Dois neutrophilos metamyelocytos de nucleo em bastão apresentando numerosos merozoitos espalhados no plasma.

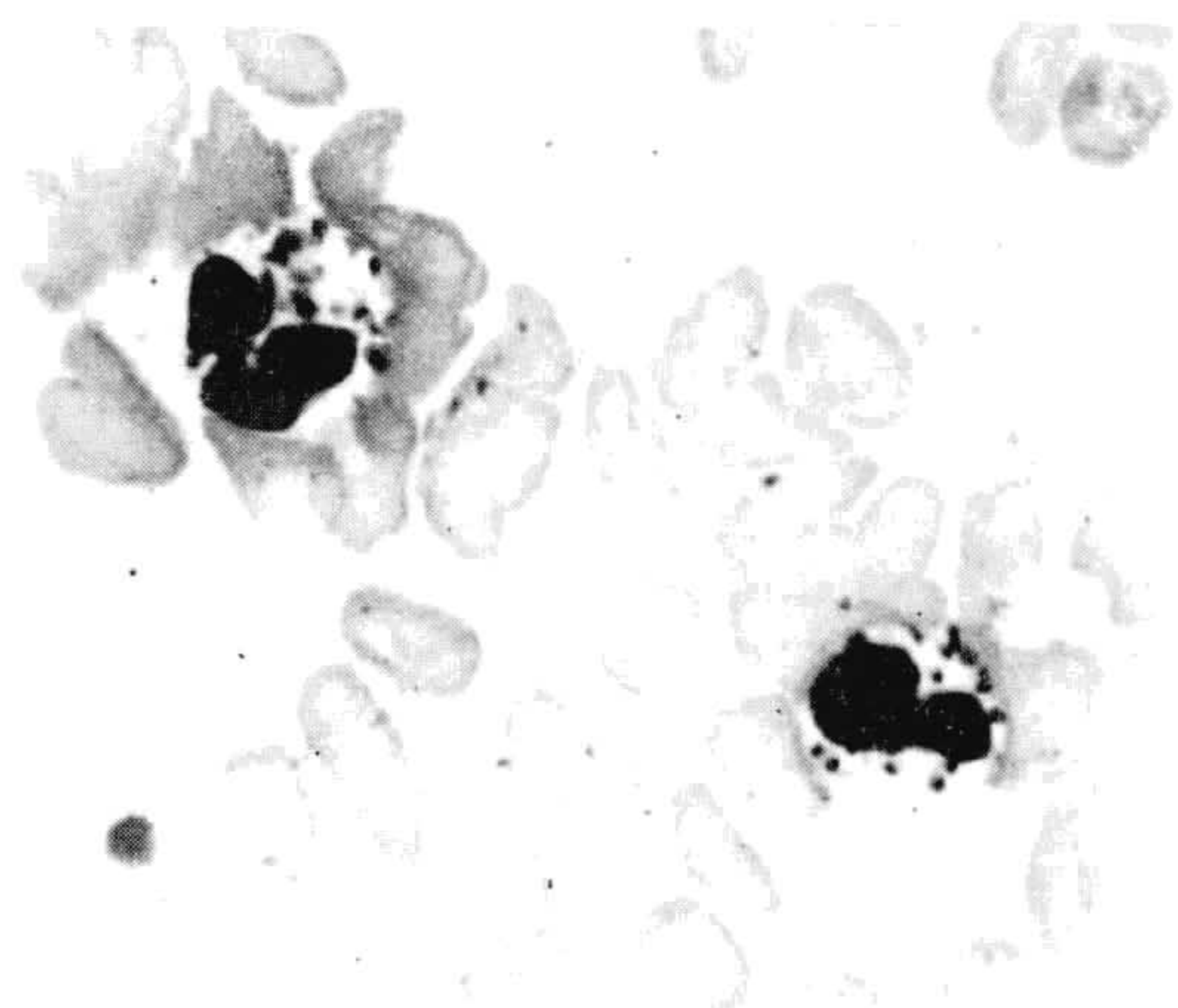
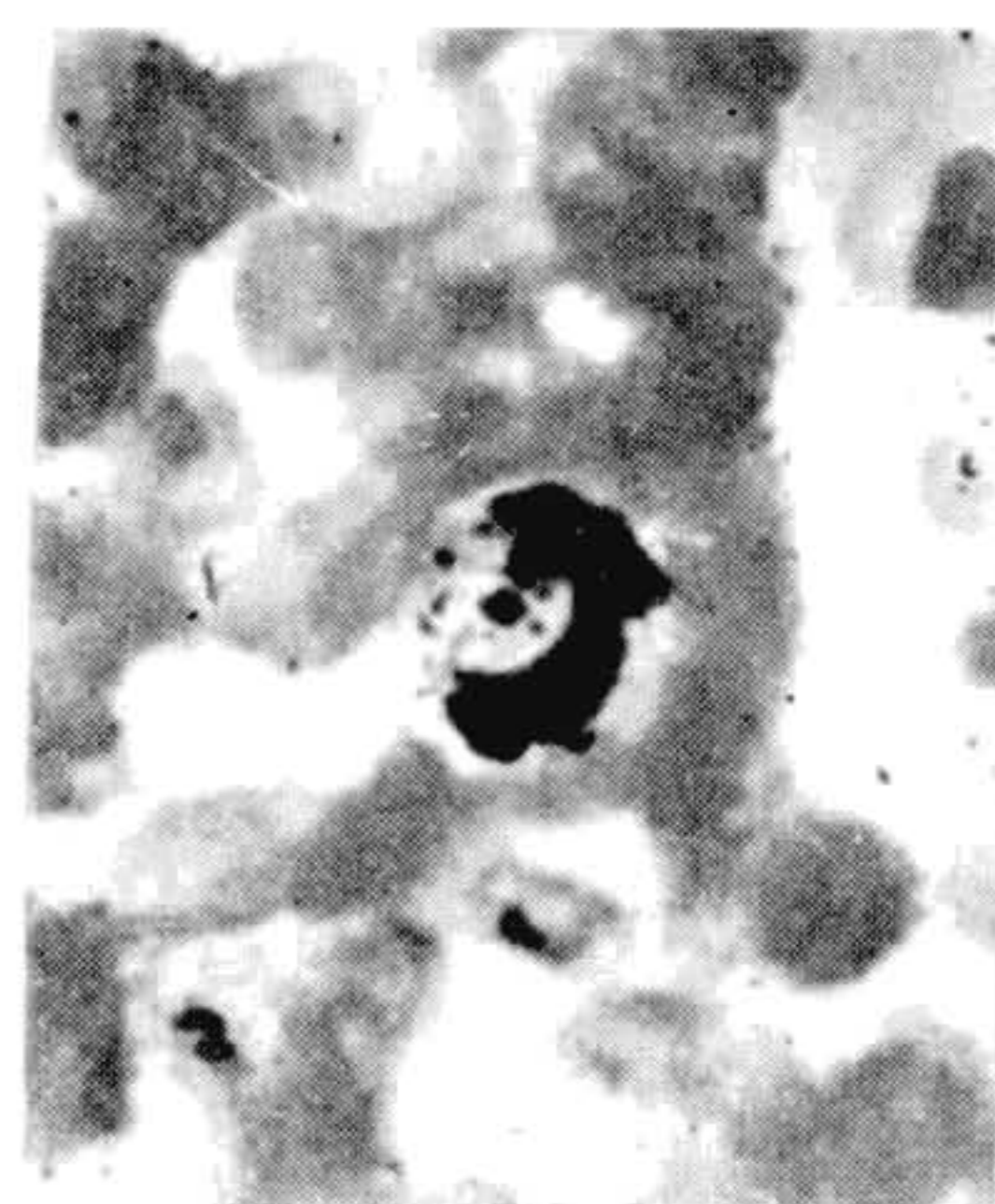
8



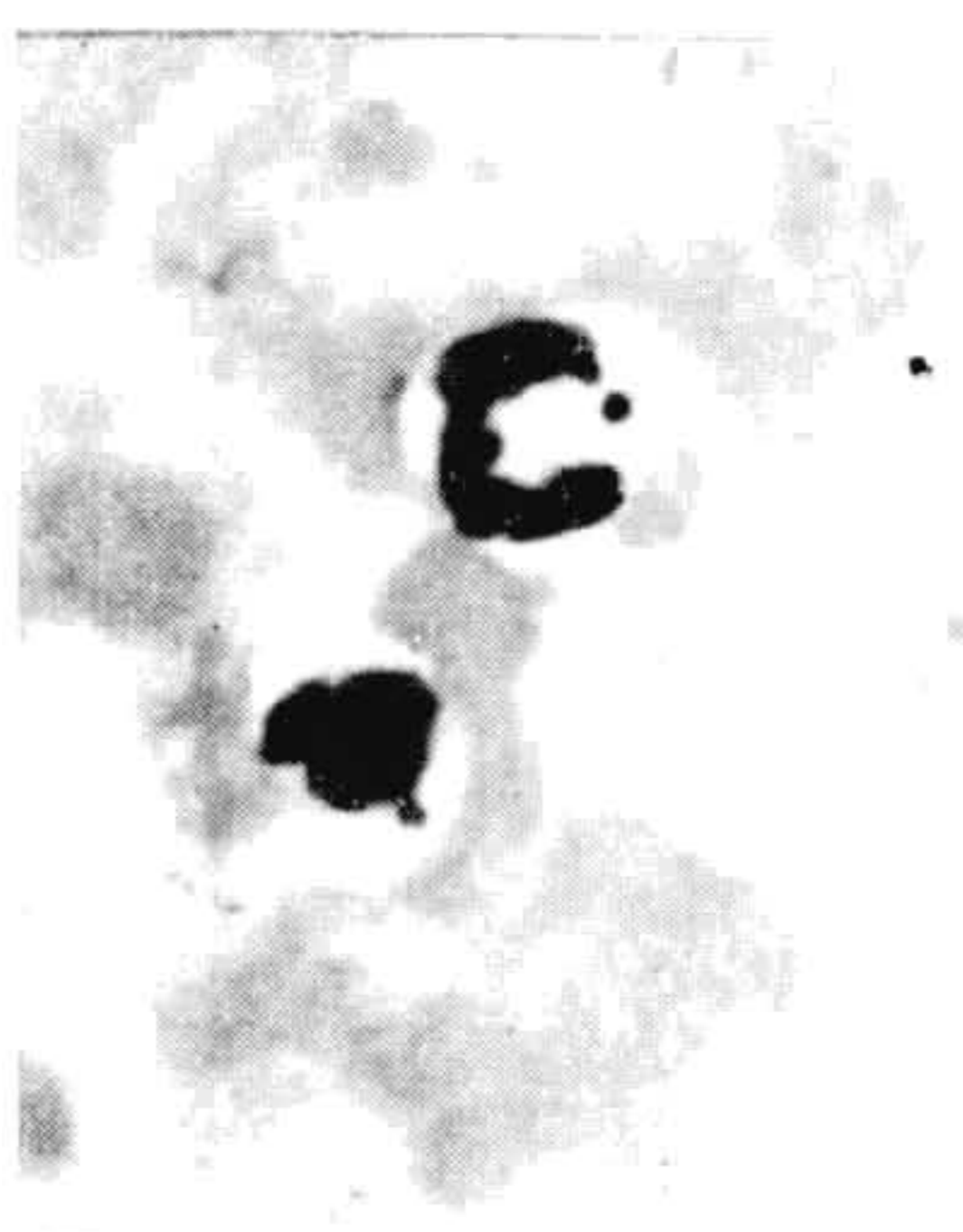
9



10



14



11



12



13