

E. POLLI, G. LANZAVECCHIA, G. JEAN, A. LE COULTRE  
e G. POGGI LONGOSTREVI

## I leucociti umani al microscopio elettronico (\*)

### INTRODUZIONE

Il processo di revisione, che nel corso di questi ultimi decenni, ha coinvolto i metodi classici della citologia, ha interessato da vicino gli ematologi ed in modo particolare la Clinica Medica di Milano, che nel corso di questi ultimi quindici anni ha condotto una serie di ricerche sulle cellule del sangue di soggetti normali ed emopatici, applicando le più moderne tecniche di indagine (contrasto di fase, tecnica dello schiacciamento, microscopia elettronica).

Per quanto riguarda le strutture nucleari delle cellule ematiche umane normali e patologiche, una relazione all'XI Congresso della Società Italiana di Ematologia (VILLA, POLLI, BUSSI, 1953) ha raccolto i risultati da uno di noi ottenuti, portando alla affermazione pregiudiziale che molti problemi biologici riguardanti le cellule del sangue non potevano essere discussi sulla base dell'applicazione delle tecniche classiche di colorazione.

Infatti la colorazione classica, quella del MAY-GRUENWALD-GIEMSA, per intendere, risultava assolutamente inadeguata per lo studio della cellula in generale e del nucleo in particolare. A questo proposito basta citare che ancora oggi i trattati di ematologia non riconoscono la presenza del nucleolo nel linfocito maturo ed ignorano tutte quelle modificazioni che interessano la morfologia dei cromosomi, così come sono evidenziate da altre tecniche (tecnica dello schiacciamento), che si riscontrano nelle cellule in alcune emopatie.

Codeste anomalie cromosomiche, già da POLLI messe in evidenza (1947 e 1951), hanno costituito la base di interessanti teorie etiopatogenetiche emesse da A.A. inglesi nel corso del 1959, riguardanti alcune emoblastosi.

Le critiche che vengono mosse ora alle tecniche di colorazione usate nella ematologia classica sono state del resto sollevate già diversi anni or sono, cosicché gli ematologi hanno cercato di sopperire alle molte deficienze della colorazione di MAY-GRUENWALD-GIEMSA con l'esame delle cellule del sangue mediante il contrasto di fase.

Questa tecnica permette di identificare quasi tutte le cellule ematiche mature ed immature, così come sono state classificate mediante il MAY-GRUENWALD-

(\*) Memoria presentata dall'Accademico Silvio Ranzi.

GIEMSA e permette inoltre di evidenziare molti organuli elementari della cellula, che non sono identificati con la colorazione pancromatica di PAPPENHEIM.

Paradigmatico in questo senso è il rilievo dei mitocondri nelle cellule ematiche; tuttavia si deve riconoscere che anche la microscopia a contrasto di fase non può rispondere a molti quesiti fondamentali, così che sembra ora opportuno fare il bilancio del contributo portato dalla microscopia elettronica specie per quanto riguarda la ultrastruttura del citoplasma, allo scopo di precisare:

1°) gli aspetti degli organuli cellulari già conosciuti attraverso le altre tecniche come nucleo, nucleolo, mitocondri;

2°) le caratteristiche di componenti elementari quali il reticolo endoplasmatico, l'apparato di Golgi, già evidenziati in altri tipi cellulari, ma non ancora individuati colle comuni tecniche nei leucociti;

3°) la fine morfologia di organuli cellulari che sono presenti nei leucociti e non sono evidenziabili in altri tipi cellulari (granulazioni specifiche ad esempio).

Rassegne aggiornate e complete esistono nella letteratura anglosassone (LAW e FREEMAN 1958) e francese (BESSIS 1950-59, POLICARD 1952-1959), tuttavia riteniamo utile una rassegna italiana sull'argomento, perché mancano completamente lavori estesi nelle riviste di ematologia italiana e perché da noi sono stati trattati, per la prima volta, argomenti che riguardano la fagocitosi e l'agglutinazione.

Le caratteristiche differenziali tra microscopia ottica ed elettronica debbono essere conosciute da chi si accinge ad esaminare le cellule del sangue mediante il microscopio elettronico. Grossolanamente si possono condensare nel concetto che, mentre le differenze di intensità luminosa delle microfotografie prese al microscopio comune sono riconducibili al variare dei fattori cromatici e di trasmissione della luce, nel caso del microscopio elettronico dette differenze sono in dipendenza del peso atomico degli elementi presenti nelle diverse parti della cellula, o sono dipendenti dalla distribuzione degli atomi di osmio o di altri metalli pesanti, usati come fissatori, che nel contesto cellulare si sono fissati a determinate sostanze (è noto che l'acido osmico ha una elevata affinità per le sostanze lipidiche e per alcune proteine a struttura filamentosa e non per altre sostanze come ad esempio gli acidi desossinucleici).

Tuttavia agli effetti pratici queste caratteristiche differenziali non hanno un grande valore critico, mentre sembra più importante la constatazione che, allo stato attuale delle ricerche, dopo che sono state abbandonate varie tecniche, come quella della sovrapposizione e dell'ombreggio, e ci si è indirizzati verso la tecnica delle sezioni sottili, la maggior divergenza dei reperti tra microscopia ottica ed elettronica è dovuta al fatto che con la prima si esaminano cellule intere, mentre con la seconda si esaminano sezioni di cellula dello spessore di almeno  $1/20$  di  $\mu$ . Se questa sezione viene condotta lungo il diametro maggiore della cellula si esamina al massimo l'1% del volume totale cellulare, per cui per ricostruire una cellula, in pratica, occorre esaminare di solito più di 300 sezioni seriate.

A questo proposito va aggiunto che la morfologia delle strutture cellulari, così come risulta dalle sezioni sottili, dipende dal piano di sezione che è diverso da caso a caso. Infine va ricordato come al microscopio elettronico le cellule esaminate con

la tecnica delle fettine ultrasottili assumono per lo più un aspetto ovale per la compressione che si esercita su di esse durante il taglio. Però questa deformazione non danneggia in effetti la ricostruzione morfologica dei componenti cellulari e deve essere presa in considerazione solo quando ci si accinge ad intraprendere delle misurazioni.

## 2) MATERIALE E TECNICHE

La morfologia dei leucociti normali e patologici è in genere stata studiata sugli elementi del sangue periferico.

Le tecniche usate per isolare i leucociti dai globuli rossi sono le più diverse e uno di noi, circa 10 anni or sono, ne propose una, tuttora valida, basata sulla separazione dei globuli bianchi dai rossi a bassa temperatura mediante soluzioni di gomma arabica e sodio citrato.

Attualmente la maggior parte degli AA. si basa sulla tecnica, consigliata dal LAW e FREEMAN (1958), che usa siringhe e pipette silconate. La separazione dei globuli bianchi dai rossi viene attuata mediante centrifugazione con provette di lusteroid, in centrifuga refrigerata a 0°C, per 15' a bassa velocità. I globuli bianchi vengono prelevati dallo strato sovrastante e fissati a 0°C con acido osmico all'1% tamponato secondo le indicazioni di PALADE (1952); la disidratazione, sempre a 0-4°C, è attuata con alcool a concentrazioni crescenti e l'inclusione in una miscela di butile metacrilato (9 parti) e metile metacrilato (1 parte) polimerizzata a 60°C.

Le sezioni ultrasottili si sono ottenute, all'Istituto di Zoologia, con l'ultramicrotomo di HAANSTRA (PHILIPS) usando lame di vetro. I preparati sono stati esaminati con i microscopi elettronici Philips E. M. 75 B (apparecchio che si trova nell'Istituto di Zoologia dell'Università di Milano) ed E. M. 100 (apparecchio che si trova nell'Istituto di Farmacologia dell'Università di Milano).

Abbiamo esaminato il sangue periferico ed il midollo emopoietico di soggetti normali e leucemici (leucemie acute e croniche), il midollo emopoietico di alcuni soggetti anemici (anemie ipocromiche, emolitiche e megaloblastiche); abbiamo altresì esaminato cellule coltivate in vitro per studiare l'azione della fagocitosi ed i fenomeni di agglutinazione provocati da un siero antileucociti ed antieritrociti.

## 3) LEUCOCITI NORMALI

### NUCLEO

La microscopia elettronica non ha portato contributi sostanziali per una migliore conoscenza del nucleo, perché il DNA, che è il maggiore componente dei cromosomi, non si lascia fissare con l'acido osmico, il fissatore per eccellenza usato in microscopia elettronica.

Un'altra ragione che spiega la non risolubilità delle strutture nucleari va cercata nella complessità del delicato intreccio dei filamenti che costituiscono i cro-

mosomi. Tali eromonemi costituiscono un fittissimo gomitolo, così da raccogliere in un piccolo spazio un complesso di molecole di DNA, che se fossero allineate costituirebbero un immaginario nastro della lunghezza di qualche metro.

Perciò riesce comprensibile come anche con la tecnica delle sezioni ultrasottili non si possa agevolmente riconoscere una struttura ordinata, tuttavia qualche Autore afferma di aver riconosciuto l'esistenza di filamenti cromatinici delle dimensioni di circa 30 Å, le quali sono vicine alle dimensioni della spirale a doppia elica di WATSON e CRICK (24 Å).

Osservato al microscopio elettronico il nucleo delle cellule ematiche presenta alcune caratteristiche qui brevemente esposte. Di forma tipicamente rotonda nelle cellule più immature, tende ad incurvarsi ed a costituire più lobi nelle successive fasi di evoluzione maturativa secondo la caratteristica del tipo di leucocito a cui appartiene (Tav. I, figg. 1 e 2).

Il nucleoplasma delle cellule più immature è uniformemente distribuito e si presenta con un aspetto di minutissimi granuli, non molto diverso da quello che viene mostrato nelle osservazioni a contrasto di fase, ma con il procedere del processo di maturazione, si rendono evidenti due distinte densità di cromatina nucleare (Tav. I, fig. 2), una periferica, più scura, l'altra centrale, più chiara; la prima è quantitativamente preponderante nelle cellule giunte ad una completa fase di maturazione. Questo tipo di distribuzione del nucleoplasma non è un rilievo costante ed obbligatorio di tutti i tipi cellulari perché si possono osservare in ogni leucocito zone scure al centro e zone chiare vicino alla membrana nucleare. La maggiore o minore risolvibilità della cromatina al microscopio elettronico non deve essere considerata solo sulla base di un maggiore o minore addensamento di filamenti cromatinici, ma può anche significare una differente struttura dei filamenti fissati con l'acido osmico, nel senso di una diversa osmofilia e perciò di una diversa permeabilità agli elettroni. Quest'ultima evenienza potrebbe perciò essere messa in relazione ad un maggior contenuto proteico o lipidico del nucleoplasma denso rispetto a quello chiaro.

Si deve convenire che l'aspetto del nucleoplasma, così come è stato succintamente descritto, è comune a tutti i tipi di cellule ematiche e per ciò non è possibile distinguere al microscopio elettronico, così come avviene al microscopio ottico e al contrario di fase, la cromatina del neutrofilo da quella del basofilo, del monocito o della plasmacellula.

Il linfocito (Tav. II, fig. 5) si distacca un poco dagli altri tipi cellulari menzionati, perché non presenta una così evidente differenziazione nei due tipi di struttura (densa e chiara) più o meno permeabile agli elettroni.

In complesso si deve concludere che i contributi della microscopia elettronica per una migliore conoscenza delle strutture nucleari della cellula in generale e dei leucociti nel nostro caso, sono piuttosto scarsi ed insignificanti, specialmente se paragonati ai risultati ottenuti con le tecniche che sono state largamente impiegate dai citogenetisti nel corso di questi ultimi decenni, usando il microscopio comune.

Al contrario la microscopia elettronica ha notevolmente contribuito ad una migliore conoscenza delle strutture nucleolari. Il nucleolo non è costituito da una

cavità uniforme ripiena di una sostanza priva di qualsiasi struttura come si crede generalmente, ma invece contiene uno o più grossi filamenti già intravisti al microscopio ottico da ESTABLE e SOTELO (1951). L'esistenza di codeste strutture filamentose è stata definitivamente accertata dalle ricerche di microscopia elettronica per opera di BERNHARD (1956), che le ha riscontrate nei nuclei delle cellule del papilloma di SHOPE e nel tumore ascitico di ERLICH.

Nel nucleolo accanto ai filamenti si possono riscontrare anche dei granuli di ribonucleoproteine, che hanno le stesse caratteristiche dei granuli di PALADE del citoplasma. Queste caratteristiche morfologiche del nucleolo sono sempre bene evidenti nelle cellule immature della serie emopoietica sia mieloide che linfatica. Ma il più importante contributo della microscopia elettronica in questo settore è dovuto al costante riscontro del nucleolo nel linfocito e nel monocito, mentre nella serie granuloblastica questa formazione è solo documentabile nelle cellule immature (Tav. I, fig. 1). Frequentemente sono evidenziabili in esso uno o più filamenti (il nucleolonema) e dei granuli (Tav. I, fig. 3).

È verosimile che la struttura del nucleolo sia diversa secondo il grado di maturazione e lo stato funzionale della cellula.

Resta quindi confermata, oltre alla presenza di strutture figurate nel nucleolo, la presenza di esso nel linfocito maturo. Diamo importanza a questo reperto, perché si deve ritenere che le discussioni della possibile evoluzione del linfocito verso altri tipi cellulari (plasmacellule) (opinione sostenuta già alcuni decenni or sono da DOWNEY, 1916 e che trova ancora credito presso alcuni AA.) e della eventuale formazione di anticorpi da parte di questa cellula, possano essere sostenibili solo dopo che siano accertate alcune condizioni preliminari quale sembra essere quella della presenza di componenti cellulari necessariamente coinvolti nella sintesi delle proteine.

La microscopia elettronica ha documentato che tutte le cellule del sangue possiedono una doppia membrana nucleare (Tav. I, fig. 4; Tav. II, fig. 6), la quale è più o meno evidente secondo l'angolo di incidenza delle sezioni. Le figure dimostrano come in tutti i tipi cellulari essa sia sempre visibile e come codesto doppio strato osmiofilo (l'esterno e l'interno) delimiti uno spazio permeabile agli elettroni: lo spazio perinucleare. Secondo la maggior parte degli AA. la membrana esterna, in determinati punti della superficie, si ripiega e si salda con lo strato interno costituendo delle porte di comunicazione tra nucleo e citoplasma. I pori nucleari (Tav. II, fig. 7) costituiscono delle aperture di diametro variabile tra i 400 e gli 800 Å e sono numerosi in tutti i tipi cellulari esaminati e in tutte le fasi di maturazione delle cellule ematiche. Però alcuni AA. non ammettono l'esistenza di queste porte di comunicazione nucleo-citoplasmatica, nel senso che in questi punti esisterebbe ancora la membrana nucleare ridotta ad uno strato unico e sottile (POLICARD e BAUD, 1958). La membrana interna è in stretto contatto con il denso nucleoplasma della periferia, mentre la esterna assume intimi rapporti con il reticolo endoplasmatico ed i granuli di PALADE, ad essa addossati.

Questi ultimi rapporti hanno costituito una base per l'ipotesi, sostenuta da diversi AA., della origine del reticolo endoplasmatico dalla membrana nucleare esterna. Infatti SJOSTRAND (1956), WATSON (1955), PALADE (1955), EPSTEIN (1957) e molti altri, hanno osservato, in cellule di tessuti diversi, che nella membrana nu-

cleare esterna si producono delle estroflessioni che, invaginandosi nel citoplasma, vanno a costituire delle formazioni del tutto simili alle  $\alpha$ -citomembrane.

Questo permise (BENNET, 1956) di elaborare l'ipotesi secondo la quale il reticolo endoplasmatico si doveva considerare una derivazione morfologica della membrana nucleare esterna.

Le osservazioni, che abbiamo condotto sulle cellule del sangue di soggetti normali ed emopatici, non hanno dimostrato delle tipiche estroflessioni della membrana nucleare esterna, se non in alcune condizioni particolari, come nel caso di globuli bianchi posti a contatto con siero antileucociti.

BERNHARD e coll. (1956) sostengono la provenienza delle membrane del reticolo endoplasmatico dai mitocondri. Le nostre osservazioni al microscopio elettronico non permettono di documentare questa origine; tuttavia dobbiamo riconoscere che, nelle cellule ematiche nucleate, numero dei mitocondri ed evidenza del reticolo endoplasmatico si comportano in modo parallelo, generalmente. Infatti dove il reticolo endoplasmatico (e quindi le  $\alpha$ -citomembrane) è più evidente, anche i mitocondri sono più numerosi. La stretta relazione topografica fra  $\alpha$ -citomembrane e mitocondri è probabilmente espressione di una stretta correlazione metabolica fra questi due componenti fondamentali del citoplasma. Mitocondri ed  $\alpha$ -citomembrane aumentano notevolmente e proporzionalmente al grado di immaturità degli elementi ematici e nelle cellule indifferenziate le zone più ricche di mitocondri sono quelle dove il reticolo endoplasmatico è maggiormente evidente. Quest'ultima osservazione è in accordo con le precedenti di BERNHARD e coll. (1956) e di FAWCETT (1955). Inoltre in un determinato tipo cellulare la quantità di  $\alpha$ -citomembrane, presenti nel citoplasma, è proporzionale al grado di attività funzionale della cellula.

#### CITOPLASMA

##### a) *Reticolo endoplasmatico*

Gli elementi fondamentali del reticolo endoplasmatico sono le  $\alpha$ -citomembrane; esse si presentano per lo più riunite od appaite si da formare come dei sacchi appiattiti. Nelle microfotografie esse appaiono costituite da due sottili linee a decoro parallelo, delimitanti uno spazio lungo e sottile, il quale però, in alcuni casi, può rigonfiarsi considerevolmente, dando luogo alla formazione di vacuoli (Tav. VI, fig. 32). Questi si distinguono dagli altri tipi di vacuoli perché all'esterno della membrana delimitante presentano i granuli di PALADE.

Assai variabile è la direzione delle  $\alpha$ -citomembrane, potendo essere rettilinea o sinuosa ed, alle volte, una  $\alpha$ -citomembrana può suddividersi in più elementi allungati. Caso tipico di cellule ematiche con abbondante quantità di  $\alpha$ -citomembrane è quello delle plasmacellule (Tav. II, figg. 8, 9, 10), nelle quali una ricostruzione tridimensionale dà luogo a una serie fittissima di sacchi, disposti parallelamente tra di loro e spesso in comunicazione con fenestrature.

Le cellule immature di tutti i tipi di globuli bianchi sono abbondantemente provviste di  $\alpha$ -citomembrane, ma durante il processo di maturazione avviene in tutti gli elementi, ad eccezione della serie plasmacellulare, una notevole riduzione



del numero e della forma di esse. Questa riduzione non si verifica però in modo uniforme e parallelo con il progredire della maturazione dei diversi elementi, perciò il citoplasma del monocito è generalmente più dotato di  $\alpha$ -citomembrane rispetto a quello del linfocito. Sebbene il linfocito (Tav. III, fig. 12) sia una cellula che possiede un gran numero di mitocondri, i quali si presentano anche di dimensioni più voluminose rispetto agli altri tipi cellulari, esso risulta essere una cellula povera di  $\alpha$ -citomembrane, rappresentate da piccole formazioni vacuolari sparse nel citoplasma e per lo più anche distanti dai mitocondri.

Il citoplasma linfocitario, prescindendo dal numero dei mitocondri, è assai povero di strutture e si comporta in modo antitetico a quello delle plasmacelle. Pure nei diversi tipi cellulari della serie granuloblastica il processo di maturazione non porta ad una parallela riduzione delle  $\alpha$ -citomembrane.

I granulociti neutrofili (Tav. III, fig. 13) sono poveri di reticolo, essendo questa una caratteristica della cellula. Si notano infatti, in questi elementi, piccole vescicole completamente vuote, scarsamente ed irregolarmente distribuite nel citoplasma, nel quale abbondano le granulazioni specifiche; negli eosinofili, invece, le vescicole sono molto più numerose (Tav. V, figg. 27, 28). Analogamente agli eosinofili si comportano i basofili (Tav. III, fig. 14). In tutti gli elementi nucleati del sangue la superficie esterna delle  $\alpha$ -citomembrane è disseminata, più o meno abbondantemente, da piccoli granuli del diametro di circa 150 Å (i granuli di PALADE) costituiti da ribonucleoproteine. Deve però essere ricordato che detti granuli non sono soltanto presenti a ridosso della parete esterna delle  $\alpha$ -citomembrane, ma si trovano anche isolati o in piccoli gruppi di tre o quattro elementi liberamente sparsi ed immersi in materiale opaco, privo di qualsiasi struttura. I granuli isolati sono più frequenti nelle cellule mature che non nelle immature.

#### b) *Mitocondri*

I mitocondri degli elementi bianchi del sangue non differiscono, nella loro struttura generale, dai mitocondri delle altre cellule umane e lo studio dettagliato della morfologia dei mitocondri costituisce un capitolo recente per la ematologia classica.

Poiché è stato documentato attraverso le ricerche biochimiche, l'importante ruolo giocato da questi organuli nell'economia della cellula, e le ricerche morfologiche hanno potuto dimostrare come la forma e le altre caratteristiche dei mitocondri siano particolarmente sensibili al variare delle condizioni fisiologiche, all'azione degli ormoni, a quella degli elettroliti, si comprende come all'ematologo siano mancati elementi oltremodo importanti nello studio della fisiopatologia delle cellule ematiche.

I mitocondri dei leucociti assumono i più diversi aspetti morfologici: dal rotondo all'ovale, a quello a bastoncino ed al filamentoso, avendo un diametro trasverso medio dell'ordine di 0,30  $\mu$ . Poiché le sezioni sottili sono circa dieci volte inferiori di spessore, riesce comprensibile come occorra, anche per questi elementi, una ricostruzione tridimensionale per poter comprendere la loro forma, la loro posizione nella cellula ed i rapporti che contraggono con gli altri costituenti del citoplasma.

Ciascun mitocondrio (Tav. III, figg. 15, 16) è delimitato da una membrana esterna dello spessore di circa 14-18  $\mu$ , costituita da un doppio strato osmiofilo, che contiene una piccola fessura (Tav. IV, fig. 17). La zona interna del mitocondrio è occupata da una matrice indifferenziata, abbastanza opaca agli elettroni, nella quale sono visibili delle piccole granulazioni e che è attraversata dalle tipiche « cristae » mitocondriali, costituite a loro volta da un doppio strato osmiofilo (Tav. III, figg. 15, 16; Tav. IV, fig. 17).

L'aspetto delle « cristae » varia naturalmente secondo il piano di sezione per cui in alcuni casi sembrano assumere stretti rapporti di continuità con lo strato osmiofilo interno, giustificando l'ipotesi di quegli AA. che le ritengono originate da introflessioni o invaginazioni dello strato interno della membrana esterna.

Le « cristae » (Tav. IV, fig. 17), che nell'interno del mitocondrio assumono le più diverse direzioni, quando sono disposte perpendicolarmente alla membrana esterna possono essere a contatto con i due punti opposti dello strato osmiofilo interno ma, in genere, nel piano di sezione esaminato, sono a contatto con un solo punto della membrana.

È anche possibile osservare la formazione di branche o diramazioni che si dipartono da una medesima « crista » (Tav. IV, fig. 18).

Ciascuno dei due strati costituenti la « crista » presenta generalmente uno spessore da 5 a 7  $\mu$  e delimita una sottilissima fessura variante dai 4 agli 8  $\mu$ . Il microscopio elettronico rivela quindi formazioni citoplasmatiche che hanno uno spessore inferiore ai granuli di PALADE, dell'ordine delle grandezze molecolari.

Nelle cellule immature degli elementi bianchi non vi sono diversità manifeste nella morfologia e nel numero dei mitocondri, ma se si esaminano i granulociti, i linfociti, i monociti e le plasmacellule si possono riscontrare evidenti differenze.

Nei granulociti neutrofilii, basofili, eosinofili (Tav. III, fig. 13), i mitocondri sono scarsi, distribuiti qua e là nel citoplasma. Essi sono di piccole dimensioni, di forma generalmente ovale e piuttosto opachi agli elettroni. Nei linfociti (Tav. III, fig. 12) i mitocondri sono invece numerosi, di diverso aspetto, essendo alcuni ovali con diametro tra  $\mu$  0,3 e 0,7, altri a bastoncino della lunghezza di  $\mu$  1,1-1,25.

Nei monociti (Tav. III, fig. 11) i mitocondri sono altrettanto numerosi, ma in genere sono di più piccole dimensioni, essendo gli ovali compresi tra  $\mu$  0,15 e 0,40 e quelli a bastoncino di lunghezza inferiore a  $\mu$  0,8.

Le plasmacellule sono le cellule ematiche che contengono il maggior numero di mitocondri (Tav. II, figg. 8, 9, 10). Essi sono per lo più di forma a bastoncino e possono raggiungere perfino 2  $\mu$  di lunghezza. In queste ultime cellule i mitocondri sono uniformemente distribuiti in tutto il citoplasma ad eccezione della zona perinucleare.

#### e) Apparato di Golgi e centrosfera

In corrispondenza della zona chiara perinucleare, più o meno evidente in tutti i leucociti maturi ed immaturi, la microscopia elettronica ha permesso di precisare una serie di formazioni elementari che sembrano giocare un ruolo fondamentale nel metabolismo cellulare. Ci si vuole qui riferire ai corpi di GOLGI, ai centrioli ed all'aster, che, secondo PALADE, costituiscono il centro digestivo e circolatorio della



cellula. Infatti, apparato di GOLGI e centrosfera sono sempre bene evidenti nei macrofagi durante la fagocitosi, perché il materiale da utilizzare viene convogliato attraverso i canali del reticolo endoplasmatico a questa zona perinucleare.

In tale zona priva di mitocondri, di  $\alpha$ -citomembrane, e di granuli di PALADE, l'apparato di GOLGI (Tav. IV, figg. 19, 20, 21) è la formazione più evidente dal punto di vista morfologico. Esso è costituito da piccoli vacuoli, da micro-vescicole, con contenuto più o meno opaco, che presentano un diametro di circa  $\mu\text{m}$  50 e da brevi e scarse membrane ( $\gamma$ -citomembrane) dello spessore di circa  $\mu\text{m}$  5 e della lunghezza di  $\mu\text{m}$  200-600. Le microvescicole, secondo gli studi di FERREIRA (1957), (cfr. anche LANZAVECCHIA e MORANO, 1958), proverrebbero da un processo di gemmazione delle  $\gamma$ -citomembrane e si trasformerebbero, in un tempo successivo, nei granuli di secrezione.

La presenza di questi granuli e di piccole vescicole conferisce al citoplasma di questa sede carattere spugnoso.

Come è stato precedentemente segnalato, l'apparato di GOLGI è presente in tutti i tipi di globuli bianchi esaminati ed in tutte le fasi di maturazione di questi stipti cellulari.

I corpi di GOLGI, con i vacuoli cromofobi posti all'esterno, si dispongono a mantello intorno ad un componente cellulare (i centrioli), che è stato precisato nei dettagli solo recentemente (BESSIS e coll., 1958).

Secondo la ricostruzione di BESSIS (1958) il centriolo è costituito da un fascio di nove tubuli dai quali si dipartono, come dei raggi, due serie parallele di nove bastoncini della lunghezza di  $\mu\text{m}$  65-90 e dello spessore di 20. I bastoncini terminano con delle masserelle del diametro di  $\mu\text{m}$  65-75. Da queste masserelle originano le fibre dell'aster che, dirigendosi verso la periferia, passano tra i corpi del GOLGI attraverso soluzioni di continuo.

Se la sezione ultrasottile è stata ottenuta con un taglio condotto trasversalmente all'asse, mostra la sezione del cilindro cavo con i nove tubuli disposti alla periferia (Tav. IV, figg. 22, 23, 24). Infine un taglio condotto secondo una sezione obliqua può evidenziare un cilindro cavo ed uno o più raggi (Tav. IV, figg. 23, 24).

In conclusione possiamo affermare che anche alla nostra osservazione sono capitate diverse immagini di centrioli in tutti i tipi di leucociti esaminati e pertanto ci sentiamo di sottoscrivere alla ricostruzione dell'apparato centriolare così come è stato ipotizzato da BESSIS.

I LETTRÉ (1958) sostengono, sulla base di rilievi critici e sperimentali, che tutti i componenti della centrosfera, ivi comprese le fibre dell'aster, persistono durante il periodo intercinetico, in netto contrasto con l'opinione che la maggior parte degli AA. (cfr. MAZIA, 1954, che studia uova di ricci di mare) ha sull'argomento. BESSIS e coll. (1958), nel gruppo di osservazioni rivolte allo studio dell'apparato della centrosfera nei globuli bianchi, documentano la presenza di formazioni, denominate «canali dell'aster», che si dipartono dal centriolo in tutte le direzioni, ponendosi quindi in contatto con la membrana nucleare (sovente da essi deformata) ed il restante ambito del citoplasma. Tuttavia, è evidente, al microscopio elettronico, confrontando le figure di BESSIS con altre figure dell'apparato della centrosfera durante la mitosi (BERNHARD e DE HARVEN, 1960) che i canali dell'aster hanno

un aspetto morfologico diverso dalle fibre del fuso, perciò il problema rimane ancora aperto. Al contrario è definitivamente documentata la persistenza del centriolo in cellule, quali i granulociti, che non sono più soggette a divisione ed è pertanto probabile che questa formazione morfologica svolga una attività metabolica a noi completamente ignota.

d) *Granulazioni specifiche*

I granuli sono i componenti tipici della serie granuloblastica-granulocitica ed appaiono al microscopio elettronico con loro caratteristiche peculiari. Le granulazioni neutrofile (Tav. V, figg. 25, 26) sono le più numerose e sono uniformemente distribuite nell'ambito del citoplasma omonimo, ad eccezione della zona perinucleare. Sono di forma ovale o rotonda, delimitate da una membrana esterna piuttosto opaca agli elettroni.

I granuli neutrofilii contengono una matrice di densità omogenea ed hanno un diametro massimo di  $0,5 \mu$ . I più voluminosi sono situati alla periferia della cellula, sede dove di solito compaiono all'inizio del processo di maturazione; la comparsa di granuli specifici avviene quindi progressivamente, iniziando alla periferia della cellula.

Di maggiori dimensioni si presentano i granuli eosinofili (Tav. V, fig. 27) costituiti da elementi a morfologia più eterogenea, nei quali sono visibili formazioni cristalline di vario aspetto. Secondo la sezione nella quale è stato condotto il taglio, i cristalli hanno aspetto di bastoncino o grossolanamente circolare. La densità di essi è uniforme. La componente più chiara dei corpi eosinofili, nella quale i cristalli restano immersi, a forte ingrandimento assume un aspetto granulare. I corpi eosinofili sono delimitati da una sottilissima membrana.

Nelle cellule eosinofile, accanto a questi corpi specifici, si osservano frequentemente corpi basofili che presentano forma e dimensioni simili ai corpi eosinofili e che risultano costituiti da una matrice senza struttura, a margine nettamente marcato e regolare.

Infine, sono reperibili corpi costituiti da una densa matrice che contiene ammassi di sostanza di variabile densità (Tav. V, fig. 28), a struttura irregolare e che sembrano essere costituiti da materiale di demolizione dei cristalli testè menzionati.

Ricordiamo brevemente che, secondo BERNHARD (1957), i granuli eosinofili si costituirebbero per il depositarsi di cristalli a livello delle « cristae » dei mitocondri, come sembrano indicare alcuni aspetti dei leucociti eosinofili del coniglio. Infine, secondo altri AA., i corpi basofili sono identificabili con gli stessi corpi eosinofili nei quali sono stati disciolti i cristalli durante i processi di manipolazione della cellula.

I granuli basofili delle cellule omonime (Tav. V, fig. 29; Tav. VI, fig. 30) sono di dimensioni più cospicue dei corrispondenti neutrofilii, raggiungendo diametri massimi di circa  $1 \mu$ . Come i granuli neutrofilii, essi possiedono una evidente membrana delimitante e compaiono già numerosi nella evoluzione maturativa della cellula basofila. I granuli presentano tra di loro una densità variabile e sembrano costituiti da una matrice che ha caratteristiche di particolare durezza al taglio per cui frequentemente si trovano alla periferia dei granuli basofili artefatti costituiti

da accumuli amorfi di maggiore densità prodotti dalla lama nel sezionare i granuli.

Infine dobbiamo ricordare tra le granulazioni dei leucociti, sebbene non siano specifiche di un tipo cellulare, le azzurrofile (nei linfoцитi e nei promielociti).

I granuli azzurrofilii sono formazioni di grandezza inferiore alla metà dei granuli neutrofilii, misurando intorno a  $\mu$  0,13-0,20, sicuramente delimitati da una membrana esterna che è costituita da un denso strato osmiofilo, contengono una matrice di uniforme densità poco opaca agli elettroni.

#### e) *Inclusioni*

La questione dei corpi inclusi negli elementi bianchi è di fondamentale importanza perché una delle caratteristiche fisiologiche di queste cellule è costituita dalla capacità fagocitante di esse.

Il problema, data la sua importanza, verrà discusso in una sezione successiva. Qui vogliamo soltanto ricordare come frequentemente nei leucociti si trovano dei vacuoli che risultano di diversa origine. Ricordiamo tra di essi i vacuoli di pinoцитosi che costituiscono uno dei modi attraverso i quali la cellula assume materiali dall'esterno, i vacuoli di degenerazione (Tav. VI, fig. 31) i quali rappresentano l'esito dei processi degenerativi che intervengono a livello dei mitocondri. Mitocondri in degenerazione si trovano anche nelle migliori preparazioni osservate al microscopio elettronico. Essi contengono del materiale in disfacimento che va gradatamente riducendosi di entità fino a residuare una cavità contenente scarsissimo materiale.

I vacuoli di rigonfiamento (Tav. VI, fig. 32) sono quelli che provengono dal rigonfiamento di sacchi ergastoplasmatici. In genere si distinguono dagli altri perché presentano addossata alla membrana delimitante una serie più o meno numerosa di granuli di PALADE.

Eccezionalmente nei globuli bianchi si possono pure ritrovare vacuoli contenenti sostanze grasse (Tav. VI, fig. 33), che sono identificabili perché fortemente opachi agli elettroni, data l'elevata osmiofilia dei lipidi.

Debbono essere infine ricordati i vacuoli composti (Tav. VI, figg. 34, 35, 36), non visibili al microscopio comune, costituiti da una cavità delimitata da una membrana, contenente 5 o 6 vacuoli più piccoli.

Queste formazioni sono molto comuni nei linfoцитi, ma si possono trovare anche negli altri leucociti. Talvolta esse contengono una matrice di densità uniforme, lievemente opaca agli elettroni.

Le funzioni di queste formazioni vacuolari non sono bene conosciute, sebbene nessuna di esse sembri costituire una precipua caratteristica degli elementi bianchi della serie ematica.

#### 4) LEUCOCITI PATOLOGICI (INFIAMMATORI E LEUCEMICI)

Le modificazioni infrastrutturali dei leucociti nei focolai infiammatori costituiscono un importante capitolo della patologia dei globuli bianchi, tuttora ignorato dalla microscopia elettronica.

In questo settore esiste, infatti, il solo studio di POLICARD e coll. (1959). Questi AA. hanno esaminato i leucociti di focolai infiammatori asettici, provocati sperimentalmente nel parenchima polmonare del ratto mediante iniezione intratracheale di silicio colloidale.

Le prime modificazioni che intervengono nei leucociti sono costituite dalla riduzione delle granulazioni specifiche. A questo fenomeno seguono altri riguardanti il reticolo endoplasmatico con formazione di cisterne in comunicazione con lo spazio perinucleare, a sua volta dilatato. Con il reticolo si modifica l'apparato di GOLGI e la capacità fagocitante dei leucociti che diviene vieppiù marcata man mano che si riduce il numero dei granuli specifici.

Le osservazioni di POLICARD e coll. sono interessanti perché segnalano come in queste condizioni sperimentali l'alterazione primitiva dei leucociti sia costituita dalla progressiva cancellazione dei granuli specifici. Con la riduzione dei granuli aumenta parallelamente la fagocitosi. In conclusione la sequenza delle modificazioni che avvengono nell'ambito del protoplasma del leucocito situato in un focolaio infiammatorio è del tutto diversa da quella che si osserva nel leucocito che fagocita batteri « in vitro ».

Un altro settore dei leucociti patologici, indagato dalla microscopia elettronica, è quello che riguarda le leucemie umane. Noi l'abbiamo già preso in considerazione (DI MAJORCA, LANZAVECCHIA e LE COULTRE, 1956).

LAW e FREEMAN (1958), nel loro atlante di microscopia elettronica, portano una serie di microfotografie di cellule leucemiche; al nostro lavoro e ad essi rimandiamo il lettore che desideri dettagliate informazioni sull'argomento.

Volendo riassumere le anomalie principali riscontrate nei vari tipi di leucemia, potremmo schematizzare nel seguente modo:

Il nucleo presenta (Tav. VII, figg. 39, 40) delle alterazioni morfologiche, specialmente evidenti nelle forme acute, ed assume forma spesso molto dissimile dalla corrispondente delle cellule normali, con una superficie irregolare presentante diverse invaginazioni e, talvolta, con un aspetto veramente bizzarro. Il rapporto nucleo-citoplasmatico è alterato ed è frequente la dissociazione fra evoluzione maturativa citoplasmatica e quella nucleare, così che il nucleoplasma può mostrare aspetti di completa immaturità, persino in elementi con citoplasma in avanzata fase di maturazione.

Di solito la membrana nucleare esterna appare nettamente dissociata dall'interna con formazione di numerose cisterne perinucleari (Tav. VII, fig. 41): nel nucleo, nelle sezioni ultrasottili, è quasi sempre documentabile il nucleolo (Tav. VII, fig. 40) che possiede dimensioni piuttosto cospicue, margini irregolari ed, abbastanza frequentemente, fenomeni di vacuolizzazione. In complesso il nucleolo va soggetto a profonde modificazioni di carattere morfologico che meriterebbero di essere conosciute maggiormente nei loro dettagli, per il ruolo metabolico giocato da questo componente elementare nell'economia cellulare.

Anche i mitocondri (Tav. VII, figg. 41, 42) presentano degli aspetti per così dire « degenerativi », essendo frequentemente aumentati di volume, con matrice meno opaca agli elettroni, mentre le lamine interne sono frammentate, ridotte di numero e persino assenti.

Altre alterazioni si ritrovano nell'ambito del reticolo endoplasmatico che di solito presenta voluminose cisterne delimitate dalle  $\alpha$ -citomembrane.

I granuli specifici sembrano assumere un maggior polimorfismo e, accanto ad essi, si ritrovano frequentemente granuli azzurrofilii.

Mancano rilievi piú accurati a carico dell'apparato di GOLGI e della centrosfera in genere, ma è importante ricordare l'esistenza di questi componenti anche in cellule che non si dividono piú, perché alcuni antimitotici (colchicina e suoi derivati) sembrano svolgere la loro azione biochimica a livello di queste formazioni (LEITRÉ, 1958).

In complesso si deve però riconoscere che le sovraccennate anomalie, parallelamente a quelle riscontrate al microscopio ottico, sono di ordine quantitativo e non qualitativo, perché si ritrovano anche nei leucociti di soggetti normali; non possono perciò assumere carattere patognomonico sebbene il loro studio sia, per ovvie ragioni, di grande interesse.

Un accenno piú accurato meritano i corpi di AUER, le formazioni fibrillari (Tav. VII, fig. 43), gli inclusi nucleari e i virus segnalati nel citoplasma delle cellule leucemiche.

Nei vari tipi di leucemia (specie la mieloidè e la monocitica) sono reperibili delle inclusioni citoplasmatiche, i corpi di AUER, già noti perché rilevati mediante il microscopio ottico.

I corpi di AUER, piú frequentemente a forme di bastoncino, presentano una morfologia variabilissima. Le loro superfici non sono delimitate da alcuna membrana e, abbastanza frequentemente, sembra documentabile nell'interno di questi corpi la presenza di strie longitudinali non bene definite, piú opache agli elettroni della sostanza che costituisce il bastoncino di AUER. Questo reperto non è però un rilievo sicuro e costante.

BESSIS e coll. (1955) hanno pure messo in evidenza nel citoplasma di leucociti leucemici, una formazione particolare, costituita da una alterazione degenerativa, chiamata « corps en croissant » o, piú propriamente da LAW e FREEMAN (1958), « formazione fibrillare » (Tav. VII, fig. 43) in quanto costituita da un aggregato di fibre che si raccolgono, di solito, in forma ovale, delimitando zone di citoplasma con struttura leggermente diversa rispetto al rimanente. Su queste formazioni si è soffermata l'attenzione degli studiosi, in quanto esse ricordano le zone di degenerazione descritte in cellule infettate da virus.

DI MALJORCA, LANZAVECCHIA e LE COULTRE (1956) hanno invece potuto dimostrare nel nucleo di linfociti leucemici la presenza di una formazione rotonda, estremamente opaca agli elettroni, del diametro di circa mezzo micron. Questa formazione è paragonabile a quella osservata da GREY e BIESELE (1955) nei linfociti dei topolini portatori di cancro-ascite.

Un piú palpitante interesse ha il riscontro di virus nelle cellule umane. La etiologia virale delle leucemie dei mammiferi, e quindi delle umane, è un argomento di viva attualità sostenuto da una abbastanza nutrita schiera di ricercatori; ma esula dal nostro compito una esposizione critica di questa concezione. Una rivista sull'argomento è comparsa abbastanza recentemente ad opera di DROCHOWSKI (1958), Autore che per primo ha dimostrato la presenza di virus in tessuti leucemici

umani. Lo stesso ricercatore mantiene però una posizione di estrema prudenza nell'attribuire valore etiologico al virus riscontrati nelle cellule e su questa linea è la sua più recente pubblicazione (1959).

La presenza di virus nella cellula leucemica è stata anzitutto documentata nella leucemia dei polli, sia nel quadro di linfomatosi extravascolare che nell'eritemia. Il virus contenuto nelle cellule eritemiche è stato studiato nei più minuti dettagli recentemente da BENEDETTI e BERNHARD (1958).

I virus risultano delle dimensioni tra  $m\mu$  65 e  $m\mu$  80, sono di forma sferica e costituiti da una parte centrale molto opaca agli elettroni, una parte esterna più chiara e una netta membrana periferica delimitante. La presenza di queste particelle è sempre associata ad alterazioni istologiche come: vacuolizzazione del reticolo endoplasmatico, alterazioni della struttura dei mitocondri.

Il virus, secondo BENEDETTI, è assunto per fagocitosi dalle cellule reticolari (accanto ai granulociti e ai monociti, le cellule reticolari sono i soli elementi che possiedono attività fagocitante batterica).

Un secondo passo, nello studio dei virus presenti nei tessuti leucemici, è stato compiuto con la identificazione di questi corpuscoli nelle leucemie spontanee e indotte del topo. Anche nelle cellule leucemiche di questi animali sono state dimostrate, oltre a numerose alterazioni citoplasmatiche (vacuolizzazione, modificazioni del reticolo endoplasmatico, anomalie dei mitocondri, presenza di intrusi cellulari), strutture simili alle particelle virali. Le caratteristiche del virus della leucemia spontanea e indotta sono abbastanza simili, essendo esso costituito da corpi osmiofili di dimensioni variabili tra  $m\mu$  60 e  $m\mu$  150.

BERNHARD e GROSS (1959), recentemente, li hanno potuti suddividere in tre tipi:

- il tipo A ha una forma a ciambella;
- il tipo B, che si trova anche extra-cellulare, ha un nucleo fortemente osmiofilo, eccentrico ed una membrana delimitante;
- il tipo C possiede un nucleo centrale di densità variabile e la membrana delimitante.

Isolamento, purificazione a capacità leucemogene di queste particelle virali o di loro frazioni devono essere dimostrate prima di attribuire loro un significato etiologico.

I più recenti risultati di LATARJET (1959) dimostrerebbero la capacità infettante degli acidi nucleici estratti da tessuti leucemici e la perdita di questa capacità dopo azione della DNAasi.

Che il DNA di questi virus possa essere infettante può essere ipotizzato, avendo DI MAJORCA e coll. (1959) dimostrato la capacità infettante del DNA del polioma in culture di tessuto e BERNHARD (1959) la sede intranucleare di questo virus.

Sulla base di queste osservazioni sulle leucemie dei polli e dei topi DUCHOWSKI (1958) ha condotto delle ricerche riguardanti i linfonodi di soggetti umani affetti da leucemia linfatica. Nelle cellule dei linfonodi leucemici (leucemie linfatiche, mieloidi, linfosarcomi, linfogranulomi) accanto alle comuni alterazioni dei componenti



elementari della cellula, in tutto simili a quelle osservate nella leucemia del pollo e del topo, sono state riscontrate, negli inclusi cellulari e nel citoplasma, delle particelle del diametro di  $\mu\text{m}$  90, costituite da una parte interna molto opaca agli elettroni, circondata da due membrane delimitanti. Anche le cellule di questi linfonodi, coltivate «in vitro», presentano modificazioni suggestive, riconducibili a quelle osservate «in vivo». Infatti, l'Autore ha riscontrato la positività dei suoi risultati in 15 casi dei 24 coltivati «in vitro», mentre le cellule dei linfonodi controllo non hanno mai dimostrato l'esistenza di queste particelle virali. In un caso (linfosarcoma) l'Autore ha potuto dimostrare la presenza di queste particelle nelle cellule, coltivate «in vitro», per 6 passaggi successivi. Estratti acellulari di linfonodi leucemici hanno, infine, prodotto anomalie nelle cellule renali di scimmia, coltivate «in vitro», e queste alterazioni citologiche si sono dimostrate trasmissibili in serie.

#### 5) IL COMPORTAMENTO DEI LEUCOCITI DURANTE ALCUNE FUNZIONI DI DIFESA (FAGOCITOSI ED AGGLUTINAZIONE)

##### a) FAGOCITOSI

Uno degli aspetti più importanti della vita dei leucociti è costituito dalla fagocitosi e dopo le osservazioni di LANGHANS (1870) sulla fagocitosi di frammenti di globulo rosso e quella di METCHNIKOFF (1882) che ha potuto chiaramente documentare la funzione difensiva della fagocitosi, numerosi altri AA. hanno cercato di studiare nel più minuti dettagli questo processo biologico.

I macrofagi, i monociti, ed i polinucleati (molto più chiaramente i neutrofili degli eosinofili e dei basofili), secondo alcuni le plasmacellule (BUTTERWORTH, 1953) e forse anche, secondo pochi altri, i linfociti (ZASYENSK e coll., 1957; REBEC, 1951) possiedono attività fagocitaria, che si può spiegare verso sostanze organiche ed inorganiche, verso germi (batteri e virus), verso cellule o residui cellulari.

Il fenomeno si svolge nel tempo secondo tre distinte tappe (chemiotassi, fagocitosi, digestione del materiale ingerito) e numerose sono le condizioni che possono interferire su questo fenomeno. È stato così documentato che la temperatura ottimale per lo svolgersi della fagocitosi è intorno ai  $37^{\circ}\text{C}$  e che i leucociti maturi giovani possiedono una maggiore capacità fagocitante rispetto alle cellule immature, alle cellule leucemiche e ai leucociti di soggetti in carenza di vitamine con deplezione proteica, o trattati con cortisone od ormoni corticotropi. Al contrario l'attività fagocitante è aumentata nei soggetti anemici o nei leucociti di culture di midollo dopo aggiunta di antagonisti dell'acido folico o di sostanze antibatteriche.

Esula da questa rassegna l'analisi dei risultati ottenuti in ricerche sperimentali condotte sulle particelle fagocitate o sull'ambiente nel quale avviene il processo di fagocitosi e così pure sul meccanismo di produzione del fenomeno, limitandoci qui a ricordare la non identità dell'ambiente esterno tra fagocitosi «in vivo» ed «in vitro», e la incertezza ancora regnante sull'intimo meccanismo di produzione del processo per alcuni riconducibile ad un semplice fenomeno fisico e per altri biochimico.

Scopo delle indagini di microscopia elettronica risulta l'analisi delle modificazioni nell'ambito del fagocita (fagocitosi propriamente detta e digestione del mate-

riale fagocitato). Già si possiedono in questo senso accurate ricerche condotte con l'aiuto della cinematografia a contrasto di fase; basterà ricordare i lavori di CHEVREMENT e della sua scuola per opera soprattutto di ROBINEAUX (1954), e di BESSIS (1954).

Dei diversi tipi di fagocitosi batterica virale, minerale e cellulare ci siamo interessati della batterica e della cellulare anche perché, per quanto riguarda la minerale, esistono accurate recenti ricerche di POLICARD e coll. (1954-59) e della virale, nel campo dei leucociti umani, la sola possibilità di studio è la fagocitosi dei virus associati alla leucemia (DROCHOWSKI e coll. 1958).

La fagocitosi batterica è stata da noi esaminata mediante la tecnica consigliata da GOODMAN e MOORE (1956-57), tecnica che questi AA. hanno usato per uno studio consimile di fagocitosi con stafilococco (virulento e non).

Quando una sospensione di leucociti viene incubata a 37°C in plasma umano con stafilococchi, si determina sulla membrana citoplasmatica delle cellule la formazione di fini espansioni dendritiche che, aumentando progressivamente di volume, assumono aspetto di pseudopodi. Questi ultimi poi, per un processo di coalescenza, si saldano alle loro estremità invaginando completamente il germe. La cattura del germe avviene, oltre che per emissione di pseudopodi, anche per semplice adesione della cellula al corpo batterico. Lo stafilococco, quando viene introdotto nell'interno del citoplasma del granulocito, sia che il fenomeno avvenga con il primo che con il secondo meccanismo, trascina con sé la membrana citoplasmatica che aderisce come un guanto alla membrana esterna del batterio.

È interessante notare come l'emissione degli pseudopodi non sia seguita dall'invasione dei granuli specifici nell'ambito della superficie citoplasmatica di pertinenza all'espansione.

Tra membrana citoplasmatica invaginata e membrana esterna si va formando un vacuolo (Tav. VIII, figg. 45, 46) che aumenta progressivamente di dimensione e talvolta si espande fino al punto di frammentare e disgregare la cellula (Tav. VIII, fig. 49).

La formazione di questi vacuoli digestivi che sembrano costituire la prima tappa attraverso la quale avviene la disintegrazione dei batteri, è stata materia di discussione fra gli studiosi che hanno seguito il fenomeno con la microcinematografia a contrasto di fase (WILSON, 1953; ROBINEAUX, 1954). Le immagini al microscopio elettronico permettono di affermare che la formazione di questi vacuoli non è dovuta ad azione litica effettuata dagli enzimi produttori della disintegrazione del citoplasma circostante. Infatti, sebbene nel citoplasma che circonda il batterio sia difficile riscontrare una ben evidente organizzazione, è l'attività del citoplasma stesso, congiunta o meno a quella batterica, che dà luogo alla formazione di vacuoli. Questo del resto corrisponde a quanto è già noto da lungo tempo a proposito della fagocitosi batterica nelle amebe, sebbene i due fenomeni non siano del tutto comparabili. Infatti, mentre per l'ameba la fagocitosi è una normale attività, mediante la quale essa assume il proprio nutrimento, nei globuli bianchi esiste una competizione fra elemento fagocitante ed elemento fagocitato che può anche esitare nella morte e distruzione del leucocito.

Durante la formazione dei vacuoli avvengono nella cellula altri fenomeni degni

di interesse. Il più appariscente è rappresentato dal frequente aumento dello spazio perinucleare (Tav. VIII, fig. 49). La doppia membrana nucleare risulta bene dimostrabile nelle cellule che fagocitano perché lo spazio perinucleare è spesso ampio. Se questo fenomeno sia espressione di sofferenza cellulare o di una compartecipazione metabolica del nucleo al processo di fagocitosi, è un problema che attende di essere risolto.

Un altro fenomeno appariscente è costituito dai vacuoli di piccole dimensioni che compaiono nel centro della cellula (apparato di GOLGI e centrosfera). Questi sono stati definiti come vacuoli di degenerazione cellulare.

Generalmente dopo la formazione di vacuoli digestivi si assiste a modificazioni morfologiche del germe fagocitato. Il batterio è delimitato da una membrana esterna formata da due strati osmiofili che comprendono uno spazio contenente una sostanza modicamente opaca agli elettroni; lo spessore complessivo delle membrane è di circa  $m\mu$  20 (Tav. VIII, figg. 47, 48). Nell'interno della cellula batterica è presente il citoplasma molto opaco agli elettroni, uniformemente distribuito, di aspetto granulare. Occasionalmente sono apprezzabili delle aree centrali meno dense, che dovrebbero corrispondere al nucleo batterico (LEIB e coll., 1955; DE LAMATER, 1952). Alcuni batteri fagocitati presentano fenomeni di divisione.

La prima modificazione che interviene a carico dei germi fagocitati è la minore opacità del citoplasma batterico (Tav. VIII, fig. 51). Ad essa segue la vacuolizzazione e la disintegrazione del germe (Tav. VIII, fig. 52). Diminuzione della opacità del citoplasma batterico e vacuolizzazione avvengono a membrana esterna integra e la fase finale di disintegrazione dello stafilococco residua nella formazione di vacuoli citoplasmatici, contenenti scarso materiale amorfo, distribuito irregolarmente nelle cavità. Ricordiamo inoltre che anche nella fagocitosi di stafilococchi (il fenomeno è più evidente nella fagocitosi di altri batteri) si può constatare l'attiva partecipazione dei granuli neutrofili alle ultime fasi del processo di digestione dei germi, con riduzione progressiva del numero degli stessi granuli (Tav. IX, fig. 53). Il fenomeno è molto evidente in alcuni casi di fagocitosi batterica, come quella del bacillo del carbonchio o quella di sostanze inorganiche (silicio colloidale), dove si assiste alla totale scomparsa dei granuli neutrofili, con conservazione di altre attività (migrazione, fagocitosi) del leucocito fagocitante (ROBINEAUX, 1954).

La fagocitosi di cellule nei leucociti è un fenomeno noto da quasi un secolo. Infatti, METCHNIKOFF nel 1882, a Messina, ne dava le prime caratteristiche. Agli ematologi sono ben noti da tempo i fenomeni di eritrofagocitosi che compaiono in alcune emopatie (emoglobinurie parossistiche, anemie emolitiche acquisite, anemia emolitica del neonato). Recentemente l'interessante tema della fagocitosi cellulare è stato nuovamente preso in considerazione a proposito delle cellule dell'isolotto di tessuto reticolo-eritroblastico descritto da DI GUGLIELMO nel 1946, delle cellule del lupus (CAPELLI, 1952) e delle malattie immuno-ematologiche in genere. BESSIS (1959) ha pubblicato delle nuove osservazioni a proposito dell'isolotto eritroblastico, per sostenere la sua ipotesi del trasporto della ferritina dalla cellula reticolare dell'isolotto agli eritroblasti che la circondano, fenomeno che, se sarà inequivocabilmente dimostrato, costituirà un'altra valida ragione per escludere l'emocitoblasto dai progenitori dell'eritroblasto.

La notevole attività eritro-leucofagocitante dei macrofagi midollari è stata pure da noi documentata in soggetti normali e patologici.

La cellula reticolare (Tav. IX, fig. 54) presenta numerosi prolungamenti a tipo stellare, più o meno sottili, talvolta a forma di velo citoplasmatico. Essa possiede tale attività fagocitante da presentare, in qualche caso, elementi cellulari di tipo diverso contemporaneamente fagocitati (Tav. IX, figg. 55, 56).

Il citoplasma degli eritrociti fagocitati (Tav. IX, figg. 57, 58) assume ben presto carattere granuloso, per la comparsa di ammassi di emosiderina (Tav. X, figg. 59, 60) nei quali è possibile riconoscere la struttura cristallina della ferritina. Questa si ritrova anche in piccoli ammassi oppure sparsa in granuli nell'ambito di tutto il citoplasma. Incidentalmente dobbiamo ricordare che alla nostra osservazione sono occorse delle plasmacellule (Tav. X, figg. 61, 62) con depositi di ferritina nel citoplasma, dimostrando quindi l'esistenza di una attività fagocitaria di tali cellule.

Secondo l'opinione di BESSIS, la ferritina, proveniente dalla distruzione dei vecchi globuli rossi fagocitati, viene immessa direttamente negli eritroblasti che circondano la cellula reticolare nell'isolotto sanguigno. Di questo fenomeno, definito di rofecitosi, l'Autore fornisce parecchie immagini.

#### b) AGGLUTINAZIONE

Le caratteristiche immunologiche di numerose emopatie sono acquisizioni abbastanza recenti e, pertanto, sembra fondamentale conoscere il comportamento delle cellule ematiche di fronte agli anticorpi, tanto più che le cellule del sangue sono particolarmente adatte per essere analizzate a questo scopo.

Esiste infatti una ricca letteratura di osservazioni al microscopio ottico e al contrasto di fase sul comportamento dei globuli rossi e dei globuli bianchi messi a contatto con l'antisiero specifico. Questo ha permesso di correlare la nostra ricerca al microscopio elettronico (la prima sull'argomento) con i precedenti studi al contrasto di fase.

Per questo scopo sono stati ottenuti sieri da conigli immunizzati con leucociti ed eritrociti di soggetti umani normali e leucemici. Ogni esperimento era condotto in provette da emolisi nelle quali erano mescolati alcuni cmc. di sospensione di leucociti ed eritrociti con siero di coniglio immunizzato. Le provette erano incubate in termostato a 37°C per 20'. Ogni 5' una aliquota della sospensione era prelevata per l'allestimento delle sezioni.

L'osservazione al microscopio elettronico dei globuli rossi trattati con sieri antieritrociti dimostra come avvengono delle modificazioni nella parete dell'eritrocito con formazione di espansioni digitiformi, a volte ramificate (Tav. X, fig. 63). Talvolta si osserva che per mezzo di queste espansioni l'eritrocito si incastra alla superficie dei globuli bianchi. Inizia in questo caso la fagocitosi del globulo rosso o di parte di esso e gli aspetti morfologici di questo processo non differiscono dalla fagocitosi cellulare, come è stata precedentemente descritta.

Gli elementi bianchi messi a contatto con il siero antileucociti presentano, singolarmente, diversi gradi di alterazione, così che è possibile osservare una cellula gravemente danneggiata vicino ad una cellula normale. Ciò mette in evidenza che

i leucociti si trovano in diverse condizioni metaboliche quando sono posti a contatto con l'antisiero. La membrana citoplasmatica è frequentemente danneggiata; essa assume aspetto irregolare (Tav. XI, fig. 66) per la emissione di numerose protuberanze che sono talvolta da considerare dei veri e propri pseudopodi (Tav. X, fig. 65; Tav. XI, fig. 67). Il contrasto di fase ha dimostrato come per mezzo di questi pseudopodi il globulo bianco, dopo che si sono stabiliti dei filamenti di congiunzione con le altre cellule, si avvicina ad esse e, per un accorrere concentrico di diversi elementi, si forma una rosetta con fenomeni successivi di agglutinazione. La presenza di queste grosse protuberanze nel citoplasma e l'incastramento di due o più cellule fra di loro è chiaramente visibile al microscopio elettronico (Tav. XI, figg. 68, 69), dove si può dimostrare la perfetta aderenza dei confini cellulari lungo un decorso estremamente sinuoso, quale può essere quello che traccia i confini dei singoli elementi costitutivi di un mosaico.

Il reticolo endoplasmatico sottostante alla membrana è molto irregolare, già nelle cellule non ancora agglutinate tra di loro (Tav. XI, fig. 66). Esso diviene molto meno opaco agli elettroni ed i sacchi citoplasmatici, delimitati dalle  $\alpha$ -citomembrane, si trasformano, a questo punto, in vacuoli, formando quella che viene definita la vescicolazione del reticolo. Le già scarse formazioni mitocondriali che sono presenti nei leucociti si riducono ulteriormente di numero attraverso una fase di degenerazione che inizia con la scomparsa delle creste mitocondriali e la formazione di vacuoli di degenerazione.

I granuli specifici (Tav. XI, figg. 67, 68) non presentano modificazioni degne di nota, se non a processo inoltrato, quando le cellule sono sottoposte per molto tempo all'azione dell'antisiero.

Prima della comparsa di alterazioni morfologiche nei granuli specifici, si riscontrano, invece, profonde modificazioni della membrana nucleare (Tav. XI, fig. 70), con distacco dell'esterna, così che in qualche nucleo si formano delle profonde estroflessioni dello spazio perinucleare nell'ambito del citoplasma. Queste aree sono quelle che corrispondono ai vacuoli perinucleari, visti al contrasto di fase.

Anche il nucleoplasma soggiace a profonde modificazioni, in un periodo ulteriore, perché compaiono ammassi di granuli, irregolarmente disposti vicino alla membrana nucleare interna.

A questa fase, come si può constatare con il microscopio a contrasto di fase, segue quella in cui avviene la rottura della membrana nucleare.

Gli stadi che seguono le alterazioni dei componenti elementari del nucleo e del citoplasma sono costituiti dalla lisi della cellula e dalla fagocitosi di essa o dei suoi frammenti. Questi due fenomeni non sono diversi, nel loro aspetto morfologico, dai quadri che abbiamo ora descritto e pertanto non meritano considerazione.

Si può perciò concludere che nel processo di agglutinazione dei globuli bianchi la modificazione morfologica più appariscente si verifica a livello del reticolo endoplasmatico, dove si nota la comparsa di vescicole e la riduzione dei granuli di PALADE. Codeste modificazioni significano maggior assunzione di acqua da parte della cellula e riduzione delle ribonucleoproteine citoplasmatiche.

È questo tuttavia un fenomeno di carattere generale, manifestazione di sofferenza cellulare. Analoga constatazione può essere fatta per i mitocondri.

Ragioni di pertinenza al tema di questo lavoro non permettono di esporre le numerose ipotesi che possono renderci ragione delle modificazioni ultrastrutturali che abbiamo riscontrato nelle cellule sottoposte all'azione del siero agglutinante specifico.

È tuttavia evidente che l'analisi delle anomalie cellulari riscontrate al microscopio elettronico permettono una migliore comprensione dei fenomeni biochimici che stanno alla base delle alterazioni strutturali osservate. A questo proposito basterà accennare alle strette relazioni che si sono dimostrate tra membrana citoplasmatica, sacchi citoplasmatici, spazio perinucleare e nucleo così che un antigene specifico verso uno dei componenti della cellula (microsomi, mitocondri, nucleo) riflette immediatamente la sua azione, una volta che si è fissato alla cellula, anche sugli altri componenti.

#### 6) DEDUZIONI E CONCLUSIONI

Le deduzioni che si possono trarre dalla presente rassegna, che ha avuto lo scopo di riassumere i contributi portati dalla microscopia elettronica per una migliore conoscenza della struttura dei globuli bianchi, sembrano stimolare verso una più estesa applicazione di questa tecnica di indagine da parte degli ematologi. Due sono le ragioni che inducono a questa affermazione: la prima riguarda la attuale insufficienza delle metodiche di indagine, la seconda riguarda i nuovi indirizzi sperimentali che provengono dalla applicazione della microscopia elettronica. È fuori di dubbio che la microscopia classica e a contrasto di fase hanno lasciato molti problemi insoluti a proposito della identificazione morfologica dei tipi cellulari, specie durante le prime fasi della differenziazione cellulare, tanto che oggi la maggior parte degli ematologi pensa che le cellule immature di tutti i tessuti emopoietici (emocitoblasti, mieloblasti, linfoblasti a seconda delle singole opinioni) sono morfologicamente e potenzialmente identiche in tutti i distretti dell'organismo e che lo sviluppo in una particolare direzione è dovuto alle condizioni ambientali nelle quali è posta la cellula indifferenziata, problema di grande importanza genetica che meriterebbe una maggior attenzione da parte dei morfologi, mentre invece è stato quasi ignorato completamente.

Bisogna perciò escludere, in primo luogo, che questa affermazione sia dipendente da una non adeguata capacità di risoluzione morfologica da parte del MAY-GRENWALD-GIEMSA, tecnica che oggi fa testo per la comune indagine diagnostica ematologica, sebbene in molti casi si sia dimostrata largamente insufficiente o per lo meno inesatta.

Infatti, la classificazione dei tipi cellulari del midollo emopoietico si vale ancora oggi di un metodo che, ad esempio, a proposito della presenza dei nucleoli nelle cellule, ha portato all'affermazione che i linfociti ne sono privi. Questa affermazione ritenuta generalmente valida è un errore condizionato dalla tecnica di fissaggio a secco, perché non vi possono essere nuclei privi di nucleolo.

Analoghe osservazioni possono essere fatte a proposito delle strutture nucleari, sia per il nucleo in riposo che per il nucleo in attività mitotica. I fissativi della rea-



zione panottica di PAPPENHEIM (fissaggio a secco ed alcool metilico) sono i peggiori che si conoscano per fissare i cromosomi e pertanto non ci si deve attendere una buona risoluzione della morfologia nucleare sulla base di questa colorazione. Del resto questo è stato ampiamente dimostrato, da ormai 15 anni, da ricerche di uno di noi (Poli).

Per quanto riguarda il citoplasma, è noto come il MAY-GRUENWALD-GIEMSA omette di evidenziare i mitocondri e gli altri organuli citoplasmatici che hanno un ruolo metabolico così importante nell'ambito della vita cellulare.

Per queste ed altre numerose considerazioni, questa tecnica, come del resto tutte le altre proposte ed attuate nel primo cinquantennio di questo secolo, sia quando sono usate singolarmente che in combinazione, non hanno permesso di risolvere diverse (per non dire molte) incognite a proposito della morfologia delle cellule ematiche, per cui oggi è particolarmente sentita la necessità di nuovi e più attendibili mezzi di indagine, al fine di non riproporre, con diverse parole, gli stessi problemi sollevati dagli ematologi nei primi cinquanta anni del novecento.

La seconda serie di ragioni che debbono spingere i ricercatori ad una più estesa applicazione della microscopia elettronica nel campo dell'ematologia è insita nelle caratteristiche stesse della metodica proposta, cioè nella grande capacità di risoluzione del microscopio elettronico, sì da poter ritenere non lontano il tempo nel quale le strutture morfologiche si identificheranno con le strutture biochimiche. Prende così consistenza quel concetto di spazio biochimico al quale si aderisce, quando ad esempio si afferma che nel citoplasma di una cellula si può documentare il passaggio di un determinato precursore ( $P^{32}$  del fosfato) dal RNA del liquido intracellulare al RNA dei microsomi, cioè, volendosi esprimere in termini biochimici, dal RNA del sovrantante al RNA delle nucleoproteine microsomiche.

Analogamente presuppongono un concetto di spazio biochimico le attività enzimatiche che si svolgono a livello di alcuni organuli citoplasmatici (mitocondri), ma non si possiedono mezzi per indagarne le caratteristiche, così che, in conclusione, si conoscono con larga imprecisione le condizioni spaziali attraverso le quali ogni cellula fabbrica i suoi costituenti. Solo la microscopia elettronica sembra stabilire una netta connessione tra problemi morfologici e biochimici e l'indagine morfologica nel campo ematologico offre il vantaggio tecnico di poter essere condotta su cellule isolate.

La microscopia elettronica non è soltanto un mezzo per scoprire maggiori dettagli morfologici dei componenti cellulari, sebbene questo possa già rappresentare un notevole risultato, come del resto dimostra l'osservazione che con questo mezzo di indagine si è documentata una continuità, sia pure in senso dinamico, tra ambiente esterno, reticolo endoplasmatico, membrana nucleare, pori nucleari, nucleoplasma e nucleolo, così da porre in discussione il concetto di permeabilità cellulare quale si aveva pochi anni or sono.

Per quanto riguarda il problema dei globuli bianchi, si deve ritenere che le ricerche condotte fino ad ora, hanno avuto soprattutto lo scopo di indagare sistematicamente la morfologia di queste cellule per poter stabilire gli opportuni termini di confronto con i risultati provenienti dalla microscopia ottica e a contrasto di fase, mentre è stato trascurato lo studio delle modificazioni che intervengono nelle

strutture di queste cellule con il variare delle condizioni fisiologiche ed in stati patologici. Perciò un bilancio conclusivo oggi non può essere fatto, ma soltanto possono essere schematicamente riassunti alcuni dati provenienti dalle altrui e nostre esperienze.

Nei riguardi del nucleolo si deve ritenere che la morfologia di questo componente cellulare debba subire modificazioni durante il variare delle condizioni fisiologiche a seconda del tipo cellulare a cui appartiene, ma oggi mancano osservazioni in questo senso. La sua presenza è stata confermata nel linfocito maturo mentre non è stato possibile evidenziarla nel granulocito, sebbene molte considerazioni fanno ritenere come probabile l'esistenza di esso anche in tale tipo di cellula.

La microscopia elettronica è stata povera di risultati positivi anche nei riguardi delle strutture nucleari dei leucociti e tuttavia è interessante constatare come i nuclei dei vari tipi di globuli bianchi esaminati presentino una certa uniformità di struttura tanto che solo il nucleo del linfocito può forse essere differenziato dalle altre cellule bianche mature, a prescindere naturalmente dalla diversa forma presentata dal nucleo.

In tutti gli elementi esaminati è stato possibile documentare l'esistenza di una doppia membrana nucleare e dei pori che pongono in comunicazione il nucleoplasma con il citoplasma. L'esistenza dei pori nella membrana nucleare sembra essere stata definitivamente documentata in recenti ricerche di WATSON (1959). Cadono pertanto le riserve di quegli AA. (POLICARD, 1958; ed altri) che ritenevano questi pori come delle zone circolari nelle quali le due membrane nucleari si fondono fra di loro in modo da formare un unico strato.

Il citoplasma dei leucociti ha invece dimostrato più interessanti caratteri differenziali. Tipiche le granulazioni specifiche della serie granuloblastica che si distinguono tra di loro per molti elementi tra cui spicca evidente la presenza di cristalli nelle granulazioni eosinofile. Nelle cellule eosinofile altre granulazioni specifiche sono presenti in tutto simili a quelle dei leucociti basofili, reperto già evidenziato con le tecniche in uso e largamente discusso, ma di oscuro significato.

La microscopia elettronica è stata finora povera di risultati conclusivi a proposito delle funzioni biologiche dei granuli, mentre ha portato qualche elemento che vorrebbe giustificare l'origine mitocondriale di queste formazioni.

Il reticolo endoplasmatico e i mitocondri sono le altre formazioni citoplasmatiche che si presentano con caratteri differenziali abbastanza distinti nei vari tipi cellulari esaminati. Basterà ricordare la particolare abbondanza del primo negli elementi della serie plasmacellulare e le diverse dimensioni dei secondi nei linfociti e nei monociti.

L'apparato di GOLGI e la centrosfera sono gli altri due complessi morfologici costantemente presenti in tutte le forme di differenti tipi di globuli bianchi, ma mancano ricerche sistematiche che possano fornire utili elementi per interpretarne il ruolo biologico nella fisiologia e nella patologia cellulare.

In questo settore ricerche passibili di interessanti sviluppi sembrano essere quelle di BESSIS e coll. (1958) mediante le quali gli AA. avrebbero dimostrato l'esistenza di « canali asteriani » che, partendo dal centriolo, si irradiano in tutti i distretti della cellula.

Questo reperto si può mettere in relazione con quanto è stato dimostrato dalla cinematografia a contrasto di fase nei globuli bianchi coltivati « in vitro » dove è possibile osservare movimenti « di va e vieni » dei mitocondri e delle granulazioni basofile lungo linee che fanno capo ai centrioli.

L'analisi dei leucociti situati nei focolai infiammatori asettici ha dimostrato come, secondo qualche A., avvenga nei granulociti una progressiva cancellazione dei granuli specifici, aumenti l'attività fagocitaria nella cellula la quale assume l'aspetto del macrofago, rilievo che deve essere senz'altro preso in grande considerazione, perché documenterebbe, anche per il granulocito, quelle possibilità di sdifferenziazione già sostenute da qualche Autore per il linfocito che potrebbe trasformarsi in plasmacellula.

Tra le altre condizioni patologiche esaminate debbono essere ricordate le leucemie. Nella cellula leucemica umana la microscopia elettronica da una parte ha confermato, precisando molti dettagli, il sovvertimento strutturale che avviene in essa (DI MAJORCA e coll., 1956) (anomalia del resto già documentata dalla microscopia ottica e a contrasto di fase), dall'altra parte ha sollevato la questione della presenza delle particelle similvirali presenti nel citoplasma, parimenti a quanto è già stato dimostrato nelle leucemie aviarie e, secondo alcuni, in quelle murine.

Sulla base di questi reperti la ricerca di un agente virale della leucemia umana si conduce oggi con particolare insistenza, al fine di confermare l'esistenza e soprattutto di stabilire il valore etiologico della particella virale sia come fattore esogeno autoriproducentesi, sia attraverso l'inserimento di qualche suo componente (RNA, DNA, ecc.) nell'ambito degli organuli cellulari.

Nell'ulteriore parte della rassegna sono stati esposti i risultati ottenuti osservando il comportamento morfologico dei leucociti durante alcune funzioni difensive. La conclusione che è stata raggiunta riguarda la contemporanea partecipazione di tutti i componenti della cellula al processo difensivo così che le modificazioni morfologiche appaiono istantaneamente nell'ambito del nucleolo, del nucleo, dello spazio perinucleare, dell'apparato di GOLGI, della centrosfera, dei granuli e del reticolo endoplasmatico.

Il maggior contributo portato dal microscopio elettronico al fenomeno della fagocitosi riguarda la formazione di vacuoli intorno al materiale fagocitato. È stato possibile constatare che, nei riguardi dello stafilococco, detto vacuolo non era prodotto per una azione litica esplicita dalle tossine batteriche nell'ambito del citoplasma circostante, ma era espressione di una attiva compartecipazione del citoplasma stesso, dimostrando così un certo parallelismo con quanto da tempo noto nella fagocitosi dell'Ameba.

È attraverso la fagocitosi che in molti macrofagi viene accumulata ferritina (proveniente dalla distruzione degli eritrociti), ferritina che verrebbe successivamente ceduta alle cellule proeritroblastiche, che si vengono ad ancorare all'isolotto reticolare.

Un altro studio intrapreso è stato quello della agglutinazione dei globuli bianchi posti in siero antileucociti a 37°C. Anche durante questa indagine sperimentale si è potuto osservare come cellule alterate erano in vicinanza di cellule che non presentavano alcuna modificazione morfologica, pur essendo le due cellule dello stesso

tipo e nello stesso periodo di differenziazione maturativa. Le cellule che presentano le prime irregolarità della membrana citoplasmatica con la emissione di pseudopodi, presentano altresì nette modificazioni delle strutture citoplasmatiche e nucleari, tra cui una delle più evidenti riguarda la membrana nucleare. La formazione di vactoli perinucleari avviene in seguito ad uno scollamento delle due lamine della membrana nucleare. Si deve perciò ritenere che la pressione osmotica dello spazio perinucleare diventi relativamente più alta di quella del nucleo e del citoplasma circostante.

Un altro rilievo interessante deriva dalla constatazione che, durante il processo di agglutinazione, avvengono simultanee modificazioni nell'ambito dei vari distretti della cellula. In base alle attuali conoscenze di microscopia elettronica, per mezzo delle quali si è arrivati alla conclusione che esiste una stretta correlazione morfologica e dinamica fra i vari componenti della cellula, si deve presumere che non sia necessaria la presenza di più anticorpi (antinucleo, antimitocondri, antimiosomi), per ottenere alterazioni nucleari e citoplasmatiche quali quelle da noi osservate nei globuli bianchi incubati in siero antileucociti.

Gli organuli cellulari presentano tali strette relazioni funzionali per cui una qualsiasi lesione portata su di un singolo componente della cellula proietta immediatamente la sua azione su tutta la cellula esitando in un complesso di contemporanee modificazioni morfologiche.

Al microscopio comune era già stata documentata la identità degli effetti finali prodotti sulle cellule mediante diversi dispositivi sperimentali (soluzioni ipotoniche, sostanze tossiche, sieri antileucociti), ma la microscopia elettronica sembra permettere una più fine analisi del fenomeno nelle sue varie tappe.

È compito del biologo e dell'ematologo l'ulteriore sviluppo di queste ricerche e l'analisi accurata delle eventuali modificazioni dei globuli bianchi in condizioni fisiologiche e patologiche, nonché nel corso del trattamento terapeutico delle empatie.

Milano - Istituto di Clinica Medica e Terapia Medica dell'Università (E. Polli e G. Jean)  
Milano - Istituto di Zoologia dell'Università (G. Lanzavecchia e A. Le Coultre)  
Milano - Istituto di Farmacologia dell'Università (G. Poggi Longostrevi)

## BIBLIOGRAFIA

- ALEKSANDROWICZ J.: Elektronenmikroskopie in der Hämatologie, Acta Med. Acad. Sci. Hungaricae, 6, suppl. 1, 135, 1954.
- ALEKSANDROWICZ J.: Ultrastruktura granulocytów badanych za pomocą mikroskopu elektronowego, Arch. Imbino I. Terapii Doswiadczalnej, 2, 17, 1954.
- ALEKSANDROWICZ J., Blicharski J. and Feltyński A.: Contribution to the morphology of granulocytes in the light of electron microscope research, Prelim. Rpt. Polski Lygodnik Larkki, 7, 1765, 1952.
- ALEKSANDROWICZ J., Blicharski J. et Feltyński A.: Contribution à la morphologie des granulocytes examinés au moyen du microscope électronique, Acta haemat. (Basel), 9, 397, 1953.
- ALEKSANDROWICZ J., Blicharski J. and Feltyński A.: Mikroskopia elektronowa Krwinek, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warsaw, Poland, pg. 1-241, 1955.
- ALEKSANDROWICZ J., Blicharski J. and Feltyński A.: Electron microscopic study of blood cells using the method of ultra-thin sections, Haematologia (Cracow), 1, 3, 1957.
- ANDRÉ E., DREYFUS B. et BESSIS M.: La ponction ganglionnaire dans la maladie de Hodgkin, examinée au microscope électronique, Presse méd., 63, 967, 1955.
- ANDRÉ E., DREYFUS B. et SALMON CH.: Iso-anticorps immuns antileucocytes après transfusion, Rev. Hémat., 11, 390, 1956.
- BARGMANN W. and KNOOP A.: Ueber das Elektronenmikroskopische Bild des Eosinophilen Granulocyten, Z. Zellforsch., 44, 282, 1956.
- BASSERMANN F. J.: Elektronenoptische Untersuchungen zur experimentellen Tuberkelbacillen-Phagozytose, Beitr. Klin. Tuberk., 112, 162, 1954.
- BENEDETTI E. L.: Structure of the reticular stroma of lymph nodes studied by means of the electron microscope, Sci. med. Ital., 3, 148, 1954.
- BENEDETTI E. L. et BERNHARD W.: Recherches ultrastructurales sur le virus de la leucémie érythroblastique du poulet, J. Ultrastructure Res., 1, 309, 1958.
- BENNETT H. S.: The concepts of the membrane flow and membrane vesiculation as mechanism for active transport and ion pumping, J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, suppl., 99, 1956.
- BERNHARD W.: Electron microscopy of tumor cells and tumor viruses. A review, Cancer Res., 18, 491, 1958.
- BERNHARD W., BRAUNSTEINER H., FEBVRE H. L. et HAREL J.: Les leucocytes du sang humain au microscope électronique, Presse méd., 58, 472, 1950.
- BERNHARD W., BRAUNSTEINER H., FEBVRE H. L., HAREL J., KLEIN E. et OERLING CH.: Morphologie des cellules leucémiques au microscope électronique, Rev. Hémat., 5, 746, 1950.
- BERNHARD W. et GROSS L.: Présence de particules d'aspect viral dans les tissus tumoraux de souris atteintes de leucémies induites, C. R. Acad. Sci., 248, 160, 1959.
- BERNHARD W., HAGUENAU F. et LEPLUS R.: Coupes ultrafines d'éléments sanguins et de ganglions lymphatiques étudiés au microscope électronique, Rev. Hémat., 10, 267, 1955.
- BERNHARD W., HAGUENAU F. et OERLING CH.: L'ultrastructure du nucléole de quelques cellules animales relevée par le microscope électronique, Experientia, 8, 58, 1952.
- BERNHARD W. et LEPLUS R.: La méthode des coupes ultrafines et son application à l'étude de l'ultrastructure des cellules sanguines, Schweiz. med. Wschr., 85, 897, 1955.
- BERNHARD W. et LEPLUS R.: Perspectives nouvelles en cytologie sanguine, Publ. Institut de Recherches sur le Cancer, Ed. G. Roussy, Villejuif, 1957.
- BERNHARD W. et MANGINE H.: Quelques considerations sur les leucocytes, Proc. 1<sup>o</sup> Intern. Congr. Electron Microscopy, Paris, 1950, Ed. Rev. Opt., Paris, pg. 637, 1953.
- BERNHARD W. et ROUILLER C.: Close topographical relationships between mitochondria and ergastoplasm of liver cells in a definite phase of cellular activity, J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, suppl., 73, 1956.

- BERNHARD W. et DE HARVEN E.: L'ultrastructure du centriole et d'autres éléments de l'appareil achromatique, 4<sup>e</sup> Intern. Kongress für Elektronenmikroskopie, Verhandlungen Band II Biologisch-Medizinischer Teil, Springer Verlag, s. 217, 1960.
- BESSIS M.: Studies in electron microscopy of blood cells, *Blood*, **5**, 1083, 1950.
- BESSIS M.: Microscopie électronique des cellules du sang, *Gaz. sanit.*, **24**, 451, 1953.
- BESSIS M.: Traité de Cytologie sanguine, Ed. Masson et Cie., Paris, 1954.
- BESSIS M.: Phagocytosis and other phenomena of sensitized red cells, white cells, and platelets. Study by phase-contrast microscopy, *Vox Sanguinis*, **4**, 177, 1954.
- BESSIS M.: Aspects of immunohematology, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **59**, 986, 1955.
- BESSIS M.: Etude au microscope électronique des leucocytes ultracentrifugés, *C. R. Acad. Sci.*, **240**, 1723, 1955.
- BESSIS M.: Phase-contrast microscopy and electron microscopy applied to the blood cells, *Blood*, **10**, 272, 1955.
- BESSIS M.: La moelle osseuse humaine examinée au microscope électronique par la technique des coupes, *Sem. Hôp. Paris*, **32**, 372, 1956.
- BESSIS M.: Structures cellulaires découvertes par le microscope électronique dans les leucocytes, *Rev. Hémat.*, **11**, 295, 1956.
- BESSIS M.: Les globules blancs au microscope électronique, *Sem. Hôp. Paris*, **33**, 2419, 1957.
- BESSIS M.: Microscopie de phase et microscopie électronique des cellules du sang, *Biol. méd.*, **46**, 239, 1957.
- BESSIS M. et BRETON-GORIUS J.: Examen des cellules leucémiques au microscope électronique par la méthode des coupes, *Presse méd.*, **63**, 189, 1955.
- BESSIS M. et BRETON-GORIUS J.: Sur des formations particulières observées au microscope électronique dans certaines cellules leucémiques, *C. R. Acad. Sci.*, **240**, 459, 1955.
- BESSIS M. et BRETON-GORIUS J.: Examen au microscope électronique des cellules des leucémies myéloïdes, *Bull. Micr. appl.*, **5**, 9, 1955.
- BESSIS M. et BRETON-GORIUS J.: Le centriole des cellules du sang. Étude à l'état vivant et au microscope électronique, *Bull. Micr. appl.*, **7**, 54, 1957.
- BESSIS M. et BRETON-GORIUS J.: Sur une structure inframicroscopique pericentriolaire. Étude au microscope électronique sur des leucocytes des mammifères, *C. R. Acad. Sci.*, **246**, 1289, 1958.
- BESSIS M. et BRETON-GORIUS J.: Nouvelles observations sur l'îlot érythroblastique. Rhophocytose de la ferritine, *Rev. Hémat.*, **14**, 165, 1959.
- BESSIS M., BRETON-GORIUS J. et THIERY J. P.: Centriole, corps de Golgi, et aster des leucocytes. Étude au microscope électronique, *Rev. Hémat.*, **13**, 363, 1958.
- BESSIS M. et BRICKA M.: Techniques pour l'observation des granulations leucocytaires au microscope électronique, *Rev. Hémat.*, **5**, 764, 1950.
- BESSIS M. et BRICKA M.: Les granulations des leucocytes normaux et leucémiques examinées au microscope électronique, *C. R. Soc. Biol.*, **144**, 654, 1950.
- BESSIS M. et BRICKA M.: Application des nouvelles techniques de préparation à l'étude des leucocytes et des plaquettes au microscope électronique, *Proc. 1<sup>er</sup> Intern. Congr. Electron Microscopy*, Paris, 1950, Ed. Rev. Opt., Paris, pg. 642, 1953.
- BESSIS M., BRICKA M. et GORIUS J.: Étude du myélogramme au microscope électronique par la méthode des répliques, *Presse méd.*, **60**, 1076<sup>r</sup>, 1952.
- BESSIS M. et THIERY J. P.: Examen au microscope électronique des cellules leucémiques de souris de souche AK. Effets de l'ultracentrifugation, *Rev. Hémat.*, **10**, 606, 1955.
- BLOOM G.: The release of minute granule-containing elements from the eosinophil cells of the blood, *Exp. Cell. Res.*, **7**, 125, 1954.
- BLOOM G., FREIBERG U. and LARSSON B.: Some observations on the fine structure of mast-cell tumours (Mastocytoma), *Nord Veterinaarmed.*, **8**, 43, 1956.
- BLOOM G., LARSSON B. and ABERG B.: Canine Mastocytoma, *Zbl. Veterinaarmed.*, **5**, 443, 1958.
- BOERSCH H. and HANSEN K. J.: Abbildung von Verdampfungsquellen mit dem Lochkammerverfahren, *Z. Physik.*, **139**, 243, 1954.
- BRUNSTREINER H.: Ueber die Morphologie der Leukoeyten im Elektronenmikroskop, *Acta haemat.*, **3**, 163, 1950.



- BRAUNSTEINER H.: Hämatologische Forschung im Elektronenmikroskop, Z. ges. inn. Med., **31**, 450, 1950.
- BRAUNSTEINER H.: Quelques applications de la microscopie électronique en pratique de cytologie clinique, Sem. Hôp. Paris, **34**, 665, 1958.
- BRAUNSTEINER H., FELLINGER K. and PAKESCH F.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Knochenmarkes, Dtsch. Arch. klin. Med., **200**, 541, 1953.
- BRAUNSTEINER H., FELLINGER K. and PAKESCH F.: Demonstration of a cytoplasmic structure in plasma cells, Blood, **8**, 916, 1953.
- BRAUNSTEINER H., FELLINGER K. and PAKESCH F.: Electron microscopic investigations on sections from lymph nodes and bone marrow in malignant blood diseases, Blood, **12**, 278, 1957.
- BRAUNSTEINER H., OSWALD E., PAKESCH F. and REIMER E.: Lymphoretikulosen mit Makroglobulinämie, Wien. Z. inn. Med., **37**, 349, 1956.
- BRAUNSTEINER H. and PAKESCH F.: Electron microscopy and the functional significance of a new cellular structure in plasmocytes: a review, Blood, **10**, 650, 1955.
- BRAUNSTEINER H. and PAKESCH F.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Granula menschlicher Leukozyten, Acta haemat., **17**, 136, 1957.
- BUTTERWORTH C. E. Jr., FROMMEYER W. B. Jr. and RISER W. H. Jr.: Erythrophagocytosis in a case of plasma cell leukemia, Blood, **8**, 519, 1953.
- CAPPELLI E.: Primi rilievi sul fenomeno della autoeritrofagocitosi in vitro. Raffronto col meccanismo formativo e tentativo d'interpretazione delle cosiddette cellule del lupus eritematoso, Miderva dermat., **27**, 108, 1952.
- DE HARVEY E. and FRIEND C.: Electron microscopic study of a cell-free induced leukemia of the mouse: a preliminary report, J. Biophys. Biochem. Cytol., **4**, 151, 1958.
- DE LAMATER E. D.: A consideration of newer methods for the demonstration of nuclear structure in bacteria and other microorganisms, Mikroskopie, **7**, 358, 1952.
- DE MARSH Q. B. and KAUTZ J.: The submicroscopic morphology of Gaucher cells, Blood, **12**, 324, 1957.
- DE ROBERTIS E.: Electron microscope studies of circulating blood cells, Proc. 4<sup>th</sup> Intern. Congr. Soc. Hemat., pg. 67, 1952.
- DI MAJORA G. P., LANZAVECCHIA G. e LE COULTRE A.: Studio sulla morfologia dei leucociti umani normali e leucemici col metodo delle sezioni sottili al microscopio elettronico, R. C. Ist. lombardo Sci., **90**, 559, 1956.
- DI MAJORA G. P., EDDY B. E., STEWART S. E., HUNTER W. S., FRIEND C. and BENDICH A.: Isolation of infectious deoxyribonucleic acid from SE polyoma-infected tissue cultures, Proc. Nat. Acad. Sci., **45**, 1895, 1959.
- DROBOWSKI L. and GREY C. E.: Submicroscopic structure of leukemias of viral origin, Blood, **13**, 1017, 1958.
- DROBOWSKI L., GREY C. E., SYKES J. A., SHULENBERGER C. C. and HARVEY C. D.: Studies on human leukemia, Proc. Soc. exp. Biol., **101**, 686, 1959.
- DOIJI S., HANAOKA M. and AMANO S.: Electron microscopic studies on the plasma cell, Acta path. Japon., **7**, 1, 1957.
- DOWNNEY H.: Histocytes and macrophages and their relations to the cells of normal blood in animals stained with acid colloidal dyes intravivam, Anat. Rec., **11**, 350, 1916.
- DUTTA B. N., DAS GUPTA N. N., DE M. L., GUHA A. and NANDI S.: New method for study of intracellular parasites with the electron microscope, Science, **120**, 428, 1954.
- ERSTEIN M. A.: The fine structural organization of Rous tumor cells, J. Biophys. Biochem. Cytol., **3**, 851, 1957.
- ESTABRO C. y SOTELO J. R.: Una nueva estructura celular: el nucleolomema, 1<sup>o</sup> Inv. Cien. Biol., Montevideo, Pub. 1, 105, 1951.
- FAWCETT D. W.: Observations on the cytology and electron microscopy of hepatic cells, J. Nat. Cancer Inst., **15**, 1475, 1955.
- FERRÉ H. L. et KLEIN R.: Étude au microscope électronique des cellules de la moëlle osseuse, Proc. 1<sup>er</sup> Intern. Congr. Electron Microscopy, Paris 1950, Ed. Rev. Opt., Paris, pg. 692, 1952.
- FERRERIA L.: L'ultrastructure des cellules du pancréas endocrine chez l'embryon et le rat nouveau-né, J. Ultrastructure Res., **1**, 14, 1957.

- FREEMAN J. A. and MOSBROE S. S.: The ultrastructure of a « Fibrillar formation » of leukemic human blood, *Blood*, **13**, 725, 1958.
- FRESEN O. and WELLENSTECK H. J.: Elektronenoptische Befunde am retikulanzelligen Gewebe, *Zbl. allg. Path. path. Anat.*, **97**, 406, 1958.
- GIGANTE D. e PICCARDO M. G.: Studio al microscopio elettronico del nucleo dei neutrofilii e dei linfociti trattati con desossiribonucleasi, *Haematologica*, **33**, 1523, 1954.
- GIGANTE D. e PICCARDO M. G.: Studio al microscopio elettronico dei leucociti trattati con desossiribonucleasi, *Boll. Soc. ital. Ematol.*, **2**, 121, 1954.
- GIGANTE D. e PICCARDO M. G.: Osservazioni al microscopio elettronico sul sangue di leucemici acuti trattati con aminopterina, 12° Congr. Soc. ital. Ematol., Bologna, pg. 136, 1954.
- GOODMAN J. R. and MOORE R. E.: Electron microscopic study of phagocytosis of *Staphylococcus* by human leukocytes, *J. Bact.*, **71**, 547, 1956.
- GOODMAN J. R., MOORE R. E. and BAKER R. F.: Electron microscopic study of phagocytosis of *Staphylococcus* by human leukocytes. 2° Virulent and non-virulent *Staphylococci*, *J. Bact.*, **72**, 736, 1956.
- GOODMAN J. R., REILLY E. B. and MOORE R. E.: Electron microscopy of formed elements of normal human blood, *Blood*, **12**, 428, 1957.
- GREY C. E. and BIESELS J. J.: An electron microscope study of white blood cells, *J. appl. Physiol.*, **24**, 1425, 1953.
- GREY C. E. and BIESELS J. J.: Thin-section electron microscopy of circulating white blood cells, *Rev. Hémat.*, **10**, 283, 1955.
- GROSS L.: Mouse leukemia, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **54**, 1184, 1952.
- HARGRAVES M. M., RICHMOND H. and MORTON R.: Presentation of two bone marrow elements the « tart cell » and the « L. E. » cell, *Proc. Mayo Clin.*, **23**, 26, 1948.
- HEINE H., GRAFFI A., HELMCKE J. G. and RANDT A.: Virusartige Partikeln in Zellfrei übertragbarer Mäuseleukämien, *Naturwissenschaften*, **44**, 449, 1957.
- HEINE U., KRAUTWALD A., HELMCKE J. G. and GRAFFI A.: Zur Ätiologie der Lymphgranulomatose, *Naturwissenschaften*, **45**, 369, 1958.
- HOSTER M. S., VAN WINKLE Q., RABATIN J. G. and HOSYER H. A.: Macromolecular particles obtained from human neoplastic and non-neoplastic lymph nodes. 2° Electron microscope study, *Cancer Res.*, **12**, 69, 1952.
- HUTH E. und SCHNEIDER C.: Die elektronenoptische Darstellung von normalen Leukozyten und Zellen akuter Leukosen im Kindesalter, *Z. Kinderheilk.*, **75**, 358, 1954.
- KAUTZ J. and DE MARSH Q. B.: An electron microscope study of sectioned cells of peripheral blood and bone marrow, *Blood*, **9**, 24, 1954.
- KAUTZ J., DE MARSH Q. B. and THORNBURG W.: A polarizing and electron microscope study of plasma cells, *Exp. Cell. Res.*, **13**, 596, 1957.
- KOSZEWSKI B. J., EMERICK C. W. and DICUS D. R.: Studies of phagocytic activity of lymphocytes. 3° Phagocytosis of intravenous India ink in human subjects, *Blood*, **12**, 559, 1957.
- LANGRANS: In Mettler C. C., History of medicine, Ed. Blakiston, N. Y., pg. 265, 1947.
- LANZAVECCHIA G. e MORANO E.: L'ultrastruttura della cellula ghiandolare dell'endometrio umano, *Minerva ginec.*, **10**, 882, 1958.
- LATARJET R., REBEYROTTE N. et MOUSTACCHI E.: Production de cancers chez la souris par des extraits leucémiques isologues et homologues, *Haematologica latina*, **2**, suppl. 2, 13, 1959.
- LAW F. N. and FREEMAN J. A.: Electron microscopic atlas of normal and leukemic human blood, Mc Graw-Hill Book-Company, N. Y., 1958.
- LETTRE H. et LETTRÉ R.: Un problème cytologique: la persistance des structures du fuseau dans l'intervalle des mitoses, *Rev. Hémat.*, **13**, 337, 1958.
- LIEB M., WEIGLE J. J. and KELLENBERGER E.: A study of hybrids between two strains of *Escherichia Coli*, *J. Bact.*, **69**, 408, 1955.
- LUDERITZ B. and THIEMANN H.: Licht und elektronen mikroskopische Untersuchung der intrazellulären Tuschspeicherung in Lymphknoten, *Medizinische*, **18**, 689, 1957.
- MAZIA D.: The organization of the mitotic apparatus, *Symposia of the Society for Experimental Biology*, **9**, 335, 1955.

- METCHNIKOFF E.: Untersuchungen über die mesodermalen Phagozyten einiger Wirbeltiere, Biol. Centr., 3, 569, 1883.
- MIESCHER P.: Nucléophagocytose et phénomène «L. E.», Schweiz. med. Wochr., 23, 1042, 1933.
- MILLER F.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an weissen Blutzellen, Verh. dtsch. path. Ges., 40, 298, 1956.
- MILBERT E.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen reiser Blutkörperchen unter verschiedenen Milieueinflüssen, Klin. Wochr., 33, 114, 1955.
- MULÉ F.: Osservazioni al microscopio elettronico sul sangue di ammalati di scarlattina, *Pediatrics*, 61, 67, 1953.
- MULÉ F.: Prospettive di ricerche nell'etiologia virale dei tumori. Osservazioni al microscopio elettronico sul sangue di ammalati affetti da leucemia e da neoplasie, *Aggiorn. pediat.*, 4, 253, 1953.
- MULÉ F.: Observations by means of electron microscope on the blood of subjects affected with scarlet fever, *Experientia*, 10, 205, 1954.
- MULÉ F.: Ricerche sulla etiologia virale della leucemia, *Aggiorn. Malat. infett.*, 1, 153, 1955.
- OERLING Ch. und BERNHARD W.: Die Krebszelle im Elektronenbild, Verh. dtsch. path. Ges., 35, 89, 1951.
- OERLING Ch., BERNHARD W., FEVERE M. L., HAREL J. et KLEIN R.: Sur la presence d'éléments granulo-linéaires (ultra-chondriome ?) dans des cellules normales et pathologiques et notamment dans des cellules cancéreuses, C. R. Soc. Biol., 144, 934, 1950.
- OERLING Ch., BERNHARD W., FEVERE M. L., HAREL J. et KLEIN R.: L'existence d'un ultrachondriome dans les cellules normales et tumorales, C. R. Acad. Sci., 231, 1260, 1950.
- PALADE G. E.: A study of fixation for electron microscopy, *J. exp. Med.*, 95, 285, 1952.
- PALADE G. E.: Studies on endoplasmic reticulum, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1, 567, 1955.
- PALADE G. E. and SIEKIVITZ P.: Lysér microsomes, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 2, 171, 1956.
- PARSONS D. F., PAINTER J. C., BEAUDREAU G. S., BECKER C. et BEARD J. W.: Tissue culture and circulating myeloblasts of avian leukemia studied in electron micrographs of ultrathin sections, *Proc. Soc. exp. Biol., N. Y.* 97, 839, 1958.
- PEASE D. C.: Marrow cells seen with the electron microscope after ultrathin sectioning, *Rev. Hémat.*, 10, 300, 1955.
- POLICARD A. et BAUD C. A.: Les structures inframicroscopiques normales et pathologiques des cellules et des tissus, Ed. Masson et Cie., Paris, 1958.
- POLICARD A. et BESSIS M.: Étude au microscope électronique de la micro-incineration des cellules. Le leucocyte polynucléaire neutrophile, C. R. Soc. Biol., 146, 540, 1952.
- POLICARD A. et BESSIS M.: Le centrosome des leucocytes des vertébrés étudié par microcinématographie en contraste de phase et au microscope électronique, C. R. Acad. Sci., 234, 913, 1952.
- POLICARD A. et BESSIS M.: Étude microcinématographique et microélectronique du centre cellulaire des leucocytes des vertébrés, *Exp. Cell. Res.*, 4, 202, 1953.
- POLICARD A. et BESSIS M.: Étude au microscope électronique de la centrosphère des leucocytes des mammifères, *Exp. Cell. Res.*, 8, 583, 1955.
- POLICARD A. et BESSIS M.: Sur l'espace perinucleaire, *Exp. Cell. Res.*, 11, 490, 1956.
- POLICARD A., COLLET A. et BORIN P.: Recherches cytologiques au microscope électronique sur un cas de plasmocytome, *Rev. Hémat.*, 12, 35, 1957.
- POLICARD A., COLLET A. et GILYAIRE-RALYTE L.: Cytologie inframicroscopique. Étude au microscope électronique de tissus lymphohistiocytaires des mammifères au cours de leur reactions vis-à-vis de la silice, C. R. Acad. Sci., 238, 2478, 1954.
- POLICARD A., COLLET A. et PRÉGERMAIN S.: Comportement cytopathologique de l'appareil de Golgi au cours de diverses réactions cellulaires. Étude au microscope électronique, *Presse méd.*, 66, 1131, 1958.
- POLICARD A., COLLET A. et PRÉGERMAIN S.: Étude au microscope électronique des modifications infrastructurales présentées par les polynucléaires neutrophiles dans des foyers inflammatoires aseptiques, *Rev. Hémat.*, 14, 97, 1959.
- POLICARD A., COLLET A. et PRÉGERMAIN S.: Les cellules basophiles et éosinophiles du sang et des tissus chez le rat. Étude au microscope électronique, *Rev. Hémat.*, 14, 278, 1959.
- POLLI E.: Studi cardiologici nelle leucemie umane acute, *Ann. Biol. umana norm. patol.*, 1, 4, 1947.

- POLLI E.: Human isolated chromosomes. Normal and pathological chromosomes of leukocytes, *Experientia*, **7**, 138, 1951.
- REBUCK J. W.: Ultrastructure of leukocytic granules and their electron microscopy, *Papers Mich. Acad. Sci.*, **36**, 317, 1950.
- REBUCK J. W., SMITH E. W. and MARGULIS R. R.: The modification of leukocytic function in human windows by AUCH., *Gastroenterology*, **19**, 644, 1951.
- RINEHAERT J. F.: Electron microscopic studies of sectioned white blood cells and platelets. With observations on the derivation of specific granules from mitochondria, *Amer. J. clin. Path.*, **25**, 605, 1955.
- ROBERTSON J. D.: The ultrastructure of cell membranes and their derivatives, *Biochem. Soc. Symposia*, **16**, 3, 1959.
- ROBINEAUX R.: Mouvements cellulaires et fonction phagocytaire des granulocytes neutrophiles. Étude dynamique de la phagocytose bactérienne, virale, minérale et cellulaire, *Rev. Hémat.*, **9**, 3 e 364, 1954.
- SELBY C. C.: Microscopy. 2° Electron microscopy: a review, *Cancer Res.*, **13**, 753, 1953.
- SJOSTRAND F. S.: Ultrastructure of cells as revealed by the electron microscope, *Int. Rev. Cytol.*, **5**, 455, 1956.
- STOECKENIUS W.: Golgi-Apparat und Centriol menschlicher Plasmazellen, *Frankfurt. Z. Path.*, **68**, 404, 1957.
- STOECKENIUS W.: Morphologische Beobachtungen beim intracellulären Erythrocytenabbau und der Eisenspeicherung in der Milz des Kaninchens, *Klin. Wschr.*, **35**, 760, 1957.
- STOECKENIUS W.: Weitere Untersuchungen am lymphatischen Gewebe, *Verh. dtseh. path. Ges.*, **41**, 304, 1958.
- STENOGE T., GIGANTE D. et BERNHARD W.: Hémopathie de type leucémique chez la larve de *Drosophila* étudiée au microscope ordinaire, au microscope électronique et au microscope à contraste de phase, *C. R. 3° Congr. Soc. Intern. Europ. Hémat.*, Roma, pg. 607, 1951.
- TANAKA H.: Electron microscopic studies in the lymphatic cells in the lymph node and thymus, with special reference to lymphogonia, *Acta haemat. Jap.*, **20**, 237, 1957.
- THIERY J. P.: Étude sur le plasmocyte à l'état vivant. 2° Excretion de vacuoles d'origine nucléaire, *Rev. Hémat.*, **12**, 211, 1957.
- TÖRE I.: Electron microscopic observation on myeloid leukemic cells, with special reference to the findings resembling to virus infection, *Acta haemat. Jap.*, **21**, 631, 1958.
- TSUKUMOTO K., SASAKI M. and MORITA F.: Electron micrographs of blood cells with special reference to the crystals produced by the peroxidase reaction, *Folia anat. Jap.*, **24**, 199, 1952.
- VILLA L., POLLI E. e BUSSI L.: Alcuni problemi di struttura del nucleo delle cellule ematiche, *Relazione 11° Congr. Soc. ital. Emat.*, Roma, 1953.
- WATANABE Y.: An electron microscopic study of the leucocytes in bone marrow of guinea pig, *J. Electronmicroscopy*, **2**, 34, 1954.
- WATANABE Y.: A study on the intracytoplasmatic sacs in exocrine pancreatic cells and in myeloid cells, *J. Electronmicroscopy*, **3**, 43, 1955.
- WATANABE Y.: An electron microscopic observation of blood cells, *Acta haemat. Jap.*, **19**, 327, 1956.
- WATANABE Y.: Observations of white blood cells with electron microscope, *J. Electronmicroscopy*, **5**, 46, 1957.
- WATANABE Y., TAKAMATSU M. and OSAKO R.: Fine structure of plasma cell as revealed by electron microscope, *Denshi-Kenbikyo*, **4**, 146, 1956.
- WATSON M. L.: The nuclear envelope, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **1**, 257, 1955.
- WATSON M. L.: Further observations on the nuclear envelope of the animal cell, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **6**, 147, 1959.
- WELLENSEK H. J.: Demonstration submikroskopischer Befunde an Plasmazellen mit Russelschen Körperchen, *Zbl. allg. Path. path. Anat.*, **96**, 415, 1957.
- WELLENSEK H. J.: Zur submikroskopischen Morphologie von Plasmazellen mit Russelschen Körperchen, und Eiweißkristallen, *Beitr. path. Anat.*, **118**, 173, 1957.
- WILSON A. T.: The egestion of phagocytized particles by leukocytes, *J. exp. Med.*, **98**, 305, 1953.

ILLUSTRAZIONI

FIG. 1 - *Campo generale*. Elementi della serie granuloblastica in diversa fase maturativa. Sangue periferico di soggetto affetto da leucemia mieloide cronica. N = nucleo; n = nucleolo; E = eritrocito; Gr = granulociti; M = mielociti. E.M. 75B · X 3.600. - FIG. 2 - *Campo generale*. Sono distinguibili gli elementi immaturi della serie eritropoietica (E) da quelli della serie leucopoietica (L). Nei nuclei degli elementi bianchi il nucleoplasma appare di preferenza più addensato alla periferia (Nd). Sangue midollare di soggetto affetto da lupus erythematoses. E.M. 75B · X 4.500. - FIG. 3 - *Nucleo di cellula indifferenziata*. È visibile il nucleolonema (n). Sangue midollare di soggetto normale. N = nucleo; mn = membrana nucleare; C = citoplasma. E.M. 75B · X 24.000. - FIG. 4 - *Linfocito*. Evidenza della doppia membrana nucleare (mn). Sangue periferico di soggetto normale. N = nucleo; C = citoplasma. E.M. 100 X 70.000.



E. PHILL, G. LUGAZZONI, G. JAIN, A. LE CHATTE, e G. PONTI L'ANATOMIA e F. FISCHETTI studio di micropatologia ultramicroscopica.

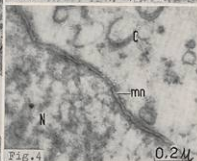
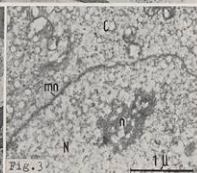
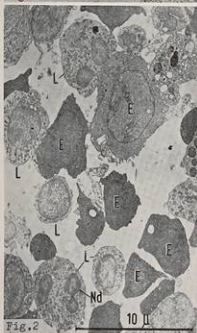
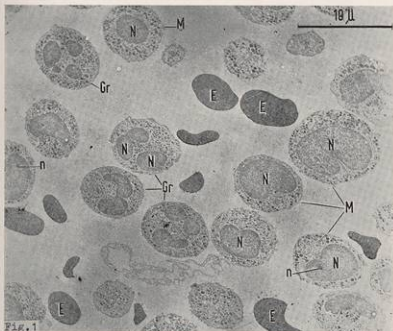


FIG. 5 - *Linfocito con evidente nucleo*. Sono presenti numerosi mitocondri (m). Il nucleoplasma (N) non è differenziato in nucleoplasma denso e chiaro, come avviene nelle altre cellule ematiche, ma è di aspetto uniforme. Scarsamente evidente il reticolo endoplasmatico. Sangue periferico di soggetto affetto da leucemia linfatica cronica. n = nucleo. E.M. 75B - X 14.400. - FIG. 6 - *Elemento della serie granuloblastica*. Doppia membrana nucleare (mn). Sangue midollare di soggetto normale. Nd = nucleoplasma denso. E.M. 100 - X 46.500. - FIG. 7 - *Elemento immaturo della serie leucopoietica*. Doppia membrana nucleare (mn) e pori che mettono in comunicazione il nucleoplasma con il citoplasma. (Freccia). Sangue midollare di soggetto normale. E.M. 100 - X 105.000. - FIG. 8 - *Plasmacellule*. Caratteristico aspetto del reticolo endoplasmatico che forma delle cisterne più o meno concentriche al nucleo. Sangue midollare di soggetto affetto da anemia emolitica. P = plasmacellula. E.M. 75B - X 6.000. - FIG. 9 e 10 - *Particolare del reticolo endoplasmatico delle plasmacellule a più forte ingrandimento*. Sono evidenti i granuli di Palade addossati alle  $\alpha$ -citomembrane. Sono visibili alcuni mitocondri (m). Sangue midollare di soggetto affetto da anemia emolitica. E.M. 75B - Fig. 9, X 22.500; E.M. 75B - Fig. 10, X 42.000.



Fig.5

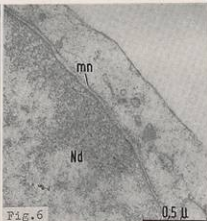


Fig.6

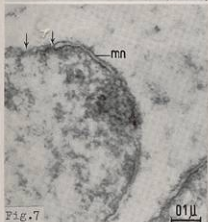


Fig.7

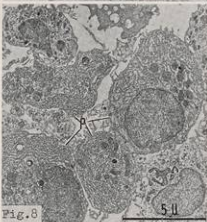


Fig.8

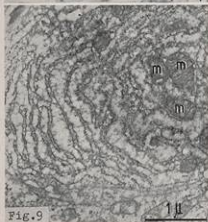


Fig.9

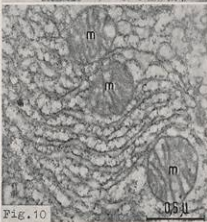


Fig.10

FIG. 11 - *Monocito*. I mitocondri (m) sono piccoli, prevalentemente circolari. È visibile il nucleolo (n). Sangue periferico di soggetto normale. N = nucleo. E.M. 75B - X 12.000. - FIG. 12 - *Linfocito*. I mitocondri (m) sono numerosi, di dimensioni conformi al tipo cellulare. Caratteristico l'aspetto uniforme del nucleoplasma (N). Sangue periferico di soggetto affetto da leucemia linfatica cronica. E.M. 75B - X 18.000. - FIG. 13 - *Granulocito neutrofilo*. Abbondanti granulazione « neutrofile » (g) uniformemente distribuite nel citoplasma ad eccezione dello spazio perinucleare, dove sono scarsamente rappresentate. I mitocondri sono scarsi (m). Sangue periferico di soggetto normale. N = nucleo. E.M. 75B - X 12.000. - FIG. 14 - *Granulocito basofilo*. Il reticolo endoplasmatico (r.e.) differisce da quello del granulocito neutrofilo per la presenza di abbondanti profili di  $\alpha$  citomembrane e numerose vescicole; è bene documentabile la struttura dei granuli basofili (g.b.). Sangue periferico di soggetto normale. E.M. 100 - X 29.000. - FIG. 15 e 16 - *Mitocondri* (m). La doppia membrana è bene evidente, le cristae mitocondriali sono rappresentate da due linee osmiofile ed è palese la loro derivazione: dall'infossarsi nella matrice dell'organulo dello strato osmiofilo interno della membrana mitocondriale (freccia). Sangue midollare di soggetto normale. E.M. 75B - Fig. 15, X 60.000; E.M. 100 - Fig. 16, X 57.000.



Fig. 11

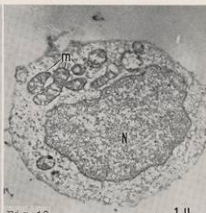
1  $\mu$ 

Fig. 12

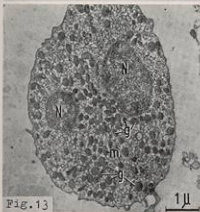
1  $\mu$ 

Fig. 13

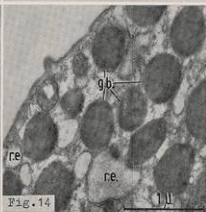
1  $\mu$ 

Fig. 14

1  $\mu$ 

Fig. 15

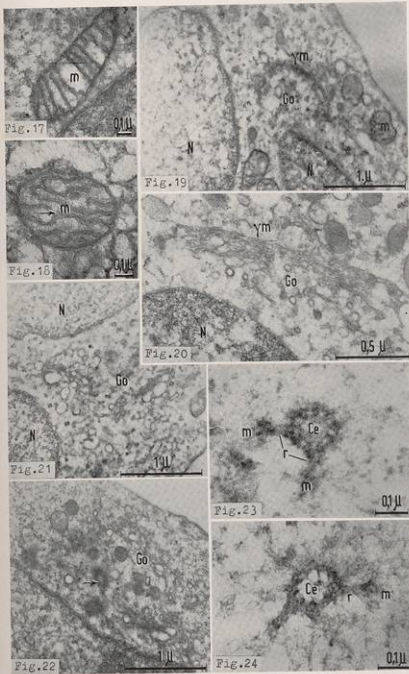
0,5  $\mu$ 

Fig. 16

0,5  $\mu$

FIGG. 17 e 18 - *Mitocondri* (m). Le «cristae» possono essere a contatto con i due punti opposti dello strato osmiofilo interno. Nella fig 18 è possibile osservare la formazione di branche ad Y, che si dipartono da una medesima «crista» (freccia). Sangue midollare di soggetto normale. E.M. 100 - Fig. 17, X 54.950; E.M. 100 - Fig. 18, X 71.500. - FIGG. 19, 20 e 21 - *Apparato di Golgi* (Go). Nella zona perinucleare di queste cellule è presente l'apparato di Golgi, costituito da vacuoli, microvescicole,  $\gamma$ -citomembrane ( $\gamma$ m). Sangue periferico di soggetto affetto da leucemia mieloide cronica. N = nucleo; m = mitocondri E.M. 75B - Fig. 19, X 30.000; E.M. 100 - Fig. 20, X 54.000; E.M. 75 B - Fig. 21, X 30.000. - FIG. 22 - *Centriolo* (freccia). Stretti rapporti topografici tra centriolo ed apparato di Golgi (Go). Sangue midollare di soggetto normale (elementi della serie granuloblastica). E.M. - X 30.000. - FIGG. 23 e 24 - *Centrioli* (Ce). Il taglio delle fettine ultrasottili condotto trasversalmente all'asse del centriolo mostra una sezione di cilindro cavo con i tubuli alla periferia, i raggi (r), le masserelle (m). Sangue periferico di soggetto affetto da leucemia linfatica. E.M. 75B - Figg. 23 e 24, X 120.000.







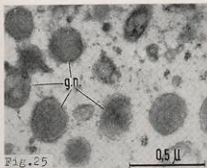


Fig. 25

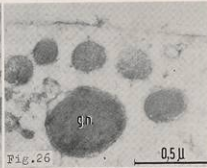


Fig. 26

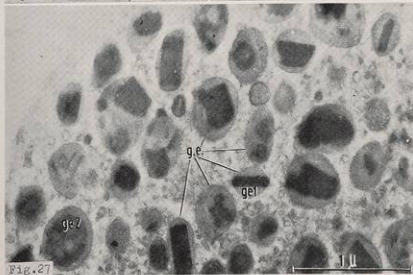


Fig. 27

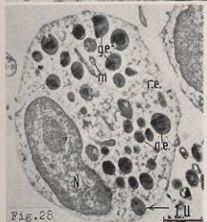


Fig. 28



Fig. 29

FIG. 30 - *Granuli basofili*. Granuli basofili (g.b.) circondati da una membrana agli elettroni. Matrice omogenea. Reticolo endoplasmatico (r.e.) dilatato a forma di ampie cisterne. Sangue midolare di soggetto normale. E.M. 100 - X 100.000. - FIG. 31 - *Vacuoli di degenerazione* (v.d.). Mitochondri in degenerazione contenenti materiale in disfacimento di densità variabile. Sangue periferico di soggetto affetto da leucemia acuta indifferenziata. E.M. 75B - X 42.000. - FIG. 32 - *Vacuoli di rigonfiamento* (v.r.). Granuli di Palade addossati alle  $\alpha$ -citomembrane delimitanti. Sangue periferico di soggetto normale. E.M. 100 - X 20.500. - FIG. 33 - *Vacuoli contenenti sostanze grassose*. Elevata osmiofila dei vacuoli lipidici (v.l.) Sangue periferico di soggetto affetto da linfogranuloma maligno. E.M. 75B - X 24.000. - FIG. 34, 35 e 36 - *Vacuoli composti*. Vacuoli composti (v.c.) costituiti da una cavità delimitata da una membrana contenente 5 o 6 vacuoli più piccoli. Figg. 34 e 35 sangue periferico di soggetto affetto da leucemia acuta indifferenziata. Fig. 35 sangue periferico di soggetto normale. E.M. 75B - Fig. 34, X 42.000; E.M. 100 - Fig. 35, X 52.500; E.M. 75B - Fig. 36, X 48.000. - FIG. 37 - *Vacuolo di degenerazione*. Vacuolo (v.d.) formato da una vaginazione della membrana cellulare (m.c.). Sangue periferico di soggetto affetto da leucemia acuta indifferenziata. E.M. 75B - X 30.000. - FIG. 38 - *Granuli a membrane concentriche*. Formazioni granulari a membrane concentriche (g.mc.) definite formazioni di degenerazione mielínica. Sangue periferico di soggetto normale. E.M. 100 - X 39.000.

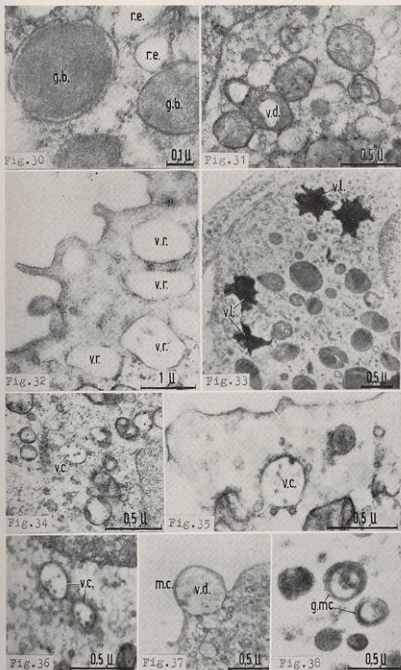


FIG. 39 - *Cellula leucemica*. Dissociazione tra evoluzione maturativa citoplasmatica e nucleare. Il nucleo (N) mostra un aspetto bizzarro con superficie irregolare e ricca di invaginazioni. Membrana nucleare esterna dissociata dall'interna. Sangue periferico di soggetto affetto da leucemia acuta indifferenziata. E.M. 75B - X 12.000. - FIG. 40 - *Cellula leucemica*. Carattere anomalo del nucleo e rapporto nucleo-citoplasmatico spostato a favore del nucleo (N). Nucleolo (n) di notevoli dimensioni con fenomeni di vacuolizzazione. Abbondanti mitocondri (m). Sangue periferico di soggetto affetto da leucemia acuta indifferenziata. E.M. 75B - X 9.000. - FIG. 41 - *Cellula leucemica*. Membrana nucleare esterna dissociata dall'interna (freccia). Rapporto nucleo-citoplasmatico spostato a favore del primo. Numerosi mitocondri aumentati di volume, meno ricchi di « cristae » dei normali, con matrice meno opaca agli elettroni. Sangue periferico di soggetto affetto da leucemia linfatica cronica. E.M. 75B - X 12.000. - FIG. 42 - *Mitocondri di cellula leucemica*. Oltre ai caratteri degenerativi descritti nella figura precedente si nota scarsità delle « cristae » che spesso si presentano frammentate. Sono visibili granuli azzurrofilii (g.a.). Sangue periferico di soggetto affetto da leucemia acuta indifferenziata. E.M. 100 - X 50.400. - FIG. 45 - *Formazione fibrillare*. Formazione (f.f.) costituita da un aggregato di fini fibrille. Sono presenti numerosi mitocondri (m); il reticolo endoplasmatico (r.e.) si presenta dilatato a formare voluminose cisterne. Sangue periferico di soggetto affetto da leucemia acuta indifferenziata. E.M. 75B - X 36.000. - FIG. 44 - *Cellula leucemica*. Rapporto nucleo-citoplasmatico spostato a favore del nucleo. Evidente dissociazione maturativa tra nucleoplasma e citoplasma. Sangue periferico di soggetto affetto da leucemia acuta indifferenziata. N = nuclei; m = mitocondri. E.M. 75B - X 18.000.





Fig. 39

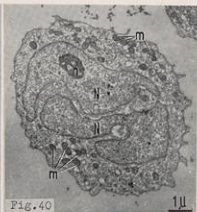


Fig. 40

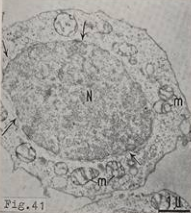


Fig. 41

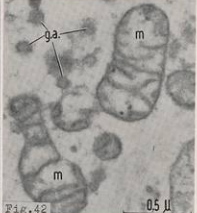


Fig. 42

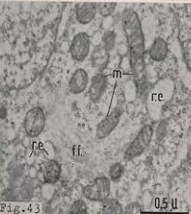


Fig. 43

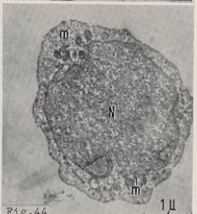


Fig. 44

FIGG. 45 e 46 - *Fagocitosi di stafilococchi*. Pseudopodi (p.s.) Il germe penetrando nell'interno del granulocita trascina con sé la membrana citoplasmatica (m.c.), che aderisce come un guanto alla membrana esterna del batterio. Tra una membrana citoplasmatica invaginata e germe si è formato un vacuolo (freccia). Sospensione di stafilococchi incubati in cultura di leucociti da sangue periferico di soggetto normale a 37°C per 20', E.M. 75B Fig. 45, X 28.000; E.M. 100 - Fig. 46 - X 64.000. - FIGG. 47 e 48 - *Stafilococchi fagocitati*. Stafilococco delimitato da una membrana esterna formata da due strati osmiofilici (m.b.). Citoplasma molto opaco agli elettroni, di aspetto finemente granulare. È visibile un'area centrale chiara (C) che dovrebbe corrispondere al nucleo batterico. Sospensione di stafilococchi incubati in cultura di leucociti da sangue periferico di soggetto normale a 37°C per 20', m.c. = membrana cellulare; m.v. = parete del vacuolo; m.b. = membrana batterica. E.M. 100 - Fig. 47, X 49.400; E.M. 100 - Fig. 48, X 123.500. - FIG. 49 - *Fagocitosi di stafilococchi*. Vacuoli di diverse dimensioni contenenti uno o più germi (V). Spazio perinucleare più ampio che di norma (freccia). Sospensione di stafilococchi incubati in cultura di leucociti da sangue periferico di soggetto normale a 37°C per 20', E.M. 100 X 21.000. - FIG. 50 - *Vacuolo digestivo* (V). È ben evidente la struttura di un vacuolo contenente 2 stafilococchi. Sospensione di stafilococchi incubati in cultura di leucociti da sangue periferico di soggetto normale a 37°C per 20', E.M. 100 - X 48.000. - FIG. 51 - *Alterazioni del citoplasma batterico nella fase di digestione del germe da parte del fagocita*. Minor opacità del citoplasma batterico; membrana batterica integra. Sospensione di stafilococchi incubati in cultura di leucociti da sangue periferico di soggetto normale a 37°C per 20'. G = germe, E.M. 75B - X 42.000. - FIG. 52 - *Vacuolo digestivo*. - Vacuolo digestivo contenente 3 stafilococchi di cui uno (freccia) in divisione. Lo stafilococco (S) presenta vari vacuoli di generazione. Sospensione di stafilococchi incubati in cultura di leucociti da sangue periferico di soggetto normale a 37°C per 20'. E.M. 75B - X 42.000.

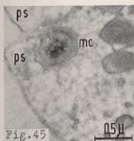


Fig. 45

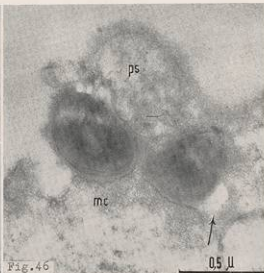


Fig. 46

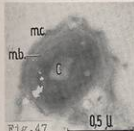


Fig. 47

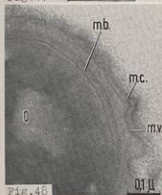


Fig. 48

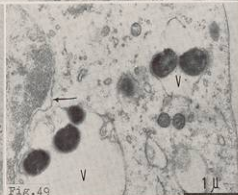


Fig. 49

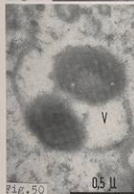


Fig. 50

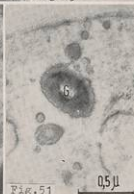


Fig. 51

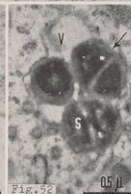


Fig. 52

FIG. 53 - *Gagocitosi di Stafilococchi*. Partecipazione dei granuli neutrofili (g.n.) allo stadio finale della fagocitosi. Stafilococco (S) con citoplasma in degenerazione avanzata (diminuzione di opacità, frammentazione). In prossimità di questo si notano numerosi granuli neutrofili irregolari e a volte vacuolizzati (freccia). I mitocondri (m) si presentano pure alterati (vacuolizzazione, minore opacità della matrice, frammentazione). Sospensione di stafilococchi incubati in cultura di leucociti da sangue periferico di soggetto normale a 37°C per 20'. E.M. 75B - X 24.000. - FIG. 54 - *Cellula Reticolare*. Numerosi prolungamenti citoplasmatici (P. C.) a tipo stellare, sottili. Sangue midollare di soggetto affetto da anemia emolitica. N = nucleo - E.M. 75B - X 4.000. - FIG. 55 e 56. - *Cellula reticolare*. Cellula reticolare con tre cellule fagocitate in stadi diversi di digestione (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>). Nella fig. 56 fagocitosi di un granulocito (G). Sangue midollare di soggetto affetto da anemia emolitica. E.M. 75B - Fig. 55 - X 4.000; E.M. 75B - Fig. 56 - X 12.000. - FIG. 57 e 58. *Eritrofagocitosi*. Eritrociti fagocitati (E) con carattere granulare per la comparsa di ammassi di emosiderina. Sangue midollare di soggetto affetto da anemia emolitica. E.M. 75B - Fig. 57 - X 12.000; E.M. 75B - Fig. 58 - X 36.000.

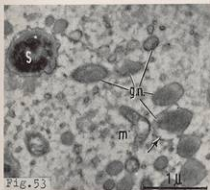


Fig. 53

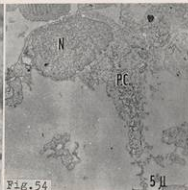


Fig. 54

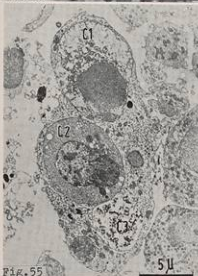


Fig. 55

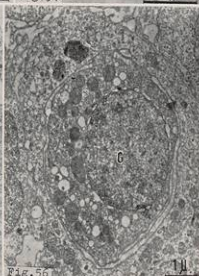


Fig. 56

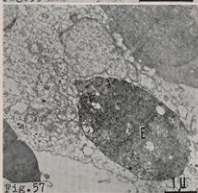


Fig. 57

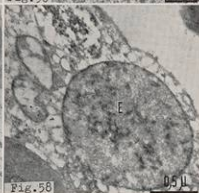


Fig. 58





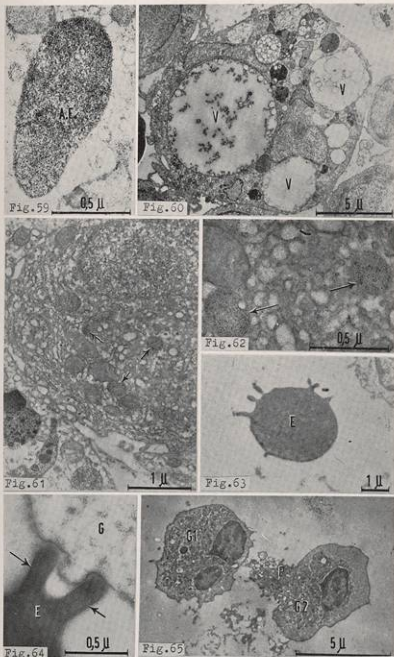


FIG. 66 - *Agglutinazione di Leucociti*. Membrana citoplasmatica con numerose protuberanze. Reticolo endoplasmatico irregolare, meno opaco agli elettroni, con vacuoli (V). Emazie e leucociti di sangue periferico di soggetto normale sospesi in soluzione fisiologica ed incubati con siero antileucociti a 37°C per 10'. E.M. 75B - X 16.200. - FIG. 67 - *Agglutinazione di Leucociti*. Ultrastruttura di uno pseudopodo (P) a maggiore ingrandimento. Emazie e leucociti di sangue periferico di soggetto normale sospesi in soluzione fisiologica ed incubati con siero antileucociti a 37°C per 10'. m.c. = membrana citoplasmatica - N = nucleo. E.M. 75B - X 21.600. - FIG. 68 e 69 - *Agglutinazione di Leucociti*. Decorso estremamente sinuoso dei confini cellulari lungo cui avviene l'incastramento delle due cellule (freccie). Granuli specifici senza granulazioni degne di nota (g.n.). Emazie e leucociti di sangue periferico di soggetto normale sospesi in soluzione fisiologica ed incubati con siero antileucociti a 37°C per 10'. N = nucleo. E.M. 75B - Fig. 68 - X 16.200; E.M. 75B - Fig. 69 - X 78.000. - FIG. 70 - *Agglutinazione di Leucociti*. Distacco della membrana nucleare esterna (freccia) e profonde estroflessioni dello spazio perinucleare nell'ambito del citoplasma. Emazie e leucociti di sangue periferico di soggetto normale sospesi in soluzione fisiologica ed incubati con siero antileucociti a 37°C per 10'. N = nucleo. E.M. 75B - X 16.200. - FIG. 71 - *Agglutinazione di Leucociti*. Azione del siero antileucociti su un globulo bianco. Emazie e leucociti di sangue periferico di soggetto normale sospesi in soluzione fisiologica ed incubati con siero antileucociti a 37°C per 10'. P = pseudopodi - V = vacuoli - N = nucleo - m = mitocondri. E.M. 75B - X 16.200.

