

MIELOGRAMA DO RATO NORMAL

JOSÉ LOPES NETTO
SYLVIO SOARES DE ALMEIDA

Médicos do Instituto Adolfo Lutz

LÚCIO PENNA DE CARVALHO LIMA

Assistente da Faculdade de Farmácia e Odontologia da
Universidade de São Paulo

O emprêgo do rato albino como animal de pesquisa em hematologia experimental tem sido limitado quasi que exclusivamente à observação das alterações do sangue periférico, pois o estudo da medula óssea exigia o sacrificio do animal, o que apresentava inconveniente óbvios. Recentemente foi proposto por Vigran⁷ um processo relativamente simples de biópsia da medula óssea femural do rato, tornando possível a obtenção repetida de material mieloide de um mesmo animal.

Interessados em obter dados relativos ao mielograma do rato normal, utilizamo-nos da técnica de Vigran, com ligeiras modificações. Em vista do pequeno número de publicações sôbre o assunto parece-nos justificada a divulgação não sômente dos resultados quantitativos por nós obtidos, como também de algumas de nossas observações no que diz respeito à morfologia dos elementos celulares mieloides.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados dez ratos albinos Wistar, da criação do biotério do Instituto Adolfo Lutz, com idades variando entre 3 e 5 mezes e recebendo dieta padrão. Os animais eram anestesiados com tionembutal (*) (30 mg por quilo de pêso) ou éter. Mantidos em

(*) Cedido por Abbott Laboratórios do Brasil, S.A.

decúbito dorsal, procedia-se à depilação da face medial da perna com solução de sulfureto de sódio a 10%, seguida de assepsia com iodo e álcool. A seguir fazia-se uma incisão de mais ou menos 1 cm de extensão ao nível da metade superior da perna e, afastando-se as partes moles, expunha-se uma zona triangular de base superior sobre a face anterior da tíbia, livre de musculatura. Com uma pequena broca de secção cilíndrica, movida a eletricidade, perfurava-se a tábua óssea e introduzia-se no orifício a extremidade de uma agulha de 1 mm de diâmetro, serrada e montada em seringa de 20 ml, com a qual era feita a aspiração do material medular. Em alguns casos houve sangramento abundante ao se retirar a broca, pelo que repetia-se a punção na outra tíbia. O material aspirado sempre foi suficientemente abundante para permitir a execução de dois esfregaços. Os métodos de coloração utilizados foram os de Wrigth e de May-Grunwald-Giemsa. De cada animal foram contadas 1000 células, classificadas de acôrdo com a nomenclatura de Ferrata.

RESULTADOS

Distribuição qualitativa. No quadro 1 estão discriminados os diversos tipos celulares encontrados na medula óssea do rato, com as suas respectivas porcentagens. Os nossos resultados só podem ser postos em confronto com os de Cameron e Watson⁸, obtidos por biópsia femural, pois os demais trabalhos por nós consultados foram realizados com técnicas diferentes, seja por impressão, seja por mistura com sôro e posterior distensão em lâmina do material mieloide obtido após a morte do animal. A distribuição quantitativa dos elementos celulares por nós encontrada é, em suas linhas gerais, aproximada à que foi obtida por Cameron e Watson. Julgamos inútil especular até que ponto as divergências menores podem ser explicadas por diferenças de conceito individual na classificação dos diferentes tipos de células, ou por condições outras inerentes aos próprios animais utilizados nas pesquisas dos referidos autores.

QUADRO I

TIPOS CELULARES	Máximo %	Mínimo %	Média %	Desvio padrão	Erro padrão	Coeficiente de variação
Hemocitoblastos	0,2	0,0	0,12	0,1	0,03	83,3
Mieloblastos	2,1	0,2	1,4	0,5	0,15	35,7
Promielócitos neutrófilos	4,0	1,3	2,5	0,88	0,27	35,2
Metamielócitos neutrófilos	14,4	5,7	9,06	2,56	0,81	28,2
Bastonetes neutrófilos	24,4	17,3	16,67	3,57	1,12	21,4
Segmentados neutrófilos	10,2	1,2	4,5	2,71	0,85	60,0
Promielócitos eosinófilos	3,1	0,2	1,4	0,5	0,25	57,1
Mielócitos eosinófilos	4,3	0,6	2,96	1,54	0,48	52,0
Metamielócitos eosinófilos	3,6	0,7	2,1	0,9	0,28	43,4
Bastonetes eosinófilos	5,5	0,4	3,2	1,62	0,51	50,6
Segmentados eosinófilos	1,7	0,0	0,6	0,57	0,18	95,0
Basófilos (*)	2,2	0,2	0,88	0,87	0,24	87,5
Linfoblastos	0,8	0,0	0,3	0,23	0,07	76,6
Linfócitos	35,0	15,5	23,9	5,1	1,6	21,2
Monócitos	3,0	0,0	1,1	0,86	0,27	78,1
Plasmócitos	4,2	0,4	1,6	0,9	0,28	55,5
Megacariócitos	0,4	0,0	0,1	0,1	0,03	79,6
Células reticulares	1,3	0,4	0,95	0,25	0,07	26,3
Proeritroblastos	0,7	0,2	0,45	0,18	0,05	40,0
Eritroblastos basófilos	3,8	0,4	1,8	0,96	0,3	53,3
Eritroblastos policromáticos	24,5	8,8	20,0	4,8	1,5	12,0
Eritroblastos ortocromáticos	0,2	0,0	0,12	0,08	0,02	16,6
Células não identificadas	0,3	0,0	0,13	0,1	0,03	76,9

(*) Inclusive Maitzellen

Estudo morfológico. De um modo geral as células que constituem a medula óssea do rato apresentam morfologia bastante semelhante à da medula humana. Por esta razão os diversos tipos celulares não serão descritos individualmente neste trabalho; pormenores sobre a citologia mieloide do rato poderão ser encontrados nas publicações dos autores que nos precederam. 1, 2, 4, 5, 6, 8

Existem entretanto, certas particularidades morfológicas que nos parecem dignas de nota, que passaremos a estudar com maior detalhe.

1) *Núcleos em anel.* É muito frequente o achado de células cujo núcleo apresenta na porção aproximadamente central um vacúolo preenchido por citoplasma. O aspecto é comparável ao que seria obtido sobrepondo-se ao citoplasma celular um núcleo perfurado no centro (figura 1). Tais células foram classificadas como pertencendo à linhagem granulocítica pelos autores anteriores, e diferentemente interpretadas quanto à sua posição na escala de maturação celular. Para Töppner³ a célula em anel é um promielócito; Vogel⁶ considera-a como ocupando posição intermediária entre o mielócito e o metamielócito; Cameron e Watson⁸ encontraram essa particular disposição do núcleo em todas as fases de maturação a partir do mielócito. A nosso ver o núcleo em anel não é particular a uma determinada fase evolutiva dos granulócitos;

pode ser encontrado em qualquer grau de maturação, inclusive no mieloblasto (figura 2) e também em células reticulares em derivação granulocítica direta (figura 3).

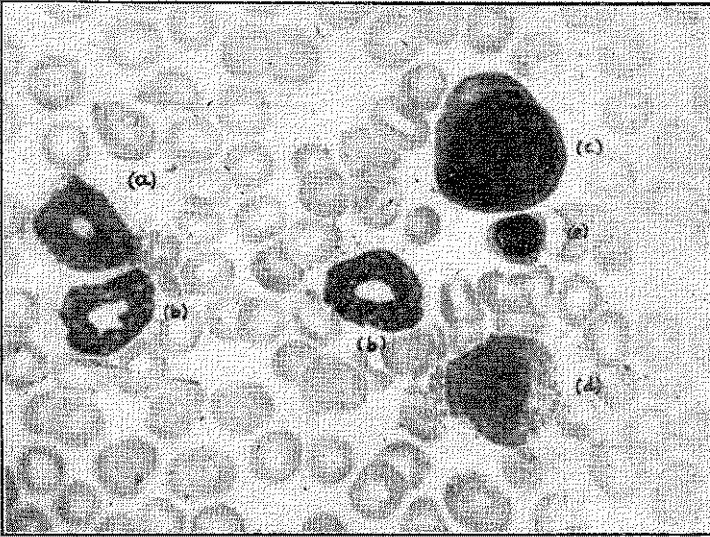


FIGURA 1

Mielócito (a) e metamielócitos (b) com núcleo em anel. Proeritroblasto (c). Mielócito eosinófilo (d). Eritroblasto policromático (e).

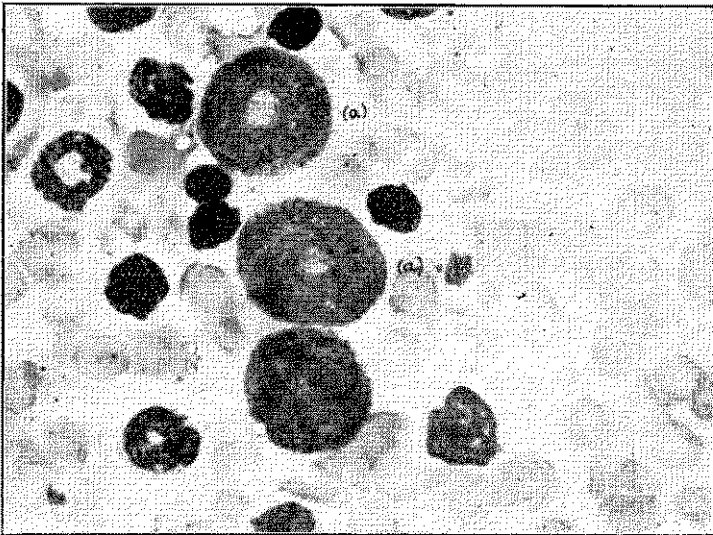


FIGURA 2

Mieloblastos com núcleo em anel (a).

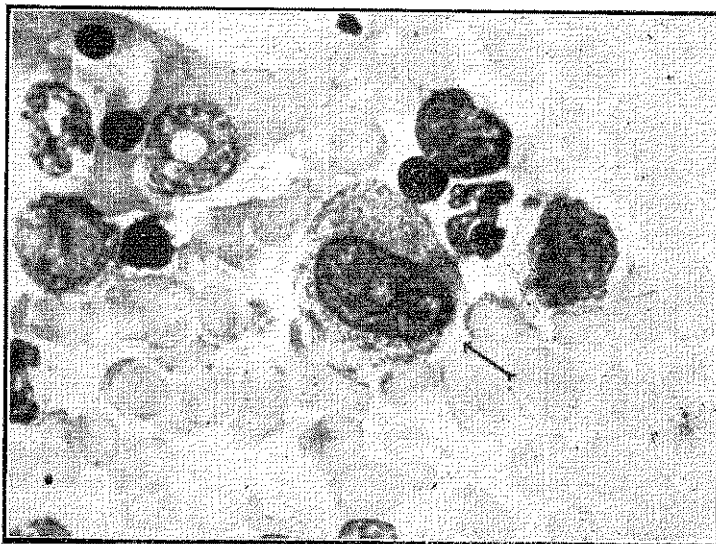


FIGURA 3

Célula reticular com núcleo em anel

O aspecto em anel parece constituir uma modalidade particular de maturação do núcleo de algumas células mieloides, atual ou potencialmente granulocíticas.

2) *Assincronismo da maturação núcleo-citoplasmática.* É outro fenômeno de observação muito frequente nos granulócitos, principalmente nos neutrófilos, e que tende a dificultar o reconhecimento mais exato do grau de maturação celular. É comum observar-se tipos celulares que seriam classificados como granulócitos maduros pelos caracteres citoplasmáticos, mas que apresentam núcleos extremamente jovens, em desacôrdo com a maturidade do citoplasma. Outras vêzes dá-se o inverso, e uma célula com núcleo maduro, com grossos blocos condensados de cromatina, apresenta citoplasma basófilo e granulações azurófilas, próprias de elementos menos evoluídos. Em vista das dificuldades de uma classificação exata, originadas por esta relativa independência no ritmo da maturação núcleo-citoplasmático, Endicott e Ott⁵ sugerem que se abandone uma classificação detalhada dos granulócitos. Este ponto de vista não nos parece aceitável; julgamos que a estrutura do núcleo deve prevalecer sôbre os caracteres citoplasmáticos, e que uma

observação cuidadosa permitirá, na grande maioria das vêzes, situar a célula no tipo correspondente ao seu gráu de maturidade.

3) *Células de tipo linfoide.* Ao lado dos pequenos linfócitos, cuja individualização não oferece a menor dificuldade, encontram-se outros elementos de tipo linfoide (com núcleo linfoide e citoplasma fracamente basófilo, não granuloso) cujo exato reconhecimento constitui a principal dificuldade no estudo da medula óssea do rato. A maior parte das células deste tipo foi por nós incluída sob as rubricas de plasmoblastos ou linfoblastos e uma parte pode ser classificada como hemocitoblastos. Frequentemente, entretanto, não foi possível chegar-se a uma caracterização segura do tipo celular.

4) *Células reticulares.* Apresentam caracteres morfológicos núcleo-citoplasmáticos próprios dos elementos indiferenciados semelhantes aos encontrados na medula óssea humana. Como particularidade morfológica deve ser mencionado o achado de núcleo em anel, fato não referido pelos demais autores. Deve-se também assinalar a relativa frequência com que são encontrados elementos com os caracteres morfológicos das células reticulares, mas que apresentam também granulações específicas neutrofilas ou eosinófilas (figura 4), sugerindo que pelo menos uma parte dos granulócitos neutrófilos e eosinófilos derivam diretamente das células mesenquimatosas da medula óssea.



FIGURA 4

Célula reticular em evolução granulocítica eosinófila.

5) *Basófilos*. Os granulócitos basófilos são raros. Mais frequentes são as Mastzellen, células grandes, contendo numerosas granulações intensamente basófilas, tomando todo o citoplasma e recalcando o núcleo para a periferia; o núcleo cora-se fracamente e tem retículo cromático pouco nítido.

RESUMO

Os A. A. estudaram a medula óssea do rato albino normal, obtida por punção tibial. Descrevem a técnica utilizada e referem os dados quantitativos encontrados, bem como particularidades morfológicas dos elementos celulares.

SUMMARY

The authors studied the bone marrow of the albino rat, as obtained by tibial biopsy. The technique used is described and the quantitative results and morphologic particularities of the cellular elements are given.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — STASNEY, J. e HIGGINS, G. M. — 1935 — A Quantitative Cytologic Study of the Bone Marrow of the Adult Albino Rat — *Anat. Rec.*, 63:77-89.
- 2 — HIGGINS, G. M. e MACHELLA, T. E. — 1939 — The Bone Marrow of Rats made Anemic by Administration of Sulfaniilamide — *Anat. Rec.*, 75:529-536.
- 3 — TOPPNER, R. — 1942 — Das Myelogramm der weissen Laboratoriumsratt — *Folia Haematol.*, 66:48-57. Citado por Vogel, M. — *Am. J. Med. Sc.*, — 1947 — 213:456-462.
- 4 — KINDRED, J. E. — 1942 — A Quantitative Study of the Hemopoietic Organs of the Young Albino Rats — *Am. J. Anat.* 71:207-243.
- 5 — ENDICOTT, K. M. e OTT, M. — 1945 — The Normal Myelogram in Albino Rats — *Anat. Rec.* 92:61-67.
- 6 — VOGEL, M. — 1947 — The Femoral Bone Marrow Cells of the Albino Rat — *Am. J. Med. Sc.*, 213-456-462.
- 7 — VIGRAN, I. M. — 1947 — A Method of Bone Marrow Biopsy from the Rat — *J. Lab. Clin. Med.*, 32:102-103
- 8 — CAMERON, D. G. e WATSON, G. M. — 1948 — Femoral Bone Marrow Biopsy in the Albino Rat-Blood, 3:292-294.