

Sobre os Monocytos do Sangue Circulante nos "Xenarthra"

(Nota prévia)

Por José Oria, do Laboratorio de Histologia da Faculdade de Medicina de São Paulo.

Embora os trabalhos até hoje levados a effeito no terreno da morphologia comparada do sangue circulante nos mammiferos inferiores ao homem, sejam numerosos, raros são os que possuam um character systematico havendo ordens inteiras de mammiferos que ainda não foram objecto de pesquiázs desta natureza. A lituratura conta com estudos systematicos do sangue, sobretudo em animaes domesticos, e nos de laboratorio, náda ou pouco offerecendo, no que diz respeito a mammiferos vivendo em condições de meios naturaes, isto é, em estado sylvestre.

Procurando estudar, por suggestão e conselho do prof. Bovero, a morphologia do sangue circulante nos chamados Edentata, («Xenarthra»), nosso intuito é tentar uma systematisação morphologica em animaes dessa ordem, largamente representada na fauna brasileira, (Bradydeos, Dasypodideos e Myrmecophagideos).

Si ha referencia á morphologia dos componentes formaes do sangue desses animaes, serão raras e esparças: o que porém não affirmamos de modo absoluto, levando em conta o que se póde obter do material bibliographico existente em nosso meio, onde somente en-

contramos por ora, duas communicações de GULLIVER (1), girando em torno do diametro dos globulos vermelhos na Preguiça e no Tatu, nas quaes o A. não procura tirar conclusão outra, a não ser a de que, existem no sangue da Preguiça os maiores globulos vermelhos dentre os mammiferos, exceptuando o Elephante.

Nossas observações representam uma tentativa de estudo morphologico do sangue circulante nos «Xenarthra» brasileiros, não só porque os exemplares por nós examinados até agora são de numero relativamente reduzido, como tambem porque a maioria fóra de seu meio natural de vida, (cativeiro em laboratorio). Disso faremos assumpto de um proximo trabalho mais diffuso, onde trataremos de fazer confronto dos diversos elementos do sangue de uma determinada familia, como tambem na diversas familias entre si e finalmente extrahir dados comparativos com os demais mammiferos, inclusive o homem.

Do trabalho em elaboração destacamos esta nota preliminar referente aos monocyts.

O material de estudo é oriundo até agora de 17 exemplares: 10 Preguiças, (*Bradypus tridactylus*), 9; «*B. torquatus*», 1); 5 Tatus («*Dasypus sexcinctus*»), 4, «*D. novemcinctus*», 1); e 2 Tamanduás, («*Tamandua tetradactyla*) de varias proveniencias e sob differentes condições.

* * *

Os Monocyts dos «Xenarthra», são em geral as as mais volumosas dentre as reconheciveis como comuns no sangue circulante nesses animaes, e recordam no essencial as formas classicas de monocyts dos outros mammiferos. Seu tamanho porém, oscilla dentro de limites amplos, medindo os menores monocyts a metade de tamanho dos maiores (12 *u* e 25 *u*).

Os aspectos de forma do corpo celular e do nucleo são tambem muito variaveis; diversas são ainda, as apparencias estructuraes, e finalmente apparece diversa a

porcentagem em monocyto, no ambito da forma leucocytaria, nos individuos das differentes familias.

Um facto que chama logo a attenção, é a variabilidade de typos que observamos numa determinada familia, e nas differentes familias reciprocamente. Entretanto, levando em conta a escassez de exemplares estudados, esse facto não pode ser, por ora, minuciosamente e largamente documentado, de modo que a existencia de caracteres differenciaes no tamanho, na forma e na estructura dos monocyto, será agora levada em conta, sómente a titulo preventivo.

Por outro lado, os animaes em estudo, nem sempre foram observados num fundo egual de condições: a maioria permaneceu em captivo mais ou menos prolongado e poucos foram observados em condições naturaes isto é, em estado sylvestre. Que as condições de captivo influam em parte, sobre a morphologia dos elementos sanguineos dos "Xenarthra", basta, como veremos, comparar o quadro hematico dos exemplares dentro e fóra daquellas condições.

O sangue foi obtido por punção cardiaca no animal, captivo em laboratorio, exceptuando-se 3 exemplares, (2 Preguiças e 1 Tatú) que vivem ainda em meio natural, dos quaes o sangue foi extrahido por picada. Os esfregaços foram tratados por differentes methodos dentre os quaes os necessarios e relativos aos monocyto são por emquanto, os seguintes: mixtura neutra de Ehrlich; Unna-Pappenheim; Altmann-Schridde, segundo Freifeld; toluidina phenicada de Sabrazés; Leishmann; Romanowsky-Giemsa, e em ultimo a prova da reacção da oxydase.

Pela mixtura neutra de Ehrlich, assim como se passa nos demais mammiferos, os monocyto dos "Xenarthra" não apresentam granulações: o methodo tem valor unico de estabelecer contraste entre essas formas globulares e as granulocytarias de nucleo pouco poly-

morpho, nas a mixtura neutra denuncia finas granulações violetas.

Pelo carbol-methyl-pyronina, (Unna-Pappenheim), cora-se metachromaticamente o cytoplasma basophilo, em graus que vão do roseo ao vermelho intenso, não sendo apparentes granulações.

Pelo methodo de Altmann-Schridde, segundo Freifeld, além da demonstração dos granulos fuchsinophilos dos lymphocytos, cora-se o cytoplasma dos monocytos dos "Xenarthra" ou homogeneamente em roseo-violeta ou com nuanças violetas num fundo claro. A's vezes o aspecto é finamente granuloso, porém, nem sempre se noiam granulos, estrias e bastonetes, que o mesmo methodo torna apparente no cytoplasma dos monocytos de outros mammiferos. Essas particularidades são ás vezes de difficil demonstração, levando em conta um facto constante: a escassez do cytoplasma desses elementos. Portanto, resta como caracter invariavel com este methodo, a tingibilidade do cytoplasma, emquanto o nucleo se córa em amarello-pallido.

Pelo methodo de Sabrazés, para granulações toluidinophilas, consegue-se uma facil e elegante demonstração da estructura cytoplasmatica e da fina estructura nuclear reticular dos monocytos. Os granulos são apparentes como finas estrias de côr violeta dando o classico aspecto pulvurulento num fundo levemente arroxeadado. As granulações quando apparecem nos lymphocytos, são geralmente maiores, facto frequente nos Dasypodideos e Myrmecophagideos, sobretudo nos ultimos, onde são nitidamente espheroidaes ou em bastonete.

Pela prova de reacção da peroxydase, feita segundo a technica de Goodpasture, (Nitroprussiato de sodio — Ben-zidina — Fuchsina basica), denunciam-se nos monocytos, granulos azues dessa substancia, que apparecem irregularmente esparsos como um pontilhado dentro de todo o corpo cellular. A reacção que é ainda positiva para

os granulocytos, onde os granulos apparecem em abundancia e geralmente em forma de bastonete, é inteiramente negativa para os lymphocytos, os quaes se coram homogeneamente em vermelho. Essa prova nos permite portanto identificar a provavel origem myeloide, commum aos granulocytos, da maioria dos monocytos do sangue circulante nos "Xenarthra"

Finalmente, resta-nos ver como se comportam os monocytos pelos outros methodos que são os usuaes. Relataremos as observações por partes, encarando em cada familia, primeiramente, o aspecto geral no que diz respeito á forma, tamanho, contorno da cellula e do nucleo e, em seguida, as particularidades estructuraes.

A) — *BRADYPODIDEOS* ("B. tridactilus Linn.": 9 exempl.; "B torquatus": 1 exempl.).

O corpo da cellula nunca offerece um typo constante de tamanho e pela forma. O diametro oscilla entre 12 e 20 *u*, sendo rara a observação de diametro maior, ou menor, sendo muito frequentes monocytos com 13 a 15 *u*; seguem-se em proporção os de 17 e 18 *u*. Os menores monocytos têm escasso cytoplasma, facto frequente nos Bradypodideos, onde o nucleo, que mede em media 12 *u*, ás vezes occupa quasi que todo o corpo da cellula. Os monocytos maiores são semelhantes ás chamadas "formas de passagem" do sangue humano. O contorno cellular é em regra circular, variando em função de plasticidade, pois facilmente se amoldam aos erythrocytos que lhe estão em contacto. De modo que, se desenham concavidades, em que a orla ectoplasmatica se condensa e se córa intensamente. Em determinadas occasiões, o contorno é pouco nitido e o cytoplasma se diffunde; ou então, é francamente irregular, indicando processos de histolyse (facto frequente, em que nem sempre se poderá pensar em artefactos de technica); outras vezes, o cytoplasma limita-se a envolver o contorno do nucleo, restringindo-se a um fino halo; em outras, a orla

emite vesiculações e prolongamentos, os quaes muitas vezes permanecem destacados e proximos da cellula (phenomeno de clasmatose).

O mesmo não se diz da forma do nucleo que traduz os mais variados typos, com tal polymorphismo que, em diversas occasiões, faz pensar em elementos abnormes, si se estabelecer comparação com o que é typico ou atypico nas cellulas do sangue circulante nos mammiferos. Esse polymorphismo nuclear dos monocyto, nos Bradypodideos, é frequente em todos os exemplares examinados e pode-se eschematizar na seguinte ordem: nucleo arredondado e ovalar; nucleo com uma ou mais incisuras (reniforme); nucleo com chanfradura (em ferradura); nucleo segmentado; e nucleo com contorno irregular.

Não é raro, sobretudo nos nucleos bilobados, ter a superposição das massas nucleares, de modo que a subjacente transparece á suprajacente, delineando-se bem o contorno de ambas; isso depende da architectura do nucleo do monocyto; isto é, a da disposição em delgada lamina da chromatina frouxa; differenciam-se assim dos demais polymorphonucleares de lobulos superpostos, que, sendo espessos, não transparecem. Quanto ao facto de se superporem as massas nucleares, elle se explica, si se leva em conta o indice plasmatico-nuclear, geralmente elevados nos monocyto dos Bradypodideos. A lobulação pode ser mascarada pela juxtaposição das peças do nucleo, simulando o aspecto arredondado com uma incisura diametral separativa das duas faces dos lobulos que se achatam reciprocamente; apparentam outras vezes a disposição de grãos de café; póde a incisura ser dupla o que complica o aspecto.

Esse curioso polymorphismo nuclear dos monocyto dos "Xenarthra" se encontra como veremos, mais accentuados nos Dasypodideos, onde recorda mesmo as chamadas "cellulas de Rieder", e poderá fazer pensar ou

em variações d'um mesmo typo ou em diferentes typos cellulares.

Quanto ás formas do nucleo redondo ou ovalar, algumas lembram nitidamente formas jovens, embora rara seja a demonstração de nucleolos, (um ou outro possivel monoblasto).

O nucleo em geral nunca está disposto centralmente. E' quasi sempre excentrico, metade de seu contorno se desloca de tal modo, que póde fazer hernia do corpo' cellular intacto.

Encarado desse modo o nucleo do monocyto apresenta sempre constante estructura, o que vem a ser elemento primordial para o diagnostico. Córa-se em vermelho-violeta claro, e sempre menos intensamente que o dos lymphocytos. A disposição da chromatina é característica: fino reticulo transparente, formado de estrias delicadas, delimitando, minúsculas malhas claras, que lhe dão aspecto esponjoso. Não raramente, a chromatina se condensa em leves blocos metachromaticos, distribuidos regularmente, sobretudo pela periphèria, e ás vezes apparentando nucleolos. Toda vez em que se dá a superposição das massas nucleares, nesse ponto a chromatina apparece espessada, o que pode desorientar o diagnostico com certos lymphocytos, especialmente quando o nucleo assim disposto simula contorno circular.

Quanto aos caracteres do cytoplasma, esses são muito variaveis no que diz respeito á proporção quantitativa, e ás particularidades de estructura. De regra elle é escasso, sendo abundante nas formas em que o nucleo mantém polymorphismo não simulado.

O facto de escassez do cytoplasma dos monocytos é demonstrativo nos Bradypodideos sobretudo. Si é que existem de facto, como parecem, diferenças quantitativas do cytoplasma entre os monocytos destes ultimos e os das restantes familias de "Xenarthra" será ousado dizer por ora, levando em conta a desproporção de ma-

terial para methodo comparativo de estudo. Em todo caso, a escassez do cytoplasma implica sempre menor tamanho do monocyto, facto frequente nos Bradypodideos.

E' esse mais um reparo que, ao lado daquelle do polymorphismo nuclear, traz motivos para se pensar na origem diversa dos typos morphologicos na serie monocytaria.

A estrutura do cytoplasma, ora é finamente granular, em poeira, num fundo homogeneamente basophilo; nesse caso, é o monocyto typico com grañulações azurophilas, (*Monozitengranula*). Todavia, mais do que granulos, são finas estrias, ou curtos segmentos lineares, que nem sempre se denunciam bem, pois que a azurophilia é pallida na maioria dos casos. Outras vezes distribuem-se regularmente, ou na peripheria, ou em redor do nucleo, e irregularmente, alternando-se territorios pallidos e territorios finamente azurophilos.

As granulações azurophilas podem faltar, e o cytoplasma limita-se á basophilia ligeira simulando a dos lymphocytos grandes. Mas o nucleo differencia-os immediatamente.

O aspecto de fundo cytoplasmatico é nos grandes monocytos ligeiramente basophilo, intensificando-se por vezes. De qualquer modo não é homogeneo; a basophilia se circumscreve de tal modo que o cytoplasma affecta uma architectura, embora muito debil, finamente alveolar, aspecto esse que é continuo com equal aspecto do nucleo, embora neste seja mais pronunciado. A basophilia póde ser mais intensa num ponto do que n'outro, mais frequentemente na peripheria do que em redor do nucleo. Notam-se algumas vezes no interior do cytoplasma vacuolos de tamanho variado e que determinam frequentemente a desintegração do mesmo.

A percentual em monocytos é abundante para todos os exemplares, mas um tanto variavel entre os seguintes extremos: 6,0 a 14,5%. Mais frequente é a per-

centual de 10%. Note-se no quadro seguinte a grande desproporção leucocytaria nos diversos exemplares, e compare-se o quadro hematico dos animaes captivos com o dos vivendo em condições naturaes. Foram contados 500 globulos por vez.

(1) — "B. tridactylus Linn.", joven — Captiveiro em laboratorio durante alguns dias (prov. E. de S. Paulo) — Monocytos: 10,85% — Neutrophilos: 39,5% — Eosinophilos: 1,6% — Lymphocytos: 48%, Presença de Erythroplastos orthochromatico.

(2) — Id., adulto — Captiveiro de poucos dias (prov. Limoeiro; E. de S. Paulo) — Monocytos 8,9% — Myelocytos, metamyelocytos e granulocytos neutrophilos: 83,0% — Eosinophilos: 0,0% — Lymphocytos: 85,0%. Neste exemplar foram ainda encontrados innumerous erythroblastos basophilos (um delles em caryocinese), polychromatophilos e orthochromaticos.

(3) — Id. jovem — Captiveiro de 3 dias, não se alimentou no ultimo dia; (prov. Santa Izabel — E. de S. Paulo) — Monocytos 10,6% — Neutrophilos: 39% — Eosinophilos: 12,3% — Lymphocytos: 38% — Erythroblastos orthochromaticos: diversos.

(4) — Id. adulto — Captiveiro de uma semana; em jejum nos ultimos dias; utero gravido. — Monocytos: 10,2% — Neutrophilos: 35% — Eosinophilos: 10% — Lymphocytos: 43,5%. Erythroblastos orthochromaticos: diversos.

(5) — Id. jovem — Captiveiro como o precedente, alimentando-se sempre, prov. Santa Izabel — E. de S. Paulo). — Monocytos: 10,9% — Myelocytos, metamyelocytos e granulocytos neutrophilos: 85% — Eosinophilos. 0,8% — Lymphocytos: 3,3% — Erythroblastos orthochromaticos: diversos.

(6) — Id. adulto. — Captiveiro de um mez, nutrindo-se sempre bem, menos nas ultimas 24 horas; apresentava na occasião da punção, um processo geral se

traduzindo em profundo abatimento e dyspnéa. Utero gravido, prenhez adiantada. — Monocyto: 9% — Myelocytos, metamyelocytos e granulocytos neutrophilos: 81% — Eosinophilos: 0% — Lymphocytos. 9% — Erythroblastos orthocromaticos: diversos.

(7) — Id. adulto. — Captiveiro de um mez e meio; como o anterior, apresentava tambem um processo pathologico geral. — Monocyto: 6% — Myelocytos, metamyelocytos e granulocytos neutrophilos: 75% Eosinophilos: 0% — Lymphocytos: 19%. — Erythroblastos orthocromaticos: diversos.

(8) — Id. adulto. — Em condições naturaes de vida (Jardim da Acclimação de São Paulo) — Monocyto: 12,5% — Neutrophilos: 74,9% — Eosinophilos: 3,0% — Lymphocytos: 4,1% — Leucocytos em histolyse: 5% — Erythrocytos com restos nucleares: raros.

(9) — Id. — com um mez e meio de idade, filhote do precedente; alimentação herbivora, em condições naturaes. (Jardim da Acclimação de São Paulo). — Monocyto: 14,5% — Neutrophilos: 75% — Eosinophilos: 0% — Lymphocytos: 7% — Leucocytos em histolyse: 4% — Erythrocytos com restos nucleares: raros.

(10) — "B. torquatus" — adulto — Captiveiro de poucos dias, alimentando-se bem (prov. R. de Janeiro). — Monocyto: 12,2% — Neutrophilos: 66% — Eosinophilos: 1% — Lymphocytos: 19% — Erythroblastos orthocromaticos: innumeros.

Extrahindo a media, só para os 9 exemplares de "B. tridactylus", temos a cifra de 12,16%.

B) — *DASYPODIDEOS* ("D. esxcinctus": 4 exemplares; "D. novemcintus": 1 exemplar).

A forma da cellula soffre as mesmas mutações descriptas para a Preguiça. Quanto ao facto de existirem provaveis caracteres differenciaes de forma, tamanho e estrutura, não podemos affirmar por enquanto em mo-

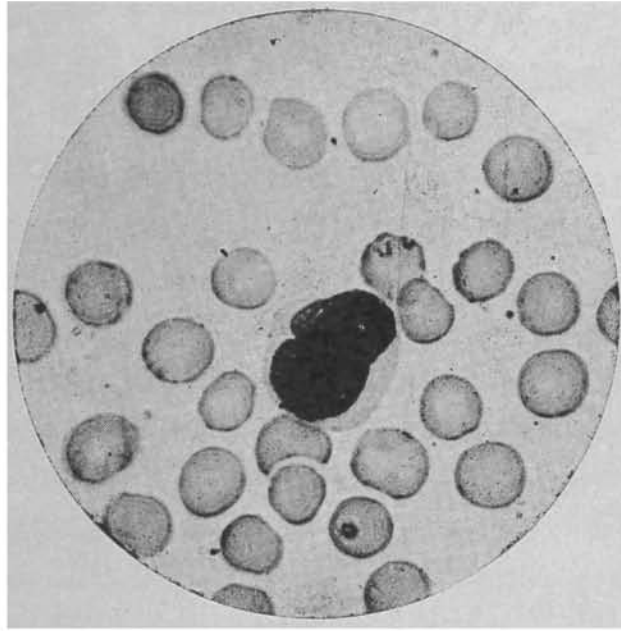


Fig. 1 – Monocyto ; "B. tridactylus"

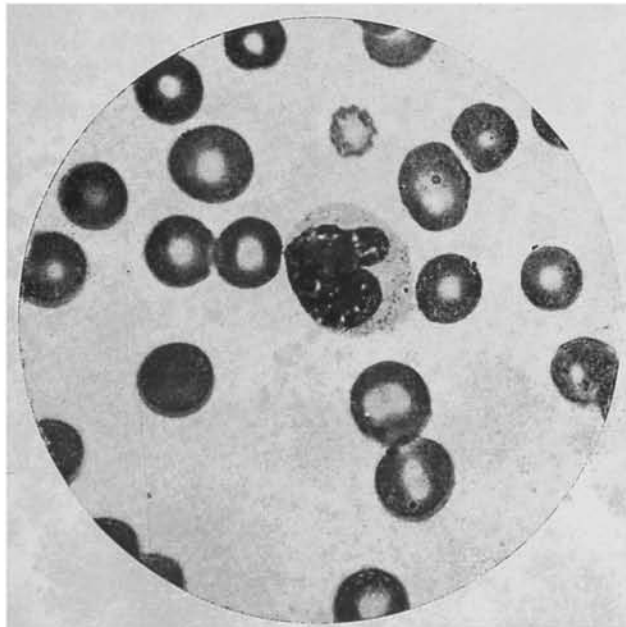


Fig. 2 – Monocyto ; "B. torquatus"

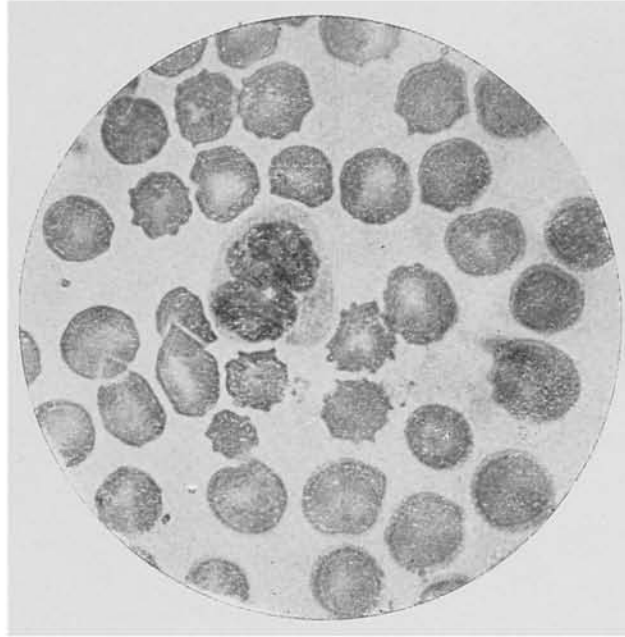


Fig. 3 – Monocyto com nucleo bilobado ; “B. tridactylus”

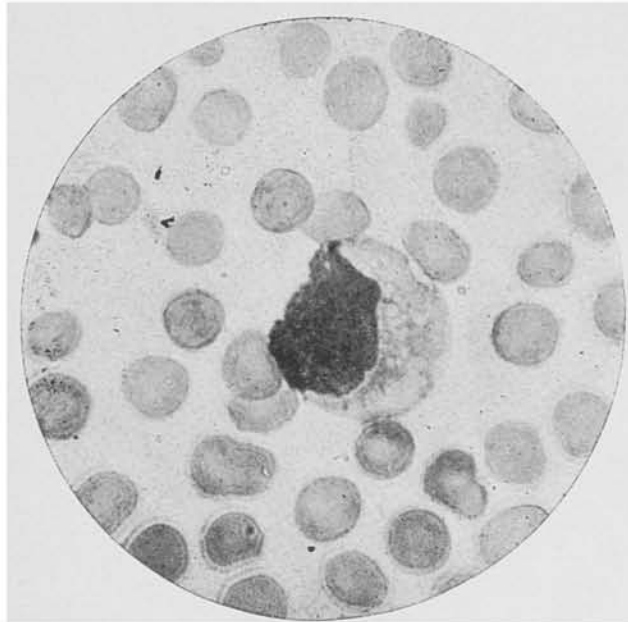


Fig. 4 – Monocyto histolysado ; “B. tridactylus”

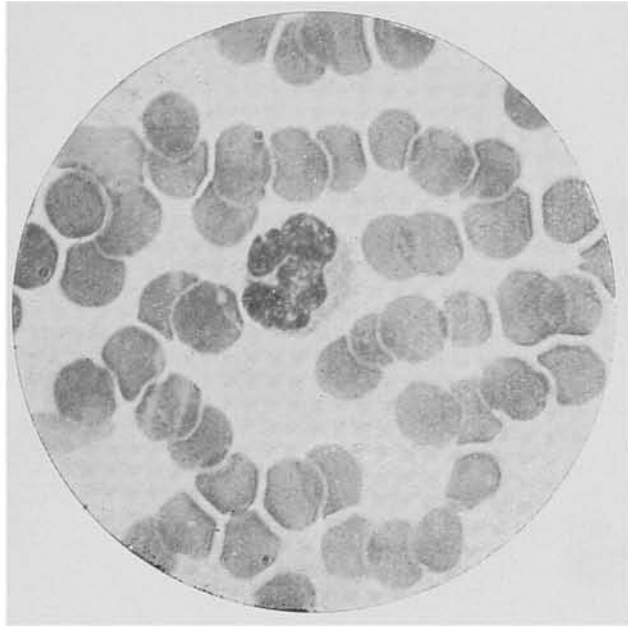


Fig. 5 – Monocyto polynorphonuclear caracteristico no “D. sexcinctus”

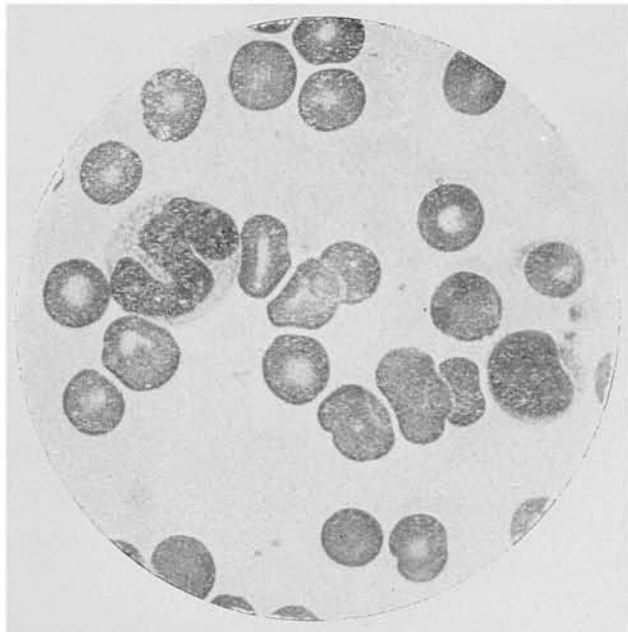


Fig. 6 -- Monocyto que lembra uma cellula de Rieder ; lymphocyto ; “D. sexcinctus”

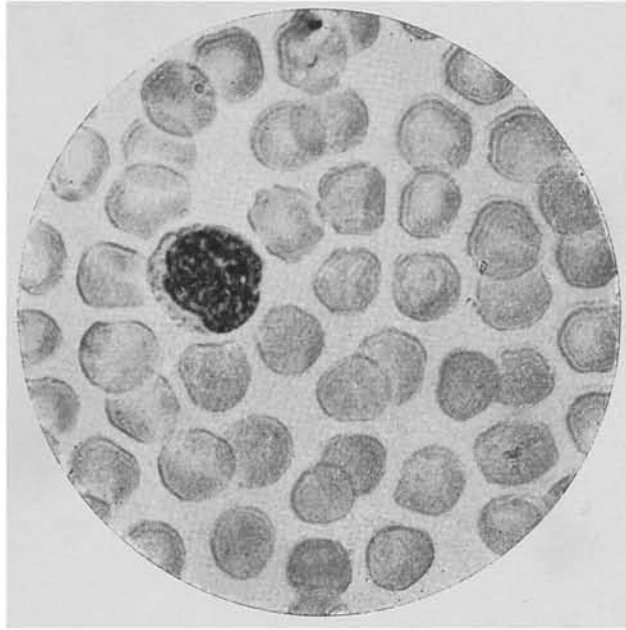


Fig. 7 – Monocyto do “T. tetradactyla”

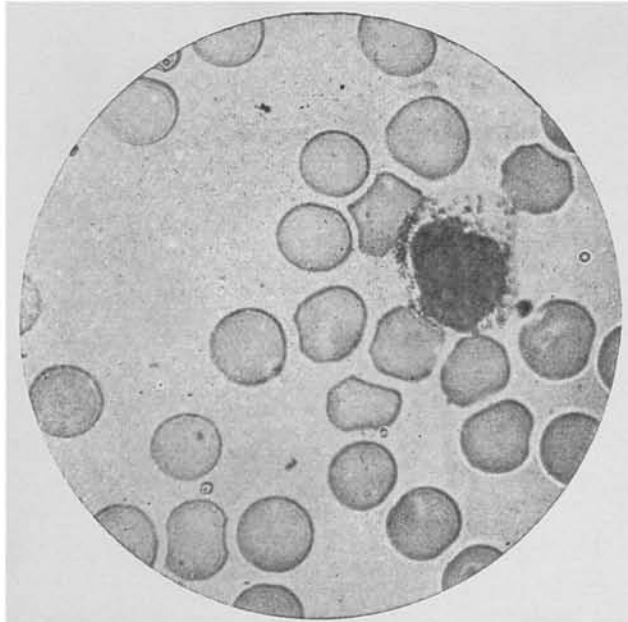


Fig. 8 – Lymphocyto leucocytoide com numerosos granulos azurophilos, caracteristico no “T. tetradactyla”

do definitivo. Parecem ser maiores, os monocyto do Tatú do que os da Preguiça, variando o tamanho entre 14 e 22 *u*, sendo muito frequentes os de 18 a 20 *u*. Isso depende d'um mais alto indice nucleo-plasmatico. O nucleo sempre volumoso, offerece curiosos aspectos de polymorphismo, muito mais intenso, e constante do que nos Bradypodideos, embora o numero limitado de observações. Poder-se-ia dizer, que a proporção quantitativa dos diversos modelos de forma nos Dasypodideos é a inversa da dos Bradypodideos. Assim é que: as formas bi- e trilobadas, e algumas com aspecto caracteristico de trifolio, são muito frequentes, seguindo-se as em ferradura, reniforme, ovalar e arredondada. Como já se disse, as primeiras recordam inteiramente a cellula pathologica de Rieder, a qual, accrescente-se de passagem, em nada difere estructuralmente de um monocyto.

Em 3 dos exemplares examinados, a proporção era mais ou menos de partes eguaes entre typicos monocyto e as formas do typo Rieder.

Resta fóra de duvida que temos uma entidade cellullar nova, representada por estas ultimas cellulas e com parentesco certo com o monocyto typico, mas que não corresponde a elemento do sangue dos outros animaes, inclusivel do homem, e parecem-nos normaes, até certo ponto constantes e especiaes aos Dasypodideos.

A estructura do nucleo é firmemente invariavel em qualquer um dos individuos e differe da estructura nuclear do monocyto da Preguiça, porque possui reticulo chromatico mais espesso.

Quanto ao cytoplasma, elle é constantemente granuloso, outro facto que reputariamos differencial. As granações azurophilas, muito nitidas e maiores, enchem quasi todo o cytoplasma basophilo, de tonalidade variavel, geralmente intensa.

Quando apparecem granações ainda maiores, estas são attribuveis a um typico lymphocyto leucocytoide,

que como tal não observamos, com taes caracteristicos, no sangue dos Bradypodideos.

A percentual nos 5 exemplares examinados é variavel. De regra, são regularmente abundantes os monocytos, e os graus percentuaes oscillam entre 10 e 20.

(1) — "D. sexcinctus", adulto — Captiveiro de um dia. — Monocytos: 10,9% — Neutrophilos: 60,9% — Eosinophilos: 4% — Basophilos: 0,5% Lymphocytos: ... 23,6%.

(2) — Id, adulto — Captiveiro de alguns dias — Monocytos: 12,2% — Neutrophilos: 57,3% — Eosinophilos: 3% — Basophilos: 0,5% — Lymphocytos: 26,7%.

(3) — Id. jovem — Captiveiro de um dia: animal parasitado por filaria adulta — Monocytos: 13,6% — Neutrophilos: 52% — Eosinophilos: 11,1% — Basophilos: 1,3% — Lymphocytos: 22%.

(4) — Id. adulto, em condições naturaes de vida. (Jardim da Acclimação de S. Paulo). — Monocytos: 15,6% — Neutrophilos: 50,2% — Eosinophilos: 6,5% — Basophilos: 2,6% — Lymphocytos: 24,5%.

(5) — "D. novemcinctus", adulto — Captiveiro de dois dias. — Monocytos: 19,8% — Neutrophilos: 51% — Eosinophilos: 1,5% — Basophilos: 0,8% — Lymphocytos: 27%.

Note-se a regularidade e a identidade nas diversas formulas, quer dos exemplares captivos, quer do unico obuido em estado sylvestre. Note-se ainda o augmento dos eosinophilos no exemplar parasitado por filaria, assim como a presença constante dos basophilos, inexistentes na Preguiça.

C) — *MYRMECOPHAGIDEOS* — (2 exemplares: "T. tetradactyla Linn").

Destes ultimos, vamos reunir rapidamente os caracteres encontrados muitos dissemelhantes aos expostos a proposito dos Bradypodideos e Dasypodideos. Não se

observa o polymorphismo accentuado do nucleo; as formas, arredondada, ovalar reniforme e no maximo em ferradura são os typos mais communs, sendo raro o monocyto de nucleo bilobado. Não encontramos, em nenhum dos dois exemplares, cellulas do typo Rieder. O cytoplasma é francamente basophilo e abundante. A azurophilia finamente granular é identica á do monocyto dos Tatús. Nunca faltam as granulações azurophilas.

Do mesmo modo, existem granulações azurophilas em certos lymphocytos, (lymphocytos-leucocytoides); estes se encontram em grande proporção e são muito caracteristicos, e tem granulos grandes e muito abundantes, com forma curiosa ás vezes, baciliformes ou então com o classico halo claro em torno de cada granulo. A porcentagem em monocyto é baixa. Todos estes caracteres lembram os do sangue humano.

(1) — "T. tetradactyla Linn", adulto. Captiveiro de alguns dias; alimentando-se mal; utero gravido de poucos dias; (prov. E. de S. Paulo). — Monocyto: 4,3% — Neutrophilos: 26% — Eosinophilos: 0,5% — Lymphocytos: 68%.

(2) — Id. adulto — Captiveiro de um dia; alimentando-se mal; helminthiase intestinal; (prov Rincão, E. S. Paulo). — Monocyto: 6,5% — Neutrophilos: 65% — Eosinophilos: 4% — Lymphocytos: 24,5%.

Note-se o quadro invertido, no que diz respeito a lymphocytos e granulocytos de um e outro exemplar, e note-se o augmento de eosinophilos no exemplar parasitado por helminthos, assim como a ausencia de basophilos em ambos.

Concluindo, vemos que o estudo dos componentes formaes do sangue nos "Xenarthra" offerece um vasto campo de pesquisas, tratando-se de um material pouco estudado, que em grande abundancia de especies e individuos existe em nosso meio, pesquisas que continuamos empreendendo.