

Classe 30  
14



A CULTURA *IN VITRO* DOS MEGACARIOCITOS  
NA DOENÇA DO SONO

---

CARLOS TRINCÃO e FRANCISCO PARREIRA

---

---

Separata dos ANAIS DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL, Volume XIV, N.º 1-2  
Março-Junho de 1957

ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA  
E DE MEDICINA TROPICAL  
DE LISBOA  
BIBLIOTECA

## A CULTURA *IN VITRO* DOS MEGACARIOCITOS NA DOENÇA DO SONO <sup>(1)</sup>

CARLOS TRINCÃO e FRANCISCO PARREIRA

---

Em publicações anteriores, chamámos a atenção para o aspecto anómalo dos megacariocitos da medula óssea da doença do sono, que não só atingem percentagem superior à normal entre as demais células hematopoéticas, como apresentam características de imaturidade, ou de envelhecimento precoce, raramente se observando as formas granulosas e mais raramente ainda as geradoras de plaquetas. O quadro megacariocitário da doença do sono não se afasta, pois, quer quantitativa, quer qualitativamente do da doença de Werlhof.

Dado que sob o ponto de vista da coagulação sanguínea, as duas doenças são totalmente dissemelhantes, interessa aprofundar o conhecimento do quadro megacariocitário da tripanosomiase africana, para poder pôr em relevo diferenças morfológicas ou funcionais com a púrpura trombopénica.

Sob o primeiro aspecto da questão, importa saber se as características citoquímicas dos megariocitos, quanto a alguns dos seus componentes são idênticas.

Estudando os polissacáridos das células hemáticas, Storti e Perugini verificaram que os megacariocitos se mostravam positivos para todas as técnicas empregadas, com dois tipos distintos de reacção: coloração difusa, mais ou menos intensa do citoplasma, ou

---

<sup>(1)</sup> Entregue para publicação em 2-6-957.

granulações e inclusões citoplasmáticas grosseiras que, na maior parte dos elementos se coram intensamente. Feitas as várias provas usadas para caracterização da natureza da substância positiva (prova da saliva, tratamento pela hialuronidase e pela piridina, bloqueio dos grupos aldeídicos e reacções de acetilação e desacetilação), concluem que a substância responsável pela coloração difusa do citoplasma dos megacariocitos tem características comuns com os polissacáridos, embora não pudessem bem determinar a sua natureza. Em contrapartida os grânulos e inclusões grosseiras mostram as características químicas do glicogénio.

A aplicação dos mesmos métodos tintoriais às plaquetas, mostrou rigoroso paralelismo entre o comportamento das granulações destas e o das inclusões citoplasmáticas dos megacariocitos.

Por outro lado, verificaram não haver correlação entre os grânulos citoplasmáticos dos megacariocitos, postos em evidência pela coloração de May-Grunwald-Giemsa e os que se observam com as colorações dos glúcidos. Como o aparecimento das granulações nas preparações coradas pelas duas técnicas, verificaram que alguns megacariocitos basófilos, não granulados, na coloração de May-Grunwald-Giemsa, apareciam com granulações nas colorações de Gomori, ou de Hotchkiss, sendo mais numerosas as granulações Hotchkiss positivas que as azurófilas pelo May-Grunwald-Giemsa em preparações da mesma medula.

Da semelhança morfológica e citoquímica entre as granulações dos megacariocitos e das plaquetas, tiram os AA. um argumento que julgam o mais importante, a favor da teoria da génese megacariocítica das plaquetas de Wright.

Parece-nos portanto que a classificação dos megacariocitos em basófilos e granulados em relação à coloração de May-Grunwald-Giemsa, geralmente adoptada, não nos dá uma ideia exacta da actividade trombogénica destes elementos.

Sachetti e Bianchini completaram o estudo morfológico dos AA. citados, com uma série de trabalhos em que investigaram a actividade biológica dos megacariocitos em culturas *in vitro* da medula óssea, não só de indivíduos normais, como também de casos patológicos que directa, ou indirectamente comportam alteração dos megacariocitos e das plaquetas. Verificaram não haver sincronismo maturativo entre o núcleo e o citoplasma, sendo neste que se dão

os processos fundamentais para a avaliação do grau de maturação. Nas culturas, às primeiras horas, nota-se uma excitação da actividade proliferativa, verificável pelo aumento dos megacariocitos jovens. A partir do 3.º dia, predominam as formas mais maduras que degeneram pelo 4.º ou 5.º dia.

Submetendo depois as culturas da medula óssea às colorações dos polissacáridos, puderam os AA. verificar que os megacariocitos das trombopénias perdiam o poder de acumular substância Hotchkiss-positiva, enquanto que os megacariocitos de trombopatias não trombopénicas se comportavam, em cultura, como os megacariocitos dos indivíduos normais.

Já Fieschi anteriormente tinha verificado que os megacariocitos da doença de Werlhof se mostram pobres de glicogénio e que, em cultura, não conseguem sintetizar polissacáridos, em contraste com o aumento da positividade da reacção de Hotchkiss dos megacariocitos normais quando postos em cultura.

Também Storti e Perugini referem diminuição da carga polissacárida em 2 casos de doença de Werlhof, tendo assistido à normalização dum deles depois da esplenectomia.

Na púrpura trombopénica experimental por imuno-soro, Ducla Soares e Parreira verificaram, do mesmo modo, diminuição da positividade da reacção de Hotchkiss nos megacariocitos dos animais injectados com soro anti-plaquetas e que sofreram de púrpura trombopénica aguda. Dissemos no início as razões por que interessava transportar estas observações para a doença do sono.

Aproveitámos 2 doentes vindos da Guiné portuguesa e que estiveram internados na enfermaria escolar do Hospital do Ultramar. Colhemos-lhe a medula óssea para punção esternal e cultivámo-lo pela técnica de Fieschi e Astaldi, examinando os megacariocitos antes e com 24, 48 e 60 horas de cultura.

No quadro seguinte, damos, de forma semi-quantitativa, os resultados verificados.

Percentagem de megacariócitos com os vários graus de deposição de polissacáridos	Doente André Gomes					Doente Assualô Pejancô				
	-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++
Antes . . . . .	20	31	15	16	18	22	35	13	13	17
24 horas . . . . .	8	22	25	31	14	6	20	21	36	17
48 horas . . . . .	19	28	46	4	3	14	26	41	9	10
60 horas . . . . .	17	30	41	7	5	16	27	39	11	7

- Nenhuma coloração vermelha do citoplasma.

+ Leve tom rosado do citoplasma.

++ Nítido tom rosado do citoplasma.

+++ Idem, com poucas granulações vermelhas.

++++ Idem, com muitas granulações vermelhas.

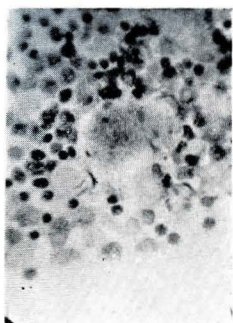
As micrografias (fig. 1 a 5) objectivam os resultados que obtivemos.

Verifica-se por eles que o comportamento dos megacariócitos da medula óssea dos doentes do sono não tem semelhança com o descrito por Sacchetti e Bianchini para os megacariócitos da púrpura trombopénica, antes se aproximando dos aspectos observados por estes AA. com a cultura de megacariócitos de trombopatias não trombopénicas.

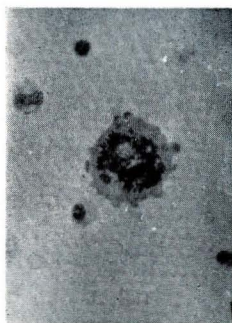
Estes dados confirmam, de certo modo, os registados por Trincão e col. quanto às alterações da coagulação sanguínea da tripanosomiase africana que também se não sobrepedem aos da púrpura trombopénica.

#### RESUMO

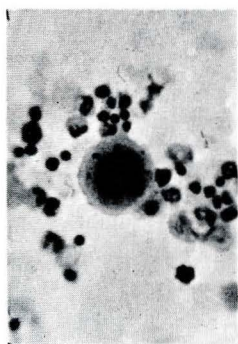
Os autores estudaram os resultados da coloração para os polissacáridos de Hotchkiss, nas culturas da medula óssea de 2 doentes do sono, tendo verificado que o comportamento desta coloração nos fragmentos da medula óssea recolhidos antes e ao fim de 24, 48 e 60 horas de cultura, diferem dos que Sacchetti e Bianchini descreveram na púrpura trombopénica, sobrepondo-se antes aos dos megacariócitos das medulas normais ou de medulas de trombopatias não trombopénicas.



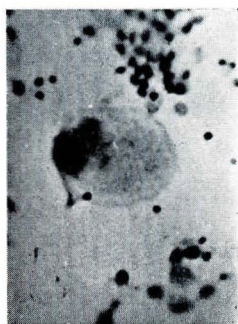
1



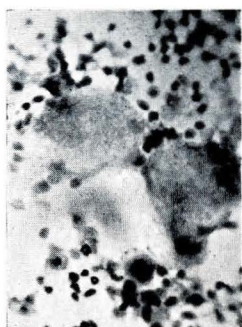
2



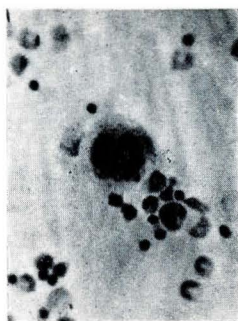
3



4



5



6

## RÉSUMÉ

Les auteurs ont étudié les résultats de la coloration des polysaccharides de Hotchkiss, sur les cultures de la moelle osseuse de 2 malades du sommeil, ayant constaté que les aspects de cette coloration, dans les fragments médullaires prélevés avant et au bout de 24, 48 et 60 heures de culture, différent de ceux que Sacchetti et Bianchini ont décrit dans le purpura thrombopénique, se superposant plutôt à ceux des mégakaryocytes des moelles osseuses normales ou de malades de thrombopathies non thrombopéniques.

## SUMMARY

The authors studied the results of Hotchkiss polysaccharide stain after having cultivated the bone marrow of 2 sleeping-sickness patients. In the bone marrow fragments observed before and after 24, 48 and 60 hours of incubation, the behaviour of the stained megakaryocytes does not agree with Sacchetti and Bianchini's description of the megakaryocytes of thrombopenic purpura cases, rather staining like megakaryocytes from normal subjects, or from subjects with non thrombopenic thrombopathies.

## BIBLIOGRAFIA

- BIANCHINI, E. e SACCHETTI, C. — *Haematologica*, 40: 53, 1955.  
DUGLA-SOARES, A. e PARREIRA, F. — *Gaz. Med. Portug.*, 9: 95, 1956.  
FIESCHI, A. — in «*Problemi attinenti alla coagulazione del sangue*». Atti del primo Simposio, Génova, Dicembre 1953, Ed. Prodotti Roche S. P. A., Milano.  
FIESCHI, A. e ASTALDI, G. — «*La cultura in vitro del midollo osseo*», ed. Tip. del Libro, Pavia, 1946.  
SACHETTI, C. e BIANCHINI, A. — *Arch. E. Maragliano Pat. Clin.*  
STORTI, E., PERUGINI, S. e SOLDATI, M. — *Medicina (Parma)*, 3: 145, 1953, *Publ. Clin. Biol. Med.*, 1, 1953 e *Acta haematol.*, 10: 144, 1953.  
TRINCÃO, G., GOUVEIA, E., NOBRE COUTINHO GOMES, M. P. — *Sangre*, para publicação.  
TRINCÃO, C. PARREIRA, F., ALMEIDA FRANCO e GOUVEIA, E. — *An. Inst. Med. Trop.*, 9: 737, 1953 e *Sang.* 24: 37, 1953.

Imprensa Portuguesa ★ Rua Formosa, 108-116 ★ PORTO