

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E FUNCIONAL DE CÉLULAS ADERENTES DE BAÇO DE CAMUNDONGO

ELIZABETH PEREIRA SAMPAIO, ANDRÉ LUIS MOREIRA & EUZENIR NUNES SARNO

A separação, caracterização e ensaio funcional das células inflamatórias presentes no local de lesão têm se tornado imperiosos no estudo de diversas doenças. Através da utilização de métodos histoquímicos para esterase e fosfatase ácida, bem como do Teste de Fagocitose e da coloração pelo Giemsa, realizados nas células esplênicas de dez camundongos, foi possível se caracterizar bem os componentes do Sistema Fagocítico Mononuclear e distinguir os outros tipos de células presentes, além de permitir a quantificação diferencial das mesmas.

A função de fagócitos mononucleares presentes no local de lesão resulta da interação de vários mecanismos moduladores da resposta imune local, determinando características específicas às diversas doenças (Basten et al., 1982). Sua caracterização explícita e diversos ensaios funcionais têm se tornado fundamentais em seus estudos mais específicos.

Para que se estabelecessem padrões técnicos adequados de separação e identificação de células aderentes tissulares, optou-se inicialmente pela identificação histoquímica e funcional em células esplênicas de camundongos, realizando-se uma avaliação crítica dos tipos celulares obtidos.

Foram utilizados dez camundongos albinos, "outbred", cujo baço é macerado, as células ressuspensas em MEM suplementado e incubadas a 37°C em uma atmosfera úmida com 5% de CO₂ (Hathcock et al., 1981). Os métodos de caracterização são feitos utilizando uma população celular aderente (obtida após 2 horas de cultivo) e aquelas mantidas em 48 horas de cultura. A histoquímica é feita através da detecção de alfa-naftil acetato esterase (ANAE) e fosfatase ácida (Fac) com incubação das células por 2 horas em soluções contendo os substratos específicos (Li, Lam & Yam, 1973 e Poore et al., 1981). A caracterização funcional, realizada através do Teste de Fagocitose segundo Hart & Young (1978), utiliza *Saccharomyces cerevisiae*.

O percentual de células positivas para ANAE e Fac e daquelas que continham duas ou mais leveduras foi obtido por contagem de pelo menos 200 células por lamínula, (em triplicata ou quadruplicata), e expressos como a média \pm desvio padrão dos valores obtidos.

Através do Teste de Fagocitose, monócitos e neutrófilos puderam ser identificados, no total de 42,6% \pm 1,3. Células blásticas vistas contendo a levedura foram caracterizadas como pertencentes ao Sistema de Fagócitos Mononucleares, uma vez que precursores de neutrófilos, rígidos e imóveis, são incapazes de ingerir partículas (Stossel, 1974). Quanto à histoquímica, 35,5% \pm 0,66 células foram positivas para esterase. Monócitos que coram difusamente em vermelho acastanhado foram o tipo celular predominantemente encontrado, representando 30% \pm 0,42 do total. Células com padrão de coloração para linfócitos T (presença de discreto grânulo citoplasmático adjacente à membrana celular) foram também observadas (5,5% \pm 1,28). Para Fac, os valores obtidos foram: monócitos — 41,1% \pm 1,1; linfócitos T — 3,3% \pm 1,02; total — 44,4% \pm 1,16.

A grande variedade de células que compõem o baço tornou praticamente impossível a obtenção de uma população aderente monocítica pura, como também, sua identificação por métodos que não histoquímicos e funcionais. Por exemplo, pelo Giemsa em 2 horas de cultivo, outros tipos celulares estavam presentes (eosinófilos, células plasmáticas, linfócitos B e outras de difícil identificação) os quais parecem reter, como os neutrófilos, a capacidade de aderir a superfícies como o vidro, mas morrem em dois a três dias (Drutz, Cline & Levy, 1974).

Quando as culturas foram mantidas por 48 horas, houve uma redução significativa da variedade celular sendo estas constituídas predominantemente por células fagocíticas mononucleares, como pode ser observado pelo Giemsa e pela histoquímica (Esterase — 84,2% \pm 0,83 e Fac — 86% \pm 1,25).

SUMMARY

The separation, characterization and functional assay of the inflammatory infiltrate present in the site of the lesion has been useful in the study of many diseases. Histochemical techniques for esterase and acid phosphatase, as well as the Phagocytose test and the Giemsa staining were applied to the study of the spleen-cell population of ten mice. A good characterization of the components of the Phagocytic Mononuclear System and the identification and quantification of the total cell population were obtained.

Trabalho realizado no Depto. de Patologia Geral da Faculdade de Ciências Médicas — UERJ, Av. Boulevard 28 de Setembro, 87, 20551, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Recebido para publicação em 18 de outubro de 1984 e aceito em 19 de fevereiro de 1985.

REFERENCES

- BASTEN, A.; McCAUGHAN, G.W.; ADAMS, E. & CALLARD, R.E., 1982. Human immunoregulation: a comentary. *Immunology Today*, 3 (7) :178-180.
- DRUTZ, D.J.; CLINE, M.J. & LEVY, L., 1974. Leukocyte antimicrobial function in patients with Leprosy. *J. Clin. Invest.*, 53 (2) :380-386.
- HART, P.D. & YOUNG, M.R., 1978. Manipulations of the phagosomelysosome fusion response in cultured macrophages. Enhancement of fusion by cloroquine and other amines. *Exp. Cell. Res.*, 114 :486-490.
- HATHCOCK, K.S.; SINGER, A. & HODES, R.J., 1981. Obtaining adherent cells from spleen. *In: Methods for studying mononuclear phagocytes.* Adam, D.O., et al. Academic Press, Inc., New York. 1st edition, 89-95.
- LI, C.Y.; LAM, W. & YAM, L.T., 1973. Esterase in human leukocytes. *J. Histochem. Cytochem.*, 21 :1-12.
- POORE, T.E.; BARRET, S.G.; KADIN, H.E. & BAINTON, D.F., 1981. Ultrastructural localization of acid phosphatase in rosetted T and B lymphocytes of normal human blood. *Am. J. Pathol.*, 102 :72-83.
- STOSSEL, T.P., 1974. Phagocytosis (First of three parts). *N. Engl. J. Med.*, 290 :717-723.