

PESQUISAS DE CITOLOGIA QUANTITATIVA. V: ESTUDO CARIO- MÈTRICO DAS CÉLULAS FOLICULARES E LUTEINICAS

POR CARLOS ALBERTO SALVATORE (*) E GIORGIO SCHREIBER (**)

(Do Laboratório de Citogenética, do Instituto Butantan, São Paulo, Brasil)

INTRODUÇÃO

a) Plano de Trabalho

Em prosseguimento às pesquisas cariométricas sobre tecidos em ativa reprodução e, com o intuito de investigar o crescimento nuclear durante a interfase iniciadas por um de nós (Schreiber), foi estudado o volume do núcleo das células da granulosa do folículo de Graf nas suas diferentes fases evolutivas desde o estádio do folículo primordial até a rutura e sua transformação em célula lutea.

Estas pesquisas fazem parte das que vem sendo executadas neste laboratório há alguns anos, utilizando-se para o estudo da interfase as modificações induzidas num determinado tecido por fatores fisiológicos específicos, quando estas modificações atuam por meio da multiplicação dos elementos específicos do tecido.

O estudo do ciclo fisiológico de um órgão, em consequência da ação de diferentes hormônios ou de diferentes limiares de concentração de um mesmo hormônio, a sua colocação em repouso consequente da ablação do órgão endócrino correspondente, como também, a substituição em doses maciças administradas do mesmo hormônio nestes animais privados da glândula, constituem os meios que o citologista pode utilizar para obter as células nas diferentes condições reprodutivas.

Como foi demonstrado nas pesquisas precedentes, as células uterinas respondem a estimulação hormonal com fenômenos de proliferação e de paradas desta proliferação, que podem ser controladas pelo pesquisador conforme as condições fisiológicas experimentalmente alteradas. Com estas pesquisas foi possível demonstrar que o crescimento "ritmico" dos núcleos é uma manifestação do crescimento interfásico, como também estabelecer os limites quantitativos do crescimento interfásico dos núcleos.

Recebido para publicação em 10-11-1947.

(*) Da Clínica Ginecológica da Faculdade de Medicina da Universidade de S. Paulo.

(**) Do Instituto Butantan (Laboratório de Citogenética).

Os intensos fenômenos multiplicativos das células granulosas e o aumento do tamanho das células luteínicas na sua origem e durante o crescimento do corpo amarelo na prenhez, nos induziram a tentar a aplicação das pesquisas cariométricas neste material, esperando também trazer uma contribuição ao problema da origem de célula lutea (*).

b) *O problema da formação do corpo amarelo.*

A formação do corpo luteo é assunto ainda não perfeitamente estabelecido, porquanto, segundo a opinião de um grupo de autores (4, 5, 9 e outros), essa glândula deriva das células da granulosa e, segundo outros (4) das células da teca interna.

Pelas recentes pesquisas, parece porém, não haver dúvida de que o corpo amarelo deriva pela maior parte das células da granulosa, através da hipertrofia dessas células.

Experimentalmente, com a utilização do método da colchicina, numerosos autores, entre os quais Allen (1) e Hoffman (8), encontraram diversas mitoses nas células da granulosa principalmente no período pré-ovulatório e, mesmo após a ruptura do folículo, dando a impressão de existir grande hiperplasia durante a formação do corpo amarelo. Porém, Schmidt (18) refere que a proliferação endotelial é a maior responsável pelas mitoses encontradas durante a formação do corpo luteo e, a grande maioria dos autores (1, 11, 10 e outros), afirmam que além das células luteas derivarem das células da granulosa, o aumento do corpo amarelo é conseqüente á hipertrofia celular.

Por conseguinte, parece estar demonstrado que sob a ação do hormônio hipofisario luteinizante, as células da granulosa se transformam em luteas e, que provavelmente as células foliculares que ainda entram em mitoses sejam aquelas que ainda estão sob a ação do hormônio gonado-estimulante folicular. Existiria portanto, uma verdadeira transformação celular tanto sob o aspecto morfológico como fisiológico. Assim, as células da granulosa que segundo vários autores secretam estrogênos, após essa transformação começam também a secretar outro hormônio, a progesterona.

Achamos interessante relatar detalhadamente esta situação do problema da origem das células luteas, pois as relações quantitativas entre os volumes nucleares das células luteas e as da granulosa nos indicam uma provável relação de origem entre estas duas categorias de células. A demonstração certa desta relação nos seria fornecida pelo estudo comparativo das células da teca, isto é, células de

(*) Devemos aqui assinalar o trabalho de E. Hintsche (Monatschr. Geburtsh. u. Gynaek. 120:200, 1945) sobre o tamanho nuclear das células foliculares e luteínicas humanas, que não nos foi possível consultar até esta data. Pesquisas atualmente em curso por um de nós (Salvatore) sobre o mesmo assunto parecem revelar que os mesmos fenômenos encontrados na rata se verificam também na mulher.

aspecto luteínico que se encontram no conjuntivo da teca interna do folículo de Graf, e que como relatamos acima, alguns autores consideram, ao menos em parte, como as células progenitoras das células luteas.

O estudo destas células apresenta maiores dificuldades do que o das outras categorias de células ovarianas, pela relativa raridade pelo menos na rata. Apesar do interesse embriológico e endocrinológico deste estudo comparativo, no presente trabalho deixamos de lado este problema que será relatado em trabalho sucessivo. Da mesma forma, deixamos para outro trabalho o problema do volume nuclear das células intersticiais que num ensaio preliminar revelou fenômenos interessantes de variações cíclicas que merecem uma apresentação mais detalhada.

MATERIAL E MÉTODOS

a) *Material*

Foram estudados os ovários de ratas da raça Wistar criadas no Instituto Butantan que foram contemporaneamente utilizadas para as pesquisas cariométricas dos tecidos uterinos (13). Em total foram estudados 14 casos (Tabela 1) nas diferentes fases fisiológicas que agrupamos da seguinte forma:

- 1) Folículos primordiais: dois grupos pertencentes a ovários diferentes.
- 2) Folículos em pleno desenvolvimento.
- 3) Folículos em transformação lutea.
- 4) Corpos amarelos transitórios.
- 5) Corpos amarelos gravídicos.

b) *Métodos*

Os ovários foram colhidos sempre com narcose pelo eter e fixados em Bouin alcoólico (Duboscq-Brasil) preparados em parafina e corados em Hematoxilina de Harris ou Heidenhain e eosina em cortes de 10 microns.

As medidas foram executadas com os mesmos princípios usados nos trabalhos precedentes (17,13), os quais resumimos brevemente. O núcleo (100-300) desenhado com a câmara lúcida a uma ampliação de 1890 diâmetros são medidos no desenho com um papel milimetrado transparente. Os núcleos são considerados esféricos o que em realidade se dá no corpo amarelo, ao passo que os núcleos da granulosa são frequentemente elipsoidicos. Pelo fato de não serem absolu-

tamente orientados, a medição deve ser feita como esfera de diâmetro médio entre os dois diâmetros (maior e menor) do núcleo desenhado.

Agrupados os valores em classes de 0,5mm foram construídos os histogramas das frequências e calculados os valores modais, com (1) Arkin e Colton (2) e o valor modal dos diâmetros transformado em volume da esfera correspondente ($V = d^3 : 1,91$). A Tabela 1 indica juntamente com os valores das frequências dos diâmetros, também os valores modais dos volumes calculados.

O critério teórico que preside a escolha deste procedimento já foi discutido minuciosamente nos trabalhos antecedentes. Lembramos somente que numa massa homogênea de núcleos em ativo crescimento interfásico, os núcleos que apresentam uma diminuta velocidade deste crescimento ou uma parada, aparecem no estudo cariométrico-estatístico como classes de máxima frequência. Portanto, os volumes modais representam os volumes nucleares nos quais os núcleos param depois de acabado um período de crescimento. Este tipo de crescimento com diferentes velocidades alternadas com paradas é chamado "crescimento rítmico" ou "periódico" e, a sua significação causal já foi discutida nos trabalhos citados.

Nos folículos onde se encontram mitoses, foi calculado o *index mitótico* ou seja o número de mitoses em 100 núcleos medidos. Este valor também está na Tabela 1.

Nos folículos em que as mitoses aparecem com maior frequência, foi possível também medir algumas profases. O volume deste estágio do ciclo nuclear foi por nós considerado em trabalhos anteriores com particular atenção, pois constitui uma etapa fixa do ciclo nuclear e praticamente delimita o fim de um ciclo de crescimento interfásico e contemporaneamente permite deduzir a natureza interfásica das variações volumétricas cíclicas observadas.

Com os dados da Tabela 1, foram construídos os histogramas da Fig. 1.

Com os valores modais foi construído o gráfico da Fig. 2 que indica claramente as relações quantitativas entre estes valores.

Apesar de que o exame de cada histograma isolado poderia sugerir dúvidas em sentido puramente estatístico sobre a realidade das modas que nelas aparecem, o exame comparativo do conjunto de todos os histogramas revela uma perfeita correspondência entre estes valores modais nos diferentes casos estudados e, como será evidenciado mais adiante, às vezes uma moda que é secundária num estágio, torna-se moda principal num outro estágio, evidenciando assim a realidade biológica deste valor conseqüente ao tipo de crescimento rítmico do material estudado.

TABELA I.

N.º do Protocolo	FASES	VALOR MODAL (Volume)										DIAMETRO NUCLEAR										N.º de núcleos	Índice Mitótico			
		9	9,5	10	10,5	11	11,5	12	12,5	13	13,5	14	14,5	15	15,5	16	16,5	17	17,5	18	18,5			19	19,5	20
1	Folículo primordial	1	11	17	32	24	7	—	1																93	0.
8	"	1	3	7	18	6	2	6	2																45	0.
4	Folículo em desenvolvimento		4	15	28	7	27	29	18	13	12	4	1												158	2,5
7	"		6	14	15	6	30	37	25	23	29	14	4	1											204	9,8
13a	"	6	34	10	28	20	25	47	29	22	45	10	1												277	6,4
13b	"	2	15	8	43	23	30	44	9	15	25	15	5												234	6,8
30	Folículo em trans-formação lútea	1	8	7	21	17	9	26	7	8	16	3	2												125	1,5
13a	"		2	—	3	4	4	10	8	6	14	3	5	1											60	1,6
9	Corpo lúteo								2	8	30	35	22	20	15	8	3	—	—	1	1				145	0.
10	"								1	3	24	28	48	40	12	1									158	0.
26	"								7	12	31	31	29	18	2	1									131	0.
8	"								2	6	4	10	18	15	8	1									90	0.
38	Corpo lúteo gravídico								4	5	7	14	43	37	20	12	26	5	1	3	1	1	3	3	225	0.
22	"								1	6	18	33	27	21	17	36	12	10	3	10	9	1	4	5	213	0.
13a,b 17	Profases foliculares										6	8	6	1											21	—
	Media das modas		539	685	1012	1123	2088	2961	3270	4157																

RESULTADOS

a) *Folículos primordiais* (Prot. 1 e 8):

Designamos como *folículos primordiais* e revestimento de uma só camada de células foliculares ao redor do ovocito. Como cada folículo é composto de um número reduzido de células, reunimos os dados das medidas de mais ou menos uma dezena de folículos primordiais dos ovários pertencentes a um mesmo animal.

Os dois animais sobre os quais as medidas foram feitas estavam ambos em diestro. Os histogramas possuem um único máximo ao valor da classe de diâmetro 11 — 11,5. Num caso existe uma ligeira tendência a uma moda na classe 13. Em nenhum caso foi encontrado mitoses. Estes dados são representados na Fig. 1.

b) *Folículo em desenvolvimento* (Prot. 4, 7, 13a e 13b):

O folículo em fase de desenvolvimento representa um tecido homogêneo em grande atividade mitótica e fornece um campo de pesquisa de grande interesse. Os histogramas (Fig. 1) ilustram o quadro cariométrico desta fase que provem de dois animais respectivamente em proestro (n. 7) e estro (n. 13b). De cada folículo foram medidos aproximadamente 200 núcleos. Todos apresentam três distintos valores modais respectivamente nas classes de diâmetro de vol. modais aproximados: 11 — 12,5 — 14 (vol. 700, 1050, 1400). Em dois casos (n. 13a-b) aparece um valor modal ao diâmetro 10. Não podemos dar a este valor modal uma significação precisa por ser somente ligeiramente acentuada e não na totalidade dos casos estudados. Não podemos excluir que estes núcleos pequenos sejam telofásicos, porém, numa pesquisa que será objeto de um trabalho sucessivo sobre as células intersticiais do ovário, encontramos este valor modal na classe 10 como moda principal desta categoria de células.

Nos folículos em desenvolvimento se encontram numerosas mitoses. As profases medidas isoladamente tem um valor modal na classe 14 (vol. 1400), isto é, coincide perfeitamente com o terceiro valor modal dos núcleos interfásicos.

A frequência das mitoses nestes folículos, por nós encontrada é mais ou menos de 6 a 10%, algarismo este que coincide satisfatoriamente com os dados conhecidos na literatura (Micr. Fig. 4).

TABELA II
Diâmetro Nuclear

N. do protocolo	Folículo em transformação lutea	Valor Modal (volume)			10	10,5	11	11,5	12	12,5	13	13,5	14	14,5	15	15,5	16	N. de núcleos	índice mitótico
		715	998	1406															
13	Zona central (B)				2	4	11	10	9	21	8	3	4	2				74	1,3
13	Zona periférica (A)			1436			2	1	3	4	8	5	20	6	2	2	2	54	—

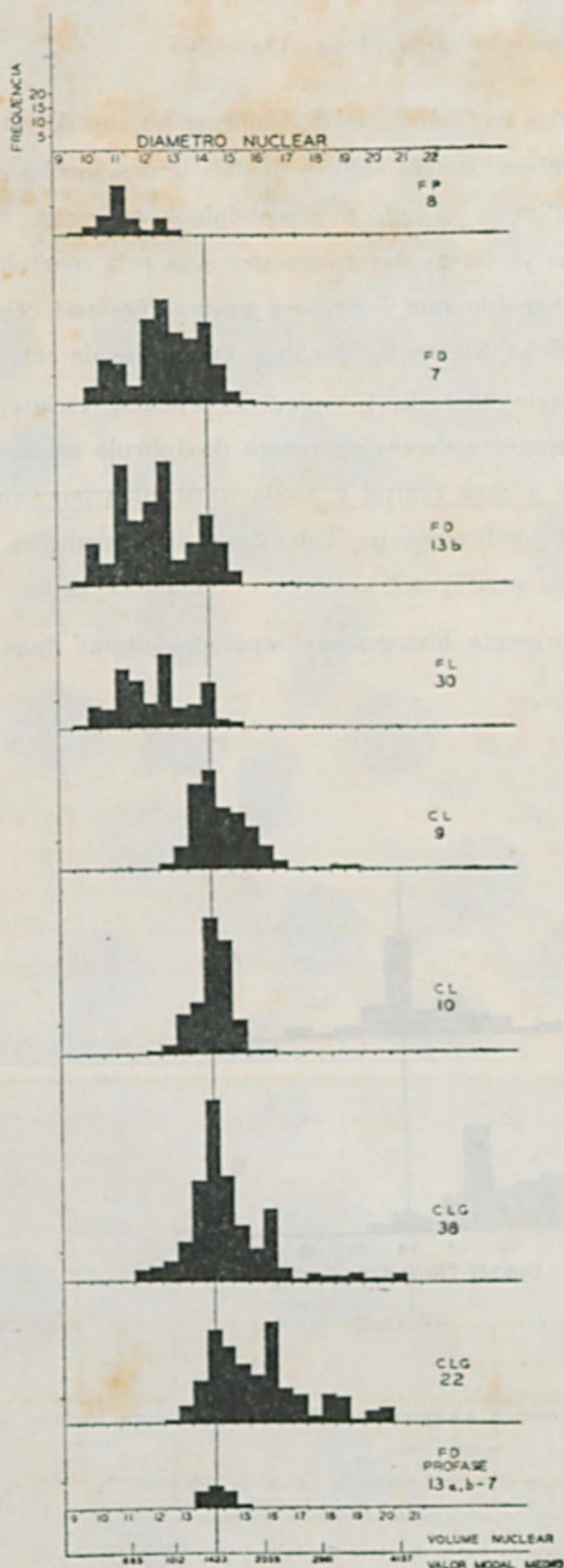


FIG. 1 — Histogramas dos diâmetros nucleares das células foliculínicas e luteínicas. FP — Foliculo primordial. FD — Foliculo em desenvolvimento. FL — Foliculo em transformação lutea. CL — Corpo Amarelo transitório. CLG — Corpo Amarelo gravídico.

Os números correspondem as indicações de protocolo da Tabela I.

c) *Folículo em transformação lutea* (Prot. 13a e 30):

Os dois casos representados na Tab. 1 respectivamente no fim do estro (30- e estro (13a), apresentam também os três valores modais iguais aqueles do folículo em desenvolvimento. Porém, devido a possibilidade às vezes bastante clara, de diferenciar as células já luteas das foliculares seja pela morfologia do núcleo, seja pelo citoplasma basófilo que é rico em granulações nas células luteas, tentamos fazer uma medição diferencial das duas categorias de células contemporaneamente presentes nesta fase do folículo. Precisamos esclarecer que as células luteas começam a aparecer depois da ruptura do folículo na zona mais periférica deste, ao passo que a zona central é ainda constituída por células da granulosa residuais. Portanto, indicamos na Tab. 2 as duas medições com a notação "zona central" e "zona periférica".

O gráfico da Fig. 2 representa histogramas separados destas duas partes do folículo em transformação.

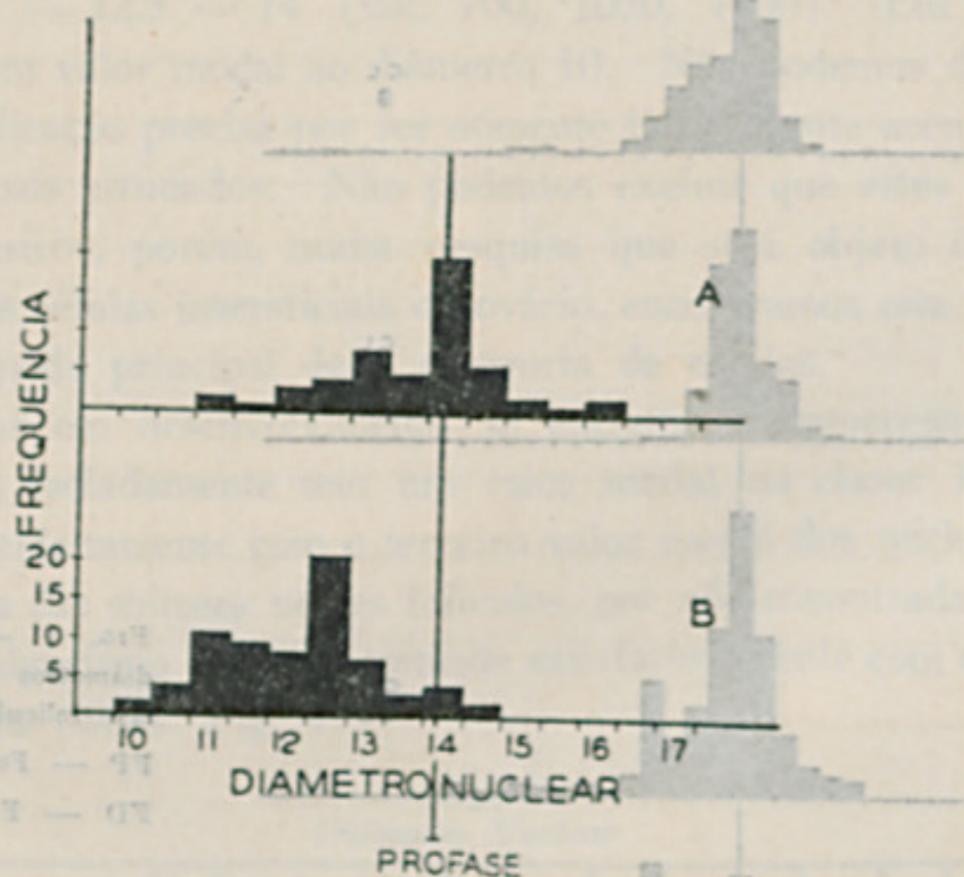


FIG. 2 — Histograma dos diâmetros nucleares das células do folículo em transformação lutea.

A) Zona periférica, predominantemente de células já luteínicas.

B) Zona central, predominantemente de células foliculares.

A linha vertical indica o diâmetro da classe das profases foliculares. Vide Tabela II.

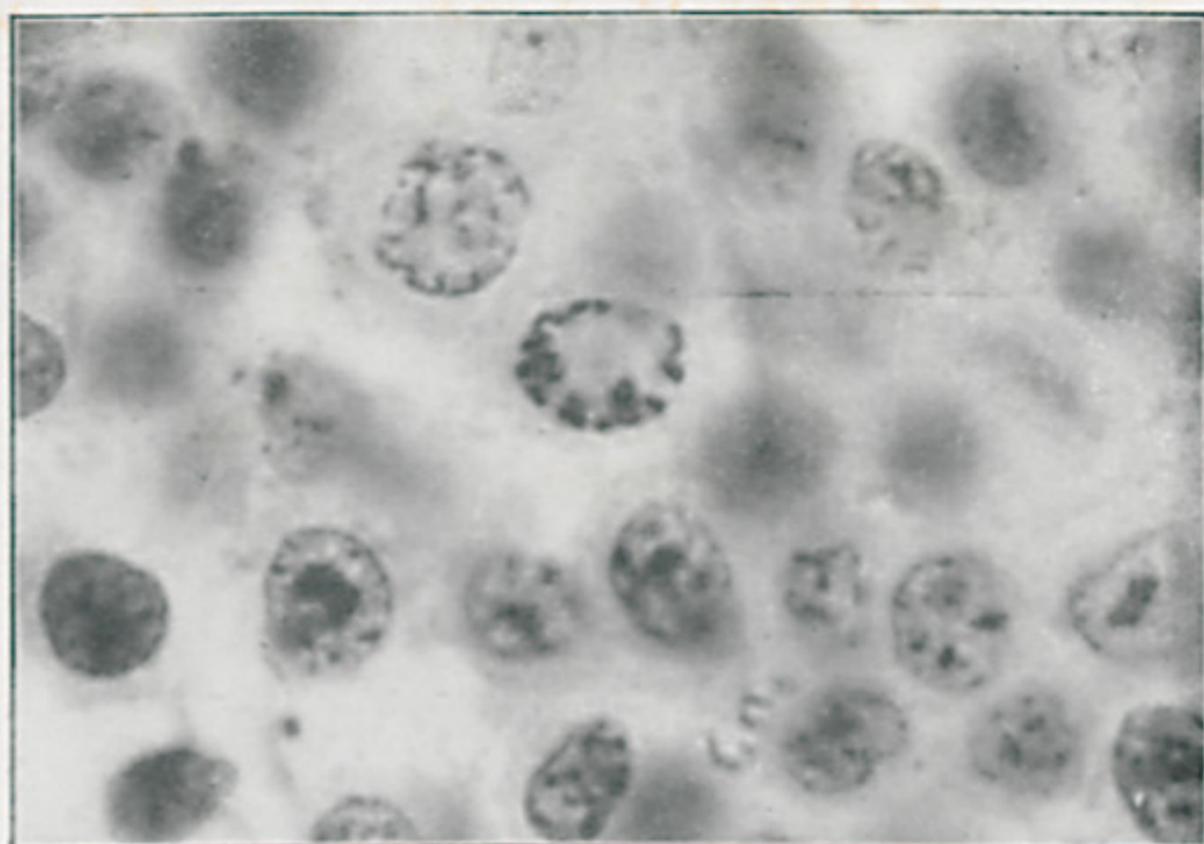


FIG. 3 — (Microfotografia)
Células foliculínicas com duas
profases,
× 1.480

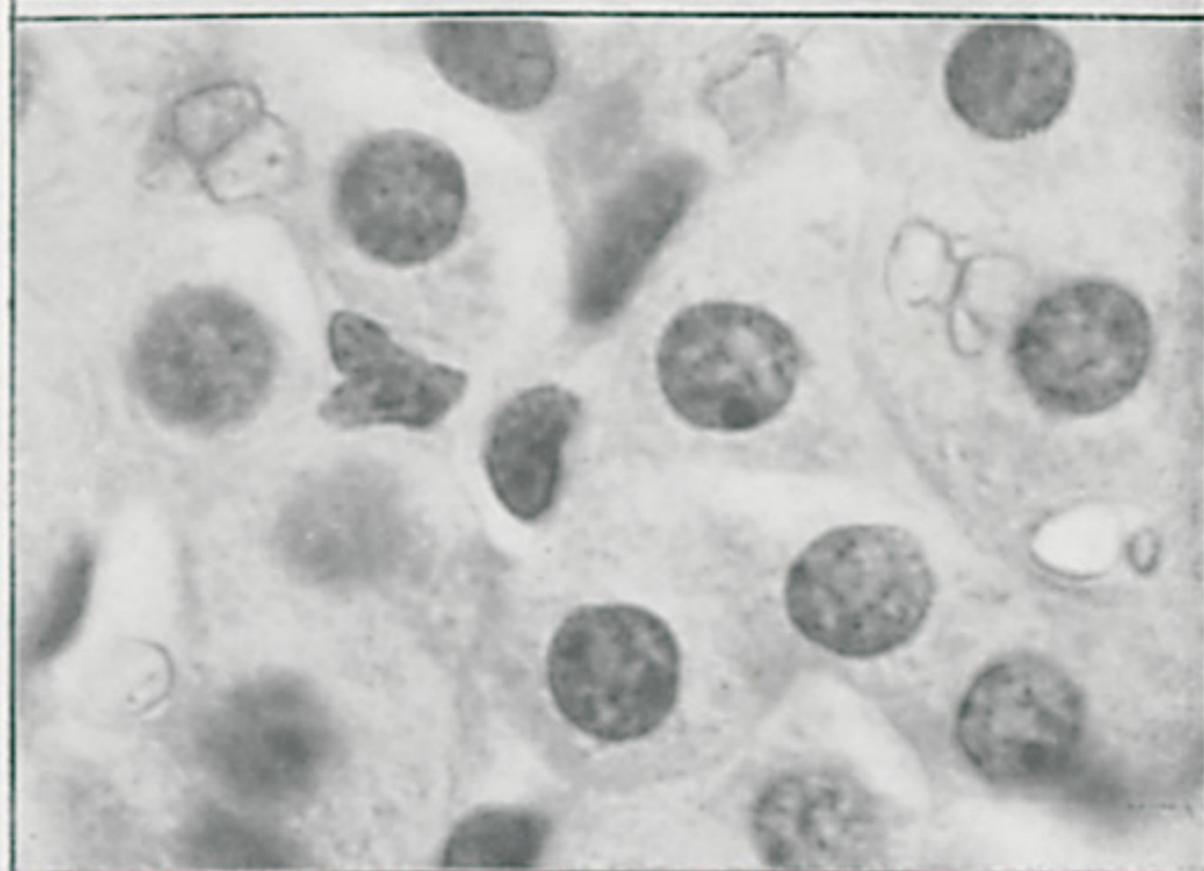


FIG. 4 — (Microfotografia)
Células luteínicas de corpo
amarelo transi-
tório. × 1.480



FIG. 5 — (Microfotografia)
Células luteínicas de corpo
amarelo gravi-
dico × 1.480

As células foliculares tem valores volumétricos modais iguais aos das células do folículo em desenvolvimento, isto é, diâmetros 11 — 12,5 — 14 (vol. 700, 1050, 1400) ao passo que as células luteas estão predominantemente na moda 14 (vol. 1400). Devido ao fato de ter-se fases intermediárias da célula da granulosa na transformação lutea, fases nas quais a morfologia celular não permite as vezes uma clara classificação da célula, as curvas de frequência da Fig. 3 não devem ser consideradas como absolutamente puras. O resultado da medição do corpo amarelo, como será indicado adiante confirma o valor modal da classe 14 para as células luteas, e, exclue as classes inferiores para esta categoria de células pelo menos no corpo amarelo perfeitamente constituído.

d) *Corpo amarelo transitório* (Prot. 8, 9, 10 e 26):

Os quadros casos estudados encontram-se em metaestro (N.º 9, 10, 16) e diestro (N.º 8). Os histogramas são todos unimodais com moda na classe de diâmetro 14 (vol. 1400), geralmente bem regulares, excetuando o do N.º 9 que apresenta um pequeno número de células muito grandes. Devemos salientar a absoluta ausência de mitoses.

O aspecto morfológico do núcleo das células luteas é particularmente diferente do das células foliculares, e muito homogêneo. Observam-se poucas e diminutas granulações cromatínicas e nucleólo fortemente basófilo muito regular como demonstra as microfotografias (Fig. 3, 4, 5).

e) *Corpo Amarelo gravídico* (Prot. 38 e 22):

O corpo amarelo No. 38 pertence a um animal sacrificado no 14.º dia de prenhez e o N.º 22 ao 20.º dia.

O histograma nos dois casos apresenta uma moda principal perfeitamente coincidente com a IIIa. moda do folículo (diâmetro 14: vol. 1400) e, uma segunda moda perfeitamente distinta na classe de diâmetro de 16 (vol. 2058). Além disso os dois casos apresentam valores nucleares maiores. Para definir com maior exatidão estes valores, foram escolhidos estes nucleos grandes, medidos isoladamente e unidos depois estes valores aos demais do histograma. Esta maneira de proceder é justificada no caso em que interessa exclusivamente o valor modal e não a porcentagem das diferentes frequências de células no total.

As modas que assim aparecem tem aproximadamente valores de diâmetro nas classes 16,5 e 18,5 (respectivamente volumes 3000 e 4000). Também nos corpos amarelos gravídicos faltam por completo as mitoses.

DISCUSSÃO

Representamos em forma sintética no Gráfico da Fig. 7 os resultados acima analisados. Destes resalta em primeiro lugar uma diferença fundamental entre a célula da granulosa e a célula lutea no que se refere ao mecanismo de aumento e reprodução. O folículo apresenta uma variação de volume nuclear que abrange o intervalo desde o valor da moda I até a III, e este intervalo constitue uma duplicação do volume nuclear. Os valores das profases indicam que a moda III representa o va'or terminal deste ciclo.

O corpo amarelo transitório tem uma constituição nuclear absolutamente homogênea com o volume modal (1400) igual ao volume máximo da célula granulosa interfásica e ao volume da profase da granulosa.

O corpo amarelo gravidico além destes volumes, apresenta uma segunda moda perfeitamente distinta, de volume 1,5 maior do que a moda 1400, além de uma pequena, pouco distinta que representa núcleos de volume maior ainda. Devido ao pequeno número destes núcleos e a maior variabilidade dos núcleos grandes, é bastante difícil estabelecer com exatidão o valor destas modas superiores.

O folículo tem um mecanismo de multiplicação celular por mitose e o quadro cariométrico praticamente é o mesmo que foi verificado por um de nós durante as mitoses espermatogoniais, (Schreiber, 15,17). Os núcleos duplicam o seu volume e dividem-se em seguida, dando dois núcleos que, depois da reconstrução télofásica tem cada um o volume exatamente metade do da profase. Durante este crescimento, cuja natureza interfásica vem sendo demonstrada justamente pelo limite representado pela profase, os núcleos param a um volume intermediário de mais ou menos 1,5 vezes o volume inicial. Esta parada, nos trabalhos anteriores foi repetidamente verificada nos demais núcleos interfásicos e chamada "sesquifase" por Schreiber (14-15-16-17). Este valor corresponde as assim chamadas "Zwischenklassen" encontradas em pesquisas cariométricas por vários autores, (Brummelkamp (3) e Hertwig (7). (*)

Ao contrário, o corpo amarelo, nunca apresenta mitoses, mas pelo crescimento tipicamente "rítmico" dos seus núcleos devemos deduzir que apresenta um crescimento com duplicação do volume o que indica ser o crescimento nuclear um processo endomitótico, excluindo portanto, fenômenos de simples embebição. Precisamos esclarecer que usamos este termo de endomitose, no sentido mais amplo, para indicar o processo de duplicação do conteúdo gênico nuclear indiferentemente do fato de se separar os produtos da multiplicação dos genomas em cro-

(*) Nos trabalhos de Schreiber (14, 15, 16, 17) está tratada a discussão sobre a significação desta fase, como também aquela do crescimento "rítmico" dos núcleos.

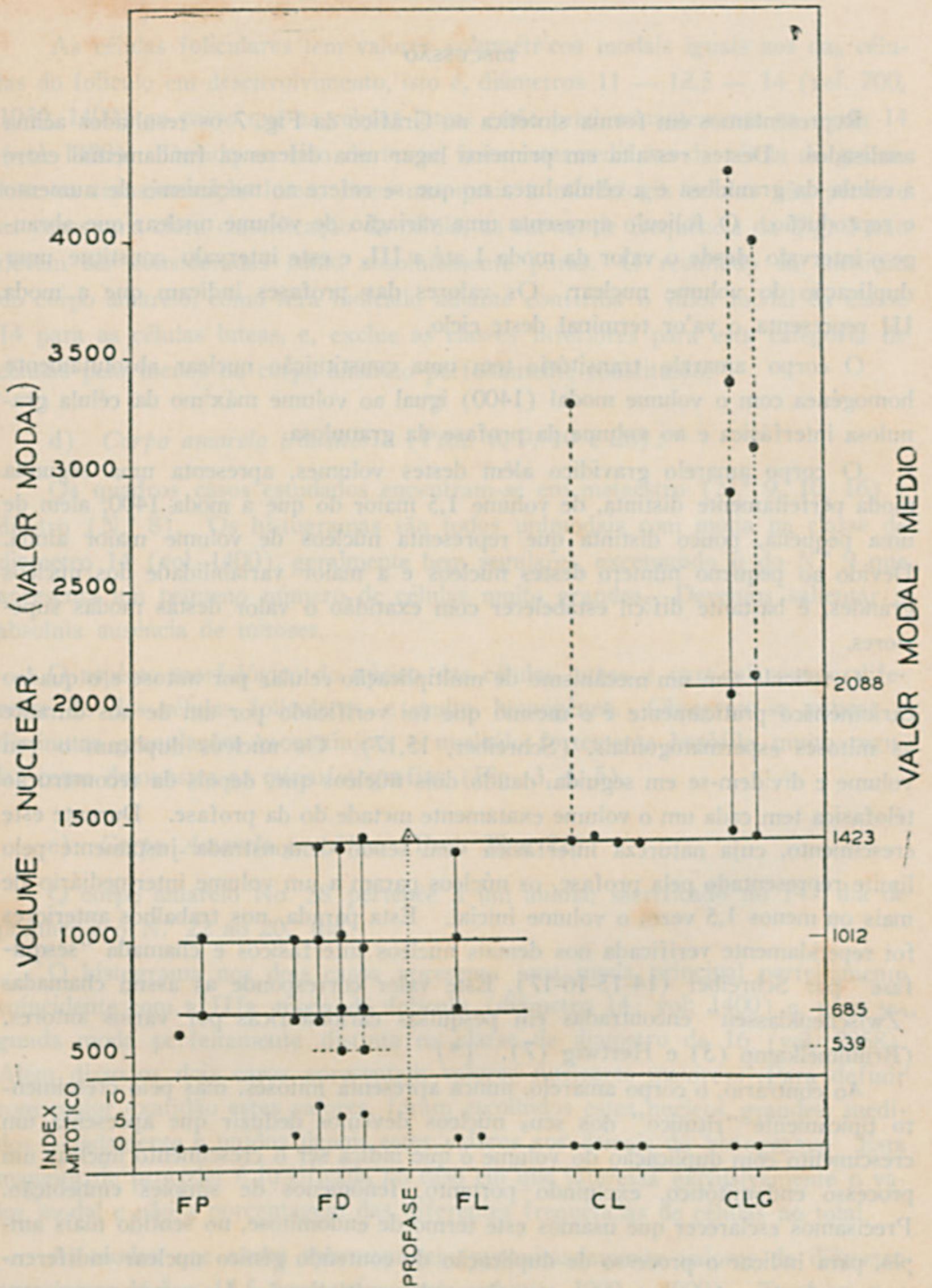


FIG. 6 — Diagrama dos valores modais dos histogramas da Fig. 1 e do Index Mitotico. Mesmas indi-
cações como na Fig. 1. — Ordenadas a direita: médias dos valores modais.

mosomas, em número poliploide ou ficar reunidos em cromosomas politenicos. Além disso, este processo pode manifestar fenômenos de fases morfológicas endomitóticas como as descritas por Geitler como também pode faltar qualquer manifestação de natureza cromatinica, como seja nas células do ileum dos mosquitos. De fato, nos núcleos do corpo amarelo nunca tivemos, pelo menos na rata, ocasião de observar modificações da morfologia do núcleo que fica sempre claro com nucléolo fortemente basófilo bem evidente e de volume maior nas células maiores.

Como foi indicado mais acima é geralmente aceito que pelo menos a maioria das células luteas se originam por transformação da granulosa, ficando aberto o problema da origem, significação e participação das tecais, na formação do corpo amarelo.

Podemos, por conseguinte, admitir que a transformação da célula da granulosa em célula luteinica atinge o mecanismo de reprodução celular. Ao se transformar em célula lutea a célula granulosa perde a capacidade de dividir-se mitoticamente continuando porém, o processo de multiplicação interna que a leva a volumes nucleares de valor múltiplo superior.

É geralmente admitido que o corpo amarelo cresce por hipertrofia das células e não por hiperplasia. Portanto, se considerarmos o crescimento ritmico, como uma forma de reprodução "interna" do material nuclear, sem divisão do núcleo e da célula que é o processo fundamental do crescimento do corpo amarelo, na realidade o crescimento nuclear permanece sempre o mesmo: *multiplicação do genoma nuclear*.

Nesta altura achamos interessante ligar estas conclusões com as idéias de Painter (12) acérca da participação do núcleo nos fenômenos secretórios das células. Estudando três tipos diferentes de células glândulares dos insetos, Painter esclarece que todas as vezes que a célula necessita de ácidos nucleinicos para a síntese das proteínas do citoplasma, o núcleo participa da sua formação com a multiplicação dos seus genômas que representam o mecanismo fundamental da síntese das nucleinas, ulteriormente elaboradas e fornecidas ao citoplasma por meio da heterocromatina e do nucléolo. Esta multiplicação dos genômas se dá em certas células através de repetidos ciclos mitóticos que levam a um desenvolvimento hiperplástico da glândula, e em outras, pelo contrário, se estabelecem núcleos fortemente poliploides ou politenicos gigantes característicos de muitas glândulas.

Painter (12) relaciona estes fenômenos nucleares com a elaboração de proteínas citoplasmáticas mesmo reconhecendo que ainda não é bem conhecida a natureza da secreção salivar dos Dipteros e admitindo que a "gordura" das células adiposas dos insetos seja relacionada com fosfolipideos eventualmente ligados com nucleoproteinas.

Por conseguinte, podemos levantar o problema se também os fenômenos nucleares de natureza "interfásica" evidenciados nas células foliculínicas e luteínicas possuem a mesma significação dos esclarecidos por Painter mesmo que, pelo menos na última fase da elaboração da secreção, esta não seja de natureza proteica.

É importante frisar, que paralelamente à substituição dos mecanismos reprodutivos das células acima indicado, se dão profundas modificações do quimismo.

Ainda não estão perfeitamente esclarecido se a célula lutea é ainda capaz de produzir foliculina, mas está bem demonstrado que ela assume a nova capacidade de secretar progesterona. Se a formação do novo hormônio é consequência da situação múltipla do genoma nuclear da célula lutea, é assunto que não é aqui o caso de indagar: podemos somente lembrar que a poliploidização ou o estado politenico dos cromosomas das células traz como consequência, as vezes modificações do seu metabolismo como foi estudado nos vegetais e como salienta Frankhauser (6), analisando os casos de poliploidismo nos anfíbios.

CONCLUSÕES

1) A célula da granulosa folicular se multiplica por mitose apresentando o seu núcleo um crescimento interfásico limitado a um intervalo de duplicação de volume nuclear, com uma etapa intermediária de 1,5 vezes o volume inicial e limitado superiormente pelo volume da profase (700, 1050 e 1400).

2) A célula lutea tem no corpo amarelo transitório um volume nuclear exatamente igual ao das profases foliculares (1400) e no corpo amarelo gravídico este volume cresce ulteriormente com ciclos de crescimentos ritmicos (1400), 2100 e 2800).

3) O conjunto dos volumes modais das células foliculares e luteas forma uma série única que corresponde perfeitamente àquela previamente evidenciada nas células uterinas, isto é, uma sucessão de ciclos de duplicação com etapas intermediárias a 1,5 o valor inicial de cada ciclo (sesquifase): 700, 1050, 1400, 2100, 2800 ou seja 1: 1,5: 2: 3: 4: 6: etc.

4) O fato dos valores ritmicos do crescimento da célula lutea constituírem múltiplos superiores dos volumes ritmicos da célula da granulosa, embora não constitua a prova definitiva, pode ser argumento favorável para apoiar a idéia da transformação lutea da célula granulosa.

RESUMO

Foram estudados com método estatístico-cariométrico os volumes nucleares das células foliculares e luteínicas da rata albina (Wistar). Estas pesquisas continuam a série de investigações sobre o crescimento interfásico em tecidos em atividade reprodutiva com o intuito de esclarecer os fenômenos de

“crescimento rítmico” dos núcleos aproveitando de condições fisiológicas dos tecidos que favorecem o estudo da multiplicação celular.

Os fenômenos encontrados são os seguintes: As células foliculares tem um ciclo de proliferação no qual o volume nuclear cresce a partir de um volume básico (700) até atingir o duplo e depois entram na profase dividindo-se em seguida. Durante este crescimento os núcleos apresentam uma parada transitória depois de alcançado o volume 1,5 vezes aquele inicial (± 1050). Este ritmo de crescimento coincide perfeitamente com aquele evidenciado por Schreiber nas espermatogonias de ofídeos.

Os núcleos das células luteínicas no corpo amarelo transitório são todas de um volume igual aquele da profase das células foliculares (1400). No corpo amarelo gravídico dá-se um ulterior crescimento sem divisão, de tipo “rítmico”, isto é, com valores descontínuos e proporcionais ao valor básico. A série formada por estes valores continua perfeitamente aquela dos núcleos da célula folicular e constituem uma série de ciclos de duplicação nos quais existe uma etapa intermediária de um volume 1,5 vezes o valor inicial de cada ciclo. Esta etapa em trabalhos anteriores de Schreiber foi chamada de “sesquitase” e foi verificada também no crescimento rítmico dos núcleos das células uterinas.

E discutido o problema da origem das células luteínicas, e o fato de estas células iniciar seu crescimento com um volume nuclear correspondente ao máximo existente nas células foliculares e continuar com valores múltiplos deste volume é apontado como uma possível comprovação da teoria da origem folicular das células luteínicas.

ABSTRACT

The nuclear volumes of the follicular and luteal cells of the female albino rat Wistar were studied by means of the statistical-cariometric method. These investigations follow up a series of studies on the interphasic growth in tissues in reproductive activity in order to make clear the phenomenon of “rhythmic growth” of nuclei, making use of the physiological conditions of tissues which favor the study of cellular multiplication.

The following phenomena were found: The follicular cells show a mitotic cycle of proliferation in which nuclear volume grows from a basic volume until it doubles in volume. They then enter the prophase and finally divide. During this growth, the nuclei show a transitory stop after reaching a volume of 1.5 times that shown at the beginning. This rhythm of growth coincides perfectly with that shown by Schreiber in the spermatogonia of snakes.

The nuclei in luteinical cells of the transitory corpus luteum are all of the same volume as in the prophase of follicular cells. In the corpus luteum of pregnancy, an ulterior growth without division is observed. This is of the “rhythmic” type, that is, with discontinued values and proportional to the basic value. The series formed by these values continues perfectly that of the nuclei

of the follicular cell and constitutes a series of duplicate cycles in which exists an intermediate stage of volume 1.5 times the initial value of each cycle. In previous works of Schreiber, this step was called "sesquiphase" and was also verified in the rhythmic growth of the nuclei of uterine cells.

The problem of the origin of luteal cells is discussed. The fact that these cells begin their growth with a nuclear volume corresponding to the maximum existing in the follicular cells and continuing with multiple values of this volume is pointed out as possible proof of the theory of the follicular origin of luteal cells.

RIASSUNTO

I volumi nucleari delle cellule della granulosa follicolare e del corpo luteo di Ratta albina (Wistar) vennero studiati col metodo "statistico-cariometrico" già usato dagli AA in pubblicazioni precedenti. Queste ricerche continuano una serie di indagini sul ritmo dell'accrescimento del nucleo interfaseico nei tessuti in attività mitotica nei quali possibile controllare questa attività durante le differenti condizioni fisiologiche specifiche del tessuto.

I fenomeni verificati durante queste ricerche furono i seguenti:

La cellula follicolare presenta un ciclo di proliferazione mitotica durante il quale il suo nucleo cresce a partire da un volume basico fino a raggiungere il duplo di questo volume iniziale e successivamente si divide. I nuclei profasici si trovano tutti al volume doppio del basico. Durante questo accrescimento interfaseico I nuclei presentano un tappa intermediaria ad un volume 1.5 volte quello basico iniziale. Questo ritmo di accrescimento interfaseico corrisponde perfettamente con quello previamente descritto da Schreiber negli spermatogoni di Ofidi.

I nuclei delle cellule del corpo luteo transitorio sono tutti ad un volume eguale a quello delle profasi follicolar cioè duplo del volume basico follicolare. Nel corpo luteo gravidico si ha un accrescimento ulteriore del nucleo senza divisione. Questo accrescimento è di tipo "ritmico" cioè con una successione di periodi di accrescimento e di pause, essendo I volumi raggiunti in queste pause multipli del volume iniziale. La serie di questi valori continua perfettamente quella dei volumi del ciclo della cellula follicolare e costituisce una successione di cicli di duplicazione dentro al quali esiste la tappa intermedia di 1.5 volte il volume iniziale di ogni ciclo. Questa fase intermedia venne analizzata da Schreiber in pubblicazioni precedente denominata, "sesquifase". Essa venne verificata dagli AA anche nel ciclo di accrescimento interfaseico delle cellule uterine.

Viene anche discusso il problema dell'origine delle cellule luteiniche e viene messo in evidenza il fatto che I nuclei di queste cellule iniziano il loro accrescimento ad un volume corrispondente al volume massimo raggiunto nella interfase delle cellule follicolar, e suggeriscono questo fatto come una possibile conferma della teoria dell'origine follicolare delle cellule luteiniche.

BIBLIOGRAFIA

1. Allen, E. — Sex and internal secretions, William & Wilkins, Philadelphia, pp. 457, 1939.
2. Arkin, H. & Colton, R. R. — An outline of statistical methods, 4th Ed., Barros & Noble, New York, pp. 23, 1942.
3. Brummelkamp, R. — Das Sprungweise Wachstum des Kernmasse, *Acta Neerlandica Morphologiae*, 2:177, 1939.
4. Chiarugi, G. — Trattato di Embriologia, Soc. Ed. Libreria Milano, pp. 142, 1939.
5. Corner, G. — Cyclec changes in the ovaries and uterus of the sow and their relation to mechanism of implatation, *Cont. to Embriology*, 13s13, 1939.
6. Fankhauser, G. — The effects of changes in chromosome number on amphibian development, *Quart. Rev. Biol.*, 20:20, 1945.
7. Hertwig, G. — Abweichungen von dem Verdoppelungswachstum der Zellkerne und ihre Deutung, *Anat. Anzeiger*, 87:65, 1938-1939.
8. Hoffman, F. — Female Endocrinology, W. B. Saunders, Philadelphia, pp. 8-12, 1944.
9. Meyer, R. — Uber das Stadium proliferationis hyperaemicum sowie uber dem Begriff und die Abgrenzung des Blutestadiums des Corpus luteum beim Menschen, *Arch. Gynak.*, 142:315, 1932.
10. Mossman, H. W. — The thecal gland and its relation to the reproductive cycle, *Am. J. Anat.*, 61:289, 1937.
11. Novak, E. — The Corpus Luteum. Its life cycle and its role in menstrual disorders, *J.A.M.A.*, 67:1285, 1916.
12. Painter, T. S. — Nuclear phenomena associated with secretion in certain gland cells with special reference to the origin of cytoplasmic nucleic acid, *J. Exp. Zool.*, 100:523, 1945.
13. Salvatore, C. A. & Schreiber, G. — Pesquisas de citologia quantitativa. IV: Pesquisas cariométricas no ciclo estral e gravídico, *Memórias do Instituto Butantan*, 20:39, 1947.
14. Schreiber, G. — O volume do núcleo durante o desenvolvimento embrionário e a interíase, *Revista de Agricultura (Semana da Genética-Piracicaba, Brasil)*, 18:453, 1943.
15. Schreiber, G. — Pesquisas de citologia quantitativa. O crescimento interíásico da espermatogonia nos ofídeos, *Rev. Bras. Biol.*, 6:199, 1946.
16. Schreiber, G. — Pesquisas de citologia quantitativa. II: A terceira divisão e a dimegalia na espermatogênese dos ofídeos, *Comunicação à 1.ª Reunião Conjunta das Soc. Bras. biol.*, S. Paulo, 1946.
17. Schreiber, G. — O crescimento interfásico do núcleo. Pesquisas cariométricas na espermatogênese dos ofídeos, *Memórias do Instituto Butantan*, 20:111, 1947.
18. Schmidt, J. S. — Mitotic proliferation in the ovary of the normal mature guineapig treated with colchicine, *Am. J. Anat.*, 71:245, 1042.

BIBLIOGRAPHIA

1. Allen, E. — Sex and internal secretion, *William & Wilkins*, Philadelphia, pp. 457, 1939.
2. Klein, W. S., Cotton, A. W. — An outline of statistical methods, 4th Ed., *Barney & Noble*, New York, pp. 23, 1942.
3. Braunstein, R. — Das Sprünge-Wachstum des Keimstockes, *Acta Anatomica*, 2:177, 1939.
4. Chiarugi, G. — Trattato di Embriologia, Soc. Ed. Libreria Milanese, pp. 145, 1939.
5. Coover, G. — Cycle changes in the ovaries and uterus of the sow and their relation to mechanism of implantation, *Conn. Ac. Embryology*, 13:13, 1939.
6. Fankhauser, G. — The effects of changes in chromosome number on amphibian development, *Quart. Rev. Biol.*, 20:30, 1945.
7. Waring, G. — Abweichungen von dem Verhältnismäßigkeitswachstum der Zellkerne und ihre Bedeutung, *Zool. Anzeiger*, 87:67, 1938-1939.
8. Hildebrand, A. — Female Endocrinology, W. B. Saunders, Philadelphia, pp. 8-11, 1944.
9. Meyer, K. — Über das Stadium postnatalis hyperaemum sowie über den Anteil und die Abgrenzung des Blutstromes des Corpus luteum beim Menschen, *Zool. Anzeiger*, 145:315, 1942.
10. Macdonald, H. W. — The uterine gland and its relation to the reproductive cycle, *Am. J. Anat.*, 61:189, 1937.
11. Voss, E. — The Corpus luteum. Its life cycle and its role in menstrual disorders, *A.M.A. Arch.*, 67:1385, 1916.
12. Rinder, A. S. — Nuclear phenomena associated with secretion in certain gland cells with special reference to the origin of cytoplasmic nucleolus, *A. J. P. Zool.*, 100:523, 1945.
13. Salvadore, E. A. & Schreiber, G. — Pesquisas de citologia quantitativa. IV: Pesquisas citométricas no ciclo estral e gravídico, *Memórias do Instituto Butantan*, 20:39, 1947.
14. Schreiber, G. — O volume do núcleo durante o desenvolvimento embrionário e a maturação, *Revista de Embriologia (Semana da Genética-Piracicaba, Brasil)*, 18:153, 1944.
15. Schreiber, G. — Pesquisas de citologia quantitativa. O crescimento intermitente da ovogênese nos oviductos, *Act. Anst. Biol.*, 6:199, 1946.
16. Schreiber, G. — Pesquisas de citologia quantitativa. II: A terceira divisão e a formação da ovogênese dos oviductos, *Comunicações e Anst. Ciências Exatas, Univ. São Paulo*, 2:1, 1946.
17. Schreiber, G. — O crescimento intermitente do núcleo. Pesquisas citométricas na ovogênese dos oviductos, *Memórias do Instituto Butantan*, 20:111, 1947.
18. Strehlitz, A. S. — Mitotic proliferation in the ovary of the normal female guinea pig treated with colchicine, *Am. J. Anat.*, 11:245, 1945.