

## Hemograma y mielograma de los embriones de pollo

Por FRANCISCO C. PENNIMPEDE \*

Las necesidades de nuestro trabajo, nos han llevado a estudiar, en los embriones de pollo, los cuadros citológicos de la sangre periférica y de la médula ósea, con el propósito de conocer su composición cuali-cuantitativa. No obstante haberse ocupado, muchos investigadores, de la hematopoyesis, filogenia y citología de los diversos elementos celulares (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 18), nuestra cosecha bibliográfica respecto a datos cuantitativos ha sido muy pobre en lo concerniente a la sangre, ya sea su riqueza en eritrocitos (12, 14, 15 y 16) y concentración hemoglobínica (10, 11, 15 y 16) o la composición porcentual (17, 18 y 19), y mucho más pobre aún, prácticamente nula, respecto del mielograma, del cual sólo existe una referencia sobre el desarrollo (1) y otra en la cual se lo considera a partir del 15º día de incubación, y excluye toda clasificación celular (19).

Por esta razón consideramos de interés la publicación de nuestros resultados, que si bien no incluyen un gran número de casos, en cambio, permiten correlacionar los valores obtenidos, por pertenecer, cada una de las determinaciones (contaje de glóbulos rojos, dosaje de hemoglobina, hemograma y mielograma), a un mismo embrión.

### MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se emplearon exclusivamente huevos de gallina Leghorn blanca, cuyo peso osciló entre 55 y 60 gramos. La incubación fué realizada a 37,8°C (100 F.). Se hicieron cinco experiencias comprendiendo cada una, uno o dos huevos de 11, 12, 13, 14, 15 y 16 días de incubación.

*Muestras de sangre.* — A través de una ventanilla triangular practicada en la cáscara del huevo sobre el trayecto de un vaso, se hacía la punción de éste con una aguja calibre 27 colocada en una jeringuilla de 0,25 mls. de Becton y Dickinson, extrayéndose la sangre destinada a: a) la preparación de extendidos en porta objetos; b) eargar una pipeta cuenta glóbulos rojos, diluyéndose 1:200 con el

\* De la sección virus del Instituto Bacteriológico "Malbrán".

Presentado en la reunión de comunicaciones del 28 de septiembre de 1948.

líquido de Forkner<sup>(13)</sup>, efectuando el contaje con la cámara de Neubauer; y e) cargar una pipeta para determinar la concentración de hemoglobina con el hemoglobinómetro de Sahli modelo Adamsco, en cuyo tubo el 100 % correspondía a 17 grs.

*Muestra de médula ósea.* — Mediante una abertura practicada sobre la cámara de aire del huevo, con pinzas se sacaba el embrión, al cual se extraían las tibias por desarticulación, separándole las capas musculares y el periostio; limpias de tejidos se secaban sobre papel de filtro, haciendo sobre porta objetos frotis por impresión (improntas) de los distintos segmentos de la médula ósea. Las impresiones de médula cuando son algo abundantes o espesas ofrecen algunas dificultades para la diferenciación de las células; esto se evita haciendo impresiones tenues y multiplicándolas, pero, no es posible hacer desaparecer totalmente de los espacios intercelulares el fondo granulado que resulta de la desecación del líquido plasmático.

*Coloración.* — Los frotis de sangre y las impresiones de médula ósea fueron coloreadas con el método de May-Grünwald-Giemsa, con colorantes de Grüber. Se contaron entre 6 y 12 mil células en las extensiones de sangre, y, entre 400 y 1.200 en las impresiones de médula ósea, revisándose todas las improntas.

*Desviación standard.* — Se utilizó la fórmula:

$$\sigma = \sqrt{\frac{E (d)^2}{n - 1}}$$

#### OBSERVACIONES

CRITERIO ADOPTADO PARA LA CLASIFICACIÓN DE LAS CÉLULAS. Se tomaron en cuenta los detalles y características cario y citoplasmáticas de las células proporcionadas por el método de coloración utilizado.

##### 1º Células de la serie roja primitiva.

a) *Megaloblastos* (de protoplasma basófilo o policromático), células grandes, redondas; en los megaloblastos basófilos es característico un halo acidófilo perinuclear y en algunos casos el protoplasma presenta algunas prolongaciones. El núcleo redondo es característico, la trama cromática dispuesta en un delicado retículo con engrosamientos en los puntos nodales (lepto-amblicromático), que al destacarse dan la impresión de punteado.

b) *Megalocitos policromáticos*, células grandes redondas o ligeramente ovoides, con mucha hemoglobina, pero conservando el tinte

policromático, el núcleo reducido de tamaño, cromatina condensada, pero el tamaño es mayor y la trama más laxa que el de la célula adulta (Fig. 2).

c) *Megalocitos*, son las células maduras hipererómicas, se tiñen de color salmón oscuro. Su núcleo se ha reducido de tamaño, la cromatina está dispuesta en masas compactas separadas por pequeños espacios claros (paracromatina) (Figs. 1 y 2).

### 2º Células de la serie roja definitiva.

a) *Proeritroblastos*. Células de tamaño mediano, de citoplasma intensamente basófilo. Núcleo redondo cuya cromatina dibuja un fino retículo que se espesa en los puntos de entrecruzamiento (lepto-amblicromático). Presentan en la generalidad de los casos uno o dos nucleolos (Figs. 6 y 7).

b) *Eritroblastos* (de protoplasma basófilo o policromático), células redondas al o más pequeñas que el proeritroblasto. Los caracteres generales de estas células no difieren de los correspondientes a las de otras especies animales. La forma ovalada recién se observa en los eritroblastos policromáticos muy evolucionados (Figs. 1, 6 y 8).

c) *Eritrocitos policromáticos*, células elípticas con citoplasma policromatófilo, núcleo ovalado de cromatina aun poco compacta. El tamaño del núcleo es un poco mayor que el de eritrocito maduro (Fig. 1).

d) *Eritrocitos ortocromáticos*, célula madura, elíptica de protoplasma acidófilo y núcleo pequeño condensado.

### 3º Células poco diferenciadas.

a) *Histiocitos* (células hemohistioblásticas), células grandes cuyo núcleo también es grande, con trama cromatínica tenue y laxa conteniendo nucleolos. Se observan dos tipos:

I. Protoplasma de forma irregular, amebode (aspecto clasmato-citoide), basófilos en distinto grado, con o sin granulaciones azurófilas (Fig. 5).

II. Protoplasma ovalado (como el de la célula plasmática, pero mucho más grande), en estas células es característica la ubicación excéntrica (en el polo menor del óvalo) del núcleo. Citoplasma basófilo, que suele presentar vacuolas y hacia su centro un acúmulo de granulaciones acidófilas<sup>(28)</sup> (Fig. 5).

b) *Hemocitoblastos* (mieloblastos de Naegeli): célula grande pero de tamaño inferior a las anteriores, redondeada o ligeramente ovoide de protoplasma ligeramente basófilo, dispuesto como un estrecho cinturón en torno a un núcleo redondo cuya cromatina de tenue reticulado se tiñe de violeta claro (lepto-amblicromático), contiene dos o más nucleolos.

4º *Células de la serie mieloide.*

a) *Mieloblastos*: esta célula es parecida al hemocitoblasto, pero su protoplasma contiene granulaciones azurófilas y el núcleo de trama un poco más gruesa y se tiñe poco intensamente, incluye uno o dos nucleolos (Fig. 8).

b) *Promielocitos*: células de protoplasma basófilo poco intenso, comienzo de acidófila, conteniendo granulaciones acidófilas y unas pocas azurófilas. Astrosfera evidente. Núcleo excéntrico cromatina más condensada que en los mieloblastos, ausencia de nucleolos. Pueden observarse dos tipos de estas células:

I. Con regular cantidad de granulaciones de distinto tamaño que se tiñen del lila al amarillo; su número es relativamente grande y corresponden al promielocito heterófilo;

II. Elementos muy escasos caracterizados por el pequeño número de granulaciones esféricas y de tamaño uniforme, acidófilas; corresponde al promielocito eosinófilo.

A pesar de distinguir estas dos células, preferimos incluirlas en un solo grupo por la escasez de los segundos (Figs. 6 y 8).

c) *Mielocitos*: células con protoplasma ya acidófilo. El núcleo redondo, ovalado o reniforme. El citoplasma contiene las granulaciones específicas de cada tipo:

I. Abundantes, redondas de tamaño variado, acidófilas: *mielocito heterófilo* (Fig. 8).

II. En regular cantidad, redondas, uniformes, acidófilas incluidas en un protoplasma ligeramente basófilo: *mielocito eosinófilo*.

III. Numerosas, redondas de tamaño variado, basófilas, *mielocito basófilo*.

d) *Metamielocitos*: células con núcleo en bastón o cayado:

I. Protoplasma acidófilo y numerosas granulaciones redondas y en bastoncillos, acidófilas: *metamielocitos heterófilos*;

II. Protoplasma ligeramente basófilo y regular cantidad de esferulas acidófilas: *metamielocitos eosinófilos*.

e) *Granulocitos*: núcleo de aspecto polimorfo-nuclear:

I. *Heterófilos*, núcleo con lobulaciones irregulares (2 ó 3), protoplasma de tinte ligeramente acidófilo o incoloro, repleto de bastoncillos acidófilos (aspecto cristalóide);

II. *Eosinófilos*, núcleo bilobulado, lóbulos redondeados, protoplasma aún algo basófilo (azul claro) y granulaciones redondas acidófilas poco numerosas;

III. *Basófilos*, núcleo irregular, protoplasma cargado de granulaciones basófilas de distinto tamaño.

5° *Célula de la serie linfoide.*

*Linfocitos*, células de protoplasma basófilo, abundante o dispuesto como una estrecha banda en torno al núcleo, suele incluir algunas granulaciones azurófilas. El núcleo dispuesto en gruesas masas de cromatina separadas por estrechos espacios más claros (paracromatina).

6° *Osteoclastos.*

Células enormes con protoplasma de distinta basofilia, multinucleadas, presentando o no nucleolos (Fig. 9).

7° En la médula ósea, se han observado además otras células tales como: plasmáticas, osteoblastos, fibrocitos, etc., pero ya sea por su número, o por no pertenecer específicamente a la médula ósea, no se incluyen en este estudio.

También en la sangre se han observado células en degeneración en pequeño número, que no hemos creído de interés incluir; otro tanto en lo referente a los trombocitos, ya perfectamente estudiados por otros autores.<sup>(5-13)</sup>

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. SANGRE PERIFÉRICA. (*Ver Cuadro 1*)a) *Cantidad de hematies y concentración hemoglobínica.*

La cantidad de glóbulos rojos, durante el lapso de nuestra investigación, se eleva progresivamente con el aumento de la edad del embrión, hecho que ya había sido señalado por Ascarelli.<sup>(9)</sup> Los valores hallados son más elevados que los publicados por Zorn y Dalton<sup>(15-16)</sup>, Burmester, Severens y Roberts<sup>(19)</sup>, y muy semejantes a los de Sümegi<sup>(12)</sup> para los días correspondientes aunque estos tres autores han realizado sus determinaciones sobre muestras mínimas (2 ó 3).

La concentración de hemoglobina también crece con la edad del embrión, en forma regular y continua, no sufriendo variaciones de dos y tres gramos por día como señalan Zorn y Dalton<sup>(15-16)</sup> alcanzando, para los días 15° y 16° cifras enormes de 14 gramos por ciento, que nosotros no hemos comprobado en ningún caso, pues las cifras extremas para estos dos días, sobre un total de 13 embriones, osciló entre una mínima de 7,65 grs. y 10,71 grs. por ciento como máxima. La comparación de cifras con las de otros autores, tales como Lieber-

NOTA: Las mitosis observadas en la sangre periférica pertenecen todas a la serie roja definitiva (eritroblastos, basófilos y polieromatófilos).

Las mitosis observadas en la médula ósea corresponden a células de la serie mieloide y de la serie roja definitiva, en casos excepcionales hemos apuntado mitosis de megaloblastos polieromatófilos.

mann <sup>(10)</sup>, Sendju <sup>(11)</sup>, citados por Needham <sup>(12)</sup> y por Zorn y Dalton <sup>(16)</sup>, ha sido imposible realizarla, pues expresan la cantidad de hemoglobina como por ciento del peso total del embrión, el primero y el segundo en miligramos del volumen total de sangre, mientras Sümege presenta sus datos como por ciento del normal, y como no explica cuál es el normal utilizado, excluyen todo intento de comparación.

En el Gráfico 1 se han inscripto los valores correspondientes a la cantidad de glóbulos rojos y a la concentración de hemoglobina, mostrando dos curvas ascendentes y prácticamente paralelas durante

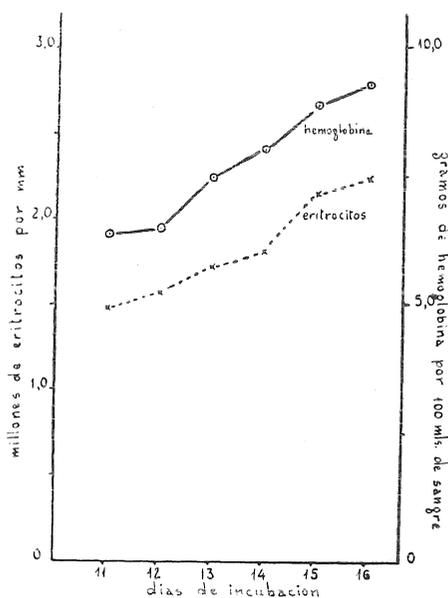


GRÁFICO 1.

todo el curso de la investigación. Como se verá en el hemograma, estas curvas coinciden con la maduración de los eritroblastos.

#### b) Hemograma.

El hemograma nos proporciona un índice de las variaciones celulares cualicuantitativas, unas en sentido negativo (megalocíticas), otras en sentido positivo (eritrocíticas y leucocitarias) siguiendo líneas divergentes (Gráficos 2 y 3).

La variación observada en el por ciento de cada elemento ha sido relativamente amplia, pero considerada en los grupos de cada serie fué pequeña, de tal modo que parece existir en el número de cada serie, un equilibrio, mantenido a expensas de las variaciones en uno u otro sentido de los elementos celulares integrantes del grupo.

CUADRO 1  
HEMOGRAMAS

Días de incubación . . . . . Número de embriones . . . . .	11 7			12 6			13 8		
	M	±	σ	M	±	σ	M	±	σ
Eritrocitos en millones por mm. <sup>3</sup> . . . . .	1.480	±	0.310	1.576	±	0.333	1.722	±	0.189
Hemoglobina grs. % . . . . .	6.39	±	1.12	6.49	±	0.78	7.49	±	1.02
HEMOGRAMA-células %									
<i>Serie roja primitiva</i>									
Megaloblastos . . . . .	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00
Megalocitos policromáticos . . . . .	0.247	±	0.29	0.096	±	0.18	0.012	±	0.008
Megalocitos ortocromáticos . . . . .	7.48	±	2.61	7.07	±	4.41	4.02	±	1.01
Total . . . . .	7.73	±	2.62	7.67	±	4.52	4.03	±	1.01
<i>Serie roja definitiva</i>									
Proeritroblastos . . . . .	0.004	±	0.008	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00
Eritroblastos basófilos . . . . .	0.076	±	0.03	0.109	±	0.19	0.085	±	0.14
Eritroblastos policromáticos . . . . .	14.02	±	4.94	12.15	±	3.56	16.85	±	5.70
Eritrocitos policromáticos . . . . .	25.40	±	6.28	25.76	±	3.93	25.50	±	5.03
Eritrocitos ortocromáticos . . . . .	52.76	±	6.31	54.77	±	7.58	53.49	±	4.20
Total . . . . .	97.25	±	2.61	92.79	±	4.51	95.93	±	1.02
<i>Sistema mielóide</i>									
Mieloblastos . . . . .	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00
Promielocitos . . . . .	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00
Mielocitos . . . . .	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.001	±	0.0036
Metamielocitos . . . . .	0.003	±	0.007	0.00	±	0.00	0.001	±	0.0036
Granulocitos heterófilos . . . . .	0.02	±	0.014	0.038	±	0.034	0.036	±	0.047
Granulocitos eosinófilos . . . . .	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00
Granulocitos basófilos . . . . .	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00
Total . . . . .	0.023	±	0.018	0.038	±	0.034	0.038	±	0.045
Linfocitos . . . . .	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00
Monocitos . . . . .	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00
Mitosis % . . . . .	0.01	±	0.009	0.012	±	0.024	0.008	±	0.005

M = Promedio.

σ = Desviación standard.

CUADRO 1 (Continuación)

## HEMOGRAMAS

Días de incubación . . . . .	14			15			16		
	8			7			6		
Número de embriones . . . . .	M	±	σ	M	±	σ	M	±	σ
Eritrocitos en millones por mm. <sup>3</sup> . . . . .	1.809	±	0.112	2.153	±	0.189	2.238	±	0.354
Hemoglobina grs. % . . . . .	8.03	±	0.81	8.89	±	0.94	9.29	±	1.03
HEMOGRAMA-células %									
<i>Serie roja primitiva</i>									
Megaloblastos . . . . .	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00
Megalocitos policromáticos . . . . .	0.03	±	0.037	0.026	±	0.021	0.005	±	0.0055
Megalocitos ortocromáticos . . . . .	3.07	±	0.99	2.63	±	1.49	1.47	±	0.42
Total . . . . .	3.09	±	1.00	2.65	±	1.60	1.48	±	0.42
<i>Serie roja definitiva</i>									
Proeritroblastos . . . . .	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.003	±	0.0086
Eritroblastos basófilos . . . . .	0.04	±	0.05	0.05	±	0.079	0.052	±	0.097
Eritroblastos policromáticos . . . . .	12.96	±	3.84	13.12	±	3.15	9.05	±	2.62
Eritrocitos policromáticos . . . . .	21.59	±	5.03	19.53	±	3.03	19.05	±	1.74
Eritrocitos ortocromáticos . . . . .	62.25	±	7.45	64.58	±	6.87	70.29	±	3.04
Total . . . . .	96.85	±	1.00	97.29	±	1.61	98.45	±	0.45
<i>Sistema mieloide</i>									
Mieloblastos . . . . .	0.00	±	0.00	0.003	±	0.0048	0.00	±	0.00
Promielocitos . . . . .	0.00	±	0.00	0.007	±	0.015	0.00	±	0.00
Mielocitos . . . . .	0.002	±	0.005	0.003	±	0.0048	0.003	±	0.004
Metamielocitos . . . . .	0.002	±	0.005	0.00	±	0.00	0.002	±	0.004
Granulocitos heterófilos . . . . .	0.05	±	0.033	0.044	±	0.034	0.056	±	0.019
Granulocitos eosinófilos . . . . .	0.00	±	0.00	0.001	±	0.0038	0.000	±	0.00
Granulocitos basófilos . . . . .	0.002	±	0.0084	0.00	±	0.00	0.0008	±	0.002
Total . . . . .	0.056	±	0.038	0.059	±	0.056	0.062	±	0.020
Linfocitos . . . . .	0.001	±	0.0036	0.00	±	0.00	0.0075	±	0.0088
Monocitos . . . . .	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00
Mitosis % . . . . .	0.01	±	0.017	0.007	±	0.0095	0.005	±	0.0055

M = Promedio.

σ = Desviación standard.

Los porcentajes de la *serie roja primitiva* (megalocítica), demuestran que nuestros valores se comparan groseramente con los de Dawson <sup>(17)</sup> y con los de Fennell <sup>(18)</sup> (este autor denomina a los megalocitos, eritroblastos primitivos con mucha hemoglobina). La curva de caída de nuestros valores (Gráfico 2) es más regular y sin los altibajos registrados por esos investigadores.

Respecto de la *serie roja definitiva* (eritrocítica), encontramos proeritroblastos únicamente a los 11 y 16 días de incubación, pero en cantidades mínimas, en tanto que Dawson <sup>(17)</sup> los señala a los 13

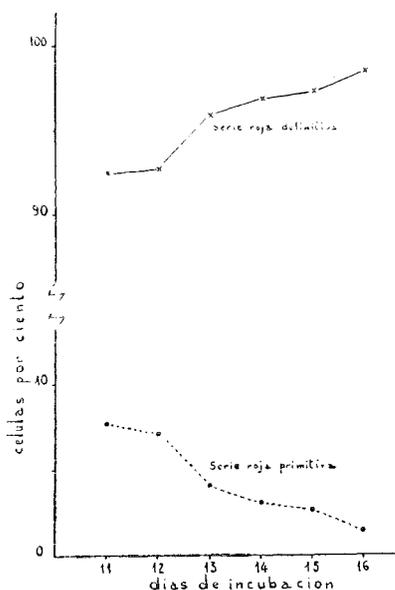


GRÁFICO 2.

y 14 días de incubación en cantidades 20 y 100 veces mayores (atribuimos esta diferencia al hecho de haber trabajado este autor con sólo tres embriones).

Los valores observados para los eritroblastos basófilos concuerdan con los de Fennell <sup>(18)</sup> en tanto que los de Dawson <sup>(17)</sup> son mucho más elevados, más arriba hemos expuesto la razón probable. Estos autores para los eritroblastos policromáticos (Proeritrocitos II de Dawson; Eritroblastos definitivos con hemoglobina media de Fennell), dan valores muy discordantes con los nuestros. Así, Dawson a los 11 días de incubación señala el 96,18 %, a los 12 el 95,24 % y no encuentra eritrocitos definitivos, a los 13 días esta cifra desciende al 10,35 %, aumenta a 17,12 % a los 14 días y sube hasta el 26,92 % a los 15 días, para descender al 6,02 % en el décimosexto día de incubación. Fennell, por su parte, para el 12° registra el 3,72 %, que baja en

el 14º a 0,49 % y asciende a 0,91 % en el 15º día de incubación. Nuestros valores acusan una ligera variación en la que es bien evidente la tendencia a decrecer del 14,02 % a los 11 días hasta el 9,05 % a los 16 días de incubación. A propósito de los datos de Dawson para el 11 y 12 día, nos llaman la atención y no podemos explicarlos, como tampoco las cifras insignificantes de Fennell.

La suma de los por cientos de eritrocitos poli y ortocromáticos se corresponden muy bien con las cifras que Dawson y Fennell dan para los eritrocitos definitivos. Otro tanto podemos decir de la serie

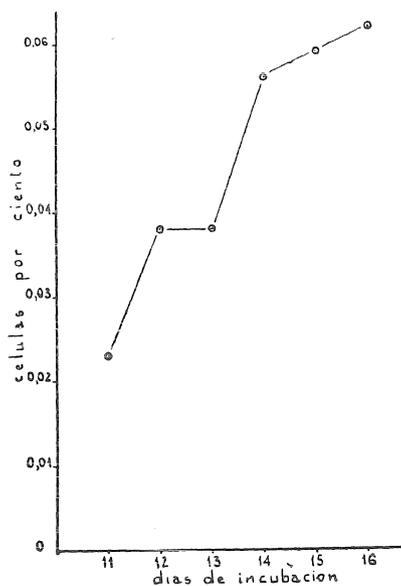


GRÁFICO 3.

eritrocítica considerada en total (Gráfico 2) pero concuerda con más exactitud con los datos de Fennell, sin duda porque este investigador empleó un número mayor de embriones.

Los leucocitos están representados en el hemograma del embrión de pollo en cantidades decimales, durante el período estudiado; destacándose ampliamente los elementos de la serie mieloide (Cuadro 1 y Gráfico 3), los linfocitos hacen su aparición hacia el 14º día, momento en el cual es intensa la actividad hematopoiética del bazo. <sup>(5-21)</sup>

Al confrontar los datos cuantitativos de Burmester, Severens y Roberts <sup>(19)</sup> que los estudia a partir del 15º día, dividiendo la serie blanca en dos grupos, neutrófilos y linfocitos, excluyendo los eosinófilos, basófilos, monocitos, etc., aún así, encuentran valores diez veces mayores que los nuestros (trabajaron con dos embriones); otro término de comparación son los valores que Fennell <sup>(18)</sup> da para

CUADRO 2  
MIELOGRAMAS

Días de incubación .....	11			12			13		
	M	±	σ	M	±	σ	M	±	σ
Número de embriones .....	%			%			%		
<i>Serie roja primitiva %</i>									
Megaloblastos .....	1.51	±	1.13	0.98	±	1.38	0.33	±	0.41
Megalocitos policromáticos ..	1.14	±	1.03	1.11	±	0.92	0.46	±	0.62
Megalocitos ortocromáticos ..	5.28	±	1.67	5.67	±	3.59	3.18	±	1.13
Total .....	7.93	±	1.85	7.96	±	5.20	3.95	±	1.18
<i>Serie roja definitiva</i>									
Proeritroblastos .....	2.20	±	1.35	1.89	±	1.72	1.23	±	1.55
Eritroblastos basófilos .....	4.25	±	2.05	4.44	±	2.47	4.32	±	1.72
Eritroblastos policromáticos ..	9.07	±	2.90	9.33	±	2.26	10.51	±	7.32
Eritrocitos policromáticos ..	8.95	±	3.57	8.98	±	4.28	10.80	±	3.68
Eritrocitos ortocromáticos ..	15.26	±	4.77	16.60	±	8.21	17.56	±	6.43
Total .....	39.73	±	6.49	41.15	±	12.07	44.43	±	13.46
<i>Células poco diferenciadas</i>									
Histiocitos .....	25.45	±	6.05	21.05	±	10.27	17.11	±	9.43
Hemocitoblastos .....	8.08	±	6.13	6.82	±	3.68	6.24	±	2.77
Total .....	33.54	±	3.29	27.87	±	12.39	23.35	±	9.60
<i>Serie mieloide</i>									
Mieloblastos .....	3.90	±	1.78	5.92	±	5.33	8.13	±	4.21
Promielocitos .....	2.36	±	1.31	3.42	±	1.72	5.54	±	3.41
Mielocitos heterófilos .....	2.14	±	1.56	1.41	±	0.47	3.08	±	2.24
Mielocitos eosinófilos .....	0.00	±	0.00	0.13	±	0.31	0.10	±	0.18
Mielocitos basófilos .....	0.50	±	0.67	0.33	±	0.26	1.16	±	0.96
Total .....	8.90	±	4.14	11.23	±	8.35	18.02	±	9.51
Metamielocitos heterófilos ..	1.82	±	1.70	2.00	±	1.26	1.48	±	1.71
Metamielocitos eosinófilos ..	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00
Granulocitos heterófilos .....	5.91	±	3.22	8.07	±	5.12	7.25	±	5.82
Granulocitos eosinófilos .....	0.06	±	0.16	0.23	±	0.25	0.12	±	0.18
Granulocitos basófilos .....	0.00	±	0.00	0.08	±	0.18	0.22	±	0.24
Total .....	7.80	±	4.06	10.37	±	5.79	9.06	±	6.16
Total mieloides .....	16.70	±	5.90	21.61	±	8.26	27.08	±	12.15
Osteoclastos .....	2.10	±	0.96	1.43	±	0.72	1.19	±	0.47
Mitosis .....	2.86	±	1.81	1.85	±	0.97	2.75	±	1.29

M = Promedio.

σ = Desviación standard.

CUADRO 2 (Continuación)

## MIELOGRAMAS

Días de incubación Número de embriones	14			15			16		
	M	±	σ	M	±	σ	M	±	σ
	%			%			%		
<i>Serie roja primitiva</i>									
Megaloblastos	0.45	±	0.76	0.19	±	0.19	0.00	±	0.00
Megalocitos policromáticos	0.41	±	0.50	0.28	±	0.38	0.19	±	0.30
Megalocitos ortocromáticos	1.57	±	0.53	1.98	±	1.52	0.78	±	0.92
Total	2.43	±	1.47	2.44	±	1.99	0.97	±	1.16
<i>Serie roja definitiva</i>									
Proeritroblastos	1.44	±	1.41	0.79	±	0.53	0.95	±	0.47
Eritroblastos basófilos	4.97	±	1.96	5.58	±	1.10	7.72	±	3.92
Eritroblastos policromáticos	18.54	±	7.16	19.74	±	7.79	27.82	±	10.92
Eritrocitos policromáticos	9.91	±	1.80	8.74	±	2.40	11.12	±	4.30
Eritrocitos ortocromáticos	18.32	±	10.44	18.03	±	7.49	14.77	±	6.44
Total	53.18	±	14.84	52.90	±	10.01	62.38	±	7.95
<i>Células poco diferenciadas</i>									
Histiocitos	9.99	±	6.25	10.76	±	5.37	5.85	±	5.94
Hemocitoblastos	6.22	±	1.71	6.47	±	1.34	4.81	±	1.72
Total	16.21	±	7.13	17.23	±	6.44	10.66	±	7.41
<i>Serie mielóide</i>									
Mieloblastos	5.87	±	3.92	5.18	±	3.27	4.87	±	1.45
Promielocitos	4.31	±	2.37	4.71	±	1.86	4.77	±	1.41
Mielocitos heterófilos	5.42	±	3.99	7.27	±	4.52	9.75	±	2.62
Mielocitos eosinófilos	0.00	±	0.00	0.29	±	0.28	0.24	±	0.22
Mielocitos basófilos	0.94	±	0.43	0.26	±	0.21	0.57	±	0.59
Total	16.54	±	9.40	17.73	±	8.71	20.21	±	4.13
Metamielocitos heterófilos	1.27	±	0.95	2.03	±	1.78	1.76	±	1.50
Metamielocitos eosinófilos	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.04	±	0.09
Granulocitos heterófilos	9.38	±	5.90	6.62	±	7.84	2.88	±	1.89
Granulocitos eosinófilos	0.12	±	0.17	0.04	±	0.09	0.04	±	0.10
Granulocitos basófilos	0.08	±	0.16	0.00	±	0.00	0.12	±	0.14
Total	10.84	±	6.96	8.69	±	8.63	4.84	±	2.86
Total mielóides	27.39	±	13.89	28.43	±	14.44	25.06	±	3.44
Osteoclastos	0.79	±	0.42	0.99	±	0.57	0.93	±	0.60
Mitosis	2.27	±	1.13	2.64	±	0.88	2.59	±	0.82

M = Promedio.

σ = Desviación standard.

el 14<sup>o</sup> día de incubación, único día en el cual lo describe, que se corresponden suficientemente con los nuestros para ese día. Debemos advertir que este autor considera a los linfocitos como Hemocitoblastos pequeños, pero, sostenemos que en ese momento ya no es posible hablar de hemocitoblastos circulantes, pues en esa fecha del desarrollo, como lo hicimos notar más arriba, entran en circulación los elementos linfoides por la actividad hemocitopoiética esplénica.

Los elementos de la serie granulocítica aumentan rápidamente observándose elementos muy inmaduros (hasta mieloblastos) a los 13, 14, 15 y 16 días.

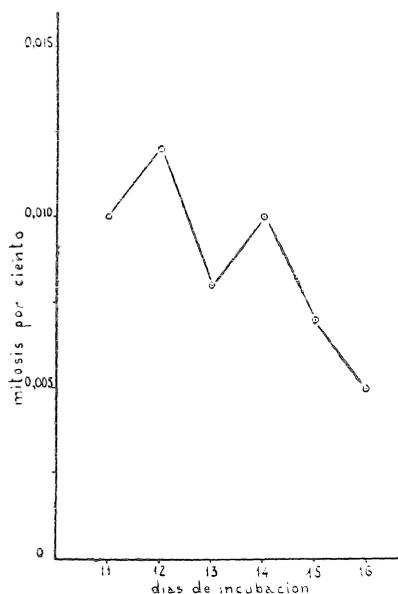


GRÁFICO 4.

Se ha estudiado también el número de mitosis celulares (en nuestro caso todas han correspondido a la serie roja definitiva), con el propósito de tener un índice de la actividad cariocinética en la sangre periférica. Esta actividad es pequeña y puede decirse que se mantiene uniforme hasta los 14 días de incubación para luego disminuir lentamente (Gráfico 4) y correspondiéndose a la evolución de los eritroblastos. Dawson dice que las mitosis periféricas entre el 9<sup>o</sup> y 20<sup>o</sup> día de incubación se encuentran ocasionalmente. Nosotros las encontramos en el 50 y más por ciento de los casos, y en las distintas fases de la división celular.

Sin considerarlos en nuestros cálculos, hemos observado trombocitos muy escasos en el 11<sup>o</sup> día de incubación, cuyo número aumenta con el desarrollo del embrión.

## II. MÉDULA ÓSEA. (*mielograma*)

La hemotopoesis en el embrión de pollo reside principalmente en el *saco vitelino*, que aporta a la circulación los elementos celulares hemoglobínicos y leucocitarios hasta poco antes de la eclosión del huevo (18 días); además, contribuyen como citoformadores: 1º) el *mesenquima*, tejido distribuido en focos por todo el organismo, actúa a partir del 4º o 5º día de incubación, persistiendo hasta el nacimiento del pollo o hasta algunos días después; 2º) el *bazo*, cuya función

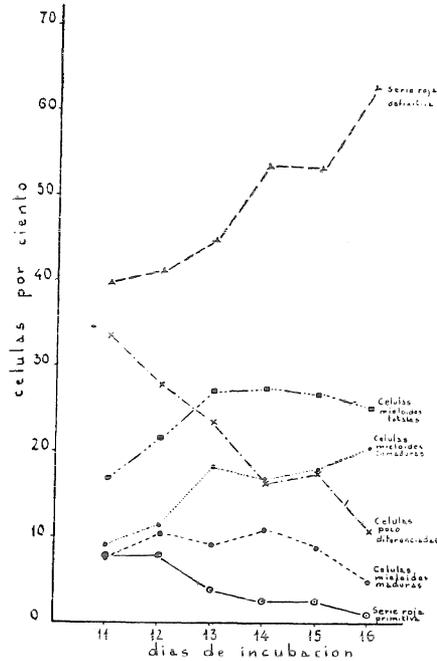


GRÁFICO 5.

se esboza hacia el 12º día, intensificándose en el último tercio de la incubación, disminuyendo en los días finales su aporte de células, y 3º) la *médula ósea*, desarrollada hacia el 11º día como órgano citoformador multipotencial, incrementa su actividad asumiendo progresivamente el principal papel como órgano hemocitopoiético, que conservará durante toda la vida del ave.

El *hígado*, importante órgano hemocitopoiético de los mamíferos durante la vida intrauterina, carece en las aves, de esta función y si algún rol juega, es muy insignificante, por lo cual no es tomado en cuenta.

La variedad de células, con su actividad cariocinética, su cantidad y distribución porcentual, nos indican la presencia de médula ósea

activa, ya en el 11<sup>o</sup> día de incubación, un día antes del descrito por los autores.<sup>(21)</sup>

En el Cuadro 2, se exponen los por cientos de las distintas células estudiadas y su desviación standard, que es amplia en general, pero los valores entre los días investigados se corresponden en orden creciente (serie eritrocítica y células mieloides inmaduras) o decreciente (serie megalocítica, células poco diferenciadas y osteoclastos). Estos valores proporcionan una imagen de lo que ocurre en la evolución citopoietica de la médula ósea y su permanente jerarquización como principal órgano hemocitoformador.

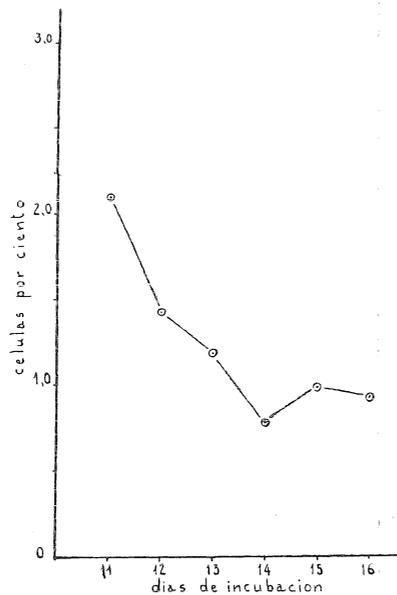


GRÁFICO 6.

Se observan los megaloblastos disminuir hasta el 15<sup>o</sup> día y no presentarse en el 16<sup>o</sup> día, también es progresiva la reducción de las dos restantes células del grupo, los megalocitos poli y ortocromáticos.

De la serie roja definitiva, los proeritroblastos decrecen en tanto que los eritroblastos basófilos permanecen constantes hasta el 14<sup>o</sup> día para aumentar ligeramente hasta el 16<sup>o</sup> día. Los eritroblastos policromáticos elevan su porcentaje hasta triplicarlo en el 16<sup>o</sup> día. Los elementos adultos, eritrocitos poli y ortocromáticos se mantienen con pequeñas oscilaciones, dentro de ciertos límites desde el 11<sup>o</sup> al 16<sup>o</sup> día.

El grupo en conjunto duplica su número entre los días extremos estudiados (Gráfico 5).

Entre las células poco diferenciadas las hemohistioblásticas, disminuyen al 5<sup>o</sup> día, en cambio los hemocitoblastos entre los días 11<sup>o</sup> y

16º muestran una reducción de aproximadamente el 50 % y durante los días intermedios permanecen constantes.

De las células granulocíticas más inmaduras, unas (mieloblastos y promielocitos), ofrecen poca variación, mientras que otras (mielocitos) aumentan paulatinamente hasta cuadruplicarse. El total del grupo es influenciado por este aumento.

Las células maduras de la serie mieloide (metamielocitos y polimorfonucleares), considerados individualmente o en conjunto no varían grandemente en sus proporciones, pero llama la atención en el 16º día la gran reducción de granulocitos heterófilos. El total de

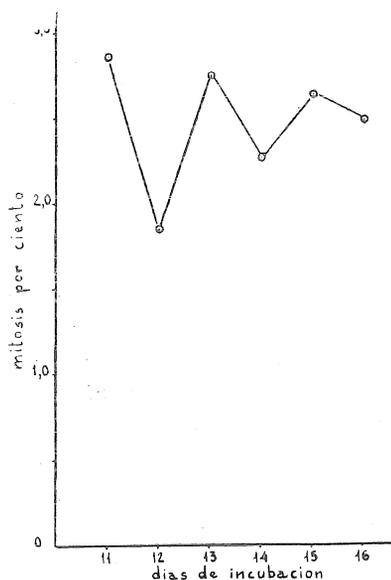


GRÁFICO 7.

células mieloides sigue una curva ligeramente ascendente hasta el 13º día, luego continúa en meseta (Gráfico 5).

Los osteoclastos, aunque no son células hemocitoformadoras ni tampoco pasan a la circulación, han sido incluidos en este trabajo porque nos dan una idea del desarrollo del estuche óseo donde se alberga la médula ósea. Aparecen representados en cantidad a los 11 días, luego se reducen lentamente hasta el 16º día al 50 % de su número inicial (Gráfico 6).

Una expresión de la actividad cariocinética la suministra el por ciento de mitosis para los días correspondientes de observación, durante los cuales permanecen prácticamente inalteradas (Gráfico 7).

Burmester, Severens y Roberts<sup>(19)</sup>, realizaron el conteaje de las células de la médula ósea de los pollos, seis días antes y siete después

del nacimiento, la distribución porcentual de las células rojas en maduras e inmaduras y de las células leucocitarias en neutrófilos (incluyendo maduras e inmaduras), y en linfocitos. Excluyendo del estudio los granulocitos eosinófilos y basófilos, los monocitos y las células no identificables, arguyendo el pequeño número que representan del total de las células; además dan resultados que son el promedio, de tan sólo dos determinaciones en los embriones. El procedimiento seguido por estos autores impide toda comparación de resultados en los días 15º y 16º, únicos en los que sería posible.

#### RELACIONES ENTRE EL HEMOGRAMA Y EL MIELOGRAMA

La cantidad de hematias y la concentración de hemoglobina aumentan progresivamente y concordantes con la producción, desarrollo y maduración de las células hemoglobínicas definitivas puestas en circulación por la médula ósea.

La serie roja primitiva, en la circulación y en médula ósea, se mantiene dentro de la misma proporción numérica, pero sólo en ésta se observan megaloblastos. La mengua de esta serie celular es más pronunciada en la médula ósea que en la sangre periférica.

Las células eritrocíticas definitivas consideradas en la circulación y en la médula ósea, muestran una relación inversa en los eritroblastos basófilos y directa en los eritroblastos y eritrocitos policromatófilos. Los eritrocitos ortocromáticos no ofrecen grandes desviaciones en la médula ósea, mientras en la circulación el crecimiento de su número con la edad del embrión es la regla.

El total de la serie eritroblástica circulante es directamente proporcional a la presente en la médula ósea.

Las células de la serie granulocítica escasamente representadas en la sangre periférica, son directamente proporcionales a las existentes en número considerable en la médula ósea.

La médula ósea, en el embrión de pollo, aunque posee una intensa actividad citogenética de elementos leucocitarios, no los vuelca a la circulación sino en cantidades mínimas y crecientes.

Mientras en la periferia las mitosis disminuyen, en la médula ósea tienen tendencia a estabilizar su número, señalando la persistencia de su actividad citoformadora.

#### RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se ha realizado el estudio citológico de la sangre periférica y de la médula ósea de los embriones de pollo, entre el 11º y el 16º día de incubación, se comprobó, que:

1º La cantidad de eritrocitos y de hemoglobina crecen paralelamente con la edad del embrión;

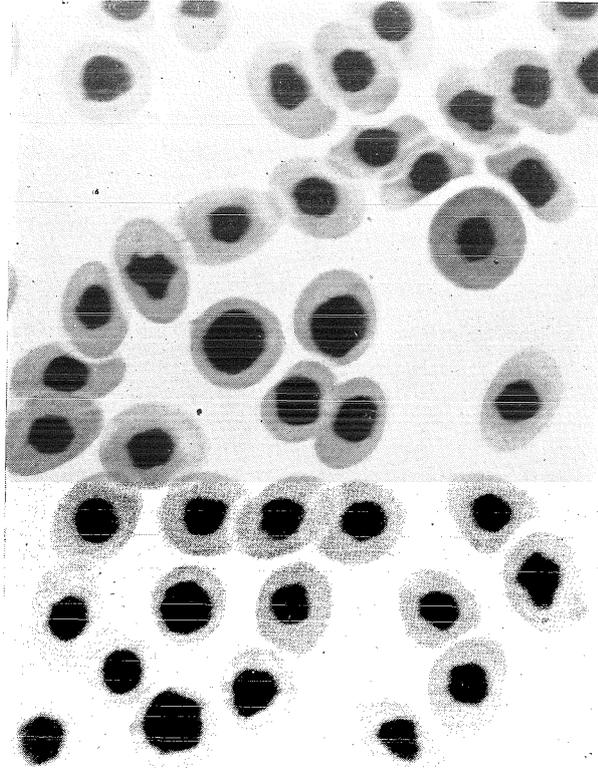


FIG. 1. — Sangre de embrión de pollo de 11 días de incubación. Aparecen un megalocito ortocromático y eritroblastos, uno de ellos basófilo y otros en distinto grado de policromatofilia y eritrocitos policromatófilos y ortocromáticos.

Obsérvanse dos eritroblastos policromatófilos con el núcleo en actividad carioquinética.

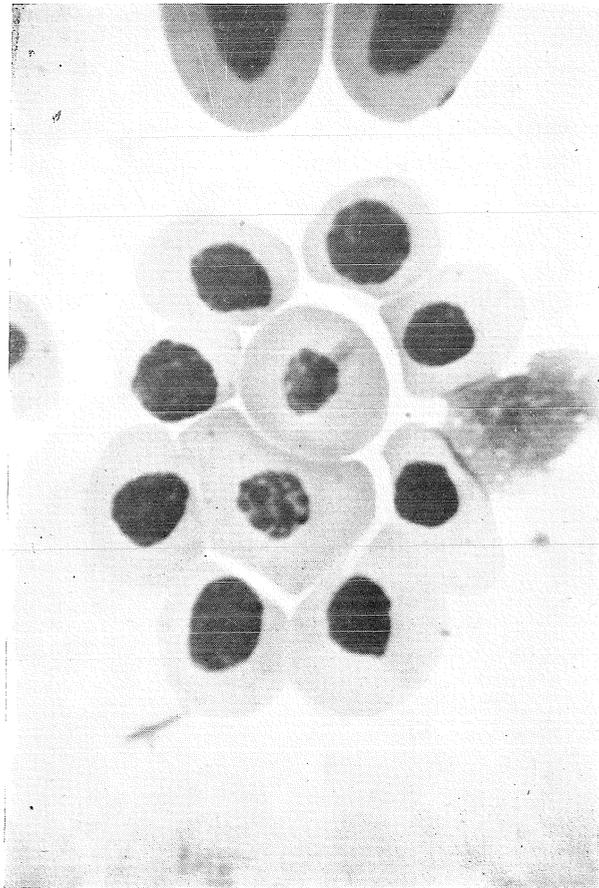


FIG. 2. — Sangre de embrión de pollo de 11 días de incubación.

Se observan dos megacitos uno poli y otro ortocromático, rodeados de eritroblastos en variado grado de policromatofilia.

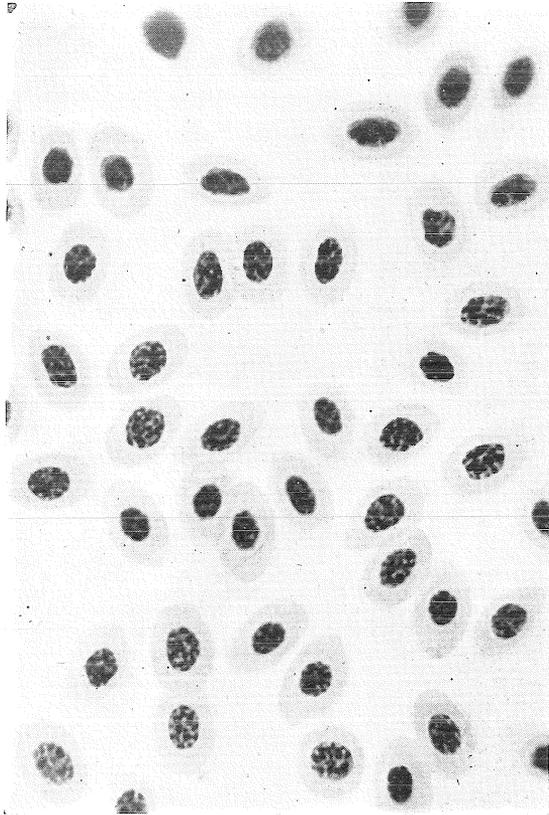


FIG. 3. — Sangre de embrión de pollo de 16 días de incubación. Se observan eritrocitos en su mayoría ortocromáticos, han desaparecido los eritroblastos.

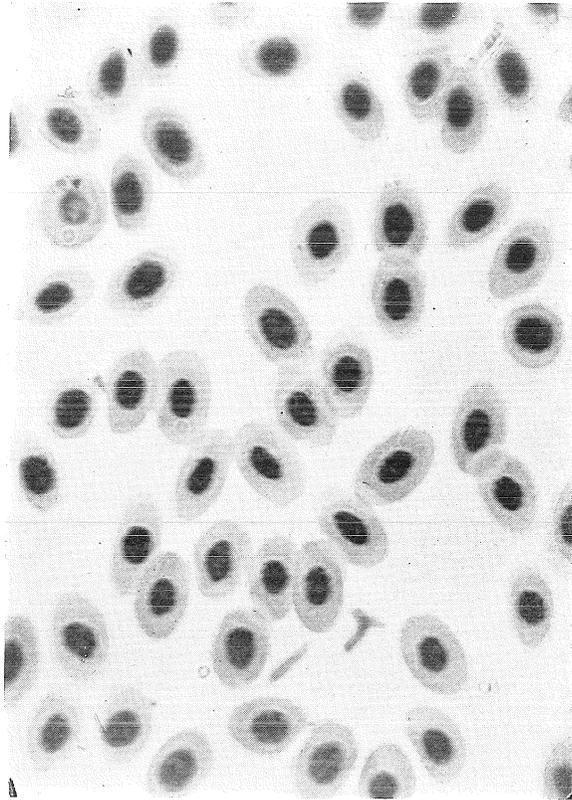


FIG. 4. — Sangre de embrión de pollo de 16 días. En este campo se observan también un megalocito ortocromático y un eritroblasto policromatófilo.

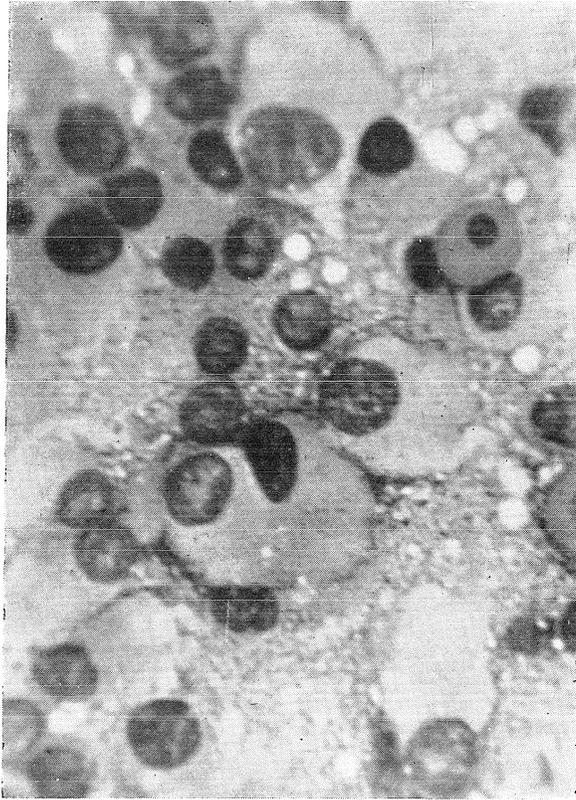


FIG. 5. — Médula tibial de embrión de pollo de 11 días. Campo en el cual aparecen células histocitarias de los dos tipos descritos en el texto, un megalocito y eritroblastos.

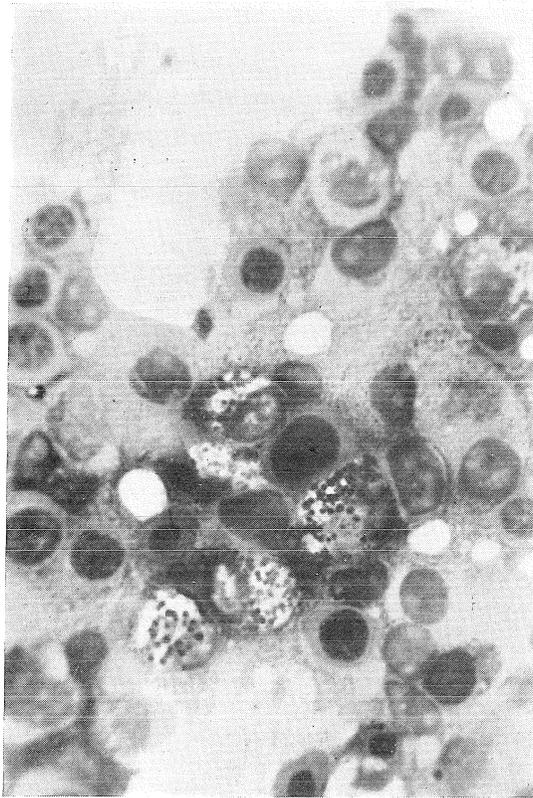


FIG. 6. — Médula tibial de embrión de pollo de 12 días de incubación. Una célula histiocitaria, un proeristoblasto, critoblastos, un mieloblasto, un promielocito, mielocitos y un metamielocito.

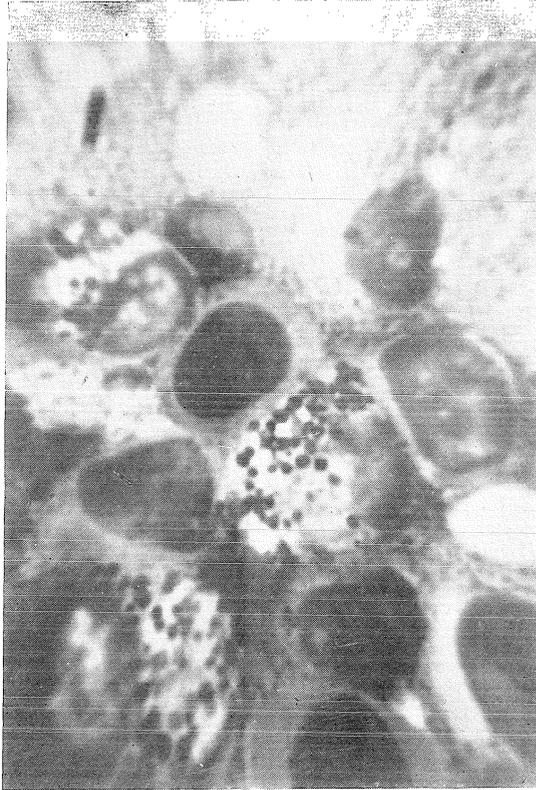


FIG. 7. — Médula tibial de embrión de pollo de 12 días de incubación. El mismo campo que la figura 6 pero muy aumentado.  
Se destacan los nucleolos y granulaciones de las células.

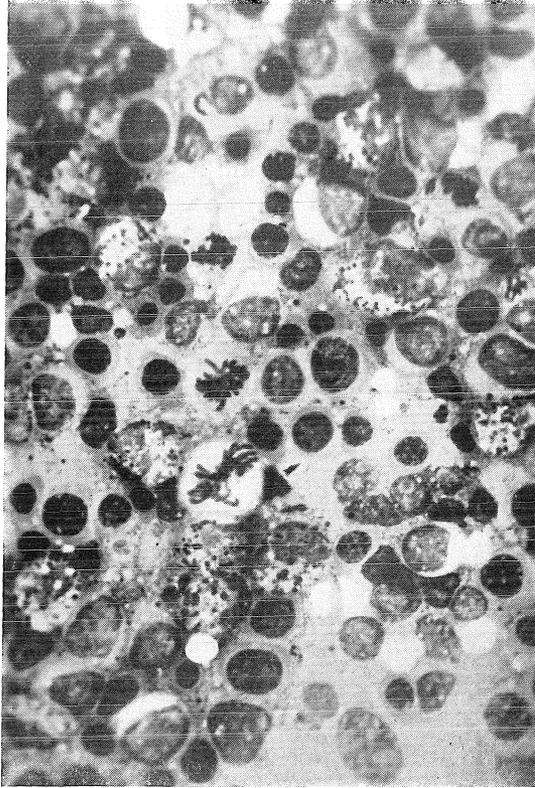


FIG. 8. — Médula tibial de embrión de pollo de 14 días de incubación. Se ven eritroblastos, en diversos grados de maduración, células mieloides; un hemocitoblasto arriba y a la izquierda mieloblastos, promielocitos y mielocitos; también cuatro mitosis, tres de ellas de eritroblastos y una de tipo mieloblástico.

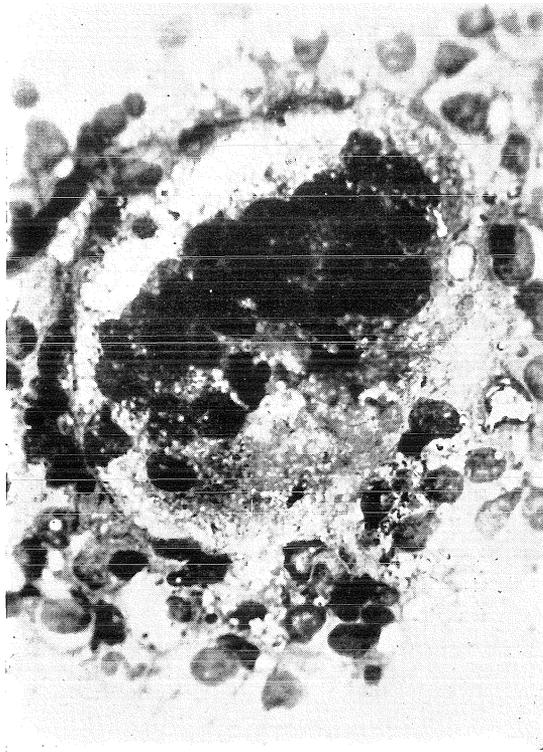


FIG. 9. — Médula tibial de embrión de pollo de 12 días de incubación. Se muestra un osteoclasto; obsérvese la enorme diferencia de tamaño con las células circundantes.



2º En el hemograma: a) la presencia de las dos series rojas, megalocítica y eritrocítica que siguen curvas divergentes; b) la existencia de leucocitos granulosos (maduros e inmaduros) y no granulosos (linfocitos), y c) la presencia de mitosis eritroblásticas periféricas;

3º En el mielograma: las variaciones porcentuales de las diversas entidades celulares constituyentes (megalocíticas, eritrocíticas, mieloides maduras e inmaduras, poco diferenciadas y osteoclastos) y la actividad cariocinética presentadas por las mismas;

4º Se discuten los resultados.

#### BIBLIOGRAFÍA

- (1) DANTSCHAKOFF, W.: *Archiv. F. Mikro s. Anat.*, 1909, 74, 855.
- (2) DANTSCHAKOFF, W.: *Archiv. F. Mikro s. Anat.*, 1909, 73, 117.
- (3) PRICE-JONES, C.: *J. of Path. and Bact.*, 1910, 14, 218.
- (4) DOAN, C. A., CUNNINGHAM, R. C. and SABIN, F. R.: *Contrib. to Embryology* N° 83 Carnegie. Inst. Wash. Publ., 361, 1925, 163.
- (5) SUGIYAMA, S.: *Contrib. to Embryology* N° 97 Carnegie. Inst. Wash. Public., 363, 1926, 121.
- (6) ENGEL, C. S.: *Archiv. f. Mikros. Anat.*, 1895, 44, 237.
- (7) DEHLER, A.: *Archiv. f. Mikros. Anat.*, 1895, 46, 414.
- (8) TAKAGI, S.: *Annót. Zool. Japan*, 1931, 13, 105, Biol., Abstracts.
- (9) ASCARELLI, A.: *Untersuch z. Natural*, 1893, 15, 255 y Jahresber. üd. Fortsch. d. Physiol., (Hermanns). 1894, 3, 181-187, citado por Needham (12) y por Zorn y Dalton (16).
- (10) LIEBERMANN, L.: *Archiv. f. Ges. Physiol.*, (Pflüger), 1888, 43, 71, citado por (12) y (16).
- (11) SENDJU, Y.: *Jap. Jour. Biochem.*, 1927, 7, 181, citado por (12) y (16).
- (12) NEEDHAM, J.: *Chemical Embryology*, Tome III, Cambridge, 1931.
- (13) FORKNER, C. E.: *Journ. Exper. Med.*, 1929, 50, 121.
- (14) SÜMEGI, S.: *Frankfurt. Ztschr. f. Path.*, 1932, 43, 565.
- (15) ZORN, C. M., y DALTON, A. J.: *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 1936, 35, 451.
- (16) ZORN, C. M., y DALTON, A. J.: *Amer. Jour. Physiol.*, 1937, 119, 627.
- (17) DAWSON, A. B.: *Stschr f. Zellforsch ü Mikros. Anat.*, 1936, 24, 256.
- (18) FENNERI, R. A.; *Jour. of Agric. Res.*, 1947, 74, 217.
- (19) BURMESTER, B. R., SEVERENS, J. M., y ROBERTS, E.: *Poultry Sci.*, 1941, 20, 391.
- (20) ELLERMANN DIE, V.: *Die übertragbare Hühnerleukose*, Berlin 1918.
- (21) JOLLY, J.: *Traité technique à'hématologie*, París 1923.
- (22) FIESCHI, A.: *Semiología del midollo óseo*, Pavia, 1938.
- (23) NEGREIROS-RINALDI: *Morfología normales e patologica dei globuli rossi*, Nápoles 1916.
- (24) JORDAN, H. E.: "Comparative hematology" en el *Handbook of Hematology de Downey*, Hal., Vol. II, New York, 1938.
- (25) NEEDHAM, J.: *Biochemistry and morphogenesis*, Cambridge 1942.
- (26) REIS, J., y NOBREGA, P.: *Doencas das aves*, San Pablo 1936.
- (27) OLSON, C.: *Avian hematology en Diseases of Poultry* de H. E. Biester y L. H. Schwarte; Ames. Iowa, 1948.
- (28) WASILIU, T.: *Haematologica*, 1924, 5, 34.
- (29) PATTEN, B. M.: *The early embryology of the chick*, Philadelphia 1943.