

ERNESTO MORAIS

ESTUDOS SÔBRE O SISTEMA RETÍCULO-ENDOTELIAL



229/1 FMP

IMPRESA NACIONAL DE J. VASCONCELOS, F.º
204, RUA JOSÉ FALCÃO, 206 — PÓRTO — 1935

SISTEMA RETÍCULO-ENDOTELIAL

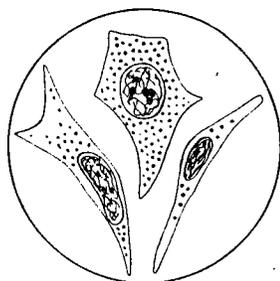
ERNESTO BORGES TEIXEIRA DE MORAIS

ASSISTENTE NA FACULDADE DE MEDICINA DO PÔRTO

ESTUDOS SÔBRE O SISTEMA RETÍCULO-ENDOTELIAL

TRABALHO EXPERIMENTAL
DO LABORATÓRIO DE ANATOMIA PATOLÓGICA

DISSERTAÇÃO DE CANDIDATURA AO GRAU
DE DOUTOR APRESENTADA À FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE DO PÔRTO.



IMPRENSA NACIONAL DE J. VASCONCELOS, F.º
208, Rua José Faleão - PÔRTO - 1985

CORPO DOCENTE

DA

FACULDADE DE MEDICINA

DIRECTOR

Doutor ANTÓNIO DE ALMEIDA GARRETT

SECRETÁRIO

Doutor JOSÉ DE OLIVEIRA LIMA

PROFESSORES CATEDRÁTICOS

Doutor JOÃO LOPES DA SILVA MARTINS JÚNIOR	Higiene
Doutor ALBERTO PEREIRA PINTO DE AGUIAR	Patologia geral
Doutor CARLOS ALBERTO DE LIMA	Patologia cirúrgica
Doutor JOSÉ ALFREDO MENDES DE MAGALHÃES	Terapêutica geral
Doutor ANTÓNIO JOAQUIM DE SOUZA JÚNIOR	Medicina operatória
Doutor JOAQUIM ALBERTO PIRES DE LIMA	Anatomia descritiva
Doutor JOSÉ DE OLIVEIRA LIMA	Farmacologia
Doutor ÁLVARO TEIXEIRA BASTOS	Clínica cirúrgica
Doutor ABEL DE LIMA SALAZAR	Histologia e Embriologia
Doutor ANTÓNIO DE ALMEIDA GARRETT	Pediatria
Doutor ALFREDO DA ROCHA PEREIRA	Clínica médica
Doutor CARLOS FARIA MOREIRA RAMALHÃO	Bacteriologia e Doenças infecciosas
Doutor HERNANI BASTOS MONTEIRO	Anatomia topográfica
Doutor MANUEL ANTÓNIO DE MORAIS FRIAS	Clínica obstétrica
Doutor JORGE DE AZEVEDO MAIA	Patologia médica
Doutor AMÂNDIO JOAQUIM TAVARES	Anatomia patológica
Vaga	Fisiologia geral e Química fisiológica
Vaga	Fisiologia especial
Vaga	História da medicina e Deontologia profissional
Vaga	Medicina legal

PROFESSORES JUBILADOS

Doutor AUGUSTO HENRIQUE DE ALMEIDA BRANDÃO
Doutor THIAGO AUGUSTO D'ALMEIDA

PROFESSOR HONORÁRIO

Doutor OSCAR VOGT

PROFESSOR LIVRE

Doutor INDALÊNCIO FROILANO DE MELO

Artigo 48.º, § 3.º — A Faculdade não responde
pelas doutrinas expendidas na dissertação.

*(Regulamento da Faculdade de Medicina
do Pôrto, 29 de Janeiro de 1931. —
Decreto n.º 19.337)*

AO EX.^{MO} SENHOR PROFESSOR

DOUTOR AMÂNDIO TAVARES

o testemunho da gratidão do

Discípulo reconhecido.

AO CORPO CATEDRÁTICO
DA
FACULDADE DE MEDICINA
DO
PÔRTO

Poucos meses volvidos após o início dos meus trabalhos no Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina do Pôrto, o Senhor Prof. AMANDIO TAVARES, dado o interesse que o sistema retículo-endotelial conseguira despertar nos últimos tempos, sugeriu-me o estudo da questão, no que se refere à sua importância nos domínios da Fisiopatologia.

Conhecendo apenas aquele sistema através das escassas páginas que os tratados da especialidade lhe dedicavam, antolha-se-me o tema de acanhados limites e confesso não ter sido grande o entusiasmo que me animava ao tentar, em 1931, algumas experiências no sentido que me fôra indicado. Bem depressa, porém, as primeiras leituras do extenso material bibliográfico, que começo a ordenar e seleccionar, me desvendam uma amplitude que não previra e mostram-me a impossibilidade de abarcar o assunto em todos os seus aspectos e pormenores.

Dedico-me primeiro ao estudo morfológico dos elementos do sistema e abordo os discutidos problemas da natureza histiocitária do revestimento dos alvéolos pulmonares e da microglia. No decorrer destas investigações a minha atenção é desviada para a análise de determinadas células do ovário que manifestavam intensa capacidade coloidopéxica.

Sob outros aspectos, tenta-me o estudo dos monócitos nas suas relações com o sistema de ASCHOFF e o papel dêste nos complexos problemas da imunidade e da anafilaxia. Além

disso, a orientação que o Director do Laboratório de Anatomia Patológica imprimira aos trabalhos sôbre o cancro experimental, leva-me a apreciar a influência do mesmo sistema na produção artificial de tumores pelo alcatrão.

Alguns resultados discordantes obtidos nas primeiras séries de ensaios obrigam-me a esmiuçar a questão do bloqueio, o que me conduz, insensivelmente, ao estudo do valor das provas funcionais na apreciação da actividade do S. R. E.

Durante 4 anos junto alguns milhares de cortes histológicos, reüno numerosas fórmulas leucocitárias, executo mais de duas centenas de experiências, determino cêrca de 100 provas do vermelho do Congo e julgo-me com elementos bastantes para alicerçar o estudo do tema que me fôra indicado e que só então poderia abordar proveitosamente.

Passa-se, entretanto, o tempo que a lei concede para a apresentação da tese de doutoramento; em obediência à lei, resta-me coordenar os meus apontamentos e submetê-los à apreciação do douto Conselho da Faculdade, apenas como prova ou demonstração do labor desenvolvido durante os anos em que tive a honra de servir como Assistente.

Em matéria de investigação científica, o tempo marcado nem sempre se coaduna com as dificuldades das barreiras a transpor e que, se tantas vezes embargam os passos dos mais experientes, quebrantam sempre o ânimo de quem começa.

E se não fôra o meu querido Mestre, Senhor Prof. AMANDIO TAVARES — a quem devo uma contínua orientação, sábios ensinamentos, a resolução de dificuldades a cada passo surgidas, conselhos constantes e incentivo quasi diário — o trabalho, mesmo modesto como é, não poderia ser levado a cabo. A S. Ex.^a aqui manifesto o testemunho do meu reconhecimento e o fervor da minha gratidão.

Cumpre-me agradecer também ao meu companheiro de trabalho Dr. A. SALVADOR JÚNIOR o auxílio que me prestou nalgumas das experiências que servem de base à elaboração do presente estudo.

I

INTRODUÇÃO

Ao tecido conjuntivo atribuíam-se, nas primitivas descrições de VIRCHOW, COHNHEIM e RANVIER, simples funções de preenchimento, de suporte e de condução de vasos e nervos. Na sua estrutura, considerada muito simples, apontavam-se, como elementos fixos, exclusivamente as células lamelares.

Em 1875, WALDEYER chama a atenção para células de natureza especial, de protoplasma abundante e granuloso, a que dá o nome de *Plasmazellen* e que poderiam observar-se, fora do tecido conectivo, na cápsula suprarrenal, no corpo lúteo, na decidua e nas glândulas coccígea e carotídea.

Dois anos mais tarde, EHRLICH averigua que só as *Plasmazellen* do tecido conjuntivo têm afinidade especial para certos corantes, afinidade que os referidos elementos da suprarrenal, corpo lúteo, glândula coccígea, etc., não possuíam. Para as primeiras propõe a designação de *Mastzellen*.

A estrutura do conectivo começa a ser considerada mais complexa do que as primitivas descrições permitiam supor, depois de RANVIER descrever, na aponevrose femural da *Rana*

esculenta, os primeiros clasmatócitos. Estas células, de morfologia irregular, volumosas, granulosas, imóveis e providas de prolongamentos protoplásmicos, tinham a propriedade de se fragmentar, dando granulações que RANVIER interpretava como um produto de secreção. Observou ainda este autor, depois da injeção «*de deux centimètres cubes de la suspension de vermeillon dans la cavité péritonéale d'un Cochon d'Inde*», que «*parmi les clasmatocytes compris dans l'épaisseur des travées épiploïques, quelques-uns renferment des grains de vermeillon*».

Em seguida, MARCHAND descreve as «células adventíciais leucocitoides», e MAXIMOW as «células migrantes em repouso», umas e outras identificadas, pelos próprios autores, com os clasmatócitos de RANVIER.

O tecido conjuntivo deixa de ser considerado simples meio de preenchimento e de suporte para se atribuírem às suas células propriedades variadas e de importância crescente, bem demonstrada pelas seguintes palavras que RENAUT escreveu, em 1907, no final do seu extenso trabalho sobre as células ragiócrinas:

«Le tissu conjonctif nous apparaît, dès lors, sous un jour tout à fait nouveau: C'est-à-dire non plus seulement comme un simple stroma de l'organisme; mais comme la plus vaste des glandes à sécrétion interne qui soit dans cet organisme chez les Vertébrés, — puisqu'elle engage ses éléments soit immédiatement actifs, soit à chaque instant susceptibles de le redevenir, partout où se poursuivent les vaisseaux sanguins et le tissu conjonctif avec eux».

Deve notar-se, todavia, que METCHNIKOFF, nas suas célebres lições sobre a patologia da inflamação (1892), já atribuía ao «sistema macrofágico» propriedades de fagocitose e de produção de macrocitasas, hemolisinas e aglutininas. Além dos fagócitos móveis do sangue, aquele sistema compreendia, ainda, células fixas dos tecidos, células conjuntivas e endoteliais, células dos gânglios linfáticos e da polpa esplênica, bem como células nevróglícas.

Um pouco antes dos trabalhos de RENAUT, descobre RIBBERT que o carmin litinado, introduzido por via parenteral, é retido por células especiais do baço, do fígado e dos gân-

glios linfáticos; BOUFFARD confirma este facto para os corantes derivados da benzidina.

No entanto, só em 1912 GOLDMANN aplica sistematicamente a coloração vital ao estudo do tecido conjuntivo, servindo-se do azul de isamina e, sobretudo, do azul de pirrol. GOLDMANN identifica as suas *Pyrrholzellen* com as *Carminzellen* de RIBBERT e com os clasmatócitos de RANVIER, e deixa entrever o conceito dum sistema celular cromófilo do tecido conjuntivo dotado de propriedades biológicas especiais, ainda mal determinadas e imprecisas.

Em 1913, ASCHOFF e seus discípulos, entre os quais Kiyono e LANDAU, retomando o estudo da coloração vital, confirmam e ampliam as conclusões de GOLDMANN, reúnem os resultados de pesquisas anteriores e agrupam os elementos mesenquimatosos cromófilos numa unidade funcional, a que atribuem propriedades e funções comuns. Assim se lança o conceito do *sistema retículo-endotelial*.

Segundo ASCHOFF e Kiyono, pertencem a este sistema todas as células mesenquimatosas que têm a propriedade de acumular, sob a forma de grãos, os corantes vitais ácidos— a saber:

- Células do reticulo da polpa esplênica, dos nódulos da zona cortical e dos cordões medulares dos gânglios linfáticos e do tecido linfoide em geral.
- Células do retículo-endotélio dos gânglios linfáticos, dos seios sangüíneos do baço, dos capilares da medula óssea, dos sinusoides do fígado, da suprarrenal e da hipófise.
- Células dos endotélios vasculares.
- Fibrócitos ou fibroblastos.
- Histiócitos, esplenócitos e monócitos.

Estas células comportam-se diferentemente no que respeita à facilidade, rapidez e intensidade de coloração. Ao passo que as células dos primeiros dois grupos, e mesmo

os histiócitos, se coram vitalmente com muita facilidade e apresentam numerosas granulações no citoplasma, os endotélios dos vasos e os fibroblastos apenas floculam os corantes coloidais muito dispersos e quando injectados em grande quantidade.

Baseados nesta diferença de actividade granulopéxica, ASCHOFF e KIVONO agrupam num «sistema retículo-endotelial, no sentido restrito», as células do retículo da polpa esplénica, dos nódulos corticais e dos cordões medulares dos gânglios linfáticos, o retículo-endotélio dos seios dos mesmos gânglios e as células dos capilares do fígado, da medula óssea, da zona cortical da suprarrenal e da hipófise. O «sistema retículo-endotelial, na acepção lata», compreenderia, além destes elementos, os fibroblastos, os endotélios dos vasos sangüíneos e linfáticos e os histiócitos (células móveis do tecido conjuntivo), os esplenócitos e os monócitos.

Depois do conceito morfológico geral, definiram os autores citados uma orientação fisiopatológica que devia terminar pela concepção do «sistema retículo-endotelial do metabolismo».

As ideias de ASCHOFF, rapidamente espalhadas pelo mundo científico, levaram uma infinidade de investigadores a abordar o problema nos seus múltiplos aspectos morfológicos, fisiológicos e patológicos, contribuindo para o esclarecimento de muitos fenómenos, uns de natureza puramente especulativa, outros com directa aplicação à Clínica.

* * *

A actividade granulopéxica das células do sistema retículo-endotelial pode exercer-se, em condições normais ou patológicas, em presença das seguintes substâncias:

- *Corantes coloidais electro-negativos* (azul de isamina, azul de pirrol, azul do Tripán, carmim litinado).
- *Hidrossóis metálicos* (electrargol, óxido de sacarato de ferro, prata, cobre, ouro, bismuto, platina, paládio e tório coloidais).
- *Suspensões coloidais de grandes micelas* (tinta da China, pigmentos ferruginosos, detritos de glóbulos rubros ou plaquetas, bactérias, protozoários, etc.).
- *Produtos coloidais do metabolismo* (colesterina e seus ésteres, hemoglobina e seus derivados, certos lipoides, ácidos gordos amorfos e cristalizados, etc.) e *albuminas estranhas*.

O mecanismo íntimo da fixação dos corantes vitais, a despeito das variadas explicações propostas, não está ainda completamente esclarecido.

A sua presença no citoplasma explicam-na alguns autores pela coloração de granulações preexistentes (condrioma ou inclusões mortas), enquanto outros a fazem depender de simples fenómenos de fagocitose, quer de corpúsculos corados previamente, quer de granulações do corante floculado nos interstícios celulares.

SCHULEMANN e MOELLENDORF, cujos estudos sobre a coloração vital são citados como os mais importantes, afirmam tratar-se duma verdadeira floculação intracelular. O corante, penetrando no citoplasma, ocasiona a formação de pequenos vacúolos no interior dos quais precipita. Dêste modo, o fenómeno regular-se-ia pelas leis da permeabilidade celular: a primeira fase consistiria na penetração dum gel por um sol coloidal, em obediência à bem conhecida lei de que os coloides celulares carregados de electricidade positiva adsorvem os corpos de carga contrária; a segunda seria constituída pela precipitação do sol coloidal.

Todavia, esta explicação físico-química, em que entra como factor dominante o metabolismo celular, não elucida completamente o mecanismo do fenómeno, pois que a coloração vital constitui uma propriedade activa característica

das células reticulo-endoteliais e não simples fenómeno passivo inerente a tôdas as células do organismo.

A floculação intracelular dos corantes vitais, seguida de fixação por tempo mais ou menos longo, deve designar-se, segundo BRATIANO & LOMBART, por *colloidopexia*. Para estes autores, «*la colloïdopexie diffère de la Speicherung des auteurs allemands, qui n'est en somme que le premier acte de fonctions multiples et différentes (fonction d'emmagasinement, d'excrétion,*



(Desenho de M. SARMENTO)

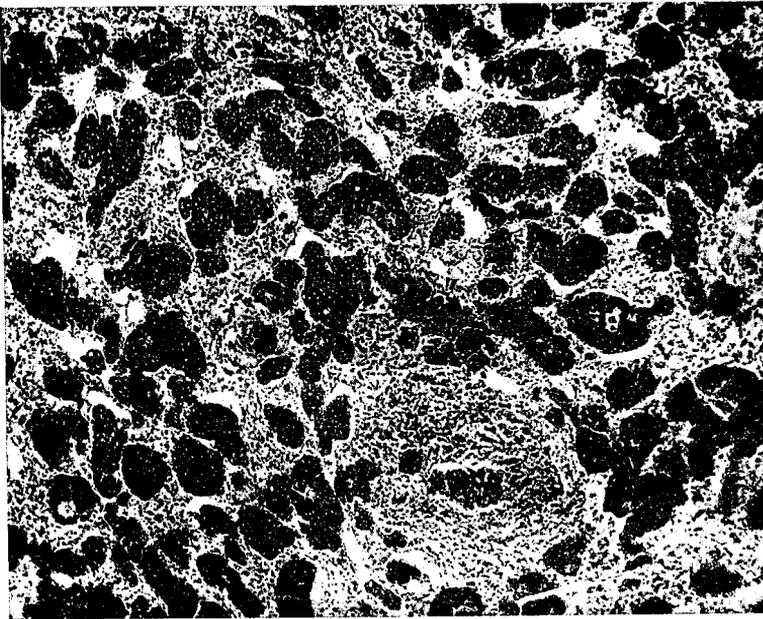
FIG. 1 — *Figado de coelho injectado com lítio-carmim (Obs. x)*

Células de KUPFFER carregadas de granulações vermelhas iguais, regulares e bem individualizadas.

biligène, etc.). La colloïdopexie est une fonction qui doit être toujours intimement associée à l'idée de colloïdostabilisation du milieu intérieur (sang, lymphe, liquide interstitiel). Ainsi comprise, cette fonction est quasi spécifique du système réticulo-endothélial, tandis que la propriété de floculer simplement peut

appartenir à des cellules non-réticulo-endothéliales (cellules nerveuses, intestinales, rénales, hépatiques).»

Se o problema do mecanismo íntimo da coloidopexia não teve ainda solução satisfatória, os factores que a regulam são, pelo contrário, bem conhecidos. Uns estão em relação com as propriedades físico-químicas das substâncias empregadas, outros dizem respeito ao estado fisiológico e fisiopatológico das células retículo-endoteliais.



(Microfotografia)

FIG. 2 — Baço de coelho injectado com torotraste (Obs. xxxiii)

Massas de granulações de bióxido de tório, irregularmente disseminadas pela polpa vermelha, a mascarar a estrutura do órgão.

Sabe-se que o protoplasma vivo, ao contrário do que acontece depois da morte, resiste extraordinariamente à coloração artificial. Tôdas as tentativas executadas neste sentido têm sido infrutíferas: o núcleo fica sempre incolor e o

citoplasma, ou se tinge levemente ou apresenta pequenas granulações de intensidade cromática variável. Estas granulações podem formar-se no interior das células após a injeção do corante ou resultar da adsorção do mesmo corante por substâncias preexistentes no citoplasma. A primeira destas modalidades, chamada convencionalmente *coloração vital*, realisam-na apenas os corantes coloidais ácidos. Os corantes básicos deixam a célula completamente incolor ou fixam-se, por adsorção, nas granulações preexistentes (condrioma, vacuoma, etc.).

A coloração vital parecia, deste modo, regulada por um factor químico—a reacção ácida. Verifica-se, no entanto, que os coloides ácidos são electro-negativos, isto é, os seus iões dirigem-se para o ânodo. Surge, assim, a idea de que a sua fixação ao nível dos elementos celulares é regulada por fenómenos físicos e não químicos. SCHULEMANN e EVANS enunciam a lei seguinte: as substâncias que podem realizar a coloração vital dirigem-se, no campo eléctrico, para o ânodo: são, portanto, electro-negativas. Os ânodos, no organismo, são representados pelos elementos celulares.

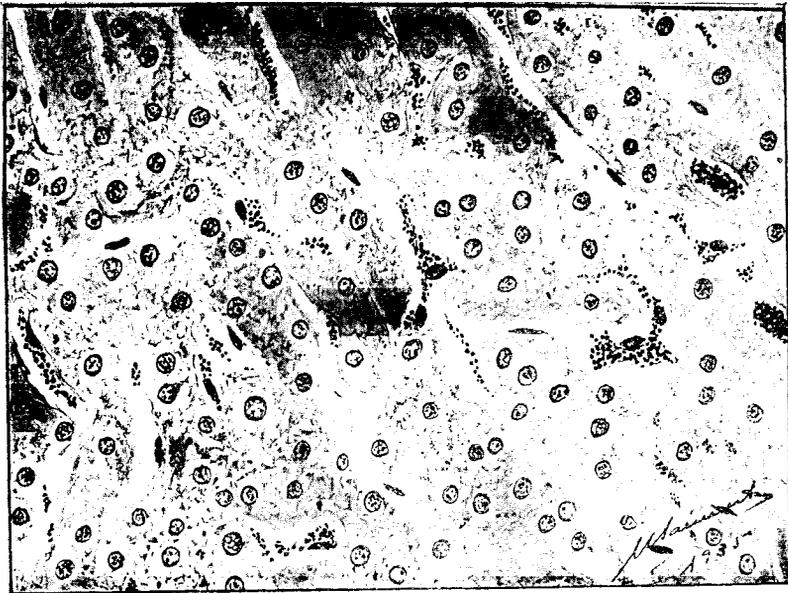
Esta opinião radica-se no espírito dos cientistas ao verificar-se que a floculação de certos coloides neutros provenientes do metabolismo celular é, não só possível, mas idêntica à dos coloides corantes. Tais coloides dirigem-se para o ânodo quando em meio alcalino e para o cátodo quando em meio ácido. Se atendermos a que a reacção dos humores do organismo é levemente alcalina, compreender-se-á que tais substâncias se comportem como os corantes electro-negativos, fixando-se nos elementos retículo-endoteliais.

Um facto curioso, cuja observação se deve a SAXL & DONATH e a JANCÓS, é a possibilidade da retenção, por parte dos histiócitos, de coloides electro-positivos e mesmo de cristalloides, o que parece contrariar a lei atrás enunciada. Contudo, para que a fixação seja possível, indispensável se torna fazer adsorver êsses cristalloides, ou os coloides electro-positivos, por coloides susceptíveis de floculação.

Se da carga eléctrica depende a penetração de corantes no citoplasma celular, a sua distribuição no organismo é re-

gulada pela fase dispersa, que a seu turno condiciona o grau de difusibilidade.

Substâncias coloidais electro-negativas de grandes micelas, isto é, de grosseira dispersão — como a tinta da China ou os hidrossóis metálicos, em especial o bióxido de tório — têm uma capacidade de difusão pouco acentuada. Injectados no tecido celular sub-cutâneo ou nas serosas, acumulam-se, primeiro, nos elementos histiocitários locais e, em seguida, nas



(Desenho de M. SARMENTO)

FIG. 3 — *Fígado de coelho injectado com tinta da China* (Obs. XLIX)

Células de KUPFFER carregadas de numerosos grânulos de carvão, desiguais e aglomerados.

células mesenquimatosas vizinhas e nos gânglios linfáticos tributários da região; não passam à corrente circulatória, ou então difundem-se, mas em pequena quantidade e muito lentamente.

Se a injeção se dá numa veia, a retenção opera-se

nas células reticulo-endoteliais do fígado, do baço, da medula óssea e dos gânglios linfáticos.

Os coloides de micelas pequeníssimas, invisíveis ao ultra-microscópio, têm grande poder de difusão e espalham-se rapidamente pelo organismo, seja qual fôr a via de introdução.

A fase do coloide, não só condiciona diferentes graus de difusão, como influi ainda no modo como as granulações se acumulam no citoplasma celular.

Certos corantes, como o carmim litinado, depositam-se em finíssimas granulações iguais, regulares e homogêneas disseminadas pelo citoplasma, de modo que é possível distingui-las umas das outras (Fig. 1). Só em casos excepcionais (injeção de doses fortíssimas) há grânulos mais volumosos e irregulares. Em tôdas as células do sistema a floculação reveste o mesmo tipo.

A tinta da China e o bióxido de tório floculam sob a forma de granulações irregulares, de tamanhos variáveis, muito juntas e que, por vezes, encobrem completamente a célula em que se fixaram. Estas duas substâncias depositam-se de modo sensivelmente idêntico, com pequenas variações, porém, no que respeita à quantidade contida nos elementos celulares.

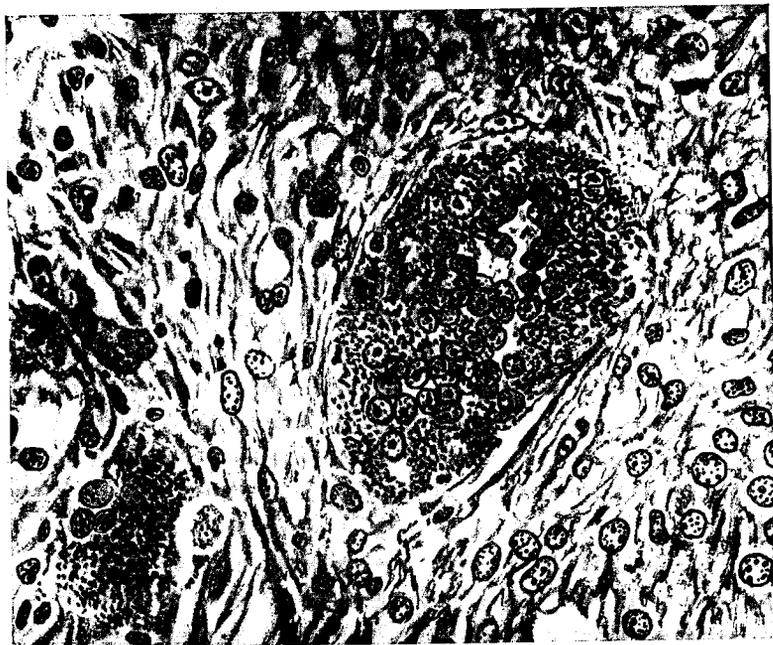
Ao passo que o torotraste forma habitualmente depósitos abundantíssimos, que não só mascaram a célula como até a estrutura do próprio órgão (Fig. 2), com a tinta da China, os grânulos, embora mais irregulares nas dimensões, são menos numerosos e menos aglomerados. (Fig. 3).

A distribuição dos coloides no organismo depende ainda da quantidade injectada e do tempo que medeia entre a injeção e a morte dos animais, como oportunamente se verá.

Nem só os suspensoides introduzidos por via parenteral se vão depositar no S. R. E.. KAGAN conseguiu a impregnação, pelo azul do Tripán, das células de KUPFFER e dos elementos reticulares dos gânglios linfáticos, da medula óssea e do baço, mediante a administração do corante, por sondagem gástrica, a cães e coelhos. Du Bois encontrou granulações intracelulares dalguns suspensoides ingeridos por cobaias durante períodos

variáveis de 8 dias a 5 meses. Essas granulações foram assinaladas nos eixos conjuntivos de vilosidades intestinais, no baço, no fígado (células de KUPFFER) e, por vezes, na medula óssea.

Demonstra-se assim que, mesmo depois da administração por via oral, o S. R. E. pode fixar certas substâncias e principalmente, afirma Du Bois, aquelas que têm determinado



(Desenho de M. FERREIRA)

FIG. 4 — Fígado de coelho injectado com lítio-carmim (Obs. xvii)

Célula gigante, de núcleos centrais, carregada de numerosas granulações vermelhas, na vizinhança dum foco necrótico.

papel fisiológico a desempenhar no organismo. Assim acontece com a colessterina que, introduzida *per os*, se deposita abundantemente nos histiócitos, como o demonstrou FIRKET, entre outros.

Resumindo, podemos dizer que a distribuição das substâncias coloidais introduzidas no organismo é regulada por numerosos factores dependentes

- a) de propriedades relativas à substância empregada (carga electro-negativa, grau de dispersão, quantidade e concentração);
- b) da via de introdução (intravenosa, intra-serosa, subcutânea e oral);
- c) do número de injeções (quantidade de substância injectada) e, finalmente,
- d) do tempo decorrido entre as injeções e a morte do animal.

Se os factores mencionados, de desigual valor relativo, influem grandemente no mecanismo e intensidade da coloidopexia, o estado fisiológico e fisiopatológico dos elementos celulares implica variações importantes na regulação dos mesmos fenómenos.

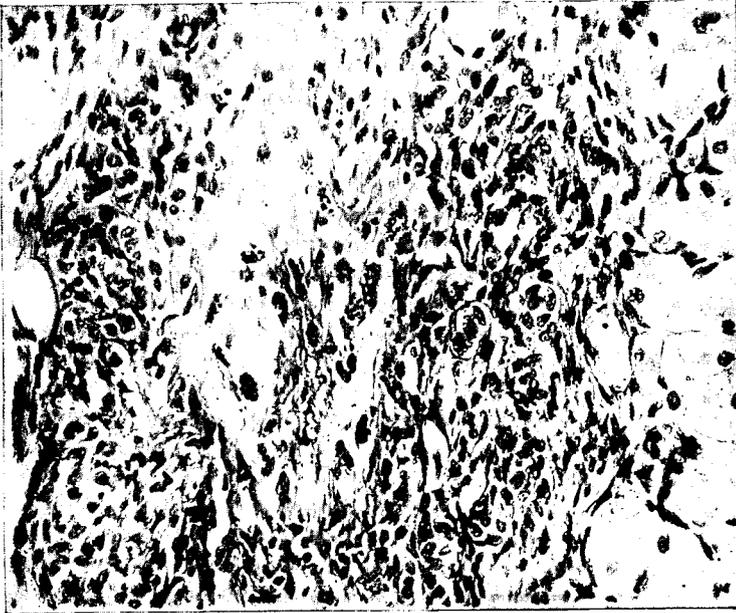
Afirma SIEGMUND que a maior actividade do metabolismo, local ou geral, faz aumentar o número de células facilmente coráveis. Compreende-se bem que assim seja, porque o aumento de actividade exagera a permeabilidade da célula, relacionada, como se disse, com o mecanismo da coloração vital.

Na vizinhança dos focos inflamatórios, quer no apogeu, quer no declínio, quando já vai adiantada a cicatrização, o número de histiócitos aumenta consideravelmente. Pude apreciar este facto à roda de focos de necrose provocados por cauterização do fígado, e bem assim ao redor de lesões de hepatite crónica espontânea, em coelhos injectados com litio-carmim. No primeiro caso, os histiócitos, além de muito abundantes, formavam aglomerados sinciciais, verdadeiras células gigantes, cujo citoplasma continha numerosas granulações vermelhas do corante floculado (Fig. 4).

Fenómeno idêntico me foi dado observar em lesões provocadas pela deposição de fios de gaze esterilizada no peri-

toneu dum coelho que, em seguida e durante bastante tempo, injectei com o mesmo corante.

A possível fixação, nas células do sistema retículo-endotelial, de produtos derivados do metabolismo, identificáveis ou não pelos métodos histológicos correntes — fixação que BRATIANO & LLOMBART designam por *bloqueio fisiológico* — não tem sido devidamente ponderada entre as múltiplas



(Microfotografia)

FIG. 5 — Ovário de coelha injectada com lítio-carmin (Obs. IX)

Flocculação de pigmento hemático pelos histiócitos dum folículo atrético.

causas que regulam a intensidade, o grau e a extensão da coloidopexia.

MERKLEN refere que durante o primeiro ano da vida o sistema retículo-endotelial está naturalmente impregnado de pigmentos ferruginosos ou de gorduras que impedem a co-

loração vital, e POZZAN confirma que em tal período da vida as células retículo-endoteliais dos gânglios linfáticos exercem uma função hemocaterética muito activa.

No decorrer dos estudos a que procedi sôbre o sistema de ASCHOFF, frequentemente encontrei, como causa de deficiência granulopéxica, o bloqueio fisiológico, principalmente ao nível do baço, do fígado e do ovário, determinada por pigmentos derivados da hemoglobina. No baço de animais injectados com um soluto aquoso de carmin litinado os detritos dos glóbulos rubros e o pigmento hemosidérico acumulavam-se, por vezes, em tal quantidade nas células retículo-endoteliais que os grânulos de carmin só nelas se depositavam em número muito restrito.

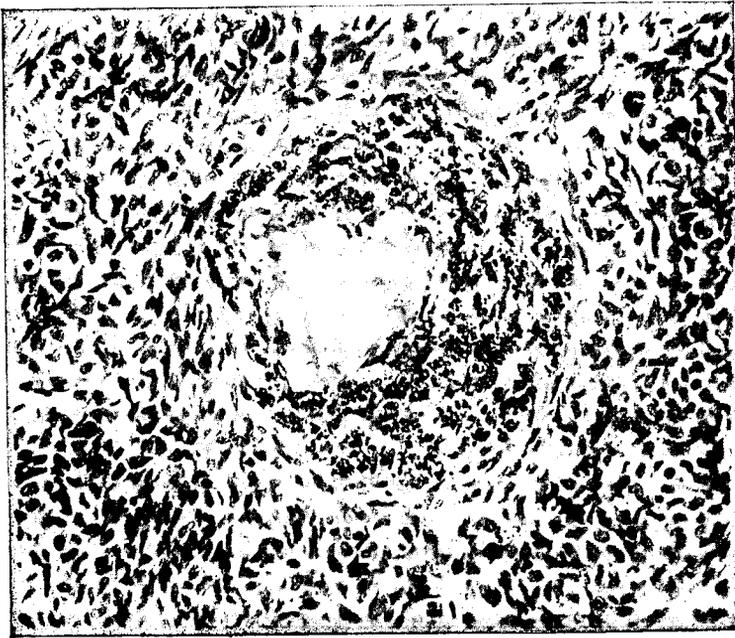
A hemólise determinada pela solução hipotónica do corante explica o aparecimento de abundantes depósitos de hemoglobina e seus derivados, não só naquele órgão, mas em todos os departamentos do S. R. E.. O próprio ovário apresenta a flocculação de pigmentos em histiócitos dos folículos de GRAAF em atresia (Fig. 5).

Além dos factores mencionados, outros de natureza farmacodinâmica podem modificar também a intensidade da flocculação. Experiências já feitas mostram a influência de agentes variados—certos metais (FABRONI), uretana, pilocarpina (DIERYCK), adrenalina, cloreto de sódio, hormonas (GOLDZIEHER & HIRSCHHORN), raios X (CAPOCACCIA & VALLEBONA, DELLEPIANE, MISCHTSCHENKO, SCHUSTEROWNA, ZACHERL), etc.—na maior ou menor retenção dos coloides.

Depois de passados em revista os factores que condicionam a modalidade, intensidade e até o mecanismo íntimo da coloração vital, lembrarei ainda que, na interpretação de preparações histológicas de vísceras de animais injectados com corantes coloides electro-negativos, se deve estar prevenido contra certo número de imagens de falsa ou pseudo-coloidopexia motivada, segundo BRATIANO & GUERRIERO, por qualquer dos três erros seguintes:

1.º *Erro post-vital*.—Coloração, pelo corante vital, de restos necrosados provenientes de degenerescências proto-

plásmicas ou nucleares, e bem assim de produtos de desintegração celular. GUERRIERO observou o fenómeno com muita nitidez no decorrer do estudo do calo ósseo irradiado: nas primeiras fases, enquanto persistem restos necrosados, verifica-se a fagocitose, pelos histiócitos e leucócitos, destas substâncias previamente coradas; mais tarde, quando da



(Microfotografia)

FIG. 6 — *Ovário de coelha injectada com lítio-carmim (Obs. IV)*

Detritos celulares, corados de vermelho, fagocitados pelos histiócitos dum folículo atretico (imagem de falsa coloidopexia — erro post-vital).

organização do calo, alguns elementos celulares invasores apresentam já a verdadeira função histiocitária.

No decurso das minhas experiências tive a oportunidade de notar, com o azul de pirrol e até com o carmim litinado, a causa de erro post-vital em numerosas circunstâncias. Um

dos exemplos mais típicos consistia na coloração, pelo lítio-carmim, de detritos ou produtos degenerativos protoplásmicos e nucleares de folículos ováricos no decorrer da atresia, motivando o aparecimento de granulações de cor vermelha pálida, mas bem distintas das finas granulações provenientes duma verdadeira coloidopexia (Fig. 6). A este facto já se fez referência num trabalho que o Prof. AMÂNDIO TAVARES e eu publicámos sobre o assunto.

Estes restos necrosados, previamente embebidos de corante, podem experimentar, por parte de histiócitos, uma fagocitose mais ou menos acentuada, que terá como resultado apresentar-se a célula com todos os caracteres dos elementos reticulo-endoteliais e com algumas granulações vermelhas, grandes e pálidas, dispersas no citoplasma; um exame superficial podia levar a concluir pela existência duma verdadeira floculação. Acontece muitas vezes que ao lado destas células aparecem outras com a propriedade de operar uma verdadeira floculação, tornando bem nítido o contraste entre ela e a coloidopexia.

2.º *Erro químico corante.*—Coloração de corpos grânulo-gordurosos de qualquer origem ou, de modo mais geral, coloração de substâncias intracelulares. Observa-se o fenómeno também ao nível do ovário, nas células luteínicas do corpo amarelo, quando se utiliza o azul de pirrol ou o azul do Tripán, com os quais o erro lipóidico e adiposo é bem saliente.

3.º *Erro físico.*—Devido à precipitação do corante vital ácido em formações preexistentes na célula, como se pode verificar nas células pigmentares dos Bratáquios anuros que receberam injeções de corantes coloidais ácidos (BRATIANO).

Estas causas de erro, quando desconhecidas, podem levar a conclusões falsas; tal parece ser o caso dos corpúsculos de HASSALL, que se chegaram a considerar de origem mesenquimatosa, e não epitelial, pelo facto de poderem, por vezes, apresentar granulações de corantes coloidais. Além da possi-

bilidade da coloração passiva de substâncias existentes no próprio corpúsculo, esquece-se que o timo é o órgão em que com mais frequência se observam, em seguida à injeção de corantes coloidais, os fenômenos da crise carioclásica de DUSTIN.

BRATIANO & GUERRIERO marcam bem a importância da pseudo-coloidopexia quando escrevem: «*La présence d'un colorant colloïde acide dans un élément ne suffit pas à le placer dans le groupe des éléments réticulo-endothéliaux. On doit, d'une part, exclure les causes d'«erreurs» et, d'autre part, s'assurer que la cellule présente morphologiquement les caractères d'une cellule normale.*»

II

MORFOLOGIA E LIMITES DO SISTEMA RETÍCULO-ENDOTELIAL

ASCHOFF e seus colaboradores delimitam anatômicamente o sistema retículo-endotelial tomando como critério de classificação histológica a actividade granulopéxica dos seus elementos. Nêlé agrupam, como disse, o retículo-endotélio dos órgãos hemolinfopoiéticos e as células dos sinusoides do fígado, da suprarrenal e da hipófise, quando tomado no sentido restrito. Numa acepção mais lata compreenderia, além dos elementos mencionados, os endotélios vasculares e os fibroblastos, bem como os histiócitos, esplenócitos e monócitos.

A descoberta doutras células com as mesmas propriedades coloidopéxicas tende a aumentar consideravelmente os limites do sistema de ASCHOFF.

Assim, WILLIAMSON & PEARSE nêlé incluem também o endotélio dos capilares da tiroideia e da paratiroideia, ao qual atribuem caracteres idênticos aos das células de KUPFFER. SCALA & SPINA juntam-lhe certos elementos mesenquimatosos normalmente observados no gânglio celiaco, e TSCHETSCHUJEVA confirma a existência de células com funções histiocitárias

nos gânglios do simpático e descreve-as também nos gânglios espinais.

CESA-BIANCHI, em 1927, define o sistema retículo-endotelial como um complexo de elementos, em parte de natureza celular, em parte de natureza fibrilar, que se observam normalmente em órgãos e tecidos variados (pelo menos nos vertebrados superiores) e que, pela sua origem, função e propriedades biofísicas e bioquímicas, parecem constituir, na economia animal, um verdadeiro sistema dotado de funções particulares. Além das células retículo-endoteliais dos órgãos hemolinfopoiéticos e dos sinusoides do fígado — as quais formam a parte mais importante — este sistema, afirma BIANCHI, *«è inoltre più o meno riccamente rappresentato negli endotelii vasali, nelle guaine perivasali, nelle lacune linfatiche, nella cortico-surrenale, nell'ipofisi, nel pancreas, nel timo, nel testicolo—ove si deve fare attenzione di non confonderlo, come troppo spesso si è fatto, con le cellule interstiziali—e soprattutto nel cosiddetto tessuto cellulare o connettivale lasso, il che praticamente equivale a dire in quasi tutto l'organismo.»*

O estudo da difusão de tinta da China, no organismo de cobaias injectadas por via intraperitoneal com este suspensoide, permite a CRISAN englobar no sistema retículo-endotelial, os endotélios da serosa abdominal e do ovário. Utilizando a mesma substância e ainda o litio-carmim, BARBEY conclui do mesmo modo pelo que respeita aos elementos cromófilos da amígdala do Coelho. JUSSIN & BELAWENETZ afirmam que certas células intersticiais epididimárias e testiculares do Rato branco desempenham funções histiocitárias.

AIELLO obtém a coloração vital de certas células que, por sua situação, se poderiam considerar dotadas duma função osteoblástica e afirma haver afinidades especiais entre o tecido ósseo e o sistema de ASCHOFF. Neste sistema filia GRYNFELT as células endoteliais dos capilares sanguíneos vizinhos das células cromafins da zona medular da suprarenal.

Na sinovial articular observou RASZEJA, muito recentemente, elementos activamente cromófilos cuja existência foi confirmada por RODI ao interpretar certas lesões de artro-

patia crónica que julga dependentes do comportamento reaccional dos histiócitos articulares.

No entanto, são os trabalhos de VOLTERRA que contribuem para alargar o âmbito do sistema retículo-endotelial a zonas muito extensas do organismo.

As suas pesquisas iniciaram-se pela demonstração da existência duma bainha adventicial de tecido reticulado a envolver as células endoteliais dos capilares. Esta adventícia, constituída por uma rede muito fina de fibrilas ricamente anastomosadas, mas não dispostas em feixes, põe-se em evidência pela impregnação metálica; algumas delas destacam-se, em maior ou menor quantidade, para os tecidos pericapilares e pode afirmar-se que há sempre tecido reticulado onde se encontram vasos sanguíneos.

A trama reticular, demonstrada mesmo em certos processos mórbidos por FAVILLI e outros autores, possui, na opinião de VOLTERRA, células próprias semelhantes às descritas no retículo dos órgãos hemolinfopoiéticos e, como estas, dotadas de activa capacidade granulopéxica.

Dêste modo, o sistema retículo-endotelial, tomado mesmo no sentido restrito, deveria compreender tôdas as células reticulares adventiciais além das dos órgãos hemolinfopoiéticos e, portanto, estender-se-ia a todos os pontos do organismo onde se encontram vasos. As células endoteliais do fígado, e bem assim as dos endotélios dos seios venosos esplénicos ou dos seios linfáticos, são consideradas por VOLTERRA como «*elementi avventiziali spostati in posizione endoteliale*» e que não têm dos verdadeiros endotélios senão a posição.

Como os verdadeiros endotélios, na opinião dêste autor, não flocculam os coloides (veremos adiante que os podem fixar, pelo menos em quantidade deminuta) e os elementos celulares endoteliais dos órgãos hemolinfopoiéticos e do fígado os considera verdadeiras células reticulares em posição endotelial; e como, por outro lado, certas células do conectivo laxo (histiócitos ou clasmatócitos de RANVIER) são também activamente cromófilas — VOLTERRA propõe a designação de *sistema retículo-histiocitário* para substituir a que lhe é atribuída por ASCHOFF,

E, assim, o sistema retículo-histiocitário (S. R. H.), na aceção lata, compreende os seguintes elementos:

1.º—S. R. H. (aceção restrita):

- a) células do retículo-endotélio dos órgãos hemolinfopoiéticos;
- b) células do «retículo periférico» (células adventíciais dos capilares, das membranas basais das glândulas, do sarcolema muscular);
- c) células reticulares em posição endotelial (capilares hepáticos, seios esplênicos, linfáticos e medulares).

2.º—Clasmatócitos (células cromófilas do tecido conjuntivo laxo).

Como se vê, o sistema retículo-histiocitário de VOLTERRA difere do sistema retículo-endotelial de ASCHOFF pelas duas razões seguintes: Em primeiro lugar, o sistema histiocitário é constituído por um só grupo de células, bem definidas por sua estrutura e distribuição, e a que não é possível agregar outros elementos celulares. Em segundo lugar, o estroma do sistema (de considerável amplitude no conceito de VOLTERRA, que o descreveu em todos os órgãos) desempenharia funções mais importantes que as de simples sustentação, em virtude de os diversos fenómenos do metabolismo serem desempenhados, não só pelas células do sistema, mas ainda pelo seu estroma característico, que *«essendo in connessione coi capillari penetra nell'intimo dei parenchimi, presiede agli scambi dei liquidi, mantiene nei limiti fisiologici lo stato fisico-chimico e controlla le condizioni umorali dei tessuti»* (VOLTERRA).

O sistema retículo-histiocitário não compreende, como se viu, os fibroblastos e as células endoteliais dos vasos sanguíneos e linfáticos — elementos que, por serem capazes de fixar os corantes vitais, MOELLENDORF, BRUNI e HAMMERSCHMIDT consideram pertencentes ao sistema retículo-endotelial. Todavia, OSELADORE afirma que os endotélios capilares comuns não se comportam como os de tipo sinusoide ante os corantes

vitais e acrescenta que eles não são susceptíveis de originar, como estes últimos, histiócitos migrantes.

PRATT não teria observado células endoteliais carminófilas no parênquima pulmonar, mesmo depois de injeções maciças e muito repetidas.

Em 1914, BORREL apresenta à *Association française du Cancer* numerosas preparações histológicas de sanguessugas, de peixes e de embriões de sapos e de cobaias, com o fim de demonstrar a proveniência exógena do pigmento contido no tecido malphighiano diferenciado. Por baixo do epitélio malphighiano daqueles animais descreve um sistema pigmentar, espécie de imenso sincício, cujas células recebem dos capilares pigmentos e diversas substâncias nutritivas para os transportarem até à epiderme e às glândulas. Este sistema (em cujas células os plastos se coram pelos corantes vitais) tem como principal atributo a função melanogénea.

Pouco depois, MASSON põe em evidência, no Homem, por meio da impregnação pelo óxido de prata amoniacal, o sistema de BORREL e observa, em determinadas condições patológicas, que as gorduras e pigmentos ferruginosos caminham de célula para célula, da profundidade da derme para a epiderme, realizando—como diz MERKLEN—uma espécie de coloração vital.

Esta rede trofo-melânica, observada nos Invertebrados e nos Vertebrados inferiores por BORREL e posta em evidência por MASSON no Homem, seria, na opinião de PAUTRIER & LÉVY, «*l'expansion périphérique du système réticulo-endothélial*».

MERKLEN (1928) considera este sistema constituído por dois tipos de células: umas fixas, outras móveis. As primeiras observam-se nas vísceras, no tecido conjuntivo e na pele. As das vísceras—que constituem a parte principal do sistema—formam o retículo-endotélio do baço, dos gânglios linfáticos e da medula óssea, bem como os sinusoides do fígado, da suprarrenal e da hipófise. As células fixas do tecido conjuntivo, chamadas muitas vezes fibrócitos, histiócitos fixos ou tecidulares, formam aglomerados dispersos por variadas regiões e encontram-se com predilecção no

epíploon e nas bainhas vasculares. As células de localização cutânea constituem a rede trofo-melânica de BORREL-MASSON.

As células cromófilas móveis apresentam duas variedades de migrações: umas passam para o sangue sob a forma de histio-monócitos móveis, as outras, derivadas de focos fibrocitários fixos, infiltram-se através das malhas dos tecidos vizinhos e vão colonizar mais longe. Assim se multiplicam, por exemplo, as manchas leitosas do epíploon (MERKLEN).

DI GUGLIELMO, admitindo em parte as ideias de VOLTERRA, apresenta, em 1933, a seguinte classificação morfológica do sistema retículo-endotelial:

I — Células do retículo:

a) células do retículo periférico:

1.º retículo pericapilar (adventícia reticular);

2.º tecido reticulado lamelar (membranas basais dos epitélios, sarcolema, membrana endoneural das fibras nervosas, membrana dos alvéolos adiposos, cápsula das células dos gânglios cérebro-espinais e simpáticos, etc.);

b) células do retículo dos órgãos hemolinfopoiéticos (medula óssea, baço, gânglios linfáticos).

II — Células reticulares em posição endotelial (células dos sinusoides hepáticos, dos seios linfáticos e medulares).

III — Clasmatócitos de RANVIER ou células migrantes em repouso de MAXIMOW (células do tecido conjuntivo laxo).

IV — Fibrócitos (células dos conectivos colagêneos, laxos e densos).

V — Células migrantes do tecido conjuntivo.

A afastar o conceito morfológico para base de classificação do sistema retículo-endotelial e a considerá-lo antes

sob o ponto de vista funcional, referirei as opiniões de PATZELT e de SIEGMUND mencionadas no citado estudo de DI GUGLIELMO:

«Dora Boerner Patzelt chiude il capitolo da lei scritto sulla morfologia e istogenesi del sistema reticolo-endoteliale affermando che non si tratta di un sistema ben definito e delimitato dal punto di vista morfologico, ma di elementi morfologicamente affini che si comportano funzionalmente in maniera simili.

«E più recentemente Siegmund considera el sistema reticolo-endoteliale non una costruzione anatomica rigida ma una struttura funzionale della totale sostanza fondamentale connettivale differenziabile, struttura funzionale la quale se produce — come risultato ed espressione di aumentate attività locali e generali del ricambio — tanto da accumuli proliferanti mesenchimali affatto indifferenti, quanto anche da elementi in riposo del connettivo lasso, che si sono ulteriormente differenziati».

Perante opiniões tão divergentes acêrca do conceito e da extensão do sistema reticulo-endotelial, propuz-me estudar, por meio de técnicas apropriadas, os limites do sistema e determinar os caracteres morfológicos e biológicos das suas células.

Material e técnica. — As minhas pesquisas foram feitas, exclusivamente, no Coelho, e nelas utilizei animais de idades diferentes (recém-nascidos, novos e adultos), mas sujeitos ao mesmo regime e habitat.

Depois de experiências preparatórias com diversas substâncias destinadas à impregnação vital (lítio-carmim, azul do Tripán, azul de pirrol, azul de isamina, vermelho do Congo, tinta da China e bióxido de tório coloidal), dei a preferência ao carmim litinado — corante vital de meio de dispersão abundante e de micelas muito pequenas, invisíveis ao ultra-microscópio — e ao torotraste, hidrossol metálico de grandes micelas.

O corante coloide preparava-o a partir do produto for-

necido pela casa Grübler ou servindo-me da solução de «carmim rubra de Leitz opt.» em água saturada de carbonato de lítio; preferia, porém, o primeiro modo de preparação, por me parecer menos tóxico o corante assim conseguido, ao contrário do que afirmam alguns autores.

O bióxido de tório coloidal, fabricado pela casa Heyden com o nome de torotraste, utilizei-o sempre na concentração em que a casa produtora o fornece com destino à Clínica (22 p. 100 de tório).

Dispensei-me de usar os corantes azuis derivados da benzidina por apresentarem grande afinidade para os lipo-albuminoides, além de corarem os corpúsculos preexistentes no citoplasma e, com freqüência, tingirem difusamente algumas células vivas, tornando difícil, ou mesmo impossível, distinguir a verdadeira da falsa colodoipexia. Acresce ainda que se trata de substâncias tóxicas que matam, por vezes, rapidamente, os animais que as recebem por via intravenosa.

A tinta da China apresenta sensivelmente as mesmas propriedades do torotraste; no entanto, esta substância, utilizada em Clínica, parece dotada de menor toxicidade (pelo menos nos primeiros tempos que se seguem à sua introdução no organismo) que o negro de fumo.

As vias adoptadas para a introdução dos coloides foram, sobretudo, a intravenosa e a intraperitoneal, isoladamente ou associadas; mas recorri também à intrapleural e subcutânea.

O torotraste injectava-o em doses variáveis de 1 a 15 c.c.; na maioria das experiências a dose total foi de 0,7 ou 0,9 c.c. por cada 100 gramas de pêso vivo.

De lítio-carmim empreguei sempre um soluto aquoso a 1 p. 100, na quantidade de 1 c.c. por cada 100 gramas de pêso vivo e por injeccção. A esta quantidade de corante chamarei, para comodidade de exposição, «uma dose de carmim litinado».

Os diferentes animais, depois de mortos espontaneamente ou sacrificados, eram autopsiados e os órgãos destinados à observação microscópica fixados em líquido de Bouin ou em formol a 10 p. 100, consoante se destinavam a cortes

por inclusão em parafina ou por congelação. Como corantes histológicos servi-me, as mais das vezes, da hemateína. Em casos especiais recorri também à hemateína-eosina, hemalumen-eritrosina-açafrão, método tano-férrico de SALAZAR (ovário), método de RIO HORTEGA (micróglia) e ainda à coloração pelo LEISHMAN.

Como o torotraste se deposita sob a forma de grandes corpúsculos refringentes de fácil identificação, a sua pesquisa não requiere métodos histológicos especiais.

OBSERVAÇÕES

A — Experiências com o carmim litinado

Obs. I — *Coelho n.º 1, ♂, 6 meses de idade, 2860 gr. de peso.*

Injecção de duas doses de carmim litinado em 5 e 7-IX-1931. Sacrificado dois dias depois da segunda e última injecção.

À autópsia nota-se coloração vermelha do tecido celular subcutâneo, dos tendões e aponevroses, e bem assim de tôdas as vísceras. Urina e sôro sangüíneo corados intensamente pelo carmim.

Exame microscópico. — As granulações vermelhas de lítio-carmim floculado apresentam-se com pequenas dimensões, redondas e regularmente dispostas no citoplasma celular; o seu número varia de 3 a 30, ou mais, consoante a natureza da célula.

No baço encontram-se numerosas granulações no citoplasma de escasso número de elementos retículo-endoteliais da polpa vermelha que, na sua maior parte, possui abundantes depósitos de hemosiderina.

O corante vê-se em quasi metade das células endoteliais dos cordões medulares dos gânglios linfáticos e é raro nas células reticulares dos folículos. A medula óssea tem coloide em cerca de metade dos elementos histiocitários. As células de KUPFFER, talvez um terço do número total, contêm granulações pequenas, regulares, iguais e bem individualizadas; no parênquima hepático são mais irregulares, maiores e espaçadas. Não há carmim nos espaços e fissuras de KIERNAN.

A floculação na suprarenal observa-se em raras células dos sinusoides, mais abundantes, todavia, na camada medular do que na cortical. Na hipófise também o lítio-carmim é raro nos sinusoides dos lobos glan-

dulares e nas células adventíciais dalguns vasos do lobo nervoso. Em ambos os órgãos é restrito o número de granulações contidas em cada célula.

Os histiócitos do epíloon, extremamente abundantes, apresentam grande quantidade do coloide injectado.

O carmim não se observa nos seguintes órgãos: tiroideia, paratiroideia, timo, rim, pulmão, estômago, intestinos, bexiga, testículo, coração e centros nervosos.

Obs. II — *Coelho n.º 17, ♂, 1000 gr. de pêso.*

Em 16 e 17-V-1932, injeccão, por via intravenosa, de uma dose de carmim litinado. Morte em 18 do mesmo mês, 24 horas depois da última injeccão.

Nada de notável à autópsia, à parte, bem entendido, a coloração vermelha das vísceras.

Ao *exame histológico* verifica-se a floculação do coloide pela maioria das células retículo-endoteliais da polpa vermelha do baço; folículos linfóides com raras granulações vermelhas.

Na medula óssea nota-se a coloração vital em cerca de metade das células do retículo e, no fígado, pode calcular-se em dois terços o número das células de KUPFFER impregnadas. Neste órgão predominam os elementos kupfferianos arredondados e com grânulos vermelhos em redor do núcleo; as células alongadas, com 8 a 10 granulações em cada extremidade, são menos freqüentes. Encontram-se ainda histiócitos corados na adventícia dalguns vasos dos espaços e fissuras de KIERNAN e abundantes depósitos de corante no parênquima hepático.

Não se examinaram outras vísceras.

Obs. III — *Coelho n.º 12, ♀, 2220 gr. de pêso.*

Três doses de carmim litinado, por via intravenosa, respectivamente em 20, 21 e 23-IV-1932. Injeccão de 3 c.c. de azul de isamina a 1 p. 100, a qual provoca a morte do animal em 4-IV, 11 dias depois da última injeccão de carmim.

Exame histológico. — Ausência de carmim floculado na tiroideia, no pâncreas, nos centros nervosos, no coração e no rim. Esta substância encontra-se em muitas células endoteliais e adventíciais de vasos dos septos conjuntivos do timo e em raros elementos dos sinusóides da hipófise. As células do endotélio da suprarrenal não exerceram a coloidopexia que, pelo contrário, se manifestava em histiócitos da cápsula do mesmo órgão.

Ao passo que o baço e o fígado apresentam restrito número de células cromófilas, a medula óssea tem corados mais de metade dos elementos retículo-endoteliais. Ovário do tipo intersticial com raros

foliculos; dois dêles, em atresia avançada, apresentam, na parte central, numerosas células coradas.

Como era de prevêr, não se encontram granulações de azul de isamina.

Obs. IV — *Coelho n.º 11, ♀, 2320 gr. de pêso.*

Injecção, por via intravenosa, de 3 doses de carmim litinado nos dias 20, 21 e 23-IV-1932. Morte em 6-V, imediatamente depois de introduzidos, na corrente circulatória, 15 c.c. de azul de isamina a 1 p. 100.

Na autópsia verifica-se a existência de coloração carminada muito leve das vísceras abdominais e pontuado intensamente azul à periferia e no interior dos pulmões.

Exame histológico. — Suprarrenal, hipófise, centros nervosos e coração sem células carminófilas. Histiócitos vitalmente corados na adventícia dos vasos dalguns órgãos: timo, tiroideia, pâncreas, músculos estriados, útero, estômago, intestino e ovário.

No baço a coloidopexia observa-se em limitado número de células da polpa vermelha, que contém abundantes pigmentos hemoglobínicos e detritos de glóbulos rubros. Na medula óssea encontram-se apenas alguns elementos reticulares com granulações do corante; a maioria floculou o pigmento hemosidérico.

No fígado, apenas metade das células de KUPFFER apresenta grânulos de coloide, em pequeno número e com uma coloração amarelo-avermelhada. As células do parênquima contém granulações francamente amarelas. O ovário, do tipo intersticial, apresenta raros foliculos em atresia, num dos quais se podem ver histiócitos corados em redor de detritos do ovócito.

No pulmão todos os vasos, de pequeno ou médio calibre e mesmo os capilares, estão cheios duma substância azul muito abundante.

Não se encontram granulações de isamina no citoplasma de quaisquer células dêste ou doutros órgãos.

Obs. V — *Coelho n.º 2, ♂, 40 dias de idade, 270 gr. de pêso.*

Introdução, na corrente circulatória, de 3 doses de carmim litinado nos dias 22, 27 e 29-XI-1932. Morte em 11-XII, 13 dias depois da última injecção.

À autópsia não se encontram lesões dignas de registo. Hipertrofia considerável dos incisivos por falta de desgaste.

Exame histológico. — Raros histiócitos da adventícia dos vasos com granulações de carmim. Esta substância falta completamente na hipófise e na suprarrenal. No fígado, no baço e na medula óssea só limitado número de células fixaram o corante, embora sejam numerosas aquelas que

exerceram a floculação de pigmentos hemáticos. No parênquima hepático notam-se granulações de carmim parcialmente elaborado (coloração amarela)

Obs. VI — *Coelho n.º 39*, ♀, 6 meses de idade, 2175 gr. de peso.

Injecção, por via intravenosa, de 4 doses de carmim litinado nos dias 28, 29, 30 e 31-XII-1932. Poucos minutos após a última injecção, introduzem-se 0,5 c.c. do mesmo corante em pleno parênquima pulmonar e sacrifica-se o animal passadas 5 horas.

Na autópsia verifica-se a existência duma zona limitada do parênquima pulmonar com coloração fortemente avermelhada. Visceras abdominais com tom carminado. Urina corada de vermelho.

Exame microscópico. — As granulações de carmim faltam apenas nos centros nervosos.

Em todos os órgãos existem células carminófilas no endotélio e na adventícia dos vasos, bem como histiócitos corados dispersos pelo tecido conjuntivo.

O ovário, do tipo atrético-intersticial com raros folículos de GRAAF em atresia, possui depósitos do coloide na quasi totalidade das células endoteliais e em muitas da adventícia dos vasos do hilo. Nos folículos em atresia encontram-se células coradas e, em cortes felizes, pode verificar-se que tais células, provenientes do endotélio e da adventícia dos vasos, entram no folículo depois da ruptura da membrana SLAVJANSKY.

No baço notam-se depósitos de hemossiderina nos elementos endoteliais da polpa vermelha, onde muitos deles fixaram o carmim. Pode observar-se, embora raramente, a coexistência, na mesma célula, de ambas as substâncias. A quasi totalidade dos elementos retículo-endoteliais do fígado e da medula óssea contêm abundantes grânulos vermelhos.

A substância injectada encontra-se em grande quantidade nas células hepáticas e nas células dos tubos contornados do rim.

No pulmão, a zona correspondente à injecção local de carmim apresenta-se alterada (ruptura da maior parte dos alvéolos) e possui muito raros histiócitos carminófilos.

Obs. VII — *Coelho n.º 9*, ♂, 16 meses de idade, 2320 gr. de peso.

4 doses de carmim litinado por via intravenosa nos dias 15, 16, 17 e 18-II-1932. Morte 8 dias depois da última injecção.

Nada de notável à autópsia.

Exame histológico. — O lítio-carmim aparece floculado em raros histiócitos dos septos conjuntivos do rim, do timo, da tireoideia e do coração.

Nêstes órgãos é excepcional a presença de granulações nos elementos endoteliais. Na suprarrenal e na hipófise, limitado número de

células dos sinusoides com lítio-carmim, ao passo que no fígado, no baço e na medula óssea, esta substância se encontra em mais de metade dos elementos retículo-endoteliais.

Nos tubos contornados do rim e no parênquima hepático verifica-se a existência de abundantes grânulos vermelhos.

Obs. VIII — *Coelho n.º 7, ♀, 900 gr. de peso.*

Injecção, na corrente circulatória, de 5 doses de lítio-carmim, de 11 a 16-I-1933. Morte no dia imediato ao da última injecção.

A autópsia não revela factos dignos de menção.

Exame histológico. — Ausência de carmim nos centros nervosos, no pulmão, na tiroideia e no timo. Células cromófilas muito raras no coração, na hipófise e nos sinusoides da suprarenal (êste órgão possui abundantes histiócitos na cápsula). Medula óssea e gânglios linfáticos com carmim em numerosos elementos retículo-endoteliais. Grande quantidade de pigmento hemático e discretas granulações vermelhas no baço. Estas aparecem em mais de metade das células de KUPFFER do fígado e em quasi todos os elementos do parênquima.

Ovário de tipo folicular; células de capacidade coloidopéxica em número muito restrito ocupam os septos conjuntivos do órgão e a adventícia de raros vasos.

Obs. IX — *Coelho n.º 6, ♀, 6 meses de idade, 2180 gr. de peso.*

Nos dias 9, 10, 11, 12, 13, 14 e 16-XI-1931 introduzem-se, na corrente circulatória, 7 doses de lítio-carmim, e o animal é sacrificado 48 horas após a última injecção.

A autópsia mostra tôdas as vísceras abdominais, tendões, aponevroses, diafragma, algumas cartilagens e as meninges com côr avermelhada. Centros nervosos de aspecto normal.

Exame histológico. — Encontram-se células carminófilas, mais ou menos abundantes, na adventícia ou no endotélio dos pequenos vasos dos seguintes órgãos: suprarenal, hipófise, timo, tiroideia, paratiroideia, rim, uretra, bexiga, útero, trompa, ovário, fígado, baço, gânglios linfáticos, estômago, intestinos, coração, pulmão, epíloon, músculos estriados, tecido celular do lábio e da pele do abdomen.

Na suprarenal há granulações vermelhas em raras células dos sinusoides; o carmim parece mais abundante na camada medular. Também na hipófise é restrito o número de células dos sinusoides com coloide floculado.

A coloidopexia verifica-se em numerosas células da medula óssea, do fígado e dos cordões medulares dos gânglios linfáticos e em limitado número de elementos dos folículos linfoides dos gânglios e do baço.

Nêste órgão, a polpa vermelha contém abundante pigmento hemático e pequena quantidade de corante.

O ovário, do tipo intersticial septado, possui raros folículos atréticos ricos de carmim.

Obs. X — *Coelho n.º 3, ♂, 1580 gr. de pêso.*

Lítio-carmim por via intravenosa (8 doses) em 24, 26, 27, 28, 29, 30-X, 3 e 4-XI-1931. Morte em 5-XI, 24 horas depois da última injeccão.

No momento da autópsia nota-se uma côr vermelha, mais ou menos acentuada, em diversos pontos do organismo.

Exame histológico. — Baço com abundantes células carminófilas na cápsula, raras na polpa vermelha — a qual possui depósitos consideráveis de hemosiderina e detritos de glóbulos rubros — e ausentes nos folículos linfoides. A grande maioria das células de KUPFFER apresenta numerosos grânulos vermelhos; êstes vêem-se também nas células endoteliais e adventíciais dalguns vasos, mas em menor quantidade, (4 a 5 grânulos), bem como no parênquima hepático (granulações maiores, poligonais e esparsas). Na medula óssea a flocculação do carmim observa-se em quâsi todos os elementos retículo-endoteliais; na suprarrenal apenas exerceram essa propriedade raras células dos sinusoides (maior número de elementos corados na camada medular) e da cápsula. Também a hipófise contém muito poucos elementos carminófilos nos sinusoides.

A fixação do coloide injectado não se observa nas células reticulares dos folículos linfoides dos gânglios e do intestino grosso, embora, em roda dos mesmos folículos se encontrem, por vezes, bastantes células com carmim.

O testículo possui o corante coloidal em numerosas células da albugínea, dos septos conjuntivos, e bem assim em células adventíciais. As primeiras, de núcleo alongado e hiper cromático, têm raras granulações nas extremidades do citoplasma; nas segundas existem em maior número, a rodear completamente o núcleo, que é arredondado e com pouca afinidade para os corantes histológicos.

Como nos animais das observações anteriores, também êste coelho tem granulações de carmim em maior ou menor número de células adventíciais e endoteliais de todos os pontos do organismo, com excepção dos centros nervosos.

Obs. XI — *Coelho n.º 180, ♀, 1330 gr. de pêso.*

Injecções de lítio-carmim (2 doses por via intravenosa e 1 dose por via intraperitoneal) nos dias 26, 28, 29-V-1934. Morte 30 dias depois da última injeccão.

Nada de notável à autópsia.

Ao *exame microscópico* verifica-se a ausência de carmim nas células endoteliais e adventíciais dos vasos dos diferentes órgãos, bem como nos sinusoides da suprarrenal e da hipófise. O corante encontra-se em menos de metade das células de KUPFFER do fígado, porém, as células coradas apresentam o número de granulações habitualmente existentes nos animais das experiências anteriores. No baço e medula óssea as células carminófilas representam menos de metade do S. R. E. destes órgãos.

Ovário do tipo folicular com raríssimas células de função coloidopéxica nos septos conjuntivos e no tecido conjuntivo subepitelial.

Obs. XII — *Coelho n. 38, ♀, 1180 gr. de peso.*

Injecção de 4 doses de carmim litinado (2 por via intravenosa e 2 por via intraperitoneal) em 28, 29, 30 e 31-XII-1932. 5 horas antes da morte tenta-se introduzir 0.5 c.c. do mesmo corante no parênquima pulmonar. Sacrifica-se o animal 3 dias depois da última dose de carmim.

Nada de notável à autópsia.

Exame histológico. — Pequeno número de histiócitos disseminados pelo conectivo dos diferentes órgãos, com excepção dos centros nervosos. Suprarrenal e hipófise praticamente sem carmim, que aparece, em relativa abundância, no fígado, baço, gânglios e medula óssea (em cêrca de metade dos elementos retículo-endoteliais); na medula óssea e baço, considerável flocculação de hemosiderina.

Ovário do tipo folicular com raras células carminófilas em folículos atréticos.

De particular há a assinalar nesta observação a enorme quantidade de células coradas vitalmente nas cápsulas do fígado, do baço e da suprarrenal, e bem assim no tecido conjuntivo subepitelial do ovário.

No timo encontram-se numerosos histiócitos no tecido perilobular e ausência de corante no retículo. As injecções intraperitoneais explicam a existência do colóide na cápsula dos órgãos peritoneais e à injecção intratorácica se deve porventura a coloração de numerosas células do conectivo tímico.

Obs. XIII — *Coelho n.º 40, ♀, 2070 gr. de peso.*

Em 28, 29, 30 e 31-XII-1932 injectam-se 4 doses de carmim litinado, as três primeiras por via intravenosa e a última por via intraperitoneal. Em 31-XII introduzem-se 0,5 c.c. do mesmo corante no parênquima pulmonar e sacrifica-se o animal quatro horas depois.

O *exame microscópico* não revela a presença de carmim em quaisquer células dos centros nervosos. O corante apresenta-se em muito raras células dos seguintes órgãos: hipófise, útero, tireoideia, coração, rim, músculos e timo.

No baço, as células reticulares contém abundante pigmento hemá-

tico e detritos de glóbulos rubros, mas granulações vermelhas existem em muitas delas. A medula óssea possui numerosos elementos carminófilos carregados de grânulos. Este mesmo aspecto reproduz-se no fígado, onde se encontram também algumas células gigantes de núcleos centrais, numerosos, redondos e providos de um ou mais nucléolos.

No parênquima pulmonar, na zona correspondente à injeção directa do coloide, notam-se zonas extensas de alveolite hemorrágica rodeadas por histiócitos carminófilos relativamente abundantes, alguns dos quais aparecem livres no interior dos alvéolos.

O ovário, do tipo atrético-intersticial, apresenta elementos de capacidade coloidopéxica no tecido conjuntivo subepitelial, nos septos conjuntivos da glândula intersticial, bem como na teca de folículos de GRAAF adultos. Aparecem raros folículos em atresia mas isentos de grânulos do corante vital.

Obs. XIV — *Coelho n.º 181, ♂, 1430 gr. de pêso.*

Injeção de 5 doses de carmim litinado por via intravenosa e 4 doses por via intraperitoneal no espaço de tempo compreendido entre 14 e 28-V-1934. Morte em 13-VIII-1934, 75 dias depois da última injeção.

Ao *exame histológico*, ausência completa de carmim em qualquer das células do sistema retículo-endotelial.

Obs. XV — *Coelho n.º 5, ♂, 2 meses de idade, 362 gr. de pêso.*

6 injeções de carmim litinado, por via intraperitoneal, em 9. 10. 11. 12. 13 e 14-XI-1931. Morte dois dias depois da última injeção.

À autopsia nota-se coloração intensamente vermelha de todos os órgãos da cavidade abdominal e depósitos abundantes de carmim em muitos pontos do epíploon e do mesentério. Peritoneu despolido, em franca reacção inflamatória.

Exame histológico. — O baço apresenta com notável nitidez a crise carioclásica de DUSTIG; raras células carminófilas na polpa vermelha e abundantes na cápsula conjuntiva. No fígado a floculação limita-se a fraco número de células de KUPFFER, onde se contam 3 a 4 granulações; são excepcionais os elementos com franca floculação. Suprarrenal com histiócitos na cápsula e sem coloide nos sinusoides. Elementos corados vitalmente observam-se ainda nos septos conjuntivos e na adventícia vascular doutros órgãos abdominais: testículo, intestinos, estômago, pâncreas e epíploon.

O corante não foi floculado no coração, no rim, no pulmão, na hipófise, no timo, na tiroideia e nos centros nervosos.

Obs. XVI — *Coelho n.º 4, ♂, 40 dias de idade, 305 gr. de pêso.*

Injeção intrapleural de 4 doses de carmim litinado nos dias 24. 26, 27 e 28-X-1931. Morte 7 dias depois da última injeção.

À autópsia, coloração vermelha intensa da pleura esquerda e pericárdio.

Exame histológico. — As pleuras, consideravelmente espessadas, possuem abundantes histiócitos, uns com floculação perfeita, outros entregues à fagocitose de restos nucleares e protoplásmicos previamente corados. No parênquima pulmonar são excepcionais as células carminófilas. Nos septos conjuntivos do timo aparecem frequentemente células adventíciais e endoteliais com grânulos vermelhos. À superfície do pericárdio existem elementos com os caracteres dos da pleura, isto é, uns com verdadeira coloidopexia, outros apresentando o erro post-vital.

O corante falta nos restantes departamentos do sistema retículo-endotelial.

Ob. XVII — *Coelho n.º 11, ♀, 2120 gr. de peso.*

Em 20, 21 e 23-IV-1932, injeccção intravenosa de 3 doses de carmin litinado. Três dias depois, fazem-se 2 picadas do fígado com a ponta fina do gálvano-cautério. Em consequência do traumatismo operatório, a coelha pariu prematuramente 5 filhos, quási de termo, que viveram 3 horas. Em 27 de Abril injecta-se 1 dose do mesmo corante por via intravenosa. Morte 2 dias depois desta última injeccção.

À autopsia verifica-se a existência dum feto macerado na cavidade uterina.

Exame histológico. — Floculação de pequena quantidade de carmin (4 a 5 granulações) em raros histiócitos e células adventíciais dos vasos de septos conjuntivos dos órgãos seguintes: pâncreas, mesentério, pulmão, glândula mamária, placenta, timo, tiroideia, coração, intestinos e rim. Neste último órgão há granulações vermelhas muito abundantes nos tubos contornados.

Hipófise com células carminófilas dos sinusoides e da adventícia dos vasos do lobo nervoso, mas em escasso número. Na suprarrenal a coloidopexia foi exercida por bastantes elementos da cápsula e por poucas células dos endotélios da camada medular; ausência de carmin na camada cortical.

Na medula óssea e no baço a quási totalidade dos elementos retículo-endoteliais floculou abundantemente o corante.

O ovário, do tipo intersticial, possui histiócitos carregados de granulações vermelhas em numerosos folículos atréticos.

Nas zonas normais do fígado a maioria das células de KUPFFER floculou o corante, mas em pequena quantidade (5 a 6 grânulos). Irregularmente disseminados pelo parênquima e tecido conjuntivo perilobular, notam-se aglomerados de 5, 6 e mais células carregadas de grânulos.

A zona necrosada pela cauterização apresenta-se difusamente corada, mas na sua vizinhança o número de elementos carminófilos au-

mentou consideravelmente, formando, por vezes, enormes células gigantes com muitos núcleos e abundantes grânulos de carmim.

Este corante não aparece em qualquer dos órgãos do feto macerado.

Obs. XVIII — *Feto de coelho quási de termo, n.º 11-A.*

Injecção de 1 c.c. de lítio-carmim na cavidade peritoneal, imediatamente depois do nascimento. Morte espontânea 3 horas depois.

O *exame microscópico* não revela carmim floculado em quaisquer células.

Obs. XIX — *Feto de coelho quási de termo, n.º 11-B.*

Imediatamente depois do nascimento injecta-se 1 c.c. de lítio-carmim na cavidade peritoneal. Sobrevivência de 3 horas.

O *exame microscópico* mostra abundantes células do epíploon com imagens de falsa coloidopexia (coloração difusa do citoplasma e do núcleo). Em nenhum dos órgãos há células impregnadas pelo coloide.

Obs. XX — *Feto de coelho quási de termo, n.º 11-C.*

4 horas antes da morte espontânea introduz-se na cavidade peritoneal 1 c.c. de lítio carmim.

O *exame histológico* não denuncia a existência de carmim floculado.

Obs. XXI — *Feto de coelho quási de termo, n.º 11-D.*

Injecção de 1 c.c. de lítio-carmim na cavidade peritoneal. Morte 4 horas depois.

A *análise microscópica* mostra células renais e hepáticas, à periferia dos respectivos órgãos, coradas difusamente de vermelho pálido.

Não aparecem células carminófilas em qualquer dos órgãos examinados.

Obs. XXII — *Coelho n.º 43, ♀, 2200 gr. de peso.*

Em 16-II-1933, laparotomia seguida de injecção intraovárica de carmim litinado; em 18-II, nova abertura da cavidade peritoneal seguida de ovariectomia unilateral. 4 dias depois desta intervenção cirúrgica, começa-se a introdução de carmim litinado por via intravenosa, continuada nos dias seguintes até ao total de 4 doses. O animal é sacrificado em I-III-1933.

Nada de notável à autópsia.

Exame histológico. — Ausência de carmim nos centros nervosos, no coração, no pulmão e nos rins. Raros histiócitos do córion e da submu-

cosa do intestino com granulações do corante. Limitado número de células endoteliais da suprarenal e da hipófise exerceram a coloidopexia. O baço, muito rico de hemosiderina, contém pequena quantidade da substância injectada. A floculação no fígado observa-se em menos de metade das células de KUPFFER; granulações no parênquima hepático.

No ovário, do tipo intersticial, alguns folículos atréticos mostram histiócitos cromófilos.

O ovário, que se extirpara cirurgicamente depois da injeção do corante em pleno parênquima, mostra apenas sangue derramado nos interstícios celulares da glândula intersticial e não contém histiócitos cromófilos, quer nos septos conjuntivos, quer nos folículos em atresia.

Obs. XXIII — *Coelho n.º 16, ♂, 1000 gr. de peso.*

Injeção de 2 doses de lítio-carmim nos dias 16 e 17-V-1932. No dia imediato procedo à biopsia do fígado. Morte, por hemorragia hepática, 3 horas depois da intervenção cirúrgica.

Exame histológico. — Nos 3 órgãos examinados (fígado, baço e medula óssea) o lítio-carmim aparece sob a forma de pequeninas granulações vermelhas, muito iguais e regularmente dispostas no citoplasma das células de KUPFFER, do retículo-endotélio do baço e da medula óssea. O número de granulações de cada célula é restrito e a quantidade de células que exerceram a floculação é também muito limitada, principalmente no baço, onde se encontram depósitos abundantes de hemosiderina e de detritos de glóbulos rubros.

Obs. XXIV — *Coelho n.º 47, ♀, 3000 gr. de peso.*

Aplicam-se, por via intravenosa 3 doses de carmim litinado, respectivamente em 7, 8 e 11-III-1933. Morte por bronco-pneumonia 2 dias depois da última injeção. Este animal, laparotomizado em 3-III para injeção intraovárica de 0,5 c.c. de carmim, é submetido no dia imediato a ovariectomia do lado esquerdo.

À autópsia nota-se congestão acentuada de todos os órgãos e focos de bronco-pneumonia em ambos os pulmões.

Exame histológico. — Pulmão, timo, rim e centros nervosos sem carmim. No fígado, no baço e na medula óssea raras células exerceram a coloidopexia. Raríssimos histiócitos cromófilos dispersos pelo tecido conjuntivo e adventícia dos vasos de várias vísceras.

Pequeno número de granulações nos tubos contornados do rim e no parênquima hepático.

O ovário injectado directamente e retirado 24 horas depois não apresentava vestígios do corante, ao passo que havia histiócitos corados

vitalmente nalguns folículos atréticos do ovário conservado no organismo do animal até à data da morte.

Obs. XXV — *Coelho n.º 35, ♂, 1980 gr. de pêso.*

Após trepanação, inoculação intra-cerebral de virus fixo da raiva e injeccção de 2 doses de carmim litinado por via intravenosa. Morte em 1-XII-1932.

Exame histológico. — Centros nervosos sem vestígios de carmim. No fígado, no baço e na medula óssea o corante aparece em pequeno número de elementos reticulares.

Obs. XXVI — *Coelho n.º 37, ♂, 2000 gr. de pêso.*

Depois de inoculado, como o anterior, com o virus fixo da raiva, introduzem-se-lhe nas veias 6 doses de carmim litinado, nos dias 5, 6, 7, 8, 9 e 11-XII-1932. Morte em 13-XII-1932, 8 dias depois da inoculação da raiva e 48 horas após a última injeccção.

Exame histológico. — Ausência completa de carmim nos centros nervosos.

Raros elementos carminófilos nos septos conjuntivos e na adventícia dos vasos da tiroideia, do pulmão, do timo, do rim e do testículo. Suprarrenal com grânulos vermelhos nos sinusoides da cortical. Baço e fígado ricos de corante vital, que aparece, neste último órgão, em numerosas células de KUPFFER, do tecido de esclerose recente, dos septos conjuntivos normais e da adventícia vascular.

Obs. XXVII — *Coelho n.º 53, ♀, 1850 gr. de pêso. (1)*

De 21 a 30-I-1933 injectam-se, na região dorsal, diferentes substâncias (essência de terebentina, petróleo, nitrato de prata) com o fim de provocar abscessos de fixação. Em 15-II, quando os abscessos já estavam constituídos, principia-se a administração, por vias intravenosa e intraperitoneal, de carmim litinado (6 doses). Morte em 2-III-1933, 8 dias depois da última injeccção de corante.

O *exame histológico* dos diferentes órgãos mostra que a flocculação do carmim se exerceu de modo idêntico ao das observações anteriores.

Nas zonas vizinhas dos focos inflamatórios determinados pelas substâncias apontadas há numerosos histiócitos com granações vermelhas muito grandes e muito abundantes. Num gânglio retirado da axilla a

(1) Esta experiência foi feita, como trabalho prático de Anatomia patológica, pelos então alunos do 3.º ano, Srs. EMÍDIO RIBEIRO e CARLOS TAVARES.

coloração vital exerce-se com esta mesma modalidade e em numerosos elementos celulares.

Dum modo geral, pode afirmar-se que em tôdas as zonas onde o metabolismo celular está exagerado a quantidade de carmim é muito grande, como numerosas são também as células que o fixaram.

Obs. XXVIII — *Coelho n.º 32*, ♀, 1660 gr. de pêso.

Pincelado nas orelhas com alcatrão durante 30 dias e injectado com 2 doses de carmim litinado, por via intravenosa, na véspera da morte espontânea (22-XI-1932).

À autópsia notam-se lesões hépáticas acentuadas (degenerativas e necróticas) e profunda emmaciação.

Exame histológico. — O carmim aparece floculado apenas no baço, nos gânglios linfáticos, na medula óssea e no fígado, mas em limitado número de células do sistema retículo-endotelial.

Obs. XXIX — *Coelho n.º 46*, ♀, 2000 gr. de pêso.

Êste animal, injectado com pilocarpina e pincelado nas orelhas com alcatrão da hulha, recebe, por via intravenosa, 2 doses de carmim litinado nos dias 1 e 2-III-33. Continuam-se as injeccões de pilocarpina e o alcatroamento até à morte espontânea, ocorrida em 3-V-933, precisamente dois meses após a última injeccão.

O *exame microscópico* cuidadoso de tôdas as vísceras não revela a existência de carmim.

Obs. XXX — *Coelho n.º 52*, ♂, 2500 gr. de pêso.

Em 13-II-1933, após laparotomia, depositam-se na cavidade peritoneal fios de algodão hidrófilo esterilizado. De 18-V-33 a 27 do mesmo mês, injectam-se 7 doses de carmim litinado (4 por via intravenosa e 3 por via intraperitoneal). Dois dias depois da última injeccão, sacrifica-se o animal.

A autópsia mostra nódulos pequenos, muito numerosos, intimamente aderentes ao peritoneu parietal e visceral.

O *exame histológico* dêstes nódulos revela, em redor dos corpos estranhos constituídos pelos fios de algodão, abundantíssimos histiócitos activamente cromófilos, algumas vezes agrupados em células gigantes. Encontram-se, com muita freqüência, capilares de neoformação cujas células endoteliais não flocularam o coloide, embora esta propriedade tenha sido exercida em larga escala por elementos muito vizinhos.

B — Experiências com o torotraste

Obs. XXXI — *Coelho n.º 61, ♀, 2020 gr. de pêso.*

Em 5 e 7-II-1932 injectam-se, por via intravenosa, respectivamente 3,5 e 5 c.c. de torotraste. Morte, por hemopericárdio consecutivo a punção cardíaca, 24 horas depois da última injeção.

À autópsia encontram-se zonas extensas de hepatite crónica, leve hipertrofia esplénica, abundante hemopericárdio e depósitos leitosos de torotraste à superfície das vísceras abdominais.

Exame histológico. — Fígado com degenerescência gorda do parênquima e acentuada esclerose peribiliar. Células de KUPFFER com grânulos de torotraste de dimensões variáveis, irregulares, a ocuparem todo o citoplasma, que se individualiza perfeitamente. A substância ocupa limitado número de células parenquimatosas e não se encontra nas zonas esclerosadas.

Quási tôdas as células retículo-endoteliais da polpa vermelha do baço apresentam grânulos refringentes, e raros são os elementos reticulares dos folículos linfóides do mesmo órgão que os contêm. A impregnação, pelo coloide, das células do retículo da medula óssea reveste aspecto idêntico ao já mencionado no fígado e no baço.

Ao passo que êstes três órgãos apresentam quantidades consideráveis de bióxido de tório, na suprarrenal raros elementos dos sinusoides da camada cortical o floculam e, na hipófise, falta por completo. Também se verifica esta ausência do metal no timo, no pâncreas, no coração e nos centros nervosos.

A coloidopexia observa-se ainda no pulmão (em pequeno número de células dos septos conjuntivos) no rim (endotélios dos capilares glomerulares) e, no ovário, em histiócitos dos septos conjuntivos da glândula intersticial, do tecido conjuntivo subepitelial e dalguns folículos de GRAAF em atresia.

Obs XXXII — *Coelho n.º 67, ♀, 1900 gr. de pêso.*

Injeção de 12,5 c.c. de torotraste (8,5 c.c. por via intravenosa e 4 c.c. por via intraperitoneal). Morte em 2-I-1934, 7 dias depois da última injeção.

O *exame histológico* mostra pequena quantidade de torotraste em raros histiócitos dos septos conjuntivos do pulmão, do coração e dos rins, bem como em poucos elementos dos sinusoides da suprarrenal.

O hidrossol metálico deposita-se abundantemente na medula óssea, nas células de KUPFFER do fígado e na parte central de folículos de GRAAF em atresia avançada, faltando completamente nos centros nervosos e na

hipófise. A polpa vermelha do baço apresenta-o em zonas muito extensas e sob a forma de grânulos de dimensões variáveis.

Obs. XXXIII — *Coelho n.º 71, ♀, 2200 gr. de peso.*

Pelas vias intravenosa e intraperitoneal injectam-se 12,5 c.c. de torotraste durante o tempo decorrido de 5 a 15-I-1934. Morte 8 dias depois da última injeção.

O exame necrótico revela zonas extensas de esclerose hepática e numerosos parasitas na cavidade peritoneal.

Observação microscópica. — Fígado com acentuada hiperplasia dos canálculos biliares e discreta esclerose perilobular. O torotraste observa-se em quasi todas as células de KUPFFER, em numerosos histiócitos das zonas esclerosadas e ainda no parênquima hepático.

No baço, de polpa branca atrofiada, o coloide apresenta-se em toalhas extensas de granulações irregulares, a cobrirem a maior parte da polpa vermelha, onde não é possível identificar as células que exerceram a floculação.

Obs. XXXIV — *Coelho n.º 70, ♀, 1900 gr. de peso.*

Injeção de 11,5 c.c. de torotraste por via intravenosa (7,5 c.c.) e intraperitoneal (4 c.c.). Morte em 24-I-1934, 9 dias depois da segunda e última injeção.

Exame microscópico. — Ausência de torotraste nos centros nervosos, na hipófise e no timo. Ovário, do tipo intersticial, com histiócitos abundantes em folículos atréticos, menos numerosos nos septos conjuntivos da glândula intersticial e muito raros na teca de folículos adultos.

O pulmão, com zonas extensas de alveolite edematosa, possui o coloide em células dos septos conjuntivos e em elementos livres na cavidade alveolar. A substância observa-se no interior dos glomérulos de MALPIGHI do rim e em raros histiócitos do coração e do pâncreas. Na suprarrenal nota-se, em pequena quantidade, nos sinusoides corticais.

No fígado, no baço e na medula óssea o tório deposita-se, sob a forma de granulações irregulares, em toalhas mais ou menos extensas, que ocupam a maioria dos elementos reticulo-endoteliais.

Obs. XXXV — *Coelho n.º 77, ♀, 1700 gr. de peso.*

De 15 a 23-II-1934 injectam-se 12 c.c. de torotraste pelas vias intravenosa (8 c.c.) e intraperitoneal (4 c.c.). Morte, em 7-III-1934, por sangria.

À autópsia, depósitos esbranquiçados de torotraste formam pequenos nódulos miliares dispersos no grande epíploon e no mesentério.

Exame histológico.— Ausência de torotraste no encéfalo; pequeno número de granulações da mesma substância no pulmão e no rim. O ovário, do tipo intersticial, contém numerosos folículos atréticos, onde o coloide floculou abundantemente; histiócitos raros nos septos conectivos da glândula intersticial e muito abundantes nas zonas subepiteliais.

Suprarrenal com granulações de tamanho variável em muitas células da camada cortical e em raros elementos endoteliais da camada medular. No fígado, as células de KUPFFER apresentam-se muito hipertrofiadas e parecem mais abundantes do que normalmente; algumas têm vários núcleos e tôdas mostram abundante depósito do hidrossol. Pode calcular-se em dois terços o número das células que exerceram a coloidopexia.

Gânglios linfáticos com granulações de torotraste, de médio tamanho, em muitas células retículo-endoteliais; o metal ocupa cerca de metade de toda a massa ganglionar. É muito mais abundante nos seios e cordões do que nos folículos, onde se nota apenas numa ou noutra célula reticular. Aspecto sensivelmente idêntico no baço, isto é, polpa vermelha coalhada de granulações, folículos com raras células impregnadas de torotraste.

Os nódulos miliares do epíloon observados no momento da autópsia são constituídos por numerosos histiócitos em que o coloide floculou abundantemente. Alguns destes elementos fundem-se e formam verdadeiras células gigantes com núcleos centrais e citoplasma carregado de grânulos refringentes.

Obs. XXXVI — *Coelho n.º 175, ♀, 1950 gr. de peso.*

Injecção de 13 c.c. de torotraste, pelas vias intravenosa (4 c.c. + 4 c.c. + 2 c.c.) e intraperitoneal (3 c.c.), respectivamente em 19, 20, 26, e 31-IV-1931. Morte 13 dias depois da última injecção.

Nada de notável à autópsia.

Ao *exame microscópico* vêem-se pequenas granulações de torotraste em raros histiócitos dos septos conjuntivos do coração e da glândula intersticial do ovário, órgão que o apresenta também nalguns folículos atréticos. No pulmão encontram-se numerosos elementos dotados de activa capacidade coloidopéxica, alguns dos quais ocupam os septos e as cavidades alveolares.

O retículo da medula óssea está fortemente impregnado de bióxido de tório e o mesmo acontece às células de KUPFFER do fígado e à polpa vermelha do baço.

Obs. XXXVII — *Coelho n.º 99, ♀, 2150 gr. de peso.*

Injecção de 13,5 c.c. de torotraste, pelas vias intravenosa (8 c.c.), intraperitoneal (4,5 c.c.) e intrapleural (1 c.c.), nos dias 12, 14, 18 e 21-XII-1933. Morte em 9-I-1934, decorridos 19 dias após a última injecção.

Observação microscópica. — Torotraste ausente dos centros nervosos e presente em pequeno número de histiócitos do pulmão e do coração. Nos rins encontra-se em células intraglomerulares e, na suprarrenal, em raros elementos dos sinusoides corticais. Ovário, do tipo folicular, com alguns folículos atréticos ricos de granulações refringentes.

Fígado com zonas extensas de degenerescência gorda e discreta esclerose perilobular. O bióxido de tório impregna numerosas células de KUPFFER, floclula em muitos histiócitos do tecido conjuntivo e forma aglomerados irregulares nas zonas de esclerose.

Na medula óssea, nos gânglios linfáticos e no baço a grande maioria dos elementos retículo-endoteliais possui o coloide em quantidade notável e sob a forma de toalhas granulosas mais ou menos extensas.

Obs. XXXVIII — *Coelho n.º 85, ♂, 1840 gr. de peso.*

No período de tempo decorrido de 12 a 21-XII-1933 injectam-se 12 c.c. de torotraste pelas vias intravenosa, intrapleural e intraperitoneal; o coelho é sacrificado 19 dias após a última injeccção.

Nada de notável à autópsia.

Exame histológico. — Centros nervosos e coração sem vestígios de torotraste. O coloide aparece em raras células endoteliais da suprarrenal e nalguns histiócitos dos rins, das trompas e do útero. No pulmão nota-se em elementos celulares dos septos conjuntivos; o exame de cortes seriados mostra que tais elementos caminham para as paredes alveolares, aí se conservando algum tempo para, em seguida, se libertarem e caírem na cavidade alveolar.

Fígado com acentuada esclerose perilobular; nas zonas esclerosadas há numerosas células volumosas, ricas de granulações do coloide injectado, que se observa ainda na quasi totalidade das células de KUPFFER e em muitos elementos parenquimatosos.

Toalhas extensas de torotraste na polpa vermelha do baço; folículos linfoides em número menor que o normal, possuindo, todavia, células reticulares com capacidade coloidopéxica.

No ovário o metal deposita-se em grande quantidade nos histiócitos dos folículos atréticos, dos septos conjuntivos da glândula intersticial e da teca de folículos de GRAAF adultos.

Obs. XXXIX — *Coelho n.º 66, ♀, 2465 gr. de peso.*

Injeccção, em 19, 21 e 26-XII-1933, respectivamente, de 5, 4 e 5 c.c. de torotraste pelas vias intravenosa e intraperitoneal. Morte 19 dias depois da última injeccção.

A autópsia mostra: extensa laceração hepática seguida de abundante hemorragia; pericardite; pequeno enfarte do rim esquerdo.

Exame histológico. — Coração sem vestígios de torotraste, cujas granulações aparecem em raras células da suprarrenal, do pulmão, do rim,

do epíploon e dos septos conjuntivos da glândula intersticial do ovário. Nêste órgão, do tipo atrético-intersticial, raros folículos em atresia possuem o coloide injectado.

No fígado, as granulações refringentes ocupam a maioria das células de KUPFFER e numerosas células parenquimatosas; nas primeiras são em grande quantidade, muito juntos e de tamanho variável, ao passo que nas células hepáticas se apresentam com pequenas dimensões, uniformes e menos abundantes.

Baço com células retículo-endoteliais da polpa vermelha muitas vezes reunidas em grandes sincícios e literalmente ocupadas pelos grânulos de tório; nos folículos linfoides raras células são dotadas de capacidade coloidopéxica.

Obs. XI. — *Coelho n.º 65, ♀, 2170 gr. de pêso.*

Em 12, 14, 18 e 21-XII-1933, por injeccões intravenosa, intraperitoneal e intrapleural, introduzem-se, respectivamente, 5, 3, 4,5 e 1 c.c. de torotraste. Morte em 2-I-1934, 32 dias após a última injeccão.

À autópsia, nada de notável.

Exame histológico. — Torotraste floculado por pequeno número de células dos septos conjuntivos do rim, do pulmão, do coração, da glândula intersticial e de raros folículos atréticos do ovário.

Baço com massas extensas daquele coloide, por forma a tornar impossível a identificação dos diferentes elementos celulares. Fígado muito rico de tório, que se deposita, como habitualmente, nas células de KUPFFER e em quantidade considerável nas células hepáticas.

Obs. XLI — *Coelho n.º 75, ♂, 1720 gr. de pêso.*

Êste animal recebe as seguintes doses de torotraste:

15 - II - 34	2 c.c. por via intravenosa
17 » »	3 » » » »
19 » »	2 » » » intraperitoneal
21 » »	3 » » » intravenosa
23 » »	1,5 » » » intraperitoneal
25 » »	5 » » » intravenosa

Morte 50 dias depois da última injeccão.

A autópsia mostra zonas extensas de esclerose hepática, hipertrofia esplênica, congestão e hepatização pulmonares.

Exame histológico. — Acentuada esclerose em redor de canalículos biliares, por vezes levemente hiperplasiados; nêste tecido encontram-se numerosos histiócitos com abundantes grânulos de torotraste, os quais aparecem ainda em muitas células parenquimatosas e nas de KUPFFER. Estas últimas reconhecem-se dificilmente, porque o coloide se deposita em grande quantidade entre os cordões de REMAK e ocupa, além do citoplasma das células endoteliais, muitos espaços intercelulares.

A polpa vermelha do baço está substituída completamente por granulações da mesma substância agrupadas em nódulos de dimensões variáveis e que invadem, por vezes, a polpa branca.

Nos pulmões há zonas extensas de alveolite edematosa e descamativa. Nos septos conjuntivos e nas cavidades alveolares da vizinhança dos focos inflamatórios os histiócitos com torotraste são mais abundantes. Pequenos depósitos de tório podem observar-se ainda nas células endoteliais da cortical da suprarrenal, bem como nos septos conjuntivos e albugínea testiculares.

Nos restantes órgãos não se encontram granulações do metal.

Obs. XLII — *Coelho n.º 72, ♀, 2060 gr. de peso.*

Injectam-se 12 c.c. de torotraste, por vias intravenosa (4 c.c. + 4 c.c.) e intraperitoneal (4 c.c.) respectivamente nos dias 5, 10 e 15-I-1934. Morte 70 dias depois da última injeccção.

À autópsia, encontram-se lesões extensas de perihepatite e degenerescência gorda do parênquima hepático. Nos restantes órgãos não há lesões dignas de menção.

Exame histológico. — Ovário e suprarrenal com número muito limitado de células com torotraste. Zonas extensas de esclerose hepática recente ricas de elementos celulares que flocularam, em quantidade apreciável, a substância injectada. Cerca de dois terços das células de KUPFFER possuem abundantes granulações de tório associadas, por vezes, a hemossiderina e detritos de glóbulos rubros. Esta coexistência verifica-se também em muitas células da polpa vermelha do baço.

Obs. XLIII — *Coelho n.º 69, ♀, 1755 gr. de peso.*

Êste animal recebe 11,5 c.c. de torotraste em 2 injeccões intravenosas (7,5 c.c.) e 1 intraperitoneal (4 c.c.) nos dias 5, 10 e 15-I-34. Morte 84 dias depois da última injeccção.

À autópsia: lesões acentuadas, degenerativas e inflamatórias, no fígado.

O *exame histológico* revela: Ovário do tipo intersticial com pequeno número de granulações de torotraste em raras células dos septos conjuntivos da glândula intersticial. Zonas extensas de esclerose hepática, onde o coloide aparece floculado por abundantes histiócitos. Granulações em muitas células de KUPFFER e células parenquimatosas; o tório é mais abundante nos elementos celulares do tecido esclerosado do que nas restantes células do órgão. No baço, disposição habitual, pelo que respeita à quantidade de torotraste e às células que o flocularam.

Obs. XLIV — *Coelho n.º 68, ♀, 2315 gr. de peso.*

Ministram-se 13 c.c. de torotraste por via intravenosa (5 c.c. +

+ 4 c.c.) e intraperitoneal (de 4 c.c.) respectivamente nos dias 19, 21 e 26-XII-1933.

Morte 100 dias após a última injeção.

À autópsia encontra-se acentuada esclerose hepática e leve atrofia esplênica.

Exame histológico. — Centros nervosos e coração sem torotraste, que aparece, em granulações mais ou menos volumosas, no citoplasma de raras células dos septos conjuntivos do pulmão e da tiroideia, e bem assim em escasso número de elementos endoteliais da hipófise, da camada cortical da suprarrenal e dos glomérulos de MALPIGHI do rim.

No fígado, grandes aglomerados nas zonas esclerosadas e, em menor quantidade, nas células de KUPFFER. Baço, de polpa branca reduzida, com pronunciada hiperplasia de elementos retículo-endoteliais da polpa vermelha, onde o tório se junta em toalhas extensas. Ovário, do tipo foliular, com esta substância em raros histiócitos dos septos conjuntivos.

Obs. XLV — *Coelho n.º 60, ♀, 2300 gr. de peso.*

Injeções de torotraste nos dias 29-IX e 6, 11 e 12-XII-1933, perfazendo a dose total de 13,5 c.c. Morte 102 dias depois da última injeção.

No momento da autópsia verifica-se a existência de lesões degenerativas e esclerose hepáticas, acentuada hipertrofia esplênica e congestão pulmonar.

Exame histológico. — Centros nervosos e coração sem granulações de torotraste. Este encontra-se em raras células endoteliais da suprarrenal e em histiócitos do tecido subepitelial do ovário, do tipo foliular. Cirrose hepática muito acentuada; abundantes depósitos do coloide no tecido de esclerose, em algumas células parenquimatosas e em cerca de dois terços das células de KUPFFER, em muitas das quais há, simultaneamente, pigmentos de origem hemoglobínica.

No baço, a polpa branca, com raras células cheias de torotraste, é muito reduzida e a polpa vermelha encontra-se quasi totalmente substituída por abundantes aglomerados da substância injectada.

Obs. XLVI — *Coelho n.º 73, ♀, 1995 gr. de peso.*

Injeção de 11 c.c. de torotraste por via intravenosa (7 c.c.) e intraperitoneal (4 c.c.), respectivamente nos dias 5, 10 e 15-I-1934. Morte 106 dias depois da última injeção.

Autópsia: não há lesões dignas de registo.

Exame histológico. — Grande quantidade de coloide nas células dos septos conjuntivos, das paredes dos alvéolos pulmonares e em certos elementos livres na cavidade alveolar. Baço: toalhas extensas de granulações da mesma substância ocupam tanto a polpa vermelha como a polpa branca.

No fígado o torotraste está depositado, sobretudo, em elementos das zonas esclerosadas, onde predomina de modo notável. Nas células de KUPFFER mostra-se em pequena quantidade e sob a forma de granulações de médio tamanho que deixam o citoplasma bem aparente.

Obs. XLVII — *Coelho n.º 74*, ♀, 2155 gr. de peso.

Este coelho recebeu as seguintes doses de torotraste:

15 - II - 34	2 c.c. por via intravenosa
17 » »	3 » » » »
19 » »	2 » » » intraperitoneal
21 » »	3 » » » intravenosa
23 » »	2,5 » » » intraperitoneal
25 » »	5 » » » intravenosa

Morte 111 dias depois da última injeção.

Autópsia: Esclerose hepática.

Exame histológico. — Granulações abundantes, mas muito finas, em células glomerulares do rim. Pulmão: lesões extensas de alveolite edematosa e descamativa; em alvéolos normais podem notar-se, de onde em onde, algumas células das paredes alveolares com abundante depósito de bióxido de tório, que se encontra ainda em elementos livres na cavidade dos alvéolos e em histiócitos dos septos conjuntivos.

No fígado observa-se o predomínio dos grânulos de coloide nas zonas esclerosadas, onde formam volumosos aglomerados. As células de KUPFFER, talvez mais de metade, apresentam aquela substância, que se deposita também em muitas células parenquimatosas. Baço de estrutura irreconhecível e ocupado na quase totalidade pelo metal, que aparece em toalhas extensas. Polpa branca reduzida a escasso número de elementos linfoides.

Obs. XLVIII — *Coelho n.º 76*, ♀, 2030 gr. de peso.

Injeção de 17 c.c. de torotraste, pelas vias intravenosa e intraperitoneal, no período de tempo compreendido entre 15 e 25-II-34. Morte em 31-VII-1934, 156 dias depois da última injeção.

A autópsia mostra o fígado de volume normal e sem lesões apreciáveis.

Exame histológico. — Apenas se examinaram cortes do fígado e do baço. Neste órgão o torotraste ocupa mais de dois terços da superfície do corte.

No fígado, de aspecto normal, o tório foi floculado pela quase totalidade das células de KUPFFER, que o apresentam em quantidade apreciável e sob a forma de grânulos de diferentes tamanhos.

C — Experiência com a tinta da China

Obs. XLIX — *Coelho n.º 192*, ♀, 1680 gr. de peso.

Este animal recebe, por via intravenosa, 8,5 c.c. de tinta da China a 3 p. 100, nos dias 24, 26-VII, 2 e 4-VIII-1934, e morre espontaneamente no dia imediato ao da última injeção.

À autópsia: coloração escura do baço, do fígado, da medula óssea e do pulmão.

Exame microscópico. — O negro de fumo deposita-se no citoplasma dos diferentes elementos celulares sob a forma de grânulos de dimensões variadas e de morfologia muito irregular.

No fígado, a grande maioria das células de KUPFFER exerceu activa coloidopexia, e o mesmo facto se aprecia na medula óssea e no baço, órgãos em que a quasi totalidade do reticulo-endotélio possui grânulos negros, mais ou menos volumosos e, por vezes, tam juntos que não se podem individualizar.

O carvão aparece ainda em raros histiócitos do coração, do timo e dos testículos, e impregna limitado número de células dos sinusoides da suprarrenal. Também o pulmão o contém em células dos septos conjuntivos, da parede dos alvéolos e mesmo no interior destes. Cortes seriados mostram a proveniência histiocitária das células carregadas de corpúsculos negros observadas no interior ou na parede dos alvéolos.

A tinta da China flocula, nos diferentes departamentos do S. R. E., do mesmo modo que o torotraste.

D — Experiência com o azul do Tripán

Obs. L — *Coelho n.º 14*, ♀, 2000 gr. peso.

Em 4, 5 e 6-V-1932 injectam-se, por via intravenosa, 60 c.c. de azul do Tripán a 1 p. 100. Morte em 10-V-1932.

Em seguida à primeira injeção, as orelhas, a pele, as conjuntivas palpebrais e bem assim os lábios e a língua apresentam-se fortemente corados de azul. Na ocasião da autópsia verifica-se que a coloração azul se estende a todos os pontos do organismo, excepto os centros nervosos.

O *exame microscópico*, mostra que a floclulação se faz de modo idêntico à do carmim litinado nos diferentes departamentos do S. R. E. e que o corante aparece em células estranhas a este sistema, fixado sobre elementos préformados e constituindo nítido exemplo de falsa coloidopexia.

QUADRO I

Experiências com o carmim lífinado

N.º da Obs.	N.º de doses	Via utilizada		Sobrevivência	Condições do animal em experiência
		Venosa	Peritoneal		
I	2	2	—	2 dias	Normal
II	2	2	—	2 "	"
III	3	3	—	11 "	"
IV	3	3	—	13 "	"
V	3	3	—	13 "	"
VI	4	4	—	5 horas	"
VII	4	4	—	8 dias	"
VIII	5	5	—	1 dia	"
IX	7	7	—	2 dias	"
X	8	8	—	2 "	"
XI	3	2	1	30 "	"
XII	4	2	2	3 "	"
XIII	4	3	1	4 horas	"
XIV	4	—	4	45 dias	"
XV	5	—	5	2 "	"
XVI	4	Via intrapleural		7 "	"
XVII	4	4	—	2 "	Gravidez
XVIII	1	—	1	3 horas	Recém-nascido
XIX	1	—	1	3 "	"
XX	1	—	1	4 "	"
XXI	1	—	1	4 "	"
XXII	4	4	—	2 dias	Laparotomia
XXIII	2	2	—	1 dia	"
XXIV	3	3	—	2 dias	Bronco-pneumonia
XXV	2	2	—	3 "	Raiva
XXVI	6	6	—	2 "	"
XXVII	6	3	3	8 "	Abscessos de fixação
XXVIII	2	2	—	1 dia	Alcatroamento
XXIX	2	2	—	60 dias	"
XXX	7	4	3	2 "	Nódulos perit.

QUADRO II
Experiências com o torotraste

N.º da Obs.	Dose total de torotraste c. c.	Via utilizada			Sobrevivência
		Venosa	Peritoneal	Pleural	
XXXI	8,5	8,5	—	—	24 horas
XXXII	12,5	8,5	4	—	7 dias
XXXIII	12,5	8,5	4	—	8 "
XXXIV	11,5	7,5	4	—	9 "
XXXV	12	8	4	—	12 "
XXXVI	13	10	3	—	13 "
XXXVII	13,5	8	4,5	1	19 "
XXXVIII	12	7	4	1	19 "
XXXIX	13	9	4	—	19 "
XL	13,5	8	4,5	1	32 "
XLI	16,5	13	3,5	—	50 "
XLII	12	8	4	—	70 "
XLIII	11,5	7,5	4	—	84 "
XLIV	13	9	4	—	100 "
XLV	13,5	8,5	5	—	102 "
XLVI	11	7	4	—	106 "
XLVII	17,5	12	5,5	—	111 "
XLVIII	17	13	4	—	156 "

Além das experiências aqui mencionadas e das que serão descritas no capítulo do bloqueio, fiz outras com o azul do Tripán, o azul de pirrol e o azul de isamina, mas não as aproveitei para o meu estudo, dada a freqüência com que estas substâncias provocam as imagens de falsa floculação a que me referi noutra oportunidade.

As 50 observações cujos protocolos deixo resumidos vou agora estudá-las no seu conjunto, apreciando, em primeiro

lugar, nos seus aspectos morfológico e de capacidade coloidopéxica, os elementos celulares dos diferentes órgãos para, em seguida e como consequência das conclusões tiradas, procurar traçar os limites do sistema reticulo-endotelial.

Baço. — As colorações histológicas de que me servi para as preparações relativas às minhas experiências não põem em evidência a fina trama reticular que constitui o tecido de suporte dos elementos celulares do órgão. A este retículo, que a impregnação pela prata torna bem aparente, aderem células reticulares que formam um imenso sincício; tais células, achatadas contra a rede pela pressão dos elementos parenquimatosos, possuem um núcleo claro, vesiculoso, de delicada estrutura cromática e citoplasma abundante, ramificado. Os capilares e os seios venosos são revestidos por células endoteliais em estreita relação de contigüidade e de continuidade com o tecido reticulado de que, segundo alguns autores, representam uma variedade.

Nestas células, reticulares e endoteliais, se depositam os coloides injectados no organismo ou os provenientes do metabolismo celular.

A modalidade da floculação, a quantidade de granulações de coloide presentes em cada célula e o número dos elementos que as fixaram apresentam certas diferenças consoante se trata do carmim litinado ou do torotraste.

Nas 30 observações em que utilizei o lítio-carmim, o corante não se fixou no baço dos coelhos das Obs. XVI, XVIII, XIX, XX, XXI e XXIX — um animal novo injectado por via pleural, quatro recém-nascidos que receberam uma única dose de corante e um coelho adulto previamente pincelado com alcatrão (face interna das orelhas) e sacrificado 60 dias depois de lhe ter ministrado uma dose do coloide por via intravenosa.

No baço dos restantes animais o corante vital floculou sempre sob a forma de pequeninas granulações, regulares, redondas e muito juntas, mas perfeitamente individualizadas.

O número de grânulos contidos em cada célula mantém-se

sensivelmente constante de caso para caso. É independente da quantidade de coloide injectada, da via por que se introduz (intravenosa ou intraperitoneal), da natureza reticular ou endotelial das células que o floculam e ainda do tempo que medeia entre o início da experiência e o momento da morte, contanto-que esta se dê dentro de dois meses. Exceptua-se o animal da Obs. XXIII, injectado com duas doses de carmin, mas previamente laparotomizado, e no qual as células apresentam muito poucos grânulos (4 a 6).

O número de células da polpa vermelha que manifestam actividade coloidopéxica é diferente de animal para animal. Pode estabelecer-se como lei que o número de células carminófilas é inversamente proporcional ao dos elementos carregados de pigmento hemosidérico ou detritos de glóbulos rubros, embora a proporção não seja sempre constante.

Tal dedução deriva facilmente do cotejo das seguintes observações (Quadro III).

QUADRO III

N.º da Obs.	N.º de doses	Sobrevivência	Quantidade de pigmento	N.º de células impregnadas
I	2	2 dias	grande	raras
II	2	2 "	pequena	numerosas
IV	3	3 "	grande	poucas
VII	4	8 "	pequena	+ de metade
XIII	4	4 horas	grande	poucas
XVII	4	2 dias	pequena	quási tôdas

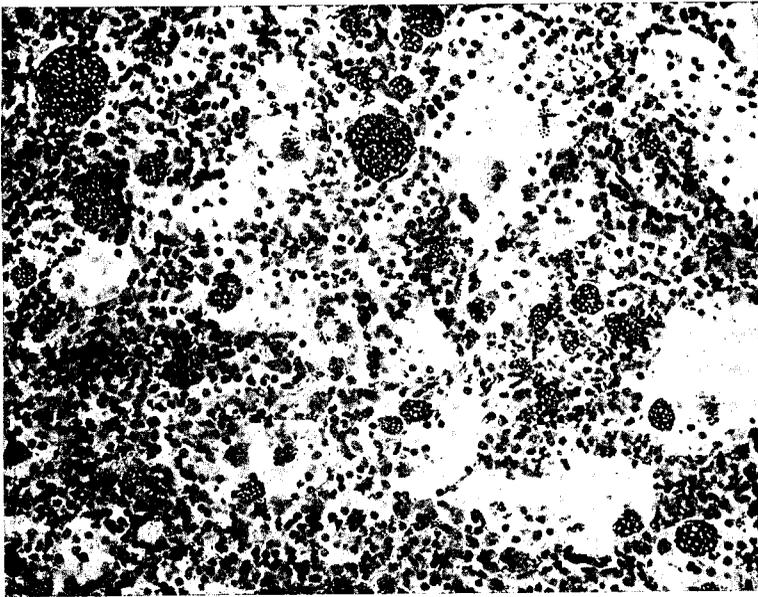
A floculação pelas células reticulares dos foliculos de MALPIGHI falta muitas vezes e, quando se observa, interessa limitada porção de elementos.

A dose de corante introduzida no organismo exerce uma influencia menos acentuada, quanto ao número de células

que se coram, do que a quantidade de pigmento sangüíneo prèviamente floculado.

Dum modo geral, pode afirmar-se que o baço, mercê da freqüente fixação de pigmentos e de detritos globulares, retém apenas uma parcela insignificante de lítio-carmim (Fig. 7).

A floculação do torotraste exerce-se segundo qualquer das modalidades seguintes: com doses pequenas (1 a 3 c.c.) as granulações, sempre numerosas, aparecem regulares,



(Microfotografia)

FIG. 7 — Baço de coelho injectado com lítio-carmim (Obs. IX)

Abundante floculação de pigmento hemático; raras células carminófilas.

iguais, arredondadas, a encherem por completo o citoplasma celular; se a dose é maior (10 a 15 c.c.) os grânulos, ainda mais numerosos, aumentam de tamanho, alguns atingem as dimensões dum glóbulo rubro e, com freqüência, unem-se os grânulos de células vizinhas e formam-se massas extensas e irregulares do hidrossol metálico.

Em tôdas as observações relativas ao torotraste, seja qual fôr a via ou a quantidade empregadas, a grande maioria das células retículo-endoteliais da polpa vermelha contém êste coloide e, por vezes, em quantidade tam considerável que se torna impossível identificar os elementos que o fixaram (Fig. 2, pág. 21).

Gânglios linfáticos.—O retículo de finas fibrilas mencionado no baço observa-se também nos gânglios linfáticos e, de modo mais geral, em tôdas as formações linfoides. A êle aderentes existem células de citoplasma alongado ou estrelado, freqüentemente anastomosadas e providas de núcleo claro e volumoso. A parede dos seios linfáticos e cordões medulares é revestida por células achatadas, que se continuam com o endotélio dos capilares linfáticos e com as células reticulares.

Umás e outras fixam avidamente os corantes vitais e todos os coloides electro-negativos. O carmim litinado aparece sob a forma de grânulos vermelhos regulares e iguais, sensivelmente na mesma quantidade em tôdas as células. Esta está, em parte, relacionada com a dose de corante injectada quando se emprega a via intravenosa, e com a posição anatómica do gânglio quando as injeccões se applicam nas serosas ou no tecido celular subcutâneo. Com efeito, são os gânglios tributários da região em que o corante se introduz os mais ricos de grânulos coloidais.

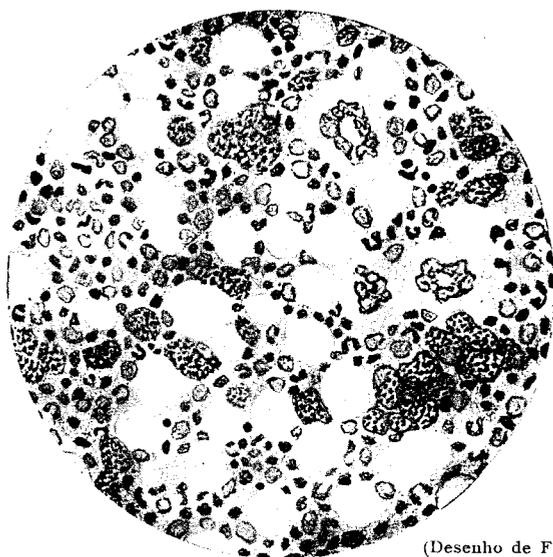
O torotraste deposita-se sempre abundantemente, em numerosas células, sob a forma de grânulos refringentes que ocupam todo o citoplasma e só excepcionalmente forma toalhas extensas como as descritas no baço.

Nos gânglios linfáticos as células reticulares dos folículos linfoides exercem a coloidopexia com a mesma intensidade que as células dos cordões; no entanto, o número de elementos dotados de tal propriedade é sempre pequeno e nulo em muitos casos.

Medula óssea.—O estroma da medula óssea possui também o retículo já mencionado nos órgãos precedentes. Ao

retículo ligam-se células, facilmente diferenciáveis das do parênquima mieloide, providas de núcleo claro e volumoso, redondo ou alongado, e citoplasma mais ou menos abundante e estrelado. Os capilares, muito anastomosados entre si, têm uma parede finíssima formada por células endoteliais que se continuam insensivelmente com os elementos reticulares.

As células reticulo-endoteliais, que normalmente contêm algumas granulações de pigmentos sanguíneos, exercem, em



(Desenho de F. MEDEIROS)

FIG. 8 — *Medula óssea de coelho injectado com torotraste* (Obs. xxxi)

Granulações de torotraste, numerosas e irregulares, em muitas células retículo-endoteliais.

presença dos coloides electro-negativos, uma activa coloidopexia.

Com o carmim litinado o citoplasma apresenta grânulos vermelhos, menos numerosos, em cada célula, do que no baço e nos gânglios; dispostos, em geral, nas duas extremidades celulares, podem, embora menos freqüentemente, rodear todo o núcleo. A quantidade de coloide injectada, se

pouco influi no número de grânulos existentes, relaciona-se, pelo contrário, francamente, com a percentagem de células que os contêm. Com uma ou duas doses de carmim, só restrita porção de células aparecem coradas; empregando doses repetidas, o número aumenta proporcionalmente, mas diminui à medida que se afasta o momento da injeção.

Não há diferença apreciável na floculação exercida pelas células reticulares e endoteliais, o que, até certo ponto, se harmoniza com a idea da identidade das duas categorias de elementos.

A floculação do torotraste apresenta-se com o duplo aspecto já referido e que depende da quantidade da substância introduzida no organismo. Com doses elevadas (10 a 15 c.c.), freqüentemente se encontram grânulos a rodear um único núcleo numa área 5 a 10 vezes maior que a equivalente à do citoplasma respectivo (Fig. 8). À medida que se afasta o momento da injeção, vários elementos celulares vizinhos tendem a juntar-se e a revestir o aspecto morfológico de células gigantes carregadas de numerosos grânulos do hidrossol metálico; ao mesmo tempo, as células isentas de coloide hiperplasmam-se consideravelmente.

Fígado. — Como elementos celulares dotados de função coloidopéxica aparecem, no fígado, especialmente as células de KUPFFER, isto é, as células de citoplasma estrelado e localização característica, anatômicamente em correspondência com as ramificações dos capilares intralobulares.

Desde já devo mencionar — porque o facto reveste capital importância e me permitirá determinadas conclusões — que se nota recentemente uma tendência quasi geral para alargar o conceito morfológico e fisiológico das células de KUPFFER. Debaixo desta designação devem comprehender-se tôdas as células endoteliais intralobulares, porque tôdas são susceptíveis de transformação em células estreladas. Factos de ordem experimental justificam este conceito e a tal ponto que BOUIN, no seu conhecido Tratado de Histologia, não hesita em afirmar que «*la cellule de KUPFFER est l'unique élément constitutif des sinusoides du foie; les péricytes et les cellules endothé-*

liales vraies décrits par ZIMMERMANN sont les images des divers états fonctionnels de la cellule Kupfférienne».

Tais células apresentam-se como pequenos elementos fixos, em contacto imediato, em toda a sua extensão, com a trabécula hepática que delimita a parede do capilar. Têm, pois, forma alongada no sentido do eixo do vaso, possuem um núcleo ovalar ou fusiforme, raramente dois, e o citoplasma, muito alongado, abraça em certa extensão o cordão de REMAK a que se encosta. Esta morfologia condiciona o aspecto com que se mostra o corante coloidal: as granulações vermelhas do carmim litinado aparecem em número de 5 ou 6 nos polos do núcleo e, à medida que dele se afastam, vão-se tornando menos numerosas e acabam por se dispor em fila simples. Todavia, se a quantidade de coloide injectada assume determinadas proporções, podem encontrar-se células com grânulos a rodear totalmente o núcleo (Fig. 1, pág. 20).

O número de células carminófilas aumenta regularmente com a repetição das injeções de corante e diminui, em seguida, ao afastar-se o momento dessas injeções.

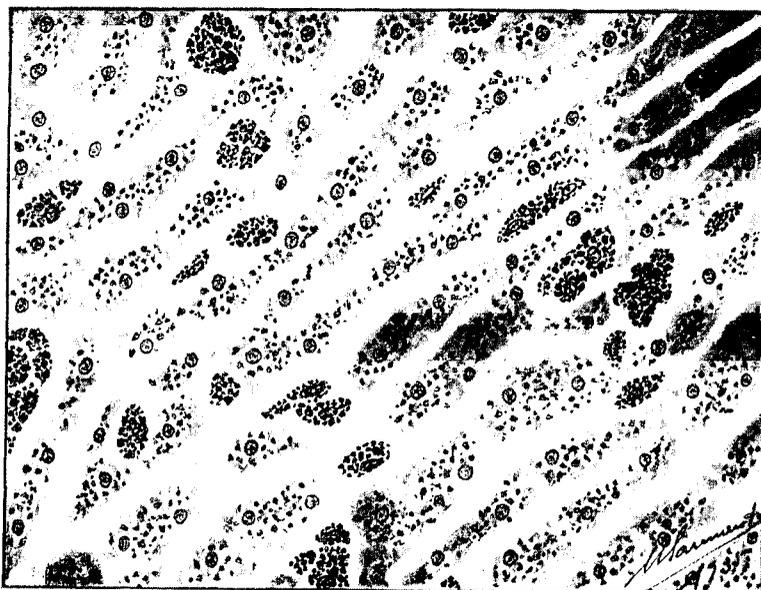
Além das células de KUPFFER, outros elementos cromófilos se podem observar nos septos conjuntivos normais do fígado (espaços e fissuras de KIERNAN), quer em estreita relação com os vasos (na adventícia e, se a dose de carmim injectada é muito grande, no próprio endotélio), quer deles independentes, pelo menos aparentemente.

O número destas últimas células é maior em zonas de esclerose e tanto maior quanto mais recente ela é. À roda de focos necróticos provocados pela gálvano-cauterização, as células cromófilas aparecem em quantidade considerável e com o citoplasma carregado de grânulos. Não é raro que elas se juntem e formem verdadeiras células gigantes. Nêstes casos pude verificar que se trata de células de KUPFFER da vizinhança do foco inflamatório, mobilizadas depois de experimentarem intensa hiperplasia.

Factos idênticos são referidos por HIGGINS & MURPHY, MALYSCHEW, KAHLSTORF, AMELL SANS e outros.

O torostraste deposita-se em grânulos refringentes nas extremidades da célula ou, com mais frequência, em tórno

do núcleo (Fig. 9). A quantidade das granulações está em relação com a dose de coloide injectada. A formação de aglomerados mais ou menos extensos — no fígado, como, aliás, nos órgãos já mencionados — depende, não só da quantidade de tório introduzida no organismo, mas também do tempo decorrido desde essa introdução ao momento da autópsia.



(Desenho de M. SARMENTO)

FIG. 9 — *Fígado de coelho injectado com torotraste* (Obs. xxxii)

Células de KUPFFER carregadas de granulações de torotraste.

O hidrossol metálico impregna ainda raros elementos dos espaços e fissuras de KIERNAN, mas, nas zonas de esclerose, a abundância de histiócitos carregados é tal que a massa total do coloide nêles contida supera a quantidade existente em tôdas as células de KUPFFER.

Esta quantidade depende não tanto da idade do tecido cicatricial como do facto de a injectação de tório preceder a organização do referido tecido.

Na Obs. XXXI, relativa a um coelho sacrificado 24 horas depois da última injeção de torotraste, o fígado, com zonas extensas de esclerose peribiliar, não apresentava aquela substância fora das células de KUPFFER. Pelo contrário, nas Obs. XLIV, XLVI e XLVII, correspondentes a animais com longa sobrevivência, as zonas esclerosadas são extraordinariamente ricas de tório.

Pode depreender-se que esta substância determina, por sua toxicidade, radioactividade ou simples compressão, a atrofia e a necrose do parênquima hepático, subsequente substituído por tecido conectivo novo. Para as zonas necrosadas deslocam-se, dos lóbulos vizinhos, as células de KUPFFER carregadas de granulações e que na nova posição se mantêm indefinidamente, depois de organizado o tecido de esclerose. Assim se compreende que, nos animais com longa sobrevivência e após a administração de torotraste, se encontre esta substância quasi ausente do lóbulo hepático (Obs. XLIV) e em grande quantidade no tecido de esclerose.

A acção irritante do metal determina, muitas vezes, a degenerescência e a necrose do parênquima hepático; no entanto, devo ajuntar que a toxicidade não se manifesta de modo constante, porquanto na Obs. XLVIII, relativa a um coelho injectado com 17 c.c. de torotraste e sacrificado ao cabo de 5 meses, verifica-se a ausência de lesões hepáticas apreciáveis.

Do debatido problema da toxicidade do torotraste me occuparei, com o devido desenvolvimento, mais adiante.

Suprarrenal.— Como se sabe, por entre as células parenquimatosas, tanto da camada cortical como da medular da suprarrenal, o sangue circula em capilares revestidos, de modo descontínuo, por células endoteliais de núcleo redondo ou ovalar e citoplasma alongado na orientação da trabécula celular que lhe está anexa. Nestes elementos endoteliais floculam os coloides electro-negativos introduzidos por via parenteral.

O carmim litinado deposita-se em finas granulações, redondas, iguais e bem individualizadas, como nos órgãos anteriormente estudados, mas em número mais restrito (3 ou 4 apenas).

Das 14 observações em que procedi ao exame das suprarrenais, só em 6 a floculação se não deu nos endotélios dos sinusoides (Obs. III, IV, V, XI, XII e XV): tratava-se de animais em que outros departamentos do S. R. E. esta-

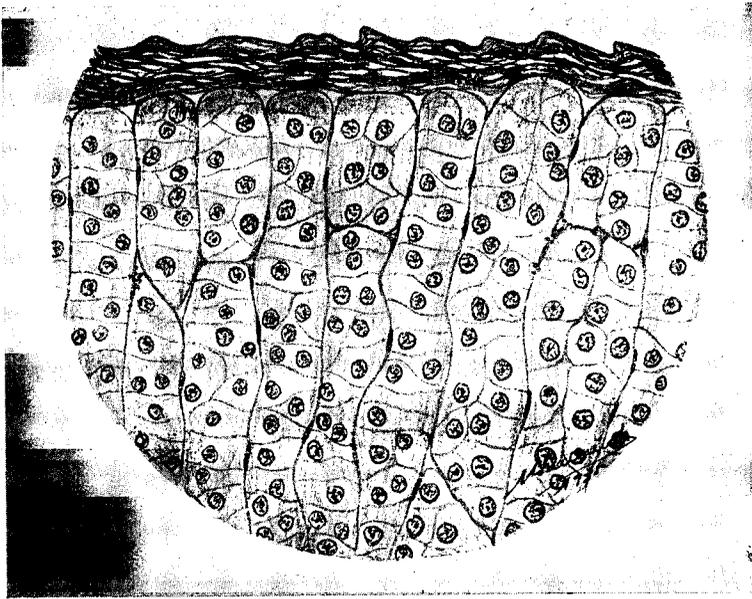
QUADRO IV

Floculação do lítio-carmim na suprarrenal

N.º da Obs.	N.º de doses		Sobrevivência	Número de células carminófilas		
	Via venosa	Via periton.		C. cortical	C. medular	Cápsula
I	2	—	2 dias	muito raras	raras	freqüentes
III	3	—	11 "	0	0	raras
IV	3	—	13 "	0	0	0
V	3	—	13 "	0	0	0
VII	4	—	8 "	raras	raras	raras
VIII	5	—	24 horas	"	"	freqüentes
IX	7	—	2 dias	muito raras	"	"
X	8	—	2 "	"	"	"
XI	2	1	30 "	0	0	0
XII	2	2	3 "	0	0	raras
XIII	3	1	4 horas	muito raras	raras	freqüentes
XV	—	6	2 dias	0	0	abundantes
XVII	4	—	2 "	0	raras	freqüentes
XXII	4	—	2 "	raras	"	"

vam bem impregnados. Nos 8 restantes, o número de elementos celulares que exerceram a coloidopexia era sempre reduzido, tornando-se necessário percorrer zonas extensas de certas preparações para se encontrar uma única célula carminófila.

Como já tive ensejo de dizer, ASCHOFF inclui no S. R. E. (considerado no sentido restrito) os sinusoides da camada cortical, mas não os da camada medular. Ora, naquelas minhas observações, nota-se constantemente a mesma modalidade de floculação nos elementos endoteliais tanto duma como da outra zona e, até com certa freqüência, as células carminófilas se apresentam em maior quantidade na camada medular.



(Desenho de M. SARMENTO)

FIG. 10 — *Suprarrenal de coelho injectado com lítio-carmin (Obs. XIII)*

Numerosas granulações de carmin nas células da cápsula, raras nos endotélios dos sinusoides.

A cápsula do órgão, quer o corante seja injectado por via intravenosa, quer se utilize a via intraperitoneal, quasi constantemente mostra células coradas (Fig. 10); quer dizer, estes elementos aparecem, por vezes, na cápsula de glândulas cujas células endoteliais não apresentam vestígios do coloide.

No Quadro IV dou um resumo das respectivas observações.

O torotraste fixa-se predominantemente nas células endoteliais da camada cortical, mas também pode observar-se na zona medular e na cápsula. O número de granulações é sempre pequeno, como limitado é o das células com capacidade coloidopéxica. Todavia, a floculação observa-se, com uma constância digna de registo, nas glândulas suprarrenais de todos os coelhos injectados com o bióxido de tório coloidal.

Hipófise.— Nos sinusoides dos lobos glandulares dêste órgão, os elementos endoteliais revestem um aspecto morfológico idêntico ao descrito na suprarrenal.

O número de granulações de carmim litinado não excede 4 ou 5 por célula, e a quantidade de células que manifestam a coloidopexia é muito restrita; por vezes, tive de percorrer um corte de todo o órgão para encontrar 2 ou 3 células coradas. De 13 observações em que observei histologicamente a hipófise, apenas em 4 (Obs. IV, V, XI e XV) se não registaram células carminófilas.

No lobo nervoso encontram-se, mas excepcionalmente, células adventíciais com nitida floculação.

O torotraste parece não impregnar as células dos sinusoides dos lobos glandulares; pelo menos, assim o verifiquei nas três observações (XXXI, XXXII e XXXIV) em que procedi ao exame histológico do órgão em questão.

Tiroideia e paratiroideia.— Estas duas glândulas, cujo produto de secreção é lançado directamente na circulação sanguínea, possuem uma rede de abundantes capilares muito anastomosados entre si.

Tanto em presença do lítio-carmim como do torotraste, as células endoteliais destes capilares não manifestaram, em nenhuma das minhas observações, capacidade coloidopéxica, mesmo discreta.

Pelo contrário, freqüentemente (9 vezes em 14 glândulas examinadas) se encontraram grânulos (4 a 5) de carmim em

elementos dos septos conjuntivos da cápsula e da adventícia de vasos de certo calibre. O torotraste, quiçá por sua menor difusão, não floclula nas células que habitualmente exercem essa propriedade em relação ao corante vital.

Timo.—Do mesmo modo que os órgãos hemolinfopoiéticos, o timo possui um retículo de células alongadas e anastomosadas entre si, mas que, segundo a idea mais corrente, são de origem epitelial. Alguns autores, baseados em argumentos mais ou menos valiosos, afirmam categoricamente a origem mesodérmica do aludido retículo e atribuem mesmo às suas células propriedades fagocitárias e uma verdadeira capacidade coloidopéxica.

Em todos os timos de coelhos impregnados com lítio-carmin e em muitos injectados com torotraste, tive o cuidado de procurar cuidadosamente a floclulação nas células do retículo, mas nunca a encontrei.

Dos 15 órgãos examinados 10 contêm células carminófilas, mais ou menos abundantes, na adventícia e no endotélio vasculares. As da adventícia são, em geral, relativamente ricas de grânulos, que nos endotélios aparecem em pequeno número. A floclulação exercida pelas primeiras células lembra a observada nos órgãos linfopoiéticos, a capacidade floclulante dos endotélios vasculares parece-se com a coloidopexia manifestada pelos sinusoides da suprarrenal e da hipófise.

Não encontrei relação constante, no conectivo tímico, entre a quantidade de células carminófilas e a dose de corante empregada ou o tempo decorrido desde a última injeção de carmin até a morte do animal.

Testículo.—Não tive ensejo de estudar, pelo que respeita à coloração vital, número suficiente de testículos para poder abordar o discutido problema da natureza das células intersticiais. Além disso, nas minhas experiências utilizei exclusivamente o Coelho, animal que, como se sabe, possui a glândula intersticial muito reduzida.

CRISAN, LUBARSCH e BRUNI, entre outros, apontam a natu-

reza histiocitária das referidas células. Ocupando-se da questão num trabalho recente, DREYFUS & PIRES FERRAZ afirmam que a maior parte das células intersticiais testiculares do Rato branco são cromóforas; todavia, depois da injeção de corantes derivados da benzidina, puderam verificar, naquele animal, que certo número de elementos com os caracteres morfológicos das células de LEYDIG apresentavam grânulos azuis no citoplasma, o que lhes pareceu indicar claramente a sua proveniência à custa dos elementos do sistema retículo-endotelial do testículo.

BENOIT, baseado em estudos minuciosos acêrca da origem e evolução das células intersticiais do testículo do Galo, informa que as células de LEYDIG não têm origem mesenquimatosas, mas mesotelial celômica, isto é, derivam dos elementos somáticos do epitélio celômico germinativo.

Nas minhas observações apenas encontrei células cromófilas nos septos conjuntivos e na albugínea do órgão. Os raros elementos intersticiais observados não manifestavam actividade coloidopéxica.

Rim. — O lítio-carmim, quando injectado em doses fortes, impregna raras células dos septos conjuntivos e da adventícia vascular do rim.

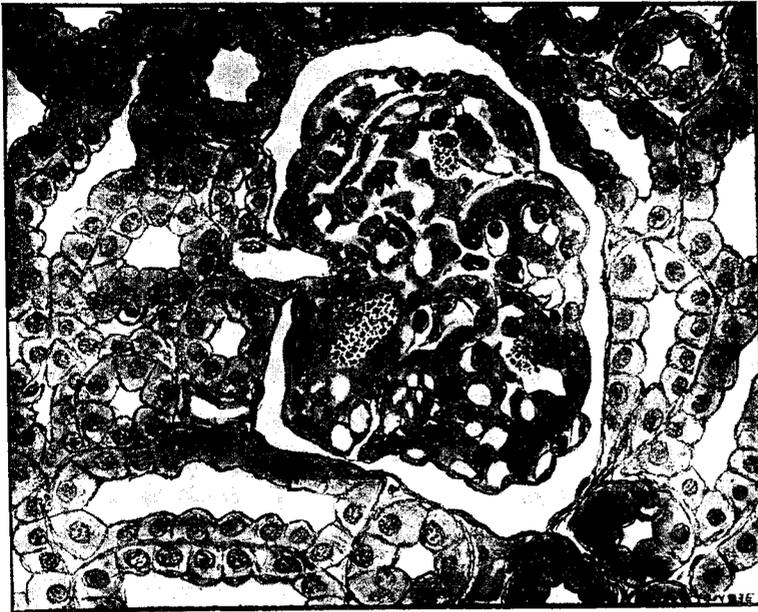
Quanto à presença de granulações nos tubos contornados, devo fazer notar que a sua presença não traduz uma verdadeira coloidopexia e está simplesmente em relação com as funções excretoras dos elementos epiteliais em que se encontram.

Depois do emprêgo do torotraste possuem granulações coloidais as células mesenquimatosas atrás mencionadas; mas, além destas, o metal impregna também e constantemente células dos glomérulos de MALPIGHI (Fig. 11). As colorações histológicas utilizadas não me permitiram o estudo completo de tais elementos; é possível que se trate das próprias células endoteliais do glomérulo ou de histiomonócitos da corrente circulatória aí retidos, temporária ou definitivamente.

A primeira hipótese, menos plausível, está em desacôrdo

com a ausência do tório coloidal nos verdadeiros endotélios deste ou doutros órgãos; em favor da segunda depõe a observação freqüente de imagens de elementos celulares impregnados de coloide e livres na corrente circulatória (Fig. 12).

Demonstrou-se já (e ao facto voltarei a aludir mais adiante) que os histiócitos corados e livres na corrente cir-



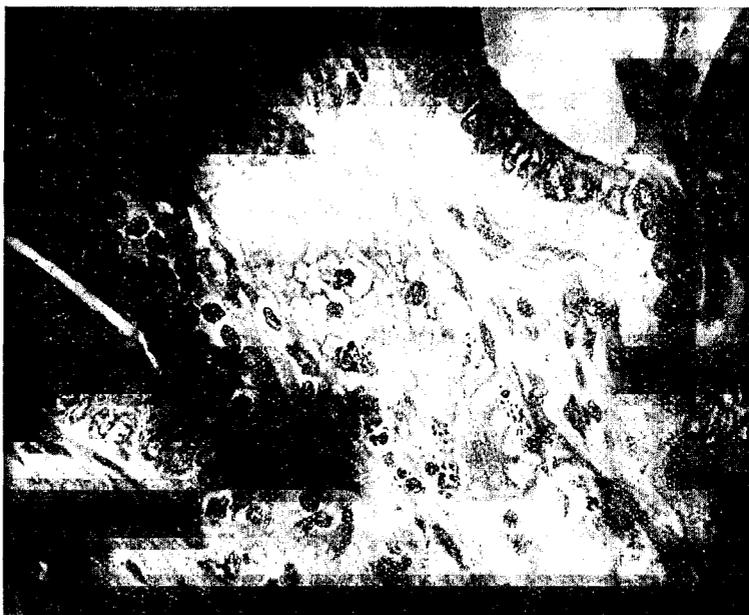
(Desenho de R. PORTELA)

FIG. 11 — *Rim de coelho injectado com torotraste* (Obs. xxxiv)

Células carregadas de tório no interior dum glomérulo de MALPIGHI.

culatória são retidos e destruídos no fígado, no baço e, especialmente, no pulmão. As imagens observadas nos glomérulos renais levam-me a admitir a existência do mesmo fenómeno no rim. Esta opinião tem o valor duma simples hipótese de trabalho a confirmar porventura em ulteriores pesquisas.

Outros órgãos. — Dos órgãos ainda não mencionados merecem estudo especial o ovário, o pulmão e os centros nervosos — o ovário, pela presença, durante certos períodos do seu ciclo evolutivo, de numerosos elementos de activa capacidade coloidopéxica em formações especiais; o pulmão e os centros nervosos por virtude do debatido problema da na-



(Microfotografia)

FIG. 12 — *Fígado de coelho injectado com torotraste* (Obs. I.XXXII)

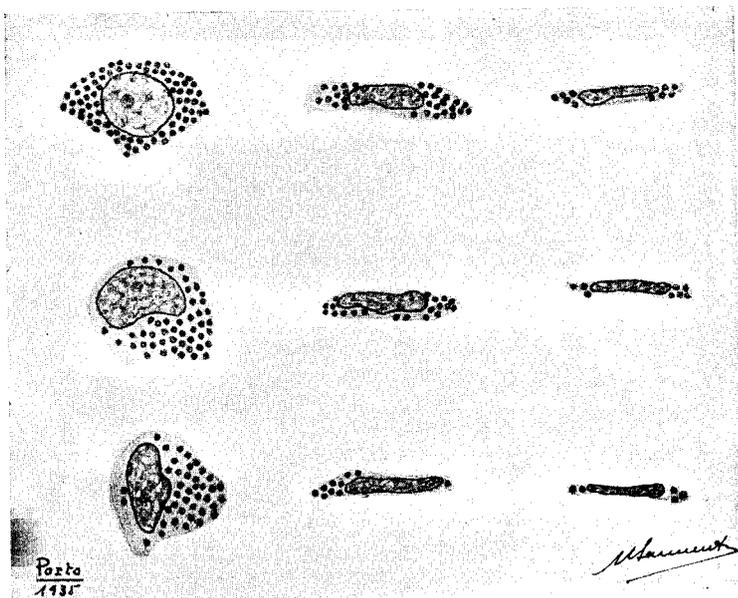
Células com torotraste no interior duma vénula.

tureza histiocitária do revestimento alveolar e da micróglia. Dest'arte, resolvi versar desenvolvidamente êstes assuntos no capítulo seguinte, limitando-me, por agora, a esta breve referência.

Pelo que respeita aos restantes órgãos dos aparelhos cárdio-vascular, digestivo e génito-urinário, e bem assim ao tecido conjuntivo considerado dum modo geral, posso englo-

bá-los na mesma descrição, visto não haver, de uns para outros, particularidades especiais a salientar.

Em todos êles, ou melhor, no tecido conjuntivo de cada um dêles, se encontram células carminófilas, cuja abundância, maior ou menor, está em relação com a quantidade de carmin empregada e com o tempo decorrido desde o início da experiência à morte do ani-



(Desenho de M. SARMENTO)

FIG. 13 — *Epíloon de coelho injectado com lítio-carmin* (Obs. xv)

Diferentes tipos de células carminófilas do tecido conjuntivo.

mal. Tais células apresentam-se com os três aspectos seguintes (Fig. 13):

- 1.º — Elementos de núcleo arredondado ou ovoide, claro, provido de pequeno nucléolo e de citoplasma abundante, redondo ou estrelado, com numerosas granulações dispostas em redor do núcleo.

- 2.º — Células alongadas, com estrutura nuclear pouco diferente da das células anteriores ou, então, de núcleo hipercromático, umas e outras providas de poucos grânulos que se dispõem na vizinhança dos tôpos nucleares.
- 3.º — Células endoteliais dos capilares, com raros grânulos vermelhos nas duas extremidades do corpo citoplásmico.

Os elementos do primeiro grupo devem ser identificados com os clasmatócitos de RANVIER, as células ragiócrinas de RENAUT ou os histiócitos de KIYONO. Os do segundo grupo são, indubitavelmente, fibroblastos. Êstes e as células endoteliais só exercem a coloidopexia quando o corante vital é injectado em quantidades consideráveis.

O torotraste deposita-se muito irregularmente nos histiócitos dos diferentes órgãos, raras vezes nos fibrócitos, excepcionalmente nos verdadeiros endotélios.

Na vizinhança dos processos inflamatórios, onde é de presumir uma exaltação metabólica, não só aumenta de modo notável o número dos elementos coloidófilos, como também a actividade floculante está consideravelmente exagerada. Foi o que tive ocasião de verificar em redor de focos necróticos produzidos por gálvano-cauterização hepática e nas proximidades de abcessos provocados pela essência de terebentina e outras substâncias.

Certas infecções gerais e tôdas as causas de inferiorização orgânica actuam no sentido duma inibição coloidopéxica. Pelo menos assim sucedia nos casos que pude observar.

O estudo do S. R. E. nas suas relações com os processos inflamatórios levar-me-ia, naturalmente, para o campo da patologia do mesmo sistema; êste assunto, porém, tenciono versá-lo noutra oportunidade, depois de completar experiências já começadas.

Os diferentes elementos celulares susceptíveis de impregnação pelos coloides electro-negativos e descritos nos órgãos estudados podem dividir-se, pelo que respeita à inten-

sidade com que exercem a propriedade coloidopéxica, em três grandes grupos. Êstes não compreendem, claro está, as mesmas células se a floclulação se estuda com corantes vitais de finas micelas, como o lítio-carmim, ou com suspensoides, como a tinta da China, ou os hidrossóis metálicos, como o bióxido de tório. Por isso temos de considerar cada uma das condições em separado.

Classificação baseada na coloidopexia do carmim litinado:

- 1.º grupo — Elementos com numerosas granulações (20 a 30 ou mais) em redor do núcleo: células do retículo-endotélio dos gânglios linfáticos e da medula óssea e histiócitos do tecido conjuntivo laxo e dos foliculos atréticos do ovário.
- 2.º grupo — Elementos com grânulos nos tôpos nucleares e em número mais reduzido (10 a 15): retículo-endotélio do baço (1), células de KUPFFER do fígado e células adventíciais dos vasos do conectivo.
- 3.º grupo — Elementos com escasso número de grânulos (3 a 6) nas extremidades nucleares: células dos sinusoides da suprarrenal e da hipófise e, se a dose de corante empregada fôr muito forte, fibrócitos e verdadeiras células endoteliais.

Classificação baseada na floclulação do torotraste:

- 1.º grupo — Elementos com abundante depósito de grânulos de torotraste em redor do núcleo, por vezes completamente dissimulado: retículo-endotélio dos órgãos hemolinfopoiéticos, células de KUPFFER do fígado, histiócitos do tecido conjuntivo laxo e dos foliculos atréticos do ovário.
- 2.º grupo — Elementos com menor número de grânulos: sinusoides da suprarrenal e células adventíciais dos vasos do conectivo.

(1) Note-se, todavia, que a deminuta capacidade coloidopéxica do retículo-endotélio esplênico se deve atribuir, pelo menos em parte, à existência de abundante pigmento hemático floclulado pelos diferentes elementos dêsse retículo.

3.º grupo — Elementos com escasso número de grânulos: fibrócitos e, excepcionalmente, verdadeiros endotélios.

Estudados todos os elementos celulares susceptíveis de exercer a actividade coloidopéxica e bem marcada a intensidade do fenómeno para cada um d'elles, poderei agora abordar a concepção do sistema reticulo-endotelial e procurar estabelecer a sua extensão.

O S. R. E. — considerado nos seus mais amplos limites e tomando como critério de classificação histológica a faculdade de impregnação das células pelos coloides electro-negativos — compreenderia todos os elementos que foram mencionados nos diversos órgãos, isto é, além das células do sistema reticulo-histiocitário de VOLTERRA, os endotélios verdadeiros e os fibrócitos ou, então, as células do sistema delimitado por DI GUGLIELMO acrescidas dos endotélios dos vasos sanguíneos e linfáticos.

As células do sistema — encarado num sentido mais restrito, e se para a restrição nos baseamos na intensidade ou no grau da capacidade floculante — são difíceis de determinar, não só por se poder concluir de modo diferente consoante a natureza do coloide empregado, mas ainda porque, para o mesmo coloide, a intensidade da floculação depende do estado fisiológico da célula e da sua maior ou menor actividade metabólica no momento da coloração vital.

Se considerássemos como pertencentes ao sistema reticulo-endotelial, na acepção restrita, exclusivamente as células do primeiro grupo demarcado por meio do carmin litinado, ou estas e as do segundo grupo, teríamos, num caso, o sistema apenas composto pelo reticulo-endotélio dos gânglios linfáticos e da medula óssea e pelos histiócitos, e no outro formá-lo-iam, a par d'estes elementos, o reticulo-endotélio do baço, as células de KUPFFER do fígado e certos elementos adventíciais. De qualquer modo, afastar-nos-íamos consideravelmente da concepção morfológica de ASCHOFF.

Com o torotraste a diferença na classificação é menos acentuada: o sistema delimitado pelos dois primeiros grupos

celulares estabelecidos com o hidrossol metálico difere do de ASCHOFF, não só porque dêle se excluem as células dos sinusoides da hipófise e da suprarrenal, mas ainda porque se lhe juntam os histiócitos.

Sendo assim, não se poderão estabelecer, com base na actividade coloidopéxica dos elementos celulares, sistemas na acepção restrita ou no sentido mais lato, porque, além da impossibilidade de os demarcar morfológicamente, se complica sem necessidade ou vantagem o estudo da sua fisiopatologia. Como terei ocasião de mostrar, as funções do S. R. E., sem preocupação de limites, são de difícil apreciação e, por isso mesmo, insuficientemente conhecidas; o problema, já de si delicado, complicar-se-ia de modo notável, e talvez inutilmente, se houvesse que determinar as funções que competem a um ou outro dos sistemas assim concebidos.

Os elementos celulares do S. R. E., seja qual fôr a acepção em que êste se tome, possuem, além da função histiocitária ⁽¹⁾, outras propriedades comuns e estas justificam, tanto como aquela, a idea de os agrupar em sistema.

Uma destas propriedades, de-certo a melhor conhecida, é a função hemohistioblástica.

Sabido é que FERRATA admite a existência de dois grupos de células no tecido conjuntivo: umas pirrolófilas, outras pirrolófobas, estas derivadas das primeiras.

Pertencem ao primeiro grupo os fibrócitos, as células migrantes em repouso ou histiócitos, o retículo-endotélio do sistema hemolinfopoiético, as células das paredes dos vasos (endotélios, peritélios, pericitos) e as células adiposas. O conjunto dêstes elementos constitui o *tecido hemohistioblástico* e a cada um dêles se atribui a designação genérica de *hemohistioblasto*. Segundo FERRATA, os hemohistioblastos, «*analogamente alla originaria cellula mesenchimatica primordiale, conservano integre nel connettivo, anche nell'ani-*

(1) Por *função histiocitária* deve compreender-se, segundo BRATIANO & GUERRIERO, «le couple fonctionnel constitué par le pouvoir phagocytaire et par la fonction de colloïdopexie (coloration vitale acide, ultra-phagocytose, *Speicherung*). Ce couple fonctionnel est caractéristique des systèmes réticulo-endothéliaux ou réticulo-histocytaires (VOLTERRA), comme de nombreuses recherches l'ont démontré».

male adulto, le loro molteplici capacità di differenziamento, da un lato dando origine agli elementi di sostegno connettivalli (fibroplasti), dall'altro differenziandosi anche in condizioni normali verso gli altri costituenti il connettivo, quali ad esempio, le cellule leucocitoidi macrofaghe, le mastzellen e le plasmazellen, in condizioni patologiche, poi generando analogamente agli emocitoblasti midollari, leucociti ed eritrociti».

Tôdas estas células, que a denominação de pirrolófilas deixa entrever possuírem a capacidade coloidopéxica, têm ainda de comum a propriedade de evoluir, em condições normais ou patológicas, nos dois sentidos apontados por FERRATA e que são indicados na própria etimologia da palavra hemohistioblasto.

Dêste modo, o tecido hemohistioblástico de FERRATA identifica-se com o sistema retículo-endotelial, na acepção mais lata em que se pode tomar, pois um e outro, como se deduz do que acabo de expôr, são constituídos pelos mesmos elementos.

Sendo assim, ao delimitar-se o S. R. E., no sentido restrito, dêle se excluem células que, além da propriedade comum coloidopéxica, possuem, pelo menos, a hemohistioblástica. Quere dizer, fugir-se-ia ao critério que conduziu a agrupá-las em sistema.

As razões alegadas levam-me a admitir a existência dum único sistema retículo-endotelial formado por tôdas as células dotadas de certas propriedades comuns, uma das quais é a coloidopexia.

Tentar estabelecer os limites do grupo assim definido parece-me tarefa vã, dada a impossibilidade de a levar a cabo.

No estado actual dos nossos conhecimentos, a apreciação desses limites não pode fazer-se senão mediante a pesquisa da capacidade coloidopéxica. Ora, esta propriedade está dependente, como já tive ocasião de dizer, dos caracteres físico-químicos do coloide empregado e do estado fisiológico da célula que o deve fixar.

Pelo que respeita aos coloides, baseado em numerosas observações demonstrei que a quantidade de células im-

pregnadas e a intensidade de impregnação de cada uma eram diferentes com o litio-carmim e com o torotraste.

O estado fisiológico da célula, quer se trate dum exagêro ou deminuição da actividade do metabolismo, quer da existência do chamado bloqueio fisiológico, tem, como também já disse, sua influência no grau da floclulação e na quantidade de células que a exercem.

Está demonstrado que a deminuição da capacidade funcional ou a exclusão cirúrgica dum grupo de células retículo-endoteliais determina a hiperplasia das células restantes. Exemplo nítido fornece-o a esplenectomia, como adiante se verá; entretanto, desejo referir que a exérese esplênica determina, em todos os departamentos do S. R. E., a hiperplasia vicariante e o exagêro da actividade coloidopéxica dos seus elementos celulares.

Fenómenos idênticos se passam, embora com menor intensidade, em seguida ao afrouxamento da capacidade funcional de territórios mais ou menos extensos do S. R. E. No desempenho das suas funções, as células d'este sistema estão, durante certos períodos, impregnadas de substâncias derivadas do metabolismo celular, isto é, «bloqueadas fisiologicamente», na expressão de BRATIANO & LLOMBART. O bloqueio fisiológico dalgumas células reflete-se, nas restantes, no sentido duma hiperplasia e dum aumento de actividade funcional. A intensidade dos fenómenos depende do número de células bloqueadas e êste, como se compreende, varia dum momento para o outro.

Portanto, no desempenho das funções que lhes são próprias, as células do sistema estão em constante evolução: umas são excluídas funcionalmente (bloqueio fisiológico), outras retomam, ao cabo dalgum tempo, as suas funções, por perda ou elaboração dos coloides bloqueantes; as primeiras deixam de exercer a capacidade coloidopéxica, as segundas readquirem-na.

Em presença do exposto, julgo-me autorizado a emitir a opinião de que o sistema reticulo-endotelial é constituído por elementos celulares com propriedades comuns, mas em evolução funcional constante e que, em certos períodos dessa

evolução, podem ser impregnados pelos corantes vitais. Por conseguinte, os limites do sistema não se podem definir com precisão e, se êles se demarcam, valem simplesmente no momento da coloração vital.

Estas deduções reforçam as palavras de MERKLEN acêrca do sistema em questão: «*Il représente une large association de cellules susceptibles, dans des conditions déterminées, de se colorer vitalemment et de remplir des fonctions physiologiques spéciales*» — e harmonizam-se com o seguinte conceito expresso por ROUSLACROIX: «*Cette réserve de mésenchyme jeune, indifférencié, n'a de limites réelles que celles de l'organisme qu'il contribue à former*».

III

SISTEMAS RETÍCULO-ENDOTELIAIS LOCAIS

Após o resultado de numerosas pesquisas realizadas em diversas espécies de animais acêrca do sistema retículo-endotelial, BRATIANO & LLOMBART julgam-se autorizados a admitir a existência dum *sistema geral*, morfológicamente definido (elementos retículo-endoteliais do baço, do fígado, da medula óssea e dos gânglios linfáticos) e de *sistemas locais*, alguns morfológicamente definidos também (pulmão, plexos coroi-deus), outros criados por necessidades fisiológicas ou fisiopatológicas de determinadas regiões (territórios dermo-hipodérmicos limitados).

Os coloides introduzidos por via intravenosa fixar-se-iam no S. R. E. geral. Os que se ministram pelas vias subcutânea ou intra-serosa seriam primeiro floculados nas células próprias da região e só passariam à corrente circulatória se o poder coloidopéxico dessas células fôsse excedido.

Se, como diz DU BOIS, o conceito de BRATIANO & LLOMBART não tem vantagem sôbre a concepção dos autores que primeiro estudaram a fisiologia dos histiócitos (os elementos

retículo-endoteliais de qualquer ponto do organismo podem hiperplasiar-se e experimentar um aumento de capacidade funcional, mercê de variadas circunstâncias fisiológicas ou patológicas), parece-me ter, pelo menos no tocante aos sistemas locais do pulmão e dos centros nervosos, o mérito de agitar, com novos argumentos, a discussão do problema da natureza histiocitária do revestimento dos alvéolos pulmonares e da micróglia.

No presente capítulo vou ocupar-me destas questões e do estudo de determinadas células activamente colloidopéxicas dos folículos atréticos do ovário, células que se podem considerar como constituintes dum sistema retículo-endotelial local.

PULMÃO

Ao revestimento alveolar do pulmão, outrora considerado de origem mesenquimatosa por VILLEMIN e outros autores, é atribuída natureza epitelial desde 1862, época em que EBERTH aplica ao seu estudo o método histológico das impregnações metálicas.

Este método permite distinguir, naquêle revestimento, dois aspectos morfológicos bem distintos, segundo as regiões consideradas: sôbre os bordaletes salientes da rede capilar sangüínea nota-se uma lâmina protoplásmica muito delgada e desprovida de cromatina; nas goteiras delimitadas pelos mesmos capilares observam-se ninhos de pequenas células granulosas que se continuam, mais ou menos directamente, com as placas anucleadas que as cercam (BARD).

Investigações levadas a cabo por GILBERT & JOMIER, BOSSAN & PÉLLISSIER, FAURÉ-FRÉMIET & DRAGOIU, GRANEL, GUIEYSSE-PÉLLISSIER, BUSQUET & VISCHNIAC, ROGER & BINET, BINET & VERNE, WENSLAW, ALEXEIEFF e outros autores, permitiram demonstrar que as pequenas células granulosas alveolares são capazes de fixar, fagocitar e destruir as gorduras — em suma, possuem funções de lipopexia e de lipodiérese.

No interior dos alvéolos pulmonares encontram-se, por

vezes, células livres designadas «células de carvão», «células de poeira», «células marciais», «células de gordura» ou «eritrófagas», consoante a natureza das substâncias que incorporam, por fagocitose, no seu citoplasma.

Tais elementos, que alguns autores supõem provenientes dos leucócitos sangüíneos (METCHNIKOFF, TSHISTOWITSCH), do endotélio dos capilares (CHIODI), ou mesmo dos histiócitos (ASCHOFF, KIYONO, WENSLAW), têm, na opinião mais corrente, sua origem nas pequenas células nucleadas do revestimento alveolar (SEWELL, GUIEYSSE-PÉLISSIER, BINET & CHAMPY, LANG, WESTHUES, SIMÕES RAPOSO, CONSTANTINI, HUGUENIN & DELARUE, etc.).

As pequenas células granulosas do pulmão atribuem-se, como se vê, propriedades evolutivas e funcionais muito semelhantes às dos elementos mesenquimatosos. A coloração vital, que em certas condições podem assumir, levou alguns autores (POLICARD, BRATIANO & GUERRIERO) a filiá-las no mesênquima e a incluí-las no sistema retículo-endotelial.

As novas ideas acêrca do revestimento alveolar não são imediatamente admitidas. Defendendo a teoria moderna ou as ideas clássicas, numerosos trabalhos se publicaram nos últimos anos, entre os quais merecem referência especial os firmados por POLICARD, BRATIANO e seus colaboradores, HUGUENIN & DELARUE, GUIEYSSE-PÉLISSIER e BARD.

Para POLICARD, o estroma conjuntivo do pulmão está em contacto directo com o ar, e a superfície respiratória, livre de qualquer revestimento epitelial, «*est assimilable à une plaie à vif*»; as placas anucleadas não existem e as pequenas células granulosas oferecem grandes analogias com os elementos histiocitários. Embora considere a célula alveolar de natureza conjuntiva e mesmo como um histiócito, reconhece, todavia, que nenhuma das razões invocadas, pro ou contra esta concepção, é decisiva.

As ideas de POLICARD são retomadas e ampliadas por BRATIANO e seus colaboradores LLOMBART & GUERRIERO. Para estes autores, a função específica das células parietais do alvéolo (pequenas células granulosas) é representada pela fagocitose e pela coloidopexia, isto é, pela função histiocitária. Sob o ponto de vista fisiológico, a célula parietal

alveolar difere das células endoteliais dos vasos e dos capilares e, «*identique fonctionnellement aux cellules septales et aux histiocytes interstitiels*», deve, portanto, ser considerada como pertencente ao sistema retículo-endotelial.

Com o fim de estudar a evolução histológica das reações dos alvéolos pulmonares e o destino das suas células, HUGUENIN & DELARUE procederam a uma série de experiências em Cães. Os animais recebiam, por via intratraqueal, 10 a 20 c.c. duma solução de lítio-carmim e eram sacrificados ao cabo de 20 minutos, 1, 3, 12 e 24 horas, a contar do começo da experiência. Notaram os autores a absorção rápida do corante pela parede dos alvéolos onde o carmim aparecia em pequena quantidade; as células do revestimento, que o fagocitavam, caíam na cavidade alveolar depois de carregadas de granulações vermelhas.

Estas experiências mostram que as células dos alvéolos fagocitam substâncias estranhas introduzidas por via aérea, que se libertam e emigram para o interior da cavidade do alvéolo ou para os grossos brônquios e para a traqueia; podem mesmo afastar-se para a trama conjuntiva do pulmão e seguir a via linfática.

Assim, as células «*qui bordent l'alvéole pulmonaire nous apparaissent* — dizem HUGUENIN & DELARUE — *trop particulières pour qu'on puisse les assimiler à un épithélium. Etant donné tout au moins l'idée que la classification tissulaire actuelle nous donne d'un épithélium, nous serions tentés d'admettre avec Policard en France, avec beaucoup d'auteurs à l'étranger, que ces cellules phagocytaires et migratrices ont beaucoup de points communs avec les éléments du système histiocyttaire général, et que, avec quelques particularités cependant, qu'ont bien montrées Bratiano et Llombar, elles font partie de ce système*».

Os mesmos autores, em novo trabalho de colaboração com FOULON, analisam detalhadamente os numerosos argumentos que a morfologia, a embriologia, a fisiologia, a patologia e a experimentação fornecem, favoráveis ou contrários à natureza histiocitária do revestimento alveolar. O estudo morfológico das células alveolares, tanto lhes permite concluir pela existência dum epitélio particularmente disposto,

como pela presença dum revestimento retículo-endotelial. Demonstrada a insuficiência da experimentação e da patologia para resolver o problema, reconhecem também que nem a embriologia nem a fisiologia contribuem com elementos valiosos para elucidar a questão.

«Un fait seul semble certain — escrevem: il existe dans la paroi alvéolaire des cellules qui jouent un rôle de premier plan dans les manifestations pathologiques. Quel est le siège exact, l'origine précise de ces éléments? Sont-ils épithéliaux, mésenchymateux, constituent-ils ou non le revêtement alvéolaire? Là réside toujours l'énigme».

Como se sabe, BARD admite, como finalidade directa das células, a edificação e a renovação das substâncias derivadas que lhes são próprias; é indirectamente, por intermédio das substâncias derivadas, que as células contribuem para a vida colectiva do ser metazoário a que pertencem. Assim, não são as células ósseas e as células conjuntivas mais resistentes e mais elásticas que quaisquer outras; estes caracteres pertencem às substâncias derivadas que elas edificam, osseína e fibras elásticas.

Aplicando o mesmo conceito ao caso particular do revestimento dos alvéolos pulmonares, reconhece BARD que as placas anucleadas constituem precisamente a substância derivada que as pequenas células granulosas originam para o desempenho das suas funções fisiológicas.

O autor citado resume a sua opinião acêrca da natureza das células do revestimento alveolar nas seguintes palavras, que fecham um dos seus artigos sôbre este assunto:

«La couche de revêtement des alvéoles, dont la cellule fondamentale est représentée par les petites cellules granuleuses des criques intercapillaires, et la substance dérivée, fonctionnellement active, constituée par les plaques anucléées intercellulaires, relève, comme tous les autres tissus, d'une espèce cellulaire «sui generis», caractérisée par sa fonction respiratoire, plus encore que par sa morphologie. Bien distincte, du fait de son autonomie et de son rôle spécifique, aussi bien du tissu conjonctif que du tissu réticulo-endothélial, cette espèce est assez voisine des épithéliums de revêtement des muqueuses, et plus

encore des endothéliums des vaisseaux et des séreuses, pour qu'il soit justifié de la placer avec eux sous une même rubrique générale, sans que ce rapprochement dans un même cadre puisse toutefois aller jusqu'à imposer des limites à ses capacités particulières».

Na opinião de GUIEYSSE-PÉLISSIER existe, indubitavelmente, um epitélio pulmonar nos Mamíferos e são as células desse epitélio que reagem às irritações experimentais.

Este autor demonstrou que as células parietais dos sacos aérios das Aves se comportam, para com os corpos estranhos, de modo semelhante às células dos alvéolos pulmonares: fagocitam as gorduras e o carmim, libertam-se e formam mesmo células gigantes. E assim, diz PÉLISSIER, *«il n'est donc pas illogique de penser que, puisque des cellules épithéliales endodermiques recouvrant les bronches et les sacs aériens des Oiseaux se comportent comme nous venons de l'étudier, les cellules que l'on voit évoluer ainsi dans les alvéoles pulmonaires des Mammifères peuvent parfaitement être des cellules de même origine».*

Em resumo: POLICARD, BRATIANO e seus colaboradores defendem a hipótese da natureza histiocitária do revestimento alveolar, baseando-se no carácter essencialmente conjuntivo das reacções patológicas do tecido próprio do pulmão (POLICARD) e na possibilidade de as pequenas células granulosas exercerem, em determinadas circunstâncias, a função coloidopéxica (BRATIANO).

Pelo contrário, BARD e GUIEYSSE-PÉLISSIER defendem as ideias clássicas, fundamentando-se na existência das substâncias derivadas das células — de que as placas anucleadas do revestimento alveolar não seriam senão uma das formas (BARD) — e ainda no facto, bem demonstrado, de as células epiteliaes dos sacos aérios das Aves serem susceptíveis de reagir, às diferentes excitações experimentais, de maneira idêntica às células mesenquimatosas.

Pelo que respeita à origem das «células de poeira», é mais corrente a doutrina que admite a sua derivação à custa do revestimento alveolar. A este propósito, devo referir que o exame histológico dos pulmões dum serralheiro permitiu

a SIMÕES RAPOSO provar, de modo indiscutível, a formação das células de poeira à custa dos elementos alveolares.

WESTHUES tentou demonstrar experimentalmente esta mesma origem. Para isso procedia à perfusão pulmonar e, logo depois, injectava tinta da China, quer por via traqueal, quer pela artéria pulmonar. Retirava os pulmões do animal em experiência e conservava-os, durante meia hora, à temperatura de 37.º.

O exame histológico vinha mostrar-lhe que as células de poeira observadas no primeiro caso (injecção do suspensoide na traqueia) não podiam provir dos leucócitos sanguíneos. A segunda modalidade da experiência (injecção de negro de fumo na artéria pulmonar) permitia-lhe concluir, em virtude da ausência de floculação, que as células de poeira não se originavam à custa das células endoteliais dos capilares.

Para fazer uma idea pessoal acêrca das questões de que estou tratando, procedi ao exame histológico dos pulmões de animais injectados, por diferentes vias, com lítio-carmim, tinta da China e torotraste, e bem assim ao exame dos pulmões de coelhos a que injectei, directamente no parênquima pulmonar, pequena quantidade (0,5 a 1 c.c.) de carmim litiado. Finalmente, repeti não só as experiências de HUGUENIN, FOULON & DELARUE, mas ainda as de WESTHUES.

A seguir dou o resumo dos protocolos destas minhas novas experiências.

Obs. LI — *Cão n.º 25, ♂.*

Animal em jejum durante 24 horas; em seguida à anestesia pelo clorofórmio, coloca-se em posição quási vertical, levemente inclinado para o lado esquerdo e com a cabeça levantada, e procede-se à injecção de 20 c.c. de lítio-carmim directamente na traqueia. Mantem-se o animal na mesma atitude durante 30 minutos, ao cabo dos quais se sacrifica por meio duma injecção intravenosa de 1 c.c. de formol do comércio.

A autópsia mostra a base pulmonar esquerda muito turgesciente e corada pelo lítio-carmim. Para exame histológico colhi diversos fragmentos dos dois pulmões. Na confecção das preparações utilizei exclusi-

vamente um corante nuclear (hemateína) para maior segurança na interpretação das grânulos vermelhos encontrados.

Observação microscópica. — Ao lado de alvéolos pulmonares completamente livres de corante, notam-se outros em que o carmin se encosta às células alveolares sob a forma de toalhas difusas e de aspecto homogêneo. Os bronquíolos da vizinhança destes alvéolos contêm, do mesmo modo, corante não floculado.

Nos septos conjuntivos, nas paredes alveolares e, raramente, no interior do alvéolo, encontram-se células de núcleo e citoplasma corados homogêneamente de vermelho, dando o aspecto de pseudo-coloidopexia. Em nenhuma das células se observa a verdadeira floculação.

Obs. LII — Cão n.º 26, ♂.

Nas condições da experiência anterior injectam-se 20 c.c. de lítio-carmin na traqueia. O animal é sacrificado 90 minutos depois do final da injeção.

Autópsia: Zonas vermelhas no pulmão esquerdo, menos extensas que as observadas no animal da experiência anterior.

O *exame histológico* mostra toalhas homogêneas do corante vermelho, não floculado, nos alvéolos e nos brônquios anexos. Imagens de falsa coloidopexia muito freqüentes nas paredes alveolares e nalgumas células livres na cavidade dos alvéolos. A verdadeira floculação pode observar-se em raros histiócitos dos septos conjuntivos mais próximos das regiões que contêm carmin.

Muitos vasos sangüíneos apresentam-se congestionados e cheios de polinucleares; alguns destes saíram dos vasos por diapedese e acumulam-se junto da sua parede.

Obs. LIII — Cão n.º 27, ♂.

Sacrificado 3 horas depois da injeção intratraqueal de 20 c.c. de lítio-carmin (20-V-1932).

A autópsia mostra zonas pouco extensas de coloração vermelha na base pulmonar esquerda.

O *exame histológico* dos fragmentos colhidos nesta zona revela intensa congestão vascular e infiltração discreta de polinucleares. Os granulócitos encontram-se também no interior dalguns alvéolos, ao lado de células carregadas de poeira e de elementos volumosos, de núcleo arredondado, mas de citoplasma livre de carmin. O coloide existe em muitos alvéolos, encostado às suas células e sob a forma de pequenas granulações. Algumas delas enchem o citoplasma de certos elementos septais, mas a sua disposição reveste um aspecto histológico que faz pensar mais num transporte mecânico dos grânulos para o citoplasma do que na verdadeira floculação. Esta nota-se em histiócitos dos septos conjuntivos.

Obs. LIV -- *Cão n.º 28*, ♂.

Sob anestesia pelo clorofórmio e na posição já indicada para os animais anteriores, procede-se, em 20-V-1932, à injeccão intratraqueal de 20 c.c. de carmim litinado. Sacrificado 24 horas após o início da experiência.

À autópsia encontram-se zonas hepatizadas, mais ou menos extensas, na base pulmonar esquerda. A coloração vermelha do carmim, que parece pouco acentuada, sobrepõe-se à côr vermelha devida a intensa congestão.

O *exame histológico* revela uma quantidade considerável de polinucleares no interior dos alvéolos. Entre êstes leucócitos notam-se numerosas células arredondadas com o citoplasma crivado de grânulos vermelhos (verdadeira coloidopexia). As células das paredes alveolares estão isentas de corante que, pelo contrário, foi floculado por abundantes histiócitos dos septos conjuntivos.

Obs. LV — *Coelho n.º 131*, ♀, 1750 gr. de pêso.

Comecei por fazer a perfusão pulmonar, operando do seguinte modo: depois do animal profundamente anestesiado com uretana (1 gr. de anestésico por quilo de pêso vivo) procedi à ablação da parede costal anterior esquerda, para pôr a descoberto o pulmão respectivo e o coração. Imediatamente depois, injectei sob pressão elevada, no ventrículo direito, sôro fisiológico aquecido a 37 graus.

A forte pressão intraventricular fecha a válvula tricúspida e não deixa que o sangue passe da aurícula para o ventrículo, mas ocasiona a paragem do coração. Dêste modo, pela artéria pulmonar escoo-se apenas o líquido injectado, que rapidamente torna os pulmões muito claros, em virtude da passagem do sangue, nêles contido, para a aurícula esquerda.

Terminei a lavagem quando o sôro fisiológico chegou a esta aurícula perfeitamente límpido.

Nos pulmões assim preparados injectei, por via traqueal e directamente no parênquima, alguns décimos de c.c. de tinta da China a 3 p. 100. Retirei, em seguida, da caixa torácica, os pulmões e o coração, e mergulhei-os, durante 30 minutos, em sôro fisiológico aquecido a 37 graus.

O *exame histológico* de diversos fragmentos mostra que a tinta da China se encontra no interior dos alvéolos sob a forma de grânulos muito irregulares. Ausência completa de glóbulos rubros e de leucócitos nos vasos, o que mostra que a lavagem pulmonar foi perfeita. No interior dos alvéolos vizinhos daquêles que contêm o suspensóide em grande quantidade encontram-se células volumosas carregadas de grânulos negros.

Obs. LVI — *Coelho n.º 163*, ♀, 1700 gr. de pêso.

Perfusão pulmonar e injeccão de tinta da China, como na experiência anterior (7-III-1934).

O *exame histológico* de zonas extensas do parênquima pulmonar mostra também a existência de células livres no interior dos alvéolos e carregadas de grãos negros.

Os elementos com êste aspecto morfológico encontram-se sempre na vizinhança dos alvéolos que contêm tinta da China.

Obs. LVII — *Coelho n.º 201*, ♀, 1500 gr. de pêso.

Perfusão pulmonar e injeccão de tinta da China, como precedentemente (1); durante a perfusão, respiração artificial por meio dum fole ligado a uma cânula metálica introduzida na traqueia.

Ao *exame histológico* das zonas pulmonares onde se notava macroscopicamente a coloração negra de tinta da China, reconhecem-se, na cavidade dalguns alvéolos, células de poeira com grânulos negros. Estas células observam-se sempre em redor de grandes aglomerados daquêlê suspensoide.

Obs. LVIII — *Coelho n.º 7*, ♀, 900 gr. de pêso.

Após a perfusão pulmonar, injecta-se, pela artéria pulmonar, tinta da China diluída a 3 p. 100. O órgão conserva-se, em seguida e durante 30 minutos, mergulhado em sôro fisiológico aquecido a 37 graus.

A *observação microscópica* mostra imediatamente que, devido à ruptura dos capilares, a tinta da China penetrou no interior dalguns alvéolos. Todos os capilares, e até os vasos de certo calibre, contêm grande quantidade de negro de fumo, sob a forma de grânulos muito irregulares. Não se encontram aspectos morfológicos que lembrem a coloidopexia, nem nas células endoteliais dos capilares nem mesmo nos histiócitos dos septos conjuntivos. Alguns dos alvéolos invadidos pela tinta da China possuem, livres na cavidade, células com carvão.

Obs. LIX — *Coelho n.º 40*, ♀, 2070 gr. de pêso.

Em 31-XII-1934, 4 horas antes de ser sacrificado, injectam-se 0,5 c.c. de lítio-carmim em pleno parênquima pulmonar.

À autópsia reconhecem-se zonas extensas de coloração vermelha no parênquima do pulmão esquerdo.

Ao *exame microscópico*: ruptura da maioria dos alvéolos destas zonas, derrame sangüíneo abundante, depósito de carmim não floclado e ausência completa de células carminófilas.

(1) Experiência feita, como trabalho prático de Anatomia patológica, pelos então alunos do 3.º ano Srs. GUILHERME HARBERTS e LOUREIRO DIAS.

Obs. LX — *Coelho n.º 39*, ♀, 2175 gr. de peso.

Injecção intrapulmonar de 0,5 c.c. de lítio-carmim, 5 horas antes de ser sacrificado (31-XII-1932). Êste animal tinha sido injectado, de 28 a 31-XII-1932, com 4 doses de carmim.

O *exame histológico* de fragmentos colhidos nas zonas avermelhadas pelo corante e circunvizinhas não mostra maior número de células carminófilas do que o observado nas regiões pulmonares não atingidas pela injecção parenquimatosa.

Obs. LXI — *Coelho n.º 38*, ♀, 1180 gr. de peso.

5 horas antes de ser sacrificado injectam-se no pulmão direito 0,5 c.c. de carmim litinado (3-I-1933).

À autópsia, o parênquima do pulmão direito tem a côr normal. No tecido celular do mediastino anterior a coloração vermelha é bem aparente.

O *exame histológico* dos pulmões revela a existência de raras células carminófilas nos septos conjuntivos, em quantidade igual às que se observaram noutros animais que receberam o mesmo número de doses de carmim.

Obs. LXII — *Coelho n.º 41*, ♀, 500 gr. de peso.

Injecção de 0,5 c.c. de carmim litinado em pleno parênquima pulmonar. Morte em 17-I-1933, 6 horas depois da injecção. Êste animal tinha recebido, de 11 a 17-I-1933, 5 doses do mesmo corante por via intravenosa.

O *exame histológico* de fragmentos colhidos em zonas coradas de vermelho pelo carmim mostra: ruptura da maior parte dos alvéolos pulmonares, intensa congestão, infiltração discreta de polinucleares, células coradas difusamente de vermelho, porções de corante não floculado e numerosos histiócitos dos septos conjuntivos com granulações vermelhas.

Obs. LXIII — *Coelho n.º 43*, ♀, 2200 gr. de peso.

15 minutos antes de ser sacrificado recebe uma injecção de 1 c.c. de lítio-carmim no parênquima pulmonar (1-III-1933). Êste animal foi injectado, de 22 a 27-II-1933, com 4 doses do mesmo corante por via intravenosa.

O *exame histológico* de fragmentos do pulmão não revela a existência de células carminófilas. A zona do parênquima injectada directamente apresenta a estrutura alterada, em consequência da ruptura dos alvéolos pulmonares.

Obs. LXIV — *Coelho n.º 42*, ♀, 1200 gr. de peso.

De 11 a 17-I-1933 injectam-se, por via intravenosa, 5 doses de car-

mim litinado. 15 horas antes da morte introduz-se 1 c.c. do mesmo corante no pulmão direito.

Ao *exame histológico* deste órgão vêem-se numerosos alvéolos cheios de polinucleares. Por entre os leucócitos observam-se, embora raramente, células de carmim. Nos septos conjuntivos da vizinhança dos alvéolos mencionados encontram-se células carminófilas em número maior que no órgão do lado oposto.

Além das 14 experiências que acabo de relatar, procedi ao exame histológico dos pulmões de 21 animais (12 injectados com lítio-carmim, 10 com torotraste e 1 com tinta da China) dos 50 cujos protocolos estão registados no Capítulo II.

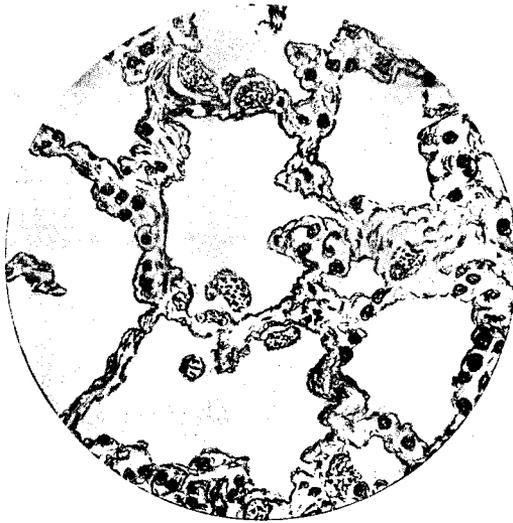
As minhas experiências, destituídas de carácter original e realizadas, por vezes, em condições deficientes (perfusão pulmonar), não me permitem trazer novos argumentos para a resolução dos problemas apontados. Todavia, em determinadas observações, registam-se factos que, por sua evidência, me parecem dignos de menção.

Nos animais em que injectei o lítio-carmim por via intravenosa ou intraperitoneal verifica-se, em primeiro lugar, que o corante não floculou nos pulmões de 7 coelhos (Obs. I, IV, VIII, XII, XV, XXI e XXII); nos 5 restantes (Obs. IX, X, XVI, XVII, e XXVI) as células dotadas de capacidade coloidopéxica, sempre em número muito restrito, ocupavam os septos conjuntivos do órgão. As células do revestimento dos alvéolos pulmonares mostraram-se constantemente isentas deste corante coloidal.

No pulmão do animal da Obs. XVI, embora tivesse procedido à injeção de corante na cavidade pleural, o número de células com função histiocitária era, do mesmo modo, muito limitado. Encontravam-se histiócitos abundantes apenas na serosa e no tecido conjuntivo subjacente.

Nos 10 animais injectados com torotraste, a floculação deste coloide observou-se, em todos os casos (Obs. XXXI, XXXIV, XXXV, XXXVII, XXXVIII, XXXIX, XL, XLI, XLVI e XLVII) em células dos septos conjuntivos do pulmão. Nos animais correspondentes às Obs. XXXIV, XXXVIII, XLVI e XLVII, a coloidopexia manifestava-se também em elementos

das paredes dos alvéolos e em células livres na sua cavidade. Nêstes 4 casos pude verificar, com tōda a evidência, que os histiócitos dos septos conjuntivos caminham para a parede dos alvéolos e aí se conservam algum tempo para, em seguida, se libertarem e caírem na cavidade alveolar, onde se apresentam com o aspecto morfológico das chamadas «células de poeira» (Fig. 14). Êste facto é inteiramente confirmado pelo exame microscópico dos pulmões do animal da Obs. XLIX, injectado com tinta da China.



(Desenho de R. PORTELA)

Fig. 14 — *Pulmão de coelho injectado com torotraste* (Obs. xxxiv)

Histiócitos dos septos conjuntivos e «células de poeira» com grânulos de tório.

Mostram estas 21 observações que não consegui obter, com o lítio-carmim, o torotraste e a tinta da China injectados pelas vias intravenosa, intraperitoneal e intrapleural, a impregnação das pequenas células granulosas dos alvéolos pulmonares. Os três coloides flocluram apenas em histiócitos dos septos conjuntivos.

As injeções intraparenquimatosas de carmin litinado (Obs. LIX a LXIV) determinavam a ruptura dos capilares e o derramamento de sangue, a que se seguia uma reacção inflamatória cuja intensidade estava relacionada com a sobrevivência do animal.

O corante, rapidamente absorvido, não floculava em quaisquer células e apenas corava difusamente elementos mortos. No animal da Obs. LXIV, com sobrevivência de 15 horas à injeção intrapulmonar, notavam-se, na vizinhança do foco inflamatório determinado pelo corante, histiócitos localizados nos septos conjuntivos, ou livres na cavidade alveolar, e com as finas granulações vermelhas da verdadeira coloidopexia. Nem mesmo neste coelho as células do revestimento alveolar se mostraram dotadas de função histiocitária.

As Obs. LI, LII, LIII e LIV não me permitem confirmar as conclusões de HUGUENIN, FOULON & DELARUE, no que respeita à possibilidade da coloração vital das células dos septos alveolares. Nos pulmões destes animais encontrei a verdadeira floclação em células livres nos alvéolos («células de poeira») e em elementos dos septos conjuntivos, mas não observei imagens intermediárias entre tais elementos e as células do revestimento alveolar.

Não me é permitido aproveitar o resultado das experiências a que procedi nos animais das Obs. LV, LVI, LVII e LVIII, não só porque a lavagem pulmonar, dadas as deficientes condições em que a efectuei, deve ter sido incompleta, mas também porque os pulmões retirados do animal, embora mergulhados logo depois em sôro fisiológico aquecido a 37 graus, morrem rapidamente.

Para bem alicerçar conclusões definitivas indispensável se tornaria repetir as experiências em animais mantidos em respiração artificial, por meio de aparelhos apropriados, durante a perfusão dum dos pulmões e pelo tempo julgado necessário para as suas células realizarem a fixação do coloide injectado.

A técnica da perfusão pulmonar a que tive de recorrer, por não dispor, no Laboratório de Anatomia patológica, da

aparelhagem própria, dá resultados muito insuficientes. Se a lavagem é rápida (0,5 a 1 minuto), fica incompleta; se se prolonga por mais tempo, em virtude da pressão com que o sôro fisiológico tem de ser injectado, dá-se a ruptura dos pequenos capilares e a entrada do líquido nos alvéolos, que se distendem e rompem, alterando-se completamente a estrutura do órgão.

Dos resultados das minhas experiências apenas posso concluir que as células do revestimento alveolar não manifestam a propriedade coloidopéxica e que as «células de poeira» podem provir dos histiócitos dos septos conjuntivos do pulmão. Dêste modo, o sistema retículo-endotelial local do pulmão — a admitir-se a sua existência — seria constituído exclusivamente pelos histiócitos do tecido conjuntivo que êste órgão, como qualquer outro, possui.

ENCÉFALO

RAMON Y CAJAL, nas suas descrições da estrutura dos centros nervosos, refere-se a umas células de natureza especial, possivelmente de origem mesodérmica e que, embora semelhantes aos elementos nevróglícos, dêles diferem, todavia, pela ausência de prolongamentos citoplásmicos. A estas células atribui-se, mais tarde, a designação de *terceiro elemento de CAJAL*.

Servindo-se do seu método de impregnação metálica pela prata amoniacal, verifica RIO HORTEGA que aquêle terceiro elemento de CAJAL compreende dois grupos bem distintos de células: umas, semelhantes às da nevrógliã, possuem prolongamentos protoplásmicos curtos e pouco numerosos; outras são dotadas de prolongamentos citoplásmicos ramificados e com espinhos. Para o primeiro grupo propõe o nome de *oligodendróglia* e reserva para o segundo a denominação de *micróglia*.

Na concepção dêste autor, nevrógliã e micróglia diferem uma da outra nos seus aspectos morfológico, embriológico e fisiológico. Considerando a micróglia derivada da pia-mater e,

portanto, de origem mesenquimatosa, atribui à nevrógliã natureza ectodérmica ao afirmar a sua proveniência do neuro-epitélio que reveste o canal medular primitivo.

Os elementos que constituem a micróglia, essencialmente plásticos e em constante evolução, desempenhariam funções de absorção, transporte e eliminação de produtos desassimilados ou desintegrados, ao passo que as células, relativamente fixas, da nevrógliã competiria simples papel de suporte.

A propósito, devo referir que NAGEOTTE descreve êstes últimos elementos como uma glândula intersticial de secreção interna anexa ao sistema nervoso. Contemporaneamente a NAGEOTTE e sem conhecer os seus trabalhos, MAWAS afirma que as células nevróglícas apresentam os caracteres da actual sinalética citológica secretória e que formam uma vasta glândula difusa em todo o sistema nervoso, comparável à constituída pelas células novas ragiócrinas no seio do tecido conjuntivo.

ROUSSY, LHERMITTE & OBERLING consideram tanto a nevrógliã como a micróglia de origem ectodérmica e uma e outra dotadas de funções secretórias, de suporte e de nutrição. Dêste modo, a escola unicista de ROUSSY opõe-se às ideas dualistas de HORTEGA e seus discípulos, para quem, como disse, a nevrógliã seria de origem ectodérmica e de natureza mesenquimatosa a micróglia, a que atribuem mesmo as funções do sistema retículo-endotelial.

JIMÉNEZ DE ASUA, discípulo de HORTEGA, compara as células microgliais às células de KUPFFER do figado e aos macrófagos dos tecidos. Se a identidade não é completa, ajunta, isso deve-se ao facto de as células histiocitárias dos centros nervosos experimentarem uma diferenciação mais acentuada que os histiócitos dos restantes órgãos.

O conceito da natureza retículo-endotelial da micróglia, estabelecido pela escola de HORTEGA, suscitou, da parte de numerosos autores, múltiplas investigações, que conduziram a resultados discordantes.

CAVALLARO confirma as ideas dos autores espanhóis e, como PIANESE, entende que se devem englobar no S. R. E. as

células em questão. Descreve ainda, no cerebelo, elementos de origem mesodérmica dotados de propriedades fagocitárias. À mesma conclusão chega KUBIE, que neste mesmo órgão nota a existência de clasmatócitos capazes de proliferação activa, em condições normais e patológicas.

Segundo OLMÍ, os centros nervosos podem reter os corantes coloidais injectados nas veias, do mesmo modo que os introduzidos no peritoneu ou no tecido celular subcutâneo. Embora confirme este facto, RUSSEL verifica que a floculação apenas é exercida pela micróglia activa e não pelas células em repouso.

Nos focos inflamatórios dos centros nervosos de cobaias novas injectadas com azul do Tripan, REVELLO encontra células carregadas de grãos azuis, mas não se pronuncia sobre a sua origem e natureza.

RAMIREZ CORRIA não consegue, em condições normais, a impregnação da micróglia pelos corantes electro-negativos; todavia, em seguida às feridas assépticas do cérebro, nota a possibilidade de floculação desses coloides nas células microgliais que a reacção inflamatória fez regressar ao estado embrionário.

No decurso de estudos encefalográficos com o torotraste, verificaram RADOVICI, BAZGAN & MELLER que este metal se deposita, em grande parte, nos espaços subaracnoideus, onde persiste muito tempo, e pode também fixar-se em redor dos vasos que penetram no córtex cerebral.

Em desacôrdo com as opiniões apontadas regista-se, em trabalhos de ZAND, BRATIANO, WOOLLARD e METZ & SPATZ, a falta de fixação dos coloides pelas células microgliais. JILÉNEZ DE ASUA explica este facto pela impossibilidade de os corantes vitais atravessarem a barreira hémato-encefálica protectora dos centros nervosos (tela e plexos coroideus, tecido subependimário e endotélios vasculares) e cuja ruptura constitui condição indispensável à manifestação da propriedade coloidopéxica da micróglia.

De facto, ZAND demonstrou que *«la barrière protectrice qui est représentée par les méninges molles peut être franchie par le colorant vital lorsqu'elle est lésée par un agent mécanique*

ou biologique tel que microbe provoquant l'inflammation des méninges», mas não verifica, mesmo nas condições referidas, o exercício da função histiocitária por parte da micróglia, ao passo que esta função se revela nos histiócitos das meninges e da adventícia. Esta opinião é defendida também por GOZZANO.

BRATIANO e seus colaboradores, baseados em experiências numerosas feitas em animais normais ou com variados processos mórbidos do encéfalo, admitem a existência dum sistema retículo-endotelial local dos centros nervosos formado por histiócitos das meninges e dos plexos coróides.

Reconhecendo, embora, à micróglia propriedades fagocitárias e natureza mesodérmica, não lhe atribuem funções histiocitárias, dada a circunstância de não fixar os corantes coloidais. Em caso de feridas assépticas do encéfalo, a fagocitose exercida sobre detritos celulares previamente corados pelo corante coloidal e ainda a coloração difusa de células mortas ou degeneradas fornecem imagens de falsa coloidopexia, que alguns autores — diz BRATIANO — interpretaram como verdadeira floculação.

Para poder pronunciar-me sobre este ponto em debate, procedi ao exame microscópico dos centros nervosos de 20 animais dos 50 mencionados no segundo capítulo deste trabalho e fiz as 4 experiências de que a seguir apresento os respectivos protocolos.

Obs. LXV — *Coelho n.º 34, ♀, 1560 gr. de peso.*

Em 30-XI-1932 pratico a trepanação da calote craniana e, em seguida, cauterizo uma zona muito limitada da massa encefálica com uma fina vareta de vidro aquecida ao rubro. O animal suporta perfeitamente a destruição nervosa e não apresenta, saído do sono anestésico, qualquer perturbação da motricidade. Pouco depois, introduzo por via intravenosa uma dose de carmim litinado. As injeções do coloide continuam-se nos dias imediatos até ao total de 6 doses. O animal sacrifica-se em 7-XII-1932, 15 minutos depois da última injeção.

A autópsia do crânio mostra as meninges destruídas junto dos lobos frontais e a existência, na parte anterior do hemisfério direito, dum zona necrosada corada intensamente de vermelho e da qual se isola facilmente uma pequena porção com a forma dum cone de base correspondente à superfície do hemisfério.

Para exame histológico colhi, além do cone de tecido necrosado que se destacara, fragmentos do lobo frontal da região traumatizada, e bem assim diversos fragmentos do cérebro, cerebello e medula.

Como agentes fixadores servi-me do líquido de BOUIN, para preparações a corar pelos métodos correntes da técnica histológica, e do formol-brometo de amónio com o fim de obter preparações coradas pelo método de RIO HORTEGA para a impregnação da micróglia.

Exame histológico.— As preparações coradas simplesmente pela hemateína apresentam caracteres diferentes consoante as zonas examinadas. Assim, o pequeno nódulo que se destacara da região cauterizada mostra-se constituído por tecido totalmente necrosado onde se notam numerosos detritos celulares corados de vermelho pálido. Não há células carminófilas.

Nas zonas vizinhas do foco inflamatório vêem-se células de núcleo bem corado, semelhante ao dos linfócitos, e de citoplasma abundante e com granulações volumosas coradas de vermelho (falsa coloidopexia). Frequentemente, observam-se células nervosas tingidas difusamente de vermelho claro.

Não se encontram quaisquer elementos dotados de capacidade coloidopéxica.

Os restantes pontos dos centros nervosos examinados ao microscópio têm estrutura normal e são desprovidos de células carminófilas.

As preparações impregnadas pelo método de RIO HORTEGA e relativas às zonas vizinhas do foco inflamatório revelam a existência de células microgliais hipertrofiadas, com prolongamentos menos numerosos, menos ramificados e com mais raros espinhos que os da micróglia normal. A base de implantação dos prolongamentos é também mais espessa que normalmente.

Obs. LXVI — *Coelho n.º 36, ♀, 1600 gr. de peso.*

Sem anestesia pratiquei a trepanação da calote craniana na zona interorbitária e cauterizei a massa encefálica com a ponta fina do galvanocautério. O animal, que suporta sem inconveniente a intervenção cirúrgica e a destruição da parte anterior do lobo frontal esquerdo, recebe, em dias sucessivos, 6 doses de lítio-carmim e é sacrificado 15 minutos depois da última injeccção (12-XII-1932).

Autópsia: coloração vermelha intensa da zona traumatizada.

Ao *exame histológico* de preparações coradas pela hemateína, vêem-se numerosas células que fagocitaram detritos celulares corados pelo carmin. Não se observa verdadeira flocculação.

Pelo método de RIO HORTEGA impregnaram-se, na vizinhança das regiões destruídas, células da micróglia, que se apresentam hipertrofiadas e com raros prolongamentos citoplásmicos.

Obs. LXVII — *Coelho n.º 35, ♂, 1980 gr. de pêso.*

Em 23-XI-1932, após a trepanação da calote craniana, inoculei o vírus fixo da raiva em plena massa encefálica (1). Em 25 e 28-XI injectei, por via intravenosa, 2 doses de carmim litinado. O coelho morre raivoso precisamente 8 dias depois da inoculação.

Autópsia. Meninges e centros nervosos intensamente congestionados. Fino pontuado hemorrágico na massa encefálica.

O *exame histológico* mostra congestão acentuada da grande maioria dos vasos e focos inflamatórios irregularmente dispersos.

Células microgliais muito abundantes em certas zonas, umas de aspecto normal (numerosos prolongamentos finos e muito ramificados), outras hipertrofiadas.

Não se observam células carminófilas no seio da massa encefálica, nem mesmo na adventícia dos seus vasos.

Obs. LXVIII — *Coelho n.º 37, ♂, 2000 gr. de pêso.*

Inoculação intracerebral do vírus fixo da raiva em 5-XII-1932. No espaço de tempo decorrido de 5 a 11-XI ministram-se 6 doses de carmim litinado por via intravenosa. Morte em 13-XI, 8 dias depois da inoculação da raiva.

Autópsia: congestão acentuada das meninges e centros nervosos.

Ao *exame microscópico*, praticado em zonas muito variadas do cérebro, cerebello, bolbo e medula espinal, notam-se focos extensos de infiltração parvicelular e intensa congestão de todos os vasos.

Não se encontram células carminófilas em nenhum dos pontos examinados.

As preparações impregnadas pela prata deixam ver numerosos elementos da micróglia com as alterações apontadas na observação anterior.

O exame histológico dos centros nervosos de 20 coelhos normais injectados com carmim litinado ou com torotraste e cujos protocolos se resumiram no capítulo anterior (Obs. I, III, IV, VI, VIII, X, XII, XIII, XV, XXII, XXIV, XXXI, XXXII, XXXIV, XXXV, XXXVII, XXXVIII, XLI, LIV e XLV) permite-me afirmar, com tóda a segurança, que, pelo menos no Coelho, não existem, neste departamento do organismo, células com actividade coloidopéxica.

(1) Ao Senhor Dr. CARTEADO MÊNA, Director do Instituto Pasteur do Pórtto, aqui renovo os meus agradecimentos pelos conselhos que me deu para a inoculação do vírus da raiva e pelo cuidado da própria vacinação anti-rábica a que me submeteu previamente.

Nas duas experiências (Obs. LXVII e LXVIII) em que se fizeram injeções do corante vermelho no decorrer da evolução da raiva (vírus fixo), também a ausência de células carminófilas era completa.

Nos animais em que procedi à cauterização do encéfalo (Obs. LXV e LXVI) — rompendo, assim, a barreira hêmatoencefálica a que já fiz referência — e aos quais injectei o carmin litinado, pude verificar, sem sombra de dúvida, que a verdadeira floculação não se dera em quaisquer células, tanto da vizinhança dos focos inflamatórios como das regiões normais. É certo que apareciam, freqüentemente, elementos carregados de corpúsculos corados, porém, a sua morfologia irregular, as suas dimensões relativamente grandes e a fraca intensidade de coloração mostram que se trata de simples fenómenos de fagocitose e não de verdadeira coloidopexia.

Dada a presença destas células nas zonas em que, pelo método de HORTÉGA, se impregnam numerosos elementos da micróglia com morfologia diferente da normal, pode pensar-se que as células da micróglia se mobilizaram para o foco inflamatório e aí fagocitaram detritos celulares previamente corados de vermelho.

Segundo o resultado das minhas pesquisas sou, pois, levado a concluir que as células da micróglia não realizam a floculação dos coloides; podem, é certo, estes elementos apresentar, como consequência da fagocitose de corpúsculos corados, o citoplasma carregado de grânulos vermelhos, mas estes distinguem-se bem, como já disse, dos finos grânulos da verdadeira coloidopexia.

Dêste modo, posso confirmar inteiramente as conclusões dos autores que não incluem as células da micróglia no vasto quadro do sistema retículo-endotelial.

OVÁRIO

O exame histológico das vísceras dos animais utilizados nas minhas primeiras experiências para o estudo do sistema reticulo-endotelial veio mostrar-me a existência, no ovário,

de células activamente carminófilas, aparentemente distribuídas de modo irregular e em tal quantidade que o facto imediatamente me prendeu a atenção.

Na literatura que pude consultar encontrei referência à presença de células de função histiocitária no tecido conjuntivo do estroma daquêle órgão ou na adventícia dos seus vasos, mas delas se não faz menção especial. Todavia, em 1925, PUCCINELLI observa, por entre as células intersticiais do ovário, «*alcuni elementi che nei preparati all'ematosilina-eosina non si differenziano dalle comuni cellule luteiniche interstiziali ma se ne distinguono perchè adoperando la reazione del ferro, dimostrano contenere granuli di ferro*». Pela sua função característica da elaboração do ferro, o autor considera estas células como pertencentes ao S. R. E.

Utilizando o azul de pirrol para o estudo da gênese e funções das células intersticiais e luteínicas do ovário, MATTEO TESTA descreve, na teca externa de folículos primordiais e na parte central de folículos atréticos, algumas células carregadas de grânulos azuis. Deve notar-se que o autor é levado a tirar determinadas conclusões que me parecem pouco fundamentadas, talvez pelo desconhecimento do erro lipídico corante, a que não alude, embora se apresente bem saliente nas gravuras anexas ao seu trabalho. Mas, no que respeita à interpretação das células coradas dos folículos atréticos, acertadamente menciona a sua natureza mesenquimatosa e lhes atribui a propriedade de remover, por fagocitose, os detritos provenientes da destruição dos elementos germinais.

BOUIN, no seu Tratado de Histologia, informa que BRATTIANO & LLOMBART descreveram células de propriedade coloidopéxica em folículos atréticos do ovário. Confesso não ter encontrado a nota referida por BOUIN, não obstante a leitura, que fiz, da grande maioria, senão de todos, os trabalhos que estes autores publicaram sobre o S. R. E.

As células em questão observam-se apenas em determinados períodos do ciclo evolutivo do ovário e, ao que parece, estão em relação, pelo menos no que toca ao seu número e capacidade coloidopéxica, com o período da atresia do folículo.

Para estudar convenientemente a natureza e as condições que regulam o aparecimento e a distribuição das células de função histiocitária do ovário, procedi ao exame histológico dos ovários de 33 animais: 19 injectados com lítio-carmim e 14 com torotraste.

Destas 33 observações, 22 mencionam-se no capítulo anterior (Obs. III, IV, VI, VIII, IX, XI, XII, XIII, XVII, XXII, XXIV, XXXI, XXXII, XXXIV, XXXV, XXXVI, XXXVII, XXXVIII, XXXIX, XL, XLII e XLIII); das 11 restantes apresento em seguida os respectivos protocolos.

Ob. LXIX — *Coelho n.º 15, ♀, 2000 gr. de pêso.*

Em 4, 5, 6 e 9-V-1932 procedi à injeccção de 4 doses de carmim litinado por via intravenosa e sacrifiquei o animal no dia imediato ao da última injeccção.

Exame histológico. — Ovário do tipo atrético-intersticial com numerosos folículos em atresia e corpos amarelos atréticos autónomos.

Células com grânulos de carmim encontram-se na adventícia dalguns vasos, nos septos conjuntivos da glândula intersticial e nos folículos atréticos no período post-cromatolítico. Os histiócitos do tecido conjuntivo apresentam pequenas granulações nas extremidades do citoplasma ou a rodear o núcleo. Os elementos cromófilos da zona central dos folículos atréticos possuem, em redor do núcleo, granulações de carmim muito numerosas e regulares, mas de dimensões um pouco maiores que as observadas nas células do estroma do órgão.

Nos folículos em atresia muito avançada, com a parte central já constituída por tecido conjuntivo denso e a zona periférica quasi integrada na glândula intersticial, o carmim falta por completo. O mesmo facto verifica-se ainda em folículos no período post-cromatolítico cujo aspecto morfológico não difere daqueles que contêm o coloide.

Em certos corpos amarelos atréticos autónomos, em que a proliferação conjuntiva vai assaz adiantada, notam-se células de carmim em pequeno número e muito esparsas.

Obs. LXX — *Coelho n.º 36, ♀, 1600 gr. de pêso.*

Injeccção de 6 doses de carmim litinado (5 por via intravenosa e 1 por via intraperitoneal). Sacrificado em 12-XII-1932, 15 minutos depois da última injeccção.

Exame microscópico. — Ovário do tipo intersticial com células de actividade coloidopéxica nos septos conjuntivos da glândula intersticial, no

tecido conjuntivo subepitelial e em numerosos capilares da zona central do órgão.

Os folículos atréticos no período post-cromatolítico apresentam-se com dois aspectos bem distintos: uns, muito pequenos, com células centrais numerosas, redondas e aglomeradas; outros, de volume maior, com a parte central constituída por detritos do ovócito rodeados de células volumosas, citoplasma abundante e zona periférica em franca evolução luteínica. Os primeiros são isentos de coloide e alguns dos segundos contêm-no nos elementos centrais. A maioria destes últimos apresenta numerosas células carregadas de granulações.

Obs. LXXI — *Coelho n.º 34*, ♀, 1560 gr. de peso.

Nas veias deste animal injectei 6 doses de carmim litinado no período de tempo decorrido de 30-XI a 7-XII-1932 e sacrifiquei-o 15 minutos depois da última injeccção.

Exame histológico. — Ovário do tipo atrético intersticial com cordões espessos de tecido conjuntivo a septar a glândula intersticial. Nêstes cordões observam-se numerosos folículos atréticos de pequenas dimensões, muito juntos e constituídos por células centrais carminófilas e por células periféricas pequenas, fusiformes e hiper cromáticas.

Num folículo atrético de grandes dimensões verifica-se que as células carregadas de coloide se encontram na adventícia de pequenos capilares sangüíneos da zona central.

Nos folículos atréticos do período cromatolítico, mas com a membrana de SLAVSJANSKY íntegra, não se vê carmim, ao passo que este corante se encontra naquêles folículos em que há ruptura da membrana.

Em cortes seriados pude verificar que dos septos conjuntivos se destacam células de carmim, as quais caminham para o folículo atrético e nêle penetram por uma zona limitada, em que a membrana de SLAVSJANSKY está destruída.

Obs. LXXII — *Coelho n.º 31*, ♀, 750 gr. de peso.

Injecção, por via intravenosa, de 3 doses de carmim em 16, 17 e 18-XI-1933. Sacrificado em seguida à última injeccção.

Exame histológico. — Ovário do tipo folicular pobre de glândula intersticial e com raros folículos atréticos. Células de função histiocitária nos septos conjuntivos do órgão, no tecido conjuntivo subepitelial, no endotélio e na adventícia vasculares.

Os raros folículos do período post-cromatolítico possuem células conjuntivas centrais carregadas de grãos castanhos de pigmento hemático, mas isentas de corante.

Folículos no período cromatolítico com numerosos detritos celulares corados pelo carmim, uns dispersos pelos interstícios das células que

rodeiam o magma folicular, outros no citoplasma de elementos dotados de propriedades fagocitárias (falsa coloidopexia — êrro post-vital).

Obs. LXXIII — *Coelho n.º 41*, ♀, 35 dias de idade, 500 gr. de pêso.

Injecção de 5 doses de carmim litinado, de 11 a 17-I-1933. Sacrificado 6 horas depois da última injecção.

Exame histológico. — Ovários, muito pequenos, do tipo ovigéneo.

Em 650 preparações examinadas encontrei três células de carmim: duas no tecido conjuntivo subepitelial e uma no tecido conjuntivo perifolicular.

Nalguns cortes encontram-se, anexos, fragmentos do ligamento tubo-ovário, onde as células carregadas de grãos vermelhos são freqüentes. Endotélio e células adventíciais desprovidas de coloide.

Obs. LXXIV — *Coelho n.º 48*, ♀, 2000 gr. de pêso.

De 1 a 8-III-1933 injectei 5 doses de lítio-carmim por via intravenosa; 10 minutos depois da última injecção procedi à ovariectomia unilateral. A coelha é sacrificada 8 dias após a intervenção cirúrgica.

Exame histológico. — Ambos os ovários, do tipo intersticial difuso, apresentam a mesma estrutura e número sensivelmente igual de células carminófilas, todavia, só o ovário extirpado cirúrgicamente tem corados os endotélios dos capilares.

Pequeno número de folículos em via de crescimento ou em atresia. Dêstes ultimos, uns apresentam numerosas células com grânulos vermelhos, outros dêles são desprovidos, embora aparentemente não haja diferença na sua estrutura. Verifica-se, porém, que a floculação é mais abundante nos folículos de estado evolutivo mais avançado. No ciclo atretico-intersticial, quando o magma folicular está substituído por tecido conjuntivo e as células periféricas se acham em plena evolução luteínica, os elementos carminófilos são pouco abundantes e esparsos.

Nos folículos atreticos que não possuem o coloide injectado não se encontram elementos com pigmento hemático.

Obs. LXXV — *Coelho n.º 32*, ♀, 1660 gr. de pêso.

Pincelado com alcatrão (face interna das orelhas) durante dois meses. Na véspera da morte espontânea (21-XI-1932) injectam-se 2 doses de lítio-carmim.

O *exame histológico* dos ovários (tipo atretico-intersticial) não revela a existência de carmim floculado, tanto nos histiócitos do estroma como nas células centrais dos folículos em atresia. Em alguns dêstes aparecem corpúsculos ou grânulos de côr amarelada, ou mesmo negra, que revestem o aspecto da floculação da tinta da China. Trata-se, provà-

velmente, de partículas do alcatrão que serviu para a pincelagem das orelhas.

Obs. LXXVI — *Coelho n.º 45, ♀, 2430 gr. de pêso.*

Este coelho é pincelado com alcatrão (face interna das orelhas) durante muito tempo, o que motiva o aparecimento de numerosos tumores nas zonas alcatroadas. No decorrer d'êste tratamento procedi à ovariectomia unilateral (23-II-1933) e injectei, nos dias seguintes, 3 doses de carmim litinado por via intravenosa. Em 4-III-1933 ovariectomizo de novo o animal.

Exame histológico. — O ovário colhido na primeira intervenção cirúrgica divide-se em duas partes: uma é cortada no micrótomo de congelação, a outra incluída em parafina. As preparações obtidas por qualquer dos métodos e examinadas com ou sem coloração histológica não mostram granulações de alcatrão.

O segundo ovário, do tipo atrético-intersticial e rico de folículos atréticos, apresenta, em alguns dêles, células carminófilas ou elementos carregados de grânulos negros que lembram as partículas do carvão do alcatrão.

Nos septos conjuntivos da glândula intersticial não há carmim.

Obs. LXXVII — *Coelho n.º 51, ♀, 1720 gr. de pêso.*

De 12 a 21-XII-1933 injectam-se, por vias intravenosa e intraperitoneal, 12 c.c. de torotraste e sacrifica-se o animal 24 horas depois da última injeccção.

Exame histológico. — Ovário do tipo atrético-intersticial com numerosos folículos em atresia post-cromatolítica. O torotraste deposita-se abundantemente nas células centrais dêstes folículos, em elementos da teca de folículos adultos, nos septos conjuntivos da glândula intersticial e até no tecido conjuntivo subepitelial.

O metal aparece sob a forma de grânulos irregulares, às vezes muito volumosos e em grande quantidade a rodear totalmente o núcleo, que mal se percebe nalguns elementos.

Ao lado de folículos com grande quantidade de coloide encontram-se outros cujas células não o floclaram, embora o período evolutivo, as dimensões e o aspecto morfológico sejam idênticos.

Obs. LXXVIII — *Coelho n.º 78, ♀, 800 gr. de pêso.*

Injectado com 12 c.c. de torotraste (de 28-II a 3-III-1934) e sacrificado 4 horas depois da última injeccção.

Exame histológico. — Ovário do tipo folicular com raros folículos atréticos no período cromatolítico e isentos de torotraste. O coloide obser-

va-se em raros histiócitos dos septos conjuntivos e da teca dalguns folículos primordiais.

Obs. LXXIX — *Coelho n.º 79, ♀, 1900 gr. de pêso.*

De 19-IV a 5-V injectam-se 17,5 c.c. de torotraste pelas vias intravenosa e intraperitoneal. Sacrificado 9 meses depois da última injeção.

Observação histológica. — Ovário do tipo intersticial com numerosos folículos adultos e em atresia post-cromatolítica. O coloide encontra-se nos septos conjuntivos da glândula, na teca de muitos folículos adultos e na zona central de folículos atréticos.

Nesta observação há a assinalar, de particular, a existência de grânulos de torotraste, volumosos e muito irregulares, em certas zonas da glândula intersticial. Os grânulos, abundantes, mas esparsos, aparecem nos interstícios das células luteínicas.

Os ovários das 19 coelhas injectadas com lítio-carmim e os dos três animais que receberam o torotraste (Obs. LXXVII, LXXVIII e LXXIX) foram cortados em série e as preparações coradas pela hemateína e pelo método tano-férrico do Prof. SALAZAR. DOS ovários dos restantes animais (Obs. XXXI, XXXII, XXXIV, XXXV, XXXVI, XXXVII, XXXVIII, XXXIX, XL, XLII e XLIII) passei em revista numerosos cortes histológicos.

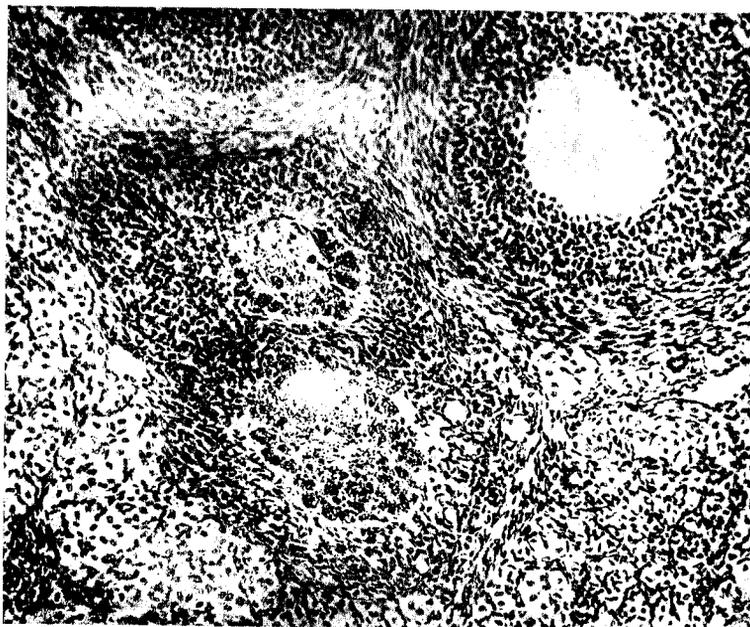
Nos protocolos das minhas experiências sobre o S. R. E. registei ainda o exame microscópico de mais 35 ovários de coelhas tratadas com carmim ou torotraste e, ao mesmo tempo, pinceladas com alcatrão da hulha na face interna das orelhas. Embora nêstes animais as conclusões sejam, dum modo geral, idênticas às obtidas nos simplesmente injectados, não as aproveito para o presente estudo por se tratar de coelhas em condições especiais.

Algumas observações serviram já de base a uma nota preliminar, acêrca dos elementos do ovário com função coloidopéxica, que o Prof. AMÂNDIO TAVARES e eu apresentámos ao *Congresso da Associação dos Anatômicos*, reunido em Lisboa em Abril de 1933.

No ciclo evolutivo do ovário descreveu o Prof. SALAZAR 4 tipos estruturais extremos caracterizados «*non par l'existence exclusive d'un élément ou phénomène spécifique, mais par*

l'hégémonie que prend momentanément un des éléments constituants de l'ovaire; ces éléments sont communs à tous les types, mais ils prennent successivement l'hégémonie dans leur organisation».

E assim, distingue o Professor portuense os tipos ovigénio, folicular, atrético e intersticial, consoante o predomínio, respectivamente, de foliculos primordiais, em crescimento ou adultos, de foliculos atréticos e da glândula intersticial.



(Microfotografia)

Fig. 15 — *Ovário de coelha injectada com lítio-carmim* (Obs. xvii)

Abundante floclação de carmim por numerosos histiócitos de foliculos atréticos.

Os ovários das minhas 33 observações repartem-se pelos seguintes tipos desta classificação :

Ovigénio — Obs. LXXIII.

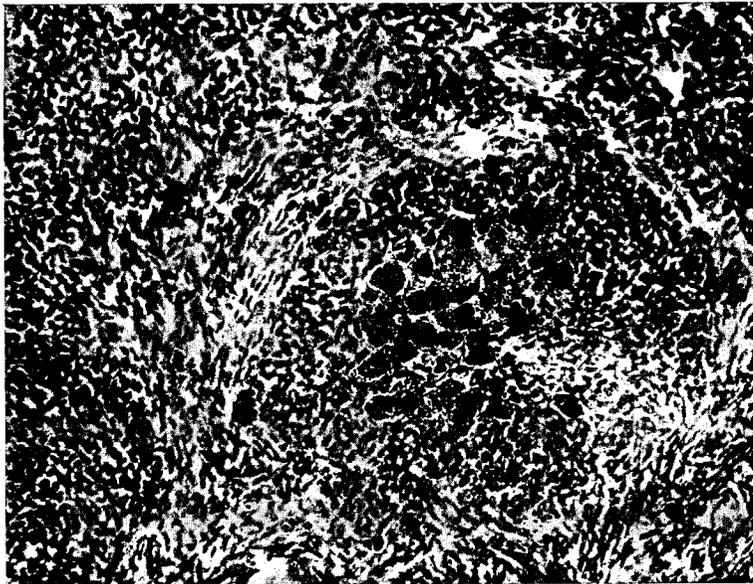
Folicular — Obs. VIII, XI, XII, XXXVII, LXXII, LXXVIII.

Atrético — Obs. XXXII, LXIX.

Atrético-intersticial—Obs. VI, XIII, XXXI, XXXIV, XXXVIII, XXXIX, LXXI, LXXV, LXXVI, LXXVII.

Intersticial—Obs. III, IV, IX, XVII, XXII, XXIV, XXXIV, XXXV, XL, XLII, XLIII, LXX, LXXIV, LXXIX.

Nêstes ovários, os elementos que floculam os corantes coloidais electro-negativos encontram-se no tecido conjun-



(Microfotografia)

Fig. 16—Ovário de coelha injectada com torotraste (Obs. I.XXVII)

Folículo atrético com numerosas células impregnadas de tório.

tivo subjacente ao epitélio ovárico, no estroma (quer em volta dos folículos atréticos ou nos septos conjuntivos da glândula intersticial, quer na teca de folículos em crescimento ou adultos), nos endotélios vasculares e células adventíciais e, finalmente, nos folículos em atrésia (Fig. 15).

A quantidade de coloide fixado nas células que acabo de mencionar e o número de elementos que manifestam a pro-

priedade coloidopéxica dependem, não só da natureza físico-química do coloide e da quantidade injectada, como também da sobrevivência do animal e do estado evolutivo do órgão.

O torotraste deposita-se em tôdas as células que se impregnam de lítio-carmim (Fig. 16) e ainda nas células tecais dos folículos adultos ou em crescimento. Em órgãos colhidos pouco tempo depois da última injeção (15 minutos a 6



(Desenho de A. FONTES)

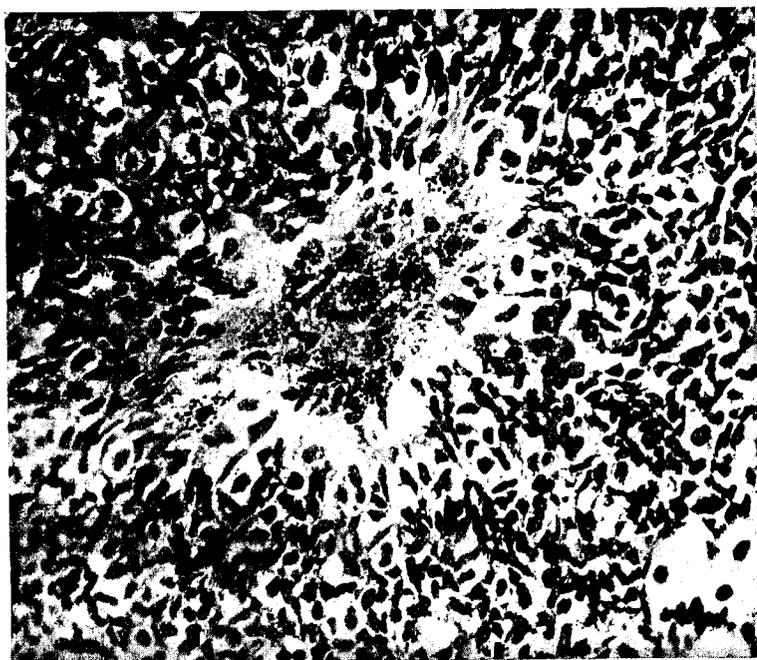
Fig. 17 — *Ovário de coelha injectada com lítio-carmim* (Obs. LXXIV)

Raras granulações de carmin nas células endoteliais.

horas) verifica-se que os elementos endoteliais fixam pequenos grânulos vermelhos, embora em quantidade deminuta. Se a sobrevivência do animal à última injeção se prolonga por mais de 24 a 48 horas, os endotélios vasculares, se se impregnaram, perderam o coloide, pois, passado este tempo não se encontram grânulos no seu citoplasma.

Que assim é, tive oportunidade de o verificar na

Obs. LXXIV. Na respectiva coelha, o ovário extirpado cirurgicamente minutos depois duma injeccção de lítio-carmim apresenta corados os endotélios capilares (Fig. 17); pelo contrário, no ovário colhido 8 dias depois da intervenção cirúrgica, as células dos capilares já não mostram vestígios do corante.



(Microfotografia)

Fig. 18—*Ovário de coelha injetada com lítio-carmim* (Obs. LXXI)

Pequeno número de células carminófilas num folículo atrético.

Da via de administração dos coloides depende a quantidade de células do estroma do órgão que exercem a coloidopexia. De facto, as células do tecido conjuntivo subepitelial que fixam o carmim ou o tório são, sobretudo, abundantes nos ovários das coelhas que, tendo recebido os coloides em injeccções intra-serosas associadas às injeccções intravenosas,

foram sacrificadas algumas horas depois da injeção intra-peritoneal.

O número total de células com função histiocitária, embora influenciado pelos factores apontados, depende, principalmente, do tipo estrutural do órgão: os ovários que possuem folículos em atresia são os mais ricos destas células, riqueza esta directamente relacionada com o número desses folículos.

É nos ovários do tipo folicular e, mais ainda, nos do tipo ovigénio, que os elementos cromófilos rareiam mais: no ovário duma coelha de 35 dias de idade (Obs. LXXIII), minucioso exame mostrou apenas 3 células com grãos de carmin em 650 preparações examinadas, a-pesar-de se colher a glândula 5 horas depois da última injeção.

Pelo contrário, nos órgãos do tipo atrético, atrético-intersticial e intersticial as células encontram-se com relativa frequência no estroma do órgão e, sobretudo, no interior de certos folículos em atresia avançada (Fig. 18).

No trabalho, já citado, que publiquei de colaboração com o Prof. AMÂNDIO TAVARES, consigna-se:

«C'est, toutefois, dans certains follicules en atresie avancée que le colorant s'accumule de préférence; au premier abord il y semble exclusivement emmagasiné, dans l'intérieur d'éléments généralement volumineux et polymorphes, le plus souvent arrondis ou fusiformes, avec ou sans prolongements; ces éléments entourent les débris provenant de l'atresie et existant au centre du follicule, dans cette période qu'a désignée A.-L. SALAZAR sous le nom de période post-chromatolytique et caractérisée par l'évolution spéciale des cellules de la granulosa qui échappent à la métamorphose chromatolytique (cellules résiduelles) et par l'évolution des produits de la chromatolyse.

On voit aussi certains de ces éléments fixant le carmin dans l'un ou l'autre follicule, soit dans la période préchromatolytique ou des cinèses atypiques, soit dans la période chromatolytique ou des sidérations mitosiques, mais ils sont rares, placés parmi les cellules de la thèque et ne surpassent dans aucun cas, les limites thécales; ils existent, non seulement sur les ovaires des animaux sacrifiés précocement, mais aussi sur

les ovaires prélevés plusieurs jours (onze et treize) après la dernière injection.

Dans une phase tardive de l'évolution atrétique, les éléments accumulés au centre du follicule perdent progressivement les granules de carmin et acquièrent un aspect nettement fibroblastique.

On les voit persister, parfois, dans la phase post-atrétique, alors que la plus grande partie du corps atrétique s'est déjà intégrée dans la glande interstitielle».

Mostra-se, assim, que só em determinadas fases da atresia os folículos possuem células com função coloidopéxica.

Como muito bem nota o Prof. SALAZAR, a atresia dos folículos ováricos é ainda incompletamente conhecida e, sobretudo, mal interpretada por muitos autores, que confundem os tipos de atresia com as fases do mesmo processo.

Segundo as ideias do Prof. SALAZAR, os complexos fenómenos da atresia, suficientemente demonstrados no estado actual dos nossos conhecimentos, podem resumir-se no seguinte quadro, tradução do que se encontra num dos numerosos trabalhos que sobre o assunto tem publicado:

1.º — Atresia não cromatolítica, não seguida de ciclo atrético-intersticial (atresia dos folículos novos e primordiais; atresia dos cordões anovulares, etc.).

2.º — Atresia cromatolítica seguida de ciclo atrético-intersticial.

Fase atrética. — Período pré-cromatolítico ou das cineses atípicas, período cromatolítico ou das cineses sideradas; período post-cromatolítico ou de ligação do ciclo atrético-intersticial.

Fase tecal. — Reabsorção do magma atrético, hipertrofia da teca, desaparecimento do folículo; constituição do nódulo atrético ou falso corpo amarelo.

Fase intersticial. — Fusão dos corpos atréticos na glândula intersticial.

3.º—Tipos de atresia em relação com a idade do ovário (atresia conjuntiva, fetal, de WINIWARTER, etc.).

4.º—Tipos de atresia em relação com a espécie (atresia metaplástica do Murganho, etc.).

5.º—Tipos de atresia dependentes da participação de células da granulosa e da teca que entram na constituição do corpo atrético.

- 1) Corpo atrético tecal.
- 2) Corpo atrético mixto.
- 3) Corpo atrético luteïniforme e metaplástico (meroxantomas, corpos luteïniformes, etc.).

6.º—Tipos de atresia em função de condições experimentais (radiações, injeção de Prolan, de U. F. E., etc.).

As minhas observações mostram que é, sobretudo, no período post-cromatolítico da fase atrética, algumas vezes na fase tecal e mais raramente na fase intersticial da atresia cromatolítica, que o folículo contém elementos histiocitários com propriedade coloidopéxica.

Com certa frequência encontrei folículos no período post-cromatolítico em que a membrana de SLAVSJANSKY estava interrompida num ponto muito limitado; em redor dela notavam-se células carminófilas, em maior ou menor número, muitas das quais pareciam provir do endotélio e da adventícia dos capilares vizinhos. No interior do folículo apareciam duas ou três células coradas, mas muito próximas da zona de ruptura da referida membrana.

Nos folículos de membrana intacta, embora as células em questão a rodeassem, não se viam na parte do folículo que ela delimita.

Tem-se a impressão de que a atresia folicular, por um fenómeno semelhante ao quimiotactismo positivo, determina a mobilização das células histiocitárias, que se aproximariam do folículo, aguardando a ruptura da membrana de SLAVSJANSKY

para a poderem atravessar e irem fagocitar o magma celular proveniente do ovócito e dos corpúsculos cromatolíticos.

Observações desta ordem corroboram as seguintes palavras do trabalho, já citado, que o Prof. AMÂNDIO TAVARES e eu publicámos em 1932:

«Ce fait confirme l'avis de A.-L. SALAZAR dans la question controversée de la pénétration des éléments vasculo-conjonctifs dans les follicules. On sait que, pour WINIWARTER, c'est cette pénétration qui déclanche l'atrésie, mais, suivant SALAZAR, cette affirmation s'applique seulement à une période déterminée de l'évolution de l'ovaire, le rôle atrésiant du tissu conjonctif sur l'ovaire fœtal perdant progressivement de son importance, de telle sorte que chez l'adulte l'atrésie conjonctive a disparu, remplacée par l'atrésie chromatolytique; les premiers signes de l'atrésie sont alors les poussées de cinèses atypiques, sauf dans les cas sporadiques d'atrésie métaplastique, systématique chez le Lérot (VELLOSO DE PINHO): la pénétration extemporanée de bourgeons vasculo-conjonctifs dans le follicule est suivie d'une transformation métaplastique des cellules folliculaires, sans dégénérescence chromatolytique, conduisant à la formation d'un corps jaune métaplastique sans intervention de la thèque».

O estudo do material de que disponho, já de certa importância, permite-me confirmar também a opinião de A.-L. SALAZAR acerca da pretensa invasão leucocitária do folículo atrético, que alguns autores sustentam e que o Professor portuense contesta com larga cópia de argumentos.

Na verdade, nunca me foi dado observar a entrada de polinucleares nos folículos no período post-cromatolítico ou na fase de ligação do ciclo atrético-intersticial.

Se foi possível estabelecer que as células de propriedade coloidopéxica encontradas nos folículos atréticos são elementos histiocitários, que aí penetram depois da ruptura da membrana de SLAVSJANSKY para exercerem a fagocitose dos detritos do magma celular, não se encontra explicação satisfatória para certos factos que se observam com relativa constância, em todos os ovários do tipo atrético ou intersti-

cial. Quero referir-me à existência de folículos atréticos com a membrana de SLAVSJANSKY alterada ou interrompida e que possuem elementos de morfologia histiocitária, mas que não fixam os coloides injectados.

Em muitos destes folículos é bem aparente a floculação de certos produtos do metabolismo celular (pigmento hemático) ou ainda de partículas negras no caso especial das coelhas alcatroadas. Nos restantes folículos, em que estas partículas se não vêem, admiti, com o Prof. AMANDIO TAVARES — entre as condições capazes de modificar o comportamento, para com os corantes vitais, dos elementos que invadem o folículo — a existência dum bloqueio fisiológico oculto ou dissimulado devido à presença de substâncias de elaboração ou de armazenagem intracelular directamente invisíveis.

A êste propósito, acrescentávamos: *«Dans ce cas particulier de l'ovaire, on peut se demander si l'imprégnation par des matériaux provenant de la régression des éléments germinaux et destinés à être probablement déversés dans la circulation ne pourrait pas créer cet état».*

O bloqueio fisiológico disfarçado, segundo a designação de BRATIANO & LLOMBART, reveste capital importância na explicação do insucesso da coloidopexia em certas circunstâncias, como terei oportunidade de mostrar no capítulo seguinte.

Ainda de acôrdo com o nosso modo de ver lembrarei as já citadas opiniões de MERKLEN e de POZZAN acêrca da dificuldade da coloração vital no primeiro período da vida, dificuldade que parece estar directamente relacionada com o activo metabolismo do ferro.

Em suma: No ovário, como em qualquer outro órgão, encontram-se células com actividade gránulopéxica no estroma conjuntivo; todavia, em determinados períodos do seu ciclo evolutivo, êsse número aumenta consideravelmente porque se impregnam também células dos folículos atréticos. Se certos estados fisiológicos do ovário condicionam o aparecimento de numerosas células com função histiocitária, deve admitir-se a existência, neste órgão, dum sistema retículo-endotelial local durante o período da sua evolução em que há folículos atréticos.

IV

BLOQUEIO DO SISTEMA RETÍCULO-ENDOTELIAL

Alguns autores verificaram que as células do sistema retículo-histiocitário carregadas de grânulos coloidais perdiam a propriedade de exercer a coloidopexia de quaisquer substâncias electro-negativas. Para designar êste estado especial dos referidos elementos propuzeram o termo *bloqueio*.

O significado da palavra, que primitivamente indicava um aspecto morfológico individual dos elementos retículo-endoteliais, generalizou-se rapidamente ao seu conjunto, isto é, ao S. R. E., e passou a ser tomado numa acepção fisiológica.

Deduzira-se *a priori* que a célula bloqueada, por ser incapaz de fixar novos coloides, não teria a faculdade de exercer também as outras funções que lhe são peculiares.

O bloqueio experimental, ou a saturação das células retículo-endoteliais por grânulos de coloides electro-negativos administrados por via parenteral, torna-se, assim, o método clássico para o estudo das funções do S. R. E.

Por outro lado, pensou-se ainda que seria possível obter a deminuição da capacidade funcional do mesmo sistema mediante a exclusão cirúrgica dalguns dos seus componentes. O

intento pôde realizar-se, aparentemente sem distúrbios de maior, pela coincidência de não ser indispensável à vida — e portanto susceptível de exérese cirúrgica — o órgão da economia mais rico de elementos retículo-endoteliais: o baço.

E, então, a esplenectomia, funcionalmente equivalente a um bloqueio parcial, começa a ser utilizada, ou isoladamente ou em conjunto com as injeções de coloides, para o estudo das funções do S. R. E.

Não tardou, porém, a verificar-se, que o bloqueio simples, ou até associado à esplenectomia, se traduzia, por vezes, por uma excitação funcional do sistema, exactamente o contrário do que se pretendia.

Procurou-se explicar o fenómeno tanto pela hipertrofia e hiperplasia dos elementos celulares como pela simples excitação funcional das células do sistema, modificações estas que se atribuíam ao emprêgo de doses fracas de substâncias coloidais introduzidas no organismo.

O estudo das modificações dos elementos retículo-endoteliais ocasionadas pela esplenectomia e pelo bloqueio levou alguns autores a criticar, baseando-se em argumentos valiosos, estes meios de estudo das funções do S. R. E.

Não obstante as numerosas e bem deduzidas objecções postas, em tais críticas, ao valor destes métodos, nêles se alicerçam as conclusões da grande maioria dos trabalhos em que se versa a fisiopatologia do S. R. E.

Os resultados discordantes dalgumas experiências, que adiante mencionarei, levaram-me ao estudo desta questão que, em meu entender, se deve dividir em duas partes: a esplenectomia e o bloqueio pròpriamente dito. De cada uma delas me vou ocupar em seguida.

ESPLENECTOMIA

Consecutivamente à exérese esplénica, os elementos retículo-endoteliais dos diferentes órgãos experimentam modificações de intensidade e natureza variáveis.

SCHMIDT & LEPEHENE notaram que a ablação do baço de rati-

nhos provoca, em poucas semanas, a hipertrofia e a mobilização das células de KUPFFER do fígado. Também INTROZZI, experimentando em cobaias, demonstrou que as células endoteliais dos sinusoides hepáticos, não só se hipertrofiam e hiperplasia como também exercem propriedades fagocitárias muito acentuadas, pouco depois da extirpação do baço.

Factos idênticos são referidos por SEIFERT, WEISER, MULÈ, ROUSLACROIX, FOA, DU BOIS, DIERYCK, DOMAGK, MARMOSTON, GOTSMANN & PERLA, entre outros.

PAPILIAN & RUSSU chegam a conclusões semelhantes por meio da exclusão funcional do baço obtida pela laqueação dos seus vasos. De facto, verificaram, nas condições apontadas, que os elementos retículo-endoteliais do fígado e da medula óssea aumentam de tamanho e de número, ao mesmo tempo que se intensifica consideravelmente a sua propriedade de fagocitose. Fenómenos inversos se passariam nos gânglios linfáticos mesentéricos.

Prosseguindo os seus estudos, os mesmos autores notam, tanto no fígado como na medula óssea, um exagêro da capacidade coloidopéxica dos respectivos elementos histiocitários, enquanto nos gânglios linfáticos não haveria modificações apreciáveis. No entanto, ao tentarem corar vitalmente estas células, 20 dias depois da exclusão lienal, já a fixação era acentuada nos gânglios linfáticos e menos aparente no fígado e no baço.

TARANTOLA confirma a hiperplasia retículo-histiocitária consecutiva à laqueação dos vasos do baço.

Para apreciar a intensidade da hiperplasia dos elementos do sistema de ASCHOFF, especialmente por parte das células de KUPFFER do fígado, em seguida à esplenectomia, fiz as três experiências seguintes:

Obs. LXXX — *Coelho n.º 15, ♀, 2000 gr. de peso.*

Esplenectomizado em 4-V-1932, foi tratado com 4 doses de lítio-carminim, por via intravenosa, no espaço de tempo decorrido entre 4 e 9-V. Sacrifica-se em 10 do mesmo mês.

Nada de notável à autópsia.

Exame histológico. — O corante floculou nos histiócitos do tecido con-

juntivo e em células adventíciais de vários órgãos, mas o número de elementos carminófilos não é muito superior ao que observei em coelhos com a mesma sobrevivência e tratados com igual quantidade de coloide.

No fígado, na medula óssea e nos gânglios linfáticos encontram-se, porém, diferenças apreciáveis. Nêstes dois últimos órgãos nota-se imediatamente que as células retículo-endoteliais, hipertrofiadas e hiperplasiadas, fixaram grânulos de coloide em quantidade superior à habitual.

O fígado possui abundantes células de KUPFFER, ricas de carmim; em certas zonas, grupos de 4 e 5 dêstes elementos, corados vitalmente, formam uma pequena célula gigante.

O número médio de células de KUPFFER observadas por campo microscópico (ocular Huyghens n.º 3 e objectiva de imersão 1/12, Leitz) é de 32. Em fígados normais êste número oscilava entre 15 e 25.

Obs. LXXXI — *Coelho n.º 172, ♂, 1800 gr. de pêso.*

Introdução de 3 c.c. de torotraste na corrente circulatória dois dias depois da esplenectomia. Morte no dia imediato ao da injeção do coloide (6-III-1933) em consequência de hemopericárdio consecutivo a punção cardíaca.

Exame histológico. — O torotraste floculou em cerca de dois terços das células de KUPFFER sob a forma de pequenas granulações irregulares, mas sensivelmente do mesmo tamanho, e ainda em alguns histiócitos dos espaços e fissuras de KIERNAN.

A abundância do coloide varia muito duma para outra célula: ao lado de elementos que o contêm em pequena quantidade nas extremidades do citoplasma, encontram-se outros em que os grânulos, muito numerosos, rodeiam por completo o núcleo, que mal se percebe.

O número de células de KUPFFER por campo microscópico (oc. 3 e obj. im., 1/12) é de 25, aproximadamente.

Não examinei outros órgãos.

Obs. LXXXII — *Coelho n.º 18, ♂, 900 gr. de pêso.*

Injeção de 2 doses de lítio-carmim na corrente circulatória. Em seguida, procedo à esplenectomia e a uma biopsia hepática. De novo injecto o corante até ao total de 5 doses. O coelho é sacrificado em 22-V-1932, alguns minutos depois da última injeção e 5 dias após a intervenção cirúrgica.

À autópsia: coloração vermelha intensa da maior parte das vísceras e extenso foco de necrose num lobo hepático, em consequência da gálvano-cauterização tornada indispensável para a hemóstase da zona biopsiada.

Exame histológico. — Abundantes grânulos de carmim na adventícia e nos endotélios vasculares de vários órgãos. Enquanto os centros nervosos estão isentos de corante, as meninges e os plexos coroideus contêm-no em quantidade apreciável. A floculação deu-se também em raros fibroblastos do periósseo e do pericôndrio.

Na suprarrenal e na hipófise vêem-se células em número superior ao que observei nos animais tratados com a mesma quantidade de corante, mas não esplenectomizados.

Os histiócitos da medula óssea, hiperplasiados e hipertrofiados, fixaram numerosos grânulos vermelhos. Aspecto idêntico oferecem os gânglios linfáticos.

A hiperplasia das células de KUPFFER é muito acentuada e pode avaliar-se pelo confronto das preparações dos fragmentos hepáticos colhidos após a morte do animal, com as do fragmento proveniente da biopsia. Nestas verifica-se que a floculação do corante se limita a poucos elementos kupfferianos (cerca de 1/3), que se carregam de granulações apenas nas extremidades do citoplasma. Número médio das células dos sinusoides por campo microscópico (oc. 3 e obj. im. 1/12) — 23.

As preparações do fígado, obtidas depois da morte do animal, mostram imediatamente que a intensidade da granulopexia e o número de células de KUPFFER aumentaram consideravelmente com a exêrese esplênica. Pode computar-se em 3/4 a proporção de elementos que fixaram o corante. Número médio de células por campo microscópico — 40.

As três experiências que acabo de descrever confirmam plenamente as conclusões dos autores citados. De facto, em seguida à esplenectomia aumenta em todo o organismo o número de células com função histiocitária, mas é nos gânglios linfáticos, na medula óssea e no fígado que os fenómenos vicariantes revestem maior importância.

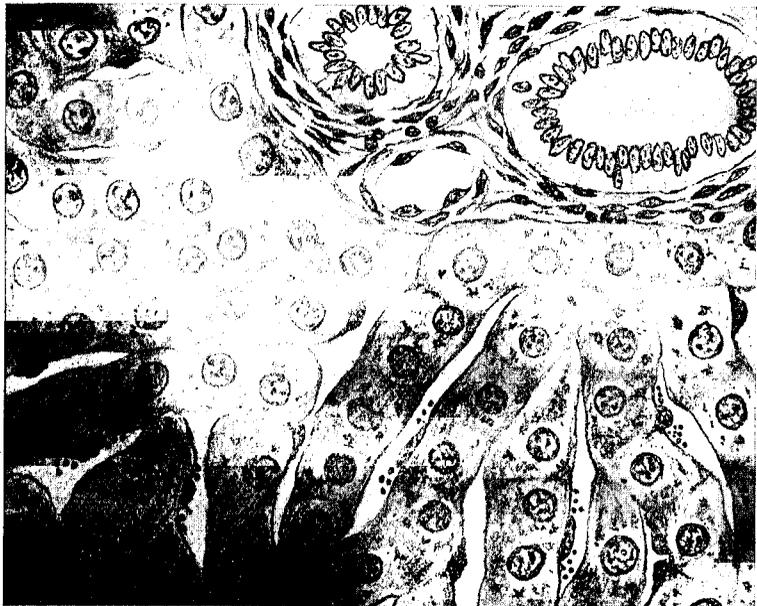
A hiperplasia das células retículo-endoteliais da medula óssea e dos gânglios linfáticos pude apreciá-la por comparação dos órgãos de animais normais e esplenectomizados que receberam as mesmas doses de carmim litinado.

Pelo que respeita aos histiócitos do tecido conjuntivo, às células adventíciais e mesmo aos endotélios vasculares, a última observação demonstra que o seu número é muito acentuado e que as células com propriedade coloidopéxica se podem observar em regiões habitualmente delas desprovidas, como no periósseo e no pericôndrio.

Tanto a suprarrenal como a hipófise — que, nas experiências em coelhos normais, manifestavam fraca actividade

floculante — apresentam, nos dois animais desprovidos de baço e tratados com carmim litinado, numerosas células carregadas de grânulos vermelhos.

Embora haja apreciável hiperplasia celular nêstes departamentos do S. R. E., a capacidade granulopéxica dos seus elementos parece não ter experimentado qualquer exaltação, porquanto o número de grânulos do citoplasma destas



(Desenho do Dr. A. SALVADOR JÚNIOR)

Fig. 19 — *Fígado de coelho injectado com lítio-carmim* (Obs. LXXXII)

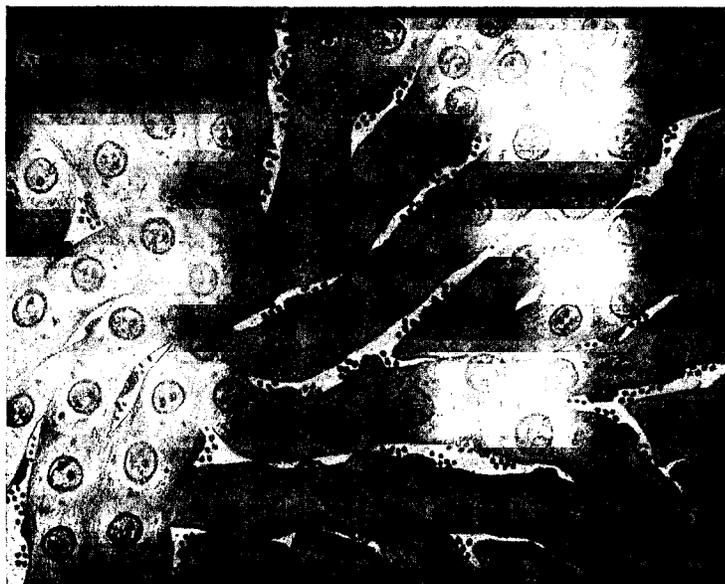
Antes da esplenectomia o carmim floculou em poucas células de KUPFFER (escasso número de grânulos em cada elemento).

células é sensivelmente igual ao observado nos coelhos normais e em idênticas condições de experiência.

As modificações apontadas observam-se também no fígado com muita nitidez. As Obs. LXXX e LXXXI mostram já que as células endoteliais dos sinusoides hepáticos estão hipertrofiadas e, sobretudo, hiperplasiadas.

A Obs. LXXXII, dadas as condições em que efectuei a experiência, permite-me apreciar com bastante rigor o grau da hiperplasia e o aumento da capacidade de floculação.

O exame do fragmento colhido por biopsia hepática, na ocasião em que procedi à exérese lienal, revela a existência dum número quasi normal de células de KUPFFER (23 por campo microscópico), das quais apenas a terça parte fixaram o car-



(Desenho do Dr. A. SALVADOR JÚNIOR)

Fig. 20 — *Fígado de coelho injectado com lítio-carmim* (Obs. LXXXII)

Após a esplenectomia a quasi totalidade das células de KUPFFER contém numerosos grânulos vermelhos.

mim litinado e em pequena quantidade (Fig. 19). As preparações do órgão obtidas depois da morte mostram o exagero da coloidopexia (grande quantidade de grânulos em cada célula) e bem assim que esta propriedade foi exercida por $\frac{3}{4}$, aproximadamente, do número total das células de KUPFFER, de que se contam, por campo, cerca de 40 (Fig. 20).

Devo acrescentar que os fragmentos hepáticos colhidos após a morte do animal ⁽¹⁾ pertenciam a um lobo diferente e bastante afastado daquele em que pratiquei a biopsia. Assim fica afastada a possibilidade do êrro, em que poderia incorrer, se examinasse as zonas vizinhas do foco necrótico.

Em resumo: depois da esplenectomia os elementos do sistema reticulo-histiocitário hiperplasiaram-se e hipertrofiaram-se, ao mesmo tempo que se exalta a sua capacidade granulopéxica. Êstes resultados, que confirmam os obtidos por outros investigadores, bastam, por si sós, para contrariar a afirmação de que a exclusão lienal equivale a um bloqueio parcial.

Além disso, não se podem atribuir exclusivamente à deficiência do S. R. E. as perturbações funcionais que a ablação esplênica determina. Sabido é que o baço, conquanto não indispensável à vida, desempenha certas funções, de cuja falta o organismo se ressentente.

Assim, VITETTI demonstrou que animais novos esplenectomizados baixam de pêso, facto que o autor explica pelo enfraquecimento do metabolismo geral, ou ainda, servindo-se da expressão de RICHEL, por uma diminuição do aproveitamento dos alimentos. SHUMAKER confirma a alteração do metabolismo de variadas substâncias consecutivamente à extirpação esplênica.

PAOLO BARCO encontra variações amplas da colessterina, que se traduzem, 20 dias depois da esplenectomia, por acentuada elevação da sua taxa no sangue.

Modificações da percentagem do azoto do sôro sangüíneo são referidas por PONTICACCIA, CAMPANACCI & ISALBERTI e confirmadas por MONTEMARTINI. Êste último autor não regista qualquer variação da bilirubina, que ANTIĆ & BORIC encontram francamente diminuída nas suas experiências.

TAIT reconhece que o tecido linfoide do baço não constitui o elemento primacial relativamente às células reticulo-

(1) Tanto os cortes destes fragmentos como os obtidos após a biopsia hepática se coraram exclusivamente pela hemateína. As Figs. 19 e 20 representam dois aspectos destas preparações.

-endoteliais, mas BAEZA ALONSO atribui-lhe bastante importância; no caso particular da aplicação da esplenectomia ao estudo das funções imunitárias do S. R. E., afirma que *«la esplenectomía como método de estudio de la función inmunitaria del reticuloendotelio presenta la objeción de que en el bazo existen numerosos núcleos generadores de linfocitos, elementos que aunque no son parte integrante del sistema, muestran histológicamente su colaboración en los procesos inflamatorios, sobre todo de evolución crónica, y por lo tanto, hay que sospechar con motivo que jueguen algún papel en la defensa contra las infecciones»*. Noutro passo aconselha: *«en caso de emplearse el proceder de extirpación lienal tomar las precauciones debidas para interpretar bien los resultados»*.

Vê-se, dêste modo, como a esplenectomia perturba o metabolismo celular e quais as consequências que daí resultam. Do exposto se infere que não se pode estabelecer a equivalência da extirpação esplênica ao bloqueio parcial, porquanto muitas das modificações funcionais do organismo observadas em seguida à exérese do baço não estão directamente dependentes da exclusão das células retículo-endoteliais esplênicas. Por outro lado, a hiperplasia e o exagêro funcional do S. R. E., depois da esplenectomia, parecem depor menos em favor dum bloqueio do que duma excitação.

BLOQUEIO

O bloqueio provocado pelas mais variadas substâncias com o propósito de inibir temporariamente tôdas as funções do S. R. E.—método utilizado pela grande maioria dos autores que versaram o estudo da fisiopatologia dêste sistema—desde há muito se considera, em virtude dos resultados contraditórios que tantas vezes fornece, meio de investigação deficiente e infiel.

Já em 1927 CESA-BIANCHI verificou que as células retículo-endoteliais de coelhos injectados durante muito tempo com colargol eram capazes de flocular glóbulos rubros de carneiro, pigmento hemático, o azul de isamina, o azul de

pirrol, o lítio-carmim e outras substâncias, na mesma quantidade que os animais testemunhas. Estes resultados levaram-no a comentar: *«Allo stato attuale delle nostre conoscenze non possiamo quindi attribuire grande importanza alle esperienze basate sul cosiddetto blocco del s. r. e., esperienze che con ogni probabilità sono destinate a cadere».*

Depois de experiências variadas, em coelhos normais e esplenectomizados que recebiam injeções de colargol e de sacarato de ferro, DERMAN julga-se autorizado a concluir que o bloqueio do sistema retículo-endotelial existe, mas como fenómeno passageiro e relacionado com a dose de coloide a fagocitar e o ritmo das injeções.

ROUSLACROIX, embora reconheça interêsse teórico e prático ao referido método no estudo do S. R. E., admite, a preceder a fase de inibição, um período de excitação funcional que se traduz pela hiperplasia dos histiócitos tecidulares e pelo aumento de monócitos e de fermentos.

Após a administração de colesterol a coelhos durante 40 a 77 dias, FIRKET & COMHAIRE puderam deduzir que existe indubitavelmente o bloqueio da célula isolada, mas não o do sistema, porque, *«malgré l'épuisement par hyperfonctionnement de la plupart des éléments réticulo-endothéliaux, un revêtement endothélial continu assure ses fonctions ségréatrices en se débarrassant, dans la lumière du vaisseau, sous forme de macrophages globuleux, de ses portions par trop saturées».* E ajuntam: *«Le blocage du système, comme tel, n'est donc pas possible».*

Também BRATIANO & LLOMBART demonstram a existência do bloqueio das células consideradas isoladamente, mas não o admitem para o sistema no seu conjunto, dada a frequência com que se observam os fenómenos de impregnação fisiológica por certos produtos do metabolismo, visíveis ou não directamente.

DIERYCK afirma que a coloração vital do sistema retículo-histiocitário determina uma intensa hiperplasia dos seus componentes. Da mesma opinião é BAEZA ALONSO, que escreve: *«Parece ser que el bloqueo provoca una regeneración del sistema aumentando con el tiempo su capacidad; si esto es*

una prueba indirecta de que se afectan las células que almacenan, también limita la valoración de los efectos tardíos, por entrar en juego nuevas generaciones de la estirpe retículo-endotelial».

Baseados em numerosos e valiosos argumentos, tanto CAPOCACCIA e DU BOIS como DI GUGLIELMO consignam a impossibilidade de bloquear o S. R. E.

FAVILLI refere-se à possível toxicidade das substâncias bloqueantes nos seguintes termos: *«Ma ci manca qualunque dato per escludere che queste sostanze esercitino la loro azione anche su altri elementi, ad esempio sulla cellula epatica, né sappiamo quali squilibri di carattere fisico-chimico può portare il contatto coi liquidi organici di sospensioni colloidali come quelle iniettate».*

Os estudos de CAPOCACCIA acerca deste problema permitiram-lhe concluir que a impregnação do S. R. E. por variadas substâncias faz diminuir de peso os animais e baixar a sua tolerância à introdução de grandes quantidades de açúcar. As variações da velocidade de sedimentação dos glóbulos rubros de animais bloqueados com o azul do Tripán — a que o autor atribui especial importância — consistem numa aceleração, directamente proporcional à quantidade de colóide empregada. Neste facto se apoia para concluir: *«Questa azione del trypanblau sulla velocità di sedimentazioni è degna di essere segnalata prima di tutto perchè conferma la mia ipotesi e le mie ricerche tendenti a dimostrare che molti fenomeni attribuiti al blocco dell'apparato reticuloendoteliale (per esempio: rapporti fra esso apparato e ictus anafilattico e fenomeni immunitari ecc.) sono da interpretare come effetti di perturbamenti dell'equilibrio fisico-chimico del sangue, perturbamenti rivelati con sicura evidenza dalle modificazioni del valore complementare e della velocità di sedimentazione».*

Nos seus trabalhos acentua DUSTIN que certas reacções observadas nos animais bloqueados se devem atribuir, não propriamente ao bloqueio, mas às perturbações que os colóides bloqueantes produzem em certos órgãos.

Como se sabe, DUSTIN agrupa, sob a designação de venenos carioclásticos, substâncias capazes de provocar destruições

celulares extensas em múltiplos territórios (timo, baço, gânglios linfáticos e sistema linfoide em geral) quando injectadas por via subcutânea ou intraperitoneal, e por *crise carioclástica* compreende os fenómenos de cariólise intensa que êsses venenos determinam.

Ora, a crise carioclástica pode ser provocada pelos corantes vitais e, em especial, pelos derivados da benzidina, utilizados para o bloqueio.

JOLLY, ZYLBERSZAC, WORMS & KLOTZ, entre outros, confirmaram completamente as conclusões de DUSTIN. ZYLBERSZAC conseguiu encontrar apenas uma substância corada capaz de impregnar as células reticulo-endoteliais e que seria destituída da propriedade carioclástica: a clorofila.

Para o estudo do complexo problema do bloqueio, que deve ser abordado nos aspectos morfológico e fisiopatológico, procedi a algumas experiências que a seguir vou relatar.

Obs. LXXXIII — *Coelho n.º 34, ♀, 1560 gr. de pêso.*

Injecção, na corrente circulatória, de 6 doses de carmim litinado, de 30-IX a 7-XII-1932. Morte 15 minutos depois da última injecção.

À autópsia encontram-se tôdas as vísceras abdominais intensamente coradas de vermelho.

Exame histológico. — Ausência de carmim nos centros nervosos. Raras células carminófilas no tecido conjuntivo, no endotélio e na adventícia vasculares da maior parte dos órgãos.

Suprarrenal com histiócitos corados na cápsula e raras células dos sinusoides com grânulos vermelhos.

Na medula óssea e no fígado a floculação observa-se na quási totalidade dos elementos reticulo-endoteliais. A polpa vermelha do baço, rica de pigmento hemossidérico e de detritos de glóbulos rubros, possui raros grânulos do coloide injectado.

Obs. LXXXIV — *Coelho n.º 125, ♀, 2500 gr. de pêso.*

Em 12, 13 e 17-X-1933 injectei, respectivamente, 150, 100 e 50 c.c. de carmim litinado a 1 por 100. O animal é sacrificado algumas horas depois da última injecção.

Autópsia: intensa coloração vermelha de todo o organismo, excepto nos centros nervosos.

Exame histológico. — A-pesar-de o lítio-carmim ser injectado em doses fortíssimas, o número de grânulos vermelhos do citoplasma dos diferentes elementos retículo-endoteliais não é superior ao que habitualmente observei na grande maioria dos coelhos das experiências anteriores.

O corante floculou em muitos histiócitos e células adventíciais dos diversos órgãos. No baço encontra-se em numerosos elementos da polpa vermelha, embora haja grandes depósitos de pigmento hemático; hemo-siderina e corante impregnam, por vezes, a mesma célula.

Na medula óssea quási todos os elementos retículo-endoteliais se carregam de grânulos vermelhos, ao passo que na suprarrenal e na hipófise raras células dos sinusoides os contêm.

No fígado apenas cêrca de metade das células de KUPFFER se coraram. Tanto o parênquima hepático como os tubos contornados do rim se encontram literalmente cheios de grânulos vermelhos, o que demonstra uma activa eliminação do corante injectado, que ainda na ocasião da morte do coelho tingia de vermelho o sôro sangüíneo.

Obs. LXXXV — *Coelho n.º 33, ♂, 1600 gr. de pêso.*

Injectado em 16, 21, 22 e 24-XI-1932 com 20, 20, 25 e 30 c.c., respectivamente, de tinta da China a 1. p. 100. Sacrificado 15 minutos depois da última injeccção.

À autópsia, coloração escura do fígado, do baço e, principalmente, dos pulmões.

Exame histológico. — Nos septos conjuntivos do timo, da tiroideia, do testículo e do coração, bem como nos glomérulos de MALPIGHI do rim, notam-se raras células carregadas de granulações negras.

No pulmão êste suspensoide floculou em numerosos histiócitos dos septos conjuntivos. Suprarrenal e hipófise pobres de carvão. Pelo contrário, a medula óssea e o fígado possuem-no na quási totalidade dos elementos retículo-endoteliais. Facto idêntico se observa no baço, a-pesar-da existência de abundantes depósitos de pigmento hemático em muitos elementos da polpa vermelha.

Nêste último órgão algumas células, raras, flocularam simultaneamente pigmento hemático e carvão.

Obs. LXXXVI — *Coelho n.º 78, ♀, 800 gr. de pêso.*

De 28-II a 3-III-1934 é injectado com 12 c.c. de torotraste; sacrificado 4 horas depois da última injeccção.

À autópsia, depósitos esbranquiçados de torotraste em tôdas as vísceras da cavidade abdominal.

Exame histológico. — O tório falta nos centros nervosos.

Histiócitos impregnados dêste metal encontram-se em vários órgãos:

coração, timo, ovário, rim (glomérulos de MALPIGHI), pulmão (nos septos conjuntivos e em células livres nas cavidades alveolares), intestinos, trompas e útero.

Suprarrenal com raras células da cápsula e dos sinusoides carregadas de hidrossol, que ocupa quasi todas as células retículo-endoteliais do fígado, da medula óssea, do baço e dos gânglios linfáticos, juntando-se em massas irregulares e volumosas na polpa vermelha do baço e nos cordões medulares dos gânglios.

Obs. LXXXVII — *Coelho n.º 51, ♀, 1720 gr. de peso.*

Injecção de 12 c.c. de torotraste por vias intravenosa, intraperitoneal e intrapleural, de 12 a 21-XII-1933. Sacrifiquei o animal em 22-XII.

A autópsia não revela lesões dignas de registo. Depósitos esbranquiçados de torotraste nas cavidades peritoneal e pleural esquerda.

Exame histológico. — Granulações de torotraste, volumosas e irregulares, por vezes em grandes aglomerados, no baço e nos gânglios linfáticos.

Abundantes grânulos refringentes ocupam todo o citoplasma da grande maioria das células retículo-endoteliais do fígado e da medula óssea.

Histiócitos impregnados de hidrossol metálico, muito abundantes nos pulmões e ovários e mais raros na suprarrenal, no coração, no timo, e nos rins (glomérulos de MALPIGHI).

Obs. LXXXVIII — *Coelho n.º 232, ♂, 1760 gr. de peso.*

Injecção, por via intravenosa, de 2 c.c. de torotraste. Passados 40 dias introduzem-se, na corrente circulatória e por uma só vez, 100 c.c. de carmim litinado a 1 p. 100. Sacrificado 6 dias depois desta injecção.

À autópsia não se encontram lesões de relêvo. Coloração vermelha das vísceras e do sôro sangüíneo.

Exame histológico. — Pâncreas, timo, tiroideia e centros nervosos sem vestígios dos coloides injectados. Granulações pequenas e irregulares de torotraste em células dos sinusoides corticais da suprarrenal e em raros histiócitos dos septos conjuntivos do coração, do rim e do testículo.

Massas irregulares de grânulos de tório coloidal esparsas na polpa vermelha do baço e em muitos pontos da medula óssea. No pulmão, numerosas células com o hidrossol metálico e mais raras granulações vermelhas.

No fígado aparecem os dois coloides, todavia é mais abundante o metal do que o corante. Em algumas células de KUPFFER podem vêr-se granulações vermelhas por entre os corpúsculos refringentes de torotraste.

O estudo cuidadoso das vísceras dêste coelho mostra a dupla flocculação dos coloides pela mesma célula no fígado, por células diferentes

À autópsia: Leve hipertrofia esplênica. Fígado duro, rangendo ao corte. Quantidades consideráveis de gordura encobrem os rins e os ovários. O animal pesava, no dia da morte, 3.800 gr.

Exame histológico. — O torotraste aparece, em quantidades apreciáveis, em células retículo-endoteliais do fígado, do baço, dos gânglios linfáticos e da medula óssea. No baço, a polpa vermelha, que contém massas irregulares e volumosas de granulações refringentes de bióxido de tório, está reduzida a elementos do retículo muito hiperplasiados; esta substância falta nos folículos linfóides, cuja atrofia é manifesta.

No fígado encontram-se zonas extensas literalmente cobertas de torotraste e, no meio desta substância, apenas se reconhecem as células que delimitam os canalículos biliares e os vasos sangüíneos. Nos pontos em que a estrutura do órgão não está muito alterada, só as células de KUPFFER flocularam o coloide; os elementos parenquimatosos vizinhos destas células carregadas de granulações estão em franca degenerescência.

Nos restantes órgãos não há lesões microscópicas e os seus elementos histiocitários impregnaram-se como os dos animais das experiências anteriores.

Obs. XCII — *Coelho n.º 144*, ♀, 2.035 gr. de peso.

De 19 a 26-XII-1933 injecto 13 c.c. de torotraste por vias intravenosa (9 c.c.) e intraperitoneal (4 c.c.). Desde esta ocasião até 16-III-1934 o animal é regularmente pincelado com alcatrão, na face interna das orelhas, duas vezes por semana. Desenvolvem-se numerosos tumores nas regiões pinceladas, alguns dos quais atingem dimensões enormes.

Nos primeiros meses de alcatroamento o animal emmagrece acentuadamente (1.400 gr. de peso) e assim se conserva até Março de 1934, em que se interrompem as pinceladas de alcatrão. O estado geral não tarda a melhorar e o peso aumenta consideravelmente.

Ao cabo de 15 meses o animal pesa 4.600 gr. e apresenta uma saúde florescente, embora o fígado, o baço e a medula óssea estejam intensamente impregnados de torotraste como o demonstra uma radiografia (Fig. 21) tirada pelo Prof. ROBERTO DE CARVALHO em 15-III-1935. Com efeito, na parte superior da cavidade abdominal desenham-se duas extensas sombras negras que correspondem ao fígado e ao baço; no interior de muitos ossos, mas, sobretudo, nos dos membros, é bem aparente um fino pontuado negro.

Obs. XCIII — *Coelho n.º 66*, ♀, 2.465 gr. de peso.

Imediatamente antes da injeção de 5 c.c. de torotraste na corrente



(Radiografia do Prof. R. CARVALHO)

Fig. 21 — *Radiografia dum coelho injectado com torotraste* (Obs. xcii)
15 meses depois da injeção, o fígado, o baço e a medula óssea
contêm ainda grande quantidade de tório.

circulatória, procedi à contagem dos leucócitos e dos glóbulos rubros. 19 e 42 horas depois, repeti estes exames hematológicos (19-XII-1933).

Resultados:

Antes da injeção

Glóbulos rubros por mm. c.	5.000.000
Leucócitos » »	10.800

19 horas depois

Glóbulos rubros por mm. c.	4.840.000
Leucócitos » »	11.200

42 horas depois

Glóbulos rubros por mm. c.	4.885.000
Leucócitos » »	10.200

As experiências LXXXIII a LXXXVII foram feitas com o intuito de apreciar histologicamente o grau do bloqueio, mediante o número de células que exercem a coloidopexia em relação àquelas que se mostram isentas do coloide. Para tal fim servi-me do carmim litinado, da tinta da China e do torotraste, que injectei em doses fortes e continuadas, e sacrifiquei os animais de poucos minutos a algumas horas após a última injeção.

Verifica-se, em primeiro lugar, que a coloidopexia não se manifesta na totalidade das células reticulo-endoteliais, mesmo que se considerem apenas os órgãos que delas são mais ricos: baço, gânglios linfáticos, fígado e medula óssea.

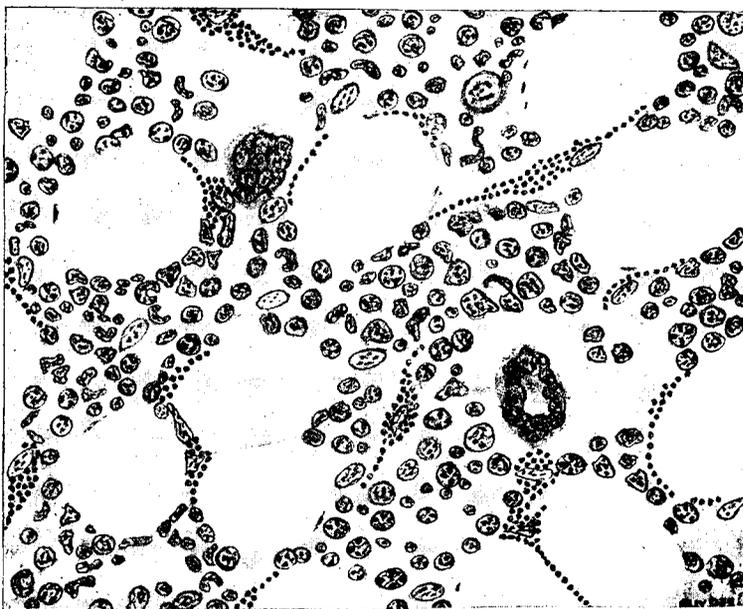
O carmim litinado, em seguida à introdução de 6 doses na corrente circulatória, fixa-se em muitas células dos septos conjuntivos de vários órgãos; contudo, ousado será, talvez, concluir que elas representam todos os histiócitos do tecido conjuntivo. No fígado e na medula óssea impregna-se a quasi totalidade dos elementos, mas alguns há livres de corante (Fig. 22). Em virtude da abundante floculação de pigmento hemático, o baço apresenta fraca quantidade de elementos corados.

Na suprarrenal e na hipófise é restrito o número de células com actividade granulopéxica aparente.

Na experiência LXXXIV, em 3 injeções empreguei 300 c.c. de carmim, dose fortíssima que em muito supera a

usada habitualmente. Pretendia, d'êste modo, corar tôdas as células do sistema. Vi, porém, que o corante impregnava menor número de elementos que no coelho da Obs. LXXXIII. No baço — e fenômenos desta natureza já os referi algures (Obs. VI) — algumas células flocluraram, conjuntamente, pigmento hemático e corante.

Com a tinta da China e com o torotraste obtive resultados muito parecidos: fixação de grânulos na grande maioria



(Desenho de R. PORTELA)

Fig. 22 — Medula óssea de coelho injectado com lítio-carmim (Obs. xc)

Mais de dois terços das células retículo-endoteliais fixaram numerosos grânulos vermelhos.

dos elementos retículo-endoteliais do baço, do fígado, da medula óssea e dos gânglios linfáticos, em raras células da suprarrenal e nalguns histiócitos dos diferentes órgãos.

Em seguida à injeccção de pequenas quantidades de torotraste (2 c.c.) impregna-se sensivelmente o mesmo número

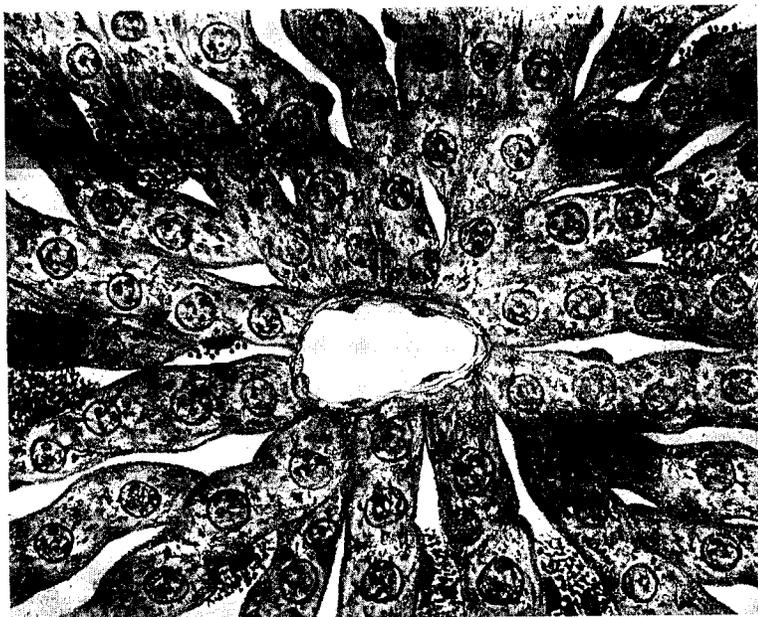
de células que depois do emprêgo de doses mais elevadas (10 a 15 c.c.); a única diferença encontrada reside no número de grânulos fixados pelo citoplasma, os quais são tanto mais abundantes quanto maior é a quantidade de hidrossol introduzida no organismo. Neste último caso formam-se, na polpa vermelha do baço, às vezes nos gânglios linfáticos e mais raramente no fígado e na medula óssea, massas de grânulos refringentes, irregulares e volumosas, que dão a impressão de o torotraste estar, não floculado no citoplasma das células, mas depositado nos interstícios celulares.

Por meio das experiências LXXXVIII e LXXXIX pude apreciar os fenómenos de *contra-bloqueio*: Injecção de torotraste em dose fraca (2 c.c., Obs. LXXXVIII) ou forte (10 c.c., Obs. LXXXIX) seguida da administração, por uma só vez, de enormes quantidades de lítio-carmim. Os animais eram sacrificados poucas horas depois desta última injecção. O exame microscópico das vísceras mostra que o torotraste se repartiu, do modo habitual, pelas células reticulo-endoteliais dos diversos órgãos, e que o lítio-carmim corou apenas algumas células do pulmão e do fígado. Neste órgão, raras células de KUPFFER fixaram, simultâneamente, o metal e o corante (Fig. 23).

A raridade de elementos celulares capazes de flocularem duas substâncias diferentes pode atribuir-se, a meu ver, ao facto de ter injectado, em primeiro lugar, um coloide de grandes micelas e, seguidamente, outro de muito fina dispersão. Procedendo de modo inverso, seriam mais numerosas as células duplamente impregnadas. Se admito esta hipótese é porque, em regra, a floculação de pigmento hemático ou de detritos de glóbulos rubros impede a fixação do carmim, mas não evita a armazenagem do torotraste. De facto, esta substância deposita-se sempre, abundantemente, na polpa vermelha do baço, seja qual fôr a quantidade de hemoderina prèviamente floculada.

As experiências do chamado *contra-bloqueio* permitem verificar que o sistema retículo-histiocitário, mesmo depois de fixar abundantemente um coloide electro-negativo, é ainda capaz de flocular, embora em menor escala, outras substâncias.

Mesmo que estas experiências demonstrassem a impossibilidade dos fenómenos que acabo de mencionar, apenas ficaria provada a existência do bloqueio para a capacidade granulopéxica, mas esta conclusão não se poderia, evidentemente, generalizar às restantes propriedades das células do S. R. E.



(Desenho do Dr. A. SALVADOR JÚNIOR)

Fig. 23— Fígado de coelho inj. com torotraste e lítio-carmim (Obs. LXXXVIII)

Raras células de KUPFFER fixaram, simultaneamente, o metal e o corante.

Os elementos bloqueados continuam a exercer funções vitais, como o demonstraram LEMMEL & LÖWENSTADT, servindo-se de culturas de baço de animais injectados com tinta da China. Segundo informa VERATTI, aquêles autores verificaram: que «*lo sviluppo in vitro degli espianti di milza di coniglio saturato al massimo con inchiostro di china non fu impedito dalla presenza delle particelle di inchiostro nelle cellule, ma anzi si svolse più rapidamente e più vigorosamente del nor-*

male: così potè essere dimostrato che le cellule sopraccariche di particelle di carbone presentano manifestazioni sicuramente vitali».

As minhas experiências mostram também que, em seguida à injeção de lítio-carmim ou de torotraste, as células do S. R. E. se hiperplasiam e aparecem em número superior ao normal. O exemplo mais nítido encontrei-o no baço do coelho da Obs. XCI, em que a polpa vermelha era quasi exclusivamente constituída por células retículo-endoteliais (Fig. 24). Trata-se, todavia, dum animal que sobreviveu muito tempo à injeção de torotraste.

Para completar o meu estudo acêrca do bloqueio, resta-me apreciar a toxicidade das substâncias utilizadas para a impregnação vital.

Tanto os corantes derivados da benzidina (azul de pirrol, azul de isamina e azul do Tripán) como a tinta da China se mostraram, por vezes, altamente tóxicos, causando a morte do animal, mesmo antes de completada a injeção, se esta se applicava rapidamente.

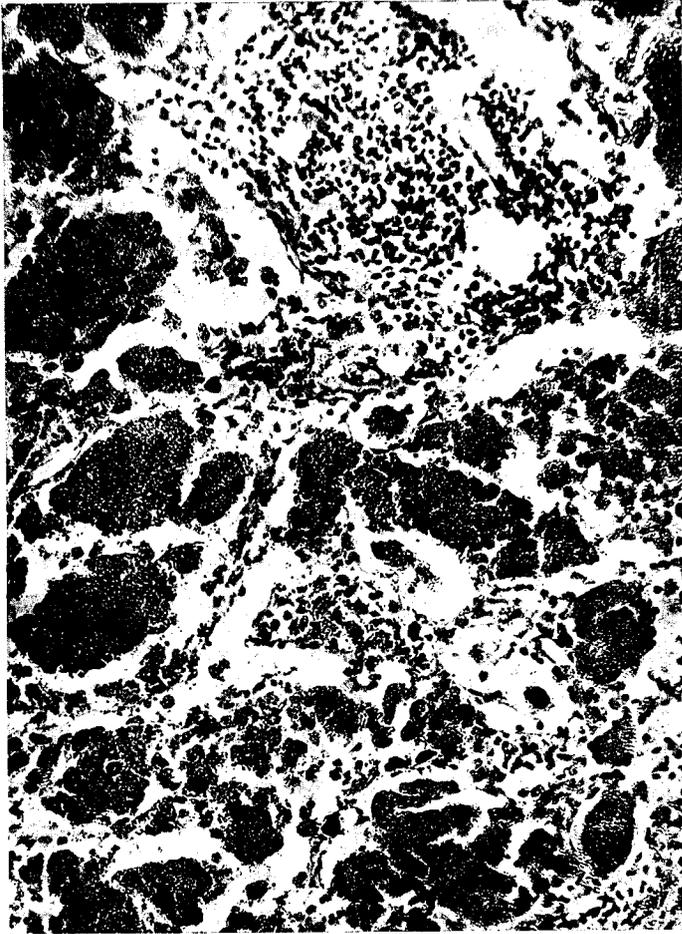
Já o lítio-carmim, qualquer que fôsse a velocidade da injeção, se revelou inócua. Em dois animais cheguei a introduzir na corrente circulatória, por uma só vez e sem o mínimo inconveniente, 100 e 150 c.c. de lítio-carmim. Note-se, porém, que quasi sempre as veias utilizadas para a primeira injeção dêste coloide se obliteravam rapidamente por um processo de trombo-flebite.

O corante elimina-se pelo fígado e, sobretudo, pelo rim. No parênquima hepático não verifiquei a existência de quaisquer lesões degenerativas ou necróticas, mas nas células dos tubos contornados do rim a tumefacção turva era freqüente após repetidas injeções. No baço encontrei duas vezes em cêrca de 50 observações a crise carioclástica
DUSTIN.

Os meus ensaios com a tinta da Cinha e com os corantes azuis são em número muito limitado para me poder pronunciar acêrca das perturbações que êstes coloides determinam nos órgãos em que se depositam. Todavia, verifiquei que a destruição dos elementos nucleares do timo,

do baço e dos gânglios linfáticos (crise carioclástica) era frequente com o azul de pirrol.

Pelo que respeita à acção da tinta da China sôbre o parênquima hepático, ALBOT demonstrou que êste suspensoide



(Microfotografia)

Fig. 24—*Baço de coelho injectado com torotraste* (Obs. xci)

Atrofia linfóide e hiperplasia do retículo-endotélio da polpa vermelha.

determina importantes alterações epiteliaes, que se traduzem pela clarificação das células e por modificações do condrioma.

O torotraste, se parece destituído de toxicidade imediatamente após a sua introdução, em quantidade moderada, na corrente circulatória, (1) provoca, mais tarde, lesões dos parênquimas hepático, esplênico e hemolinfopoiético.

Dada a circunstância deste hidrossol metálico ter larga aplicação em Clínica — indicada por OKA e RADT para a hepatolienografia, por EGAS MONIZ para a encefalografia, por REYNALDO DOS SANTOS para a aortografia e por HERNANI MONTEIRO e seus colaboradores para a visualização radiográfica dos linfáticos — a questão da sua toxicidade tem sido objecto de controversia.

Sob o ponto de vista clinico, nas observações de BAUKE, de CATALANO, de RADT, de CAPUA e de BOGETTI & STOPPANI, entre outros, refere-se que, em seguida à injeção intravenosa de torotraste, certos doentes apresentam perturbações leves: mal estar, elevação passageira de temperatura, albuminúria e urticária.

BAUMANN & SCHILLING, LEIPERT, POPPER & KLEIN, RANDERATH e SEBAH encontraram lesões histológicas nalgumas vísceras de doentes injectados com aquela substância, e BÜNGELER & KRAUTWIG apontam um caso de morte por hemoperitoneu consecutivo à ruptura do baço, imediatamente depois da terceira injeção de 20 c.c. de tório coloidal.

Pelo contrário, REGELSBERGER, WEISER, VOLICER, SCHILLING, NAEGELI, CONTI, JANKE, LARRÚ, VAJANO, RAVENNA e outros opinam pela inocuidade daquela substância quando empregada em dose moderada.

Entre nós, o Prof. EGAS MONIZ, que pela primeira vez empregou substâncias opacas aos raios X (iodeto de sódio) como meio de visualização radiográfica dos vasos cerebraes, desde 1931 que utiliza o torotraste. O número de doentes estudados pelo método encefalográfico é já considerável e,

(1) A injeção intravenosa de doses elevadas (8 c.c. ou mais, por quilo de peso vivo) pode, contudo, produzir a morte imediata de coelhos (KADRKA, HUGUENIN, NEMOURS & ALBOT, HERNANI MONTEIRO).

no entanto, o Prof. EGAS MONIZ mantém a sua primitiva afirmação de que o tório coloidal estabilizado se mostra constantemente destituído de toxicidade.

As conclusões dos autores que se fundamentam em resultados experimentais estão muito longe do acôrdo completo.

HUGUENIN, NEMOURS & ALBOT verificaram a existência duma hepatite difusa citolítica com clarificação celular generalizada e alguns aspectos de degenerescência homogênea atrófica consecutivamente à injeção, no Coelho, duma dose moderada de torotraste. A hepatite não é muito acentuada, mas bem evidente nos seus aspectos morfológico e funcional, e os autores citados escrevem: «*lorsqu'on multiplie les injections de thorotrast, plus les injections sont répétées, plus l'hépatite s'accroît*».

Para KADRKA & ROSSIER, só as doses muito elevadas (10 a 14 c.c. por quilo de pêso vivo) provocam lesões degenerativas e necróticas do parênquima hepático. As pequenas quantidades de torotraste, que se injectam para a hepatolienografia no Coelho (0,5 a 1 c.c. por quilo de pêso vivo), não exercem qualquer acção nefasta naquêlo ou noutros órgãos.

ANDERS & LEITNER, AMELL-SANS, LIVERANI, TRAMONTANO e SHUTE & DAVIS, além doutros, confirmam a toxicidade do bióxido de tório, especialmente sôbre os parênquimas hepático e esplênico.

LAMBIN e BARBIERI & ROMANO criminam a mesma substância por lesões dos órgãos hematopoiéticos, as quais se traduzem por anemia intensa, mas BOGETTI & SOTTPANI e RAVENNA não confirmam o facto.

No Laboratório de Medicina operatória da Faculdade de Medicina do Pôrto, o Prof. HERNANI MONTEIRO e os seus colaboradores Profs. R. CARVALHO, A. RODRIGUES e S. PEREIRA, desde 1931 que recorrem a êste coloide nas suas experiências de visualização dos linfáticos no Coelho e no Cão. Estudos histológicos feitos, nalgumas das suas observações, pelo Dr. JOSÉ BACELAR, permitiram concluir que o metal, mesmo quando empregado em doses moderadas, é responsável por

lesões acentuadas, degenerativas e necróticas, principalmente do parênquima hepático.

A resultados diferentes dos que acabam de ser expostos acerca da acção tóxica do torotraste sôbre as células reticulo-endoteliais ou parenquimatosas dos órgãos em que se deposita, chegaram RANDEKATT & SCHLESINGER, MORPURGO, KARLO RADONICI, KADRKA e BAUMANN & SCHILLING.

A circunstância de ter examinado histologicamente as vísceras de cerca de 40 coelhos injectados com esta substância e sacrificados a tempos variáveis (de 24 horas a mais de 9 meses) autoriza-me a bordar algumas considerações a este propósito.

Os animais das minhas experiências, conquanto suportassem sem inconveniente, no momento da injectação, quantidades relativamente grandes de tório (7 a 9 c.c. por quilo de peso vivo), emmagreciam depois rapidamente, ao mesmo tempo que se mostravam abatidos e anoréxicos. Todavia, este período de depressão orgânica era passageiro, pois já ao cabo de 15 a 20 dias o estado geral começava a melhorar e o peso a subir.

O coelho da Obs. XCII, que pesava 2.035 gr. na ocasião em que foi injectado com 13 c.c. de torotraste e se começou a pincelagem com alcatrão da hulha na face interna das orelhas, emmagreceu de modo notável logo nos primeiros 15 dias e, ao cabo de 3 meses, quando se interromperam as pinceladas, diminuiu já 830 gr. de peso. O estado geral não tarda, porém, a melhorar e, em breve, o animal atinge dimensões invulgares (53 cm. de comprimento); 17 meses depois do início da experiência e um ano após a interrupção do alcatroamento, pesa 4.600 gr. e apresenta uma saúde florescente (Fig. 25).

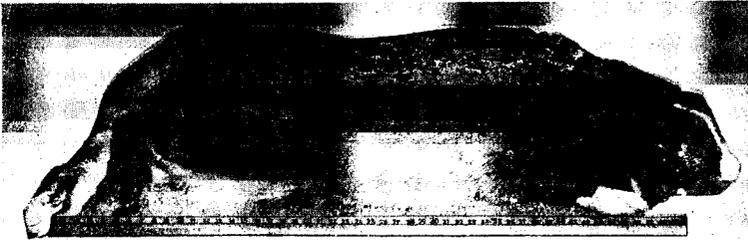
Uma radiografia (Fig. 21, pág. 141) tirada pelo Prof. ROBERTO CARVALHO em 15-III-1935, mostra, no entanto, que o bióxido de tório está depositado em grande quantidade no baço, no fígado e na medula óssea.

O exame hemoleucocitário do animal relativo à Obs. XCIII acusa uma leve descida do número de glóbulos rubros, 19 e 42 horas depois da injectação de 5 c.c. de tório na corrente circu-

latória. Durante o mesmo período, as modificações do número dos leucócitos são pouco importantes.

Se estes resultados parecem depôr em favor da inocuidade relativa desta substância, o mesmo se não conclui do exame histológico das vísceras dos animais injectados.

Os coelhos sacrificados dentro do primeiro mês consecutivo à injeção do coloide não apresentavam lesões hepáticas, esplênicas ou da medula óssea bem aparentes. A cirrose biliar que encontrei no animal da Obs. XXXI não está dependente da acção tóxica do metal, porquanto o coelho foi sacrificado 24 horas depois da última injeção, tempo manifestamente insuficiente para o aparecimento das lesões apontadas.



(Fotografia de M. FERREIRA)

Fig. 25 — *Coelho injectado com torotraste há 17 meses (Obs. xci)*

Nos coelhos de longa sobrevivência observei frequentemente lesões acentuadas no fígado e no baço. Neste órgão traduzem-se por rarefacção dos elementos linfoides e hiperplasia considerável das células reticulo-endoteliais, como acontece no baço do animal da Obs. XCI, em que a polpa vermelha está reduzida quâsi exclusivamente às células do reticulo-endotélio (Fig. 24).

No fígado vêem-se com freqüência zonas de tecido esclerosado onde o torotraste se acumula em abundância. Todavia, apenas possui numerosos grânulos desta substância o tecido de esclerose formado posteriormente à introdução do metal no organismo. Como já tive ocasião de dizer, quando se constitui o granuloma reparador, depois da necrose duma

porção do parênquima hepático, para aí se deslocam, dos lóbulos vizinhos, as células de KUPFFER carregadas de grânulos. E, assim, nos coelhos que sobrevivem muito tempo à injeção de torotraste, este produto desaparece das células dos sinusoides hepáticos e acumula-se nos pontos esclerosados, por vezes em tal quantidade que se observa uma toalha extensa de massas de grânulos de tório apenas interrompida, de onde a onde, pelos vasos sanguíneos e canaliculos biliares (Fig. 26). Pelo contrário, quando à data da injeção já existe o tecido esclerosado, nêle se deposita uma quantidade insignificante do produto.

A existência, no fígado dalguns animais injectados com torotraste, de focos necróticos formados depois da injeção deste hidrossol, e bem assim a mobilização das células de KUPFFER para os locais onde se assiste à reparação dos parênquimas alterados, são factos tam evidentes que não me deixaram a menor dúvida.

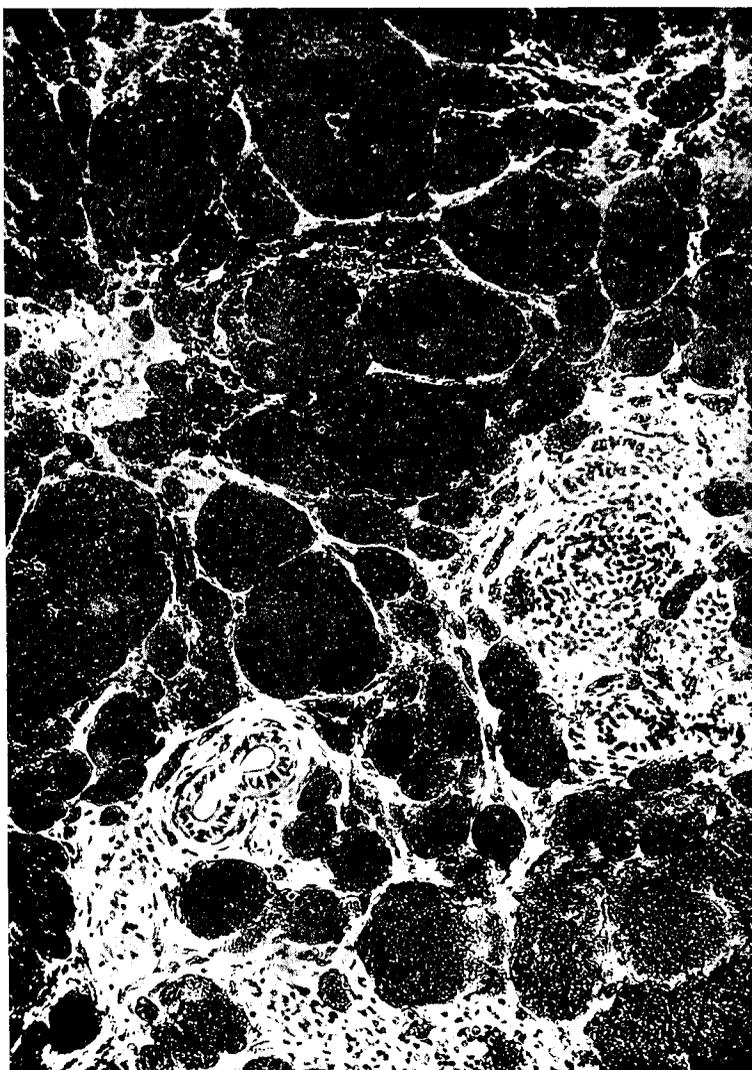
Afigura-se-me, porém, difícil interpretar e determinar a causa da necrose.

As lesões parenquimatosas produzidas pelo tório, metal de pêso atômico muito elevado, podem atribuir-se tanto às suas propriedades tóxicas ou rádioactivas como à compressão exercida sobre os tecidos, em que se deposita, ou ao exagerado trabalho excretor que a sua eliminação exige.

A toxicidade, no sentido farmacológico da palavra — segundo a expressão do Prof. HERNANI MONTEIRO — parece não existir, pois que, o produto é quasi insolúvel; mas certo é que, pelos seus caracteres físicos, pode determinar fenómenos de choque coloidal.

Para WEISER, certos efeitos nocivos do torotraste estariam dependentes da sua rádioactividade, opinião que KADRINKA não partilha, por lhe parecer tal propriedade tam pouco acentuada que se pode considerar, praticamente, como nula.

É oportuno registar que BAUMANN & SCHILLING expuseram, durante algum tempo, uma película radiográfica à acção directa do tório e não verificaram a mínima modificação da



(Microfotografia)

Fig. 26—*Fígado de coelho injectado com torotraste (Obs. xci)*

Destrução completa do parênquima hepático; por entre as volumosas massas de tório reconhecem-se alguns canaliculos biliares e vasos sangüíneos.

camada sensível, modificação, pelo contrário, bem aparente sob a acção do rádio. HAAN & HERZOG repetiram esta experiência com resultados idênticos.

Também tive ocasião de expôr uma película radiográfica, protegida por um simples invólucro de papel preto, à acção muito prolongada (mais de 48 horas) das vísceras do animal da Obs. XCI, muito ricas de tório, como o demonstrou o respectivo exame histológico; esta película nem mesmo levemente foi impressionada.

Se a compressão exercida pelas volumosas massas de grânulos do coloide sôbre os elementos parenquimatosos do baço, do fígado e da medula óssea é capaz de produzir a atrofia dalguns dêles, só em condições verdadeiramente excepcionais poderá determinar a necrose das células.

Embora o torotraste se fixe demoradamente nos tecidos — a ponto de, praticamente, se falar da sua retenção integral — é inegável que o rim, o fígado e o pulmão eliminam pequenas quantidades. O dispêndio de energia que essa eliminação ou elaboração exige pode fazer pensar, como li algures, num esgotamento fisiológico suficiente para, em certos casos, provocar a morte da célula.

Ora, se cada um dêstes factores por si só não basta para explicar as diferentes variedades de lesões parenquimatosas ou reticulo-endoteliais, o mesmo não acontece se considerarmos a sua acção conjunta.

No entanto, não se deve esquecer que são muito frequentes no Coelho as hepatites parenquimatosas ou intersticiais espontâneas, com focos de necrose de extensão variável.

O conhecimento dêste facto impõe a necessidade de se interpretarem com muita prudência as lesões hepáticas observadas nos animais impregnados pelo tório coloidal.

Nalgumas das minhas experiências, a esclerose hepática observada não está, por certo, directamente dependente da acção do tório; noutras, porém determinadas lesões parenquimatosas podem ser-lhe atribuídas.

Sendo assim, o torotraste deve considerar-se como uma substância nociva para o organismo.

Do que acabo de expor acêrca do problema abordado neste

capítulo se depreende a realidade do bloqueio histológico das células retículo-endoteliais, consideradas isoladamente, pois êstes elementos, quando carregados de grânulos, têm fraca propensão para flocular outras substâncias.

O bloqueio histológico do sistema retículo-endotelial, mesmo quando associado à esplenectomia, não pode admitir-se, dada a impossibilidade de se impregnarem vitalmente tôdas as células ao mesmo tempo, sejam quais fôrem a dose e a natureza dos coloides empregados, o ritmo e a via por que se introduzam no organismo. Esta impossibilidade resulta, não só da hiperplasia das células histiocitárias, conseqüente à exérese do baço e à impregnação coloidal, e da existência do bloqueio fisiológico, como ainda — segundo o conceito que acabei por fazer do S. R. E. — da evolução e renovação constante das células do sistema.

Os elementos reticulo-endoteliais, embora carregados de grânulos, continuam a manifestar e a exercer as funções que lhes são peculiares.

As reacções observadas nos animais bloqueados não podem ser atribuídas exclusivamente ao bloqueio, porque são tóxicas — na maior parte, senão tôdas — as substâncias utilizadas para êste fim.

Êstes argumentos autorizam-me a concluir:

Porque não é possível o bloqueio do S. R. E., tôdas as conclusões formuladas e alicerçadas exclusivamente na prática de tal método carecem de confirmação.

MONÓCITOS E SISTEMA RETÍCULO-ENDOTELIAL

O estudo do sistema retículo-endotelial por meio de injeções de substâncias coloidais veio revelar a existência, no sangue periférico, de elementos mononucleados cujo citoplasma continha granulações do coloide injectado. Esta observação sugeriu aos primeiros investigadores que do facto deram conta a idea duma relação genética entre monócitos e elementos histiocitários e, desde então, patologistas, hematologistas e clínicos se ocuparam do assunto, estabelecendo certo número de factos de ordem embriológica, experimental e clínica que demonstram a realidade dessa relação.

Ao abordar o estudo d'este problema não devo deixar de fazer referência, ainda que ligeira, à hematopoiese no embrião e no adulto, frizando essencialmente os pontos que mais se relacionam com a génese dos monócitos.

Como se sabe, na parede do saco vitelino formam-se aglomerados de elementos mesenquimatosos que constituem as ilhotas de WOLF e PANDER e cujas células foram identificadas com os hemohistioblastos por FERRATA & NEGREIROS RINALDI. Segundo MAXIMOW, no decorrer da ontogénese, as

células das ilhotas sangüíneas, enquanto segregam o plasma sangüíneo primordial, diferenciam-se em dois sentidos: as mais periféricas achatam-se e delimitam pequenos canaliculos, os primitivos vasos sangüíneos; as mais centrais isolam-se e nadam no lumen dos primitivos vasos, sofrem em seguida modificações variadas (o citoplasma torna-se progressivamente mais acidófilo e carrega-se de hemoglobina, ao mesmo tempo que se apaga o núcleo) até à formação de eritroblastos primitivos ou megalócitos, que têm vida efêmera, pois desaparecem rapidamente.

Durante algum tempo, o endotélio dos vasos sangüíneos produz novas células livres, amiboides, de citoplasma muito abundante, pálido e vacuolar, as quais, segundo o autor citado, devem ser consideradas como células migrantes ou histioides e, portanto, como os primeiros representantes dos elementos histiocitários e monocitários. Ainda neste período, células não diferenciadas do mesênquima banal podem emigrar para os vasos sangüíneos e dar elementos semelhantes aos já referidos, apenas com a diferença de que estes se produzem no mesênquima, ao passo que os anteriores tinham sua origem no endotélio dos vasos primordiais.

Nos Mamíferos, depois da regressão do saco vitelino, o fígado e o baço produzem os diversos elementos figurados do sangue, mas, antes de terminada a hematopoiese nestes órgãos, entram em função a medula óssea e os aglomerados linfáticos, que, juntamente com o baço, originam, no estado adulto, todos os glóbulos sangüíneos.

Vê-se, pois, que os primeiros glóbulos sangüíneos são de origem mesenquimatosa, que elementos monocitários ou histioides se produzem à custa dos endotélios primitivos ou de elementos emigrados do mesênquima banal, e ainda que células mesenquimatosas vão formar, em diversos locais da economia, órgãos encarregados da constante renovação dos leucócitos adultos.

Ao relativo acôrdo que existe entre os hematologistas no tocante à hematopoiese embrionária, opõe-se a divergência das escolas unicista, dualista e polifilética, quando se considera a hematopoiese no adulto.

Para os defensores da velha teoria unitária, o linfócito, circulante ou não, conservaria a capacidade de evoluir para a série granulocitária através de formas intermediárias ou de transição, nas quais se compreende a fase de grande mononuclear ou monócito; êste não representaria, portanto, mais do que um estágio passageiro de diferenciação da célula primordial.

Para os antigos dualistas, e principalmente para EHRLICH, o tecido linfopoietico abrange os parênquimas mieloide e linfático. O primeiro teria como célula original o mielócito, de que derivariam os granulócitos e os grandes mononucleares; êstes poderiam transformar-se em granulócitos na corrente circulatória. Do parênquima linfoide, cujo elemento primordial seria o linfoblasto, originar-se-iam exclusivamente os linfócitos.

HELLY partilha da opinião de EHRLICH, mas atribui ao parênquima linfoide a faculdade de produzir os monócitos.

A antiga teoria dualista é sustentada por NAEGELI e SCHRIDDE, que consideram os elementos circulantes como formas de evolução completa. As células primordiais seriam, para NAEGELI, o mieloblasto e o pequeno linfócito. Do mieloblasto, além dos elementos da série granulocitária, derivaria o monócito, e êste modo de ver é aceito também por ASKANAZY, entre outros. SCHRIDDE filia os granulócitos no mieloblasto e êste nas células endoteliais dos vasos sangüíneos; os linfócitos formar-se-iam do revestimento endotelial dos vasos linfáticos.

Mais modernamente, FERRATA admite, como os defensores do neodualismo, que em condições normais os leucócitos do sangue circulante são adultos, susceptíveis simplesmente de leves modificações morfológicas em relação com a idade e a função, mas absolutamente incapazes de diferenciações específicas ulteriores. Desvia-se, porém, dos neodualistas ao afirmar que todos os glóbulos sangüíneos, eritrócitos e leucócitos, derivam de uma célula única indiferente — o hemohistioblasto — situada em todos os órgãos hematopoiéticos.

Os elementos monocitários, para os neo-unicistas no sentido filogénico, proviriam tanto dos parênquimas mieloide ou linfoide, através da fase hemocitoblasto, como directamente do hemohistioblasto.

A morfologia particular dos monócitos desde há muito tempo impressionou os hematologistas, levando-os a admitir a autonomia do grupo celular monocitário do sangue adulto, defendida por RIEUX, baseado no estudo morfológico e histogénico destes elementos, e por PAPPENHEIM depois de estabelecida a natureza específica das suas granulações.

Ao afirmar que estes leucócitos sangüíneos provêm dos endotélios vasculares, PATTELA esboça a idea da origem reticulo-endotelial dos monócitos, a qual se devia desenvolver, mais tarde, com os trabalhos de ASCHOFF e KIYONO.

Êstes autores, que primitivamente atribuíram a todos os mononucleares exclusiva origem histiocitária, verificaram que no sangue circulante os histiócitos cromófilos são muito raros relativamente aos cromófobos e, por isso, pensaram depois que êstes leucócitos tinham uma dupla origem: reticular e mieloide.

No entanto, MORI & SAKAI afirmam que todos os mononucleares derivam do sistema reticulo-histiocitário e ajuntam que, se no sangue circulante aparecem poucas células coradas vitalmente, isso se deve ao facto de o pulmão reter, para os destruir, os monócitos circulantes carregados de grânulos coloidais. A retenção neste órgão, e mesmo no fígado e no baço, dos histiócitos corados que circulam no sangue foi também consignada por CLASING e SIMPSON. Eu próprio admiti, como disse, a hipótese de o rim aprisionar nos glomérulos de MALPIGHI células impregnadas pelo torotraste e pela tinta da China.

Ao atribuir-se ao grupo bem definido e bem distinto dos monócitos origem num tecido celular hematopoiético próprio—o sistema reticulo-endotelial—constituiu-se o trialismo leucocitário, com o qual concordam SCHILLING, MERKLEN & WOLF, SEEMAN, LANG, DAMESHEK, além doutros. Contudo, NAEGLI continua partidário fiel da sua concepção (o monócito deriva sempre do parênquima mieloide) e WEIL & BLOCH concluem que «*le grand mononucléaire (ou monocyte) doit être mis à part pour le moment*».

FERRATA, admitindo a capacidade de produção dos monócitos, quer directamente do hemohistioblasto, quer do hemo-

citoblasto do parênquima linfoide e mieloide — que por sua vez derivariam do hemohistioblasto — não se afasta senão aparentemente da idea daquêles autores que filiam os monócitos no sistema retículo-endotelial.

Os elementos dêste sistema, cuja identidade com os hemohistioblastos deixei entrever, teriam a capacidade de evoluir, no que respeita à hematopoiese no adulto, para os hemocitoblastos que produzem, na medula óssea, indiferentemente granulócitos e eritrócitos, e nos aglomerados linfoides, linfócitos.

A origem retículo-endotelial dos elementos monocitários é defendida modernamente por numerosos autores que alieçam os seus argumentos em factos de ordem muito variada.

Assim, para MAXIMOW, nos primeiros períodos da vida embrionária (quando a hematopoiese está ainda limitada ao saco vitelino) células indiferenciadas do tecido mesenquimatoso (1) podem immigrar para os vasos e tornam-se células migrantes histiogénicas ou histioides, isto é, elementos identificáveis aos monócitos, de que constituem os primeiros representantes. Células monocitárias e retículo-endoteliais têm um parentesco muito estreito desde os primeiros períodos da ontogénese. Nas fases menos avançadas do desenvolvimento embrionário, os monócitos originam-se, por toda a parte, das células fixas mesenquimatosas indiferentes; ulteriormente, quando o endotélio e os fibroblastos se separam do resto do mesênquima, o seu número aumenta, tanto por proliferação autónoma como por neoformação, à custa dos histiócitos quiescentes, que conservam elevado potencial hemopoiético.

Em casos de monocitose muito acentuada, SCHILLING encontrou tôdas as formas intermediárias entre as células retículo-endoteliais e os monócitos. O mesmo facto é apontado por DI GUGLIELMO e FIESCHI.

(1) Para êste autor, o mesênquima banal do corpo embrionário sofre uma divisão em duas linhas celulares: uma, a linha fibroblástica, fica irreversivelmente fixada na função de produzir colagénio; a outra é representada por elementos que conservam toda a vida um carácter indiferenciado. Êstes últimos constituem o sistema retículo-endotelial.

Num trabalho recente, CASSIANO NEVES & ROBERTO CHAVES relatam um caso de leucémia aguda terminada pela morte; os diversos exames citológicos a que procederam mostraram-lhes elementos mononucleares com caracteres atípicos e que identificaram como células monocitoides. Pelo que respeita às suas relações com os elementos retículo-endoteliais, opinam os autores que as células monocitárias observadas poderiam ter evoluído a partir do retículo-endotélio, seguindo uma linha semelhante à dos monócitos, desviada, mas próxima.

À parte as leucémias de monócitos (primitivamente descritas por SCHILLING e depois observadas por outros autores, e nas quais a autópsia mostrava uma reacção intensa e generalizada de todo o sistema retículo-endotelial), numerosos são os casos nosológicos em que a reacção retículo-endotelial mais ou menos acentuada se traduz pela presença de abundantes elementos mononucleados, monocitoides ou monocitários no sangue circulante. ESPOSITO encontra êsses elementos em tifosos, VILLA nota-os em casos de psoríase e de angina subaguda, JOSEPH, MERKLEN & WOLF e ARRIGONI na endocardite maligna lenta, CONTI na mielose aplástica criptogenética, FRANCO e CAPUA em indivíduos atacados de Leishmaniose. Na angina de monócitos descrevem-nos DU BOIS e BOCK, ERHARD & WIEDE. Na malária viram-nos MANAI e FERRATA & NEGREIROS RINALDI.

Devo mencionar, contudo, a possibilidade de hiperplasias retículo-endoteliais sem influência no sangue periférico (AKIBA e MERKLEN, GÉRY & ISRAEL). Num caso de aleucia verdadeira consecutiva à intoxicação pelo benzol, êstes últimos autores verificaram que as células do sistema retículo-endotelial não se mobilizavam espontaneamente, não obstante a sua intensa hiperplasia. Apenas a injeção de adrenalina, motivando a contracção do baço, era capaz de lançar algumas células mononucleadas na corrente circulatória, mas sempre em escasso número.

Factos de ordem experimental corroboram as observações clínicas. RENZETTI pôde encontrar tôdas as formas intermediárias entre a célula indiferenciada cromófila e o monócito adulto no sangue de coelhos injectados com azul do Tripán.

Na opinião de BABÈS, a acentuada hiperplasia das células retículo-endoteliais do baço de coelhos pincelados com alcatrão explica a monocitose que estes animais apresentam constantemente; nesta observação se baseia para atribuir aos monócitos origem histiocitária.

Numa nota que, de colaboração com o Dr. JOSÉ BACELAR, apresentei em 1933 à *Sociedade de Biologia*, mencionam-se os resultados das nossas pesquisas sôbre as variações leucocitárias no decorrer do desenvolvimento de tumores experimentais do alcatrão no Coelho. Embora tivessemos determinado numerosas fórmulas leucocitárias em algumas dezenas de animais, não encontrámos a monocitose a que BABÈS alude. No entanto, passando agora em revista as preparações dos baços dos coelhos então estudados, verifico que as alterações estruturais dêste órgão são idênticas às descritas por aquêle autor.

Em coelhos, cobaios e gatos envenenados com acetato neutro de chumbo notou LENZI que a chamada mononucleose saturnina é constituída por elementos monocíticos de estrutura semelhante à das células retículo-histiocitárias, das quais derivam por sucessivas fases evolutivas. Também como consequência da intoxicação de coelhos pela saponina, WNYTS observou uma histiocitêmia e uma monocitose; o exame histológico do fígado e do baço permitiu-lhe afirmar a origem retículo-endotelial dêstes elementos.

O estudo das preparações das vísceras, especialmente do baço, dos numerosos animais que injectei com carmin litinado, tinta da China e torotraste permite-me confirmar a origem retículo-endotelial dos monócitos. De facto, em determinadas zonas do baço, quando se observa um seio esplênico dilatado, notam-se muito bem os elementos endoteliais carregados de granulações. Algumas destas células, em regra uma ou duas, começam a deslocar-se para o interior do seio, os prolongamentos citoplásmicos encurtam-se e, numa dada ocasião, o elemento encontra-se preso à parede apenas por uma pequena porção de citoplasma. Dentro em pouco, a célula desliga-se completamente e torna-se livre na cavidade do seio.

Em suma, do que acabo de expor se infere que a embriologia, a patologia e a própria experimentação fornecem elementos suficientes para demonstrar a origem retículo-endotelial das células mononucleares do sangue circulante.

Em observações de FAU, VOLTERRA, LAPINOSO, PIERAERTS, REZZESI, LAMBIN, HUGUES GOUNELLE e outros regista-se, em seguida à injeção intravenosa dalgumas substâncias coloidais, corantes ou não, franca monocitose, de intensidade e duração variáveis.

A este propósito, o último dos autores citados escreve: «*La suractivité du système réticulo-endothélial par injection a provoqué, comme il fallait s'y attendre, une augmentation très notable du taux des monocytes dans le sang circulant. Ce pourcentage a très fréquemment dépassé 20 p. 100 et a même atteint 34 p. 100. Mais, contrairement à nos prévisions, il ne s'est pas montré continu; il a subi de grosses variations, passant par exemple de 20 p. 100 à 5 p. 100 quelques heures plus tard, remontant le lendemain à 25 p. 100. Les monocytes nous ont semblé faire irruption dans le sang par poussées, et nous avons proposé de donner à ces taux élevés le nom de décharges ou d'avalanches monocytaires.*

Nous avons même avancé une explication de ces phénomènes en émettant l'hypothèse qu'ils pourraient être dus à des contractions spléniques. En effet, la rate, à cause du développement intense de son système réticulo-endothélial, est le siège principal de la formation des monocytes. Les contractions, en mobilisant chaque fois en bloc les cellules endothéliales desquamées dans les sinus, les jetteraient toutes ensemble dans le torrent circulatoire; les monocytes arriveraient ainsi dans le sang périphérique en véritables avalanches. Remarquons d'ailleurs la coexistence de ces décharges avec les taux élevés de monocytes surchargés, comme si ces derniers venaient d'être expulsés des sinus spléniques».

Com o intuito de apreciar o papel que a esplenon-contracção desempenha no determinismo das avalanches monocitárias e ainda para o estudo das variações numéricas dos leucócitos consecutivas à excitação do S. R. E. provocada

por uma única injeção de litio-carmim, efectuei 3 séries de experiências num lote de 14 coelhos.

1.^a série de experiências — (Obs. XCIV a XCVII) — Contagem de leucócitos e determinação da fórmula leucocitária imediatamente antes e a diferentes horas depois duma única injeção, por via intravenosa, de carmim litinado a 1 p. 100, na dose de 2 c.c. do soluto por 100 gr. de pêso vivo.

Visava esta série de experiências ao estudo das avalanches monocitárias, seu ritmo, intensidade e duração, e bem assim ao apuramento das variações numéricas dos restantes glóbulos brancos, em coelhos normais.

Os protocolos relativos aos animais desta série resumem-se nos Quadros V a VIII.

QUADRO V

Obs. XCIV — *Coelho n.º 132.*

	Policromat.	Linfócitos	Monócitos	Eosinófilos	Basófilos
	%	%	%	%	%
Antes da injeção de carmim	45,00	46,80	5,80	0,6	1,8
7 horas depois	62,66	31,66	5,00	0,16	0,5
17 » »	67,60	27,40	4,00	0,6	0,4
20 » »	66,66	28,00	4,66	0,33	0,33
25 » »	66,75	27,00	5,75	0,5	0
37 » »	50,00	27,00	20,00	0,5	2,5
43 » »	53,00	28,60	16,00	0,4	2
48 » »	62,00	28,00	8,00	0,5	1,5
67 » »	52,00	20,80	25,00	0,6	1,6

QUADRO VI

OBS. XCV — *Coelho n.º 142.*

	Leucócitos mmc.	Policromat.		Linfócitos		Monócitos		Eosinófilos		Basófilos	
		mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%
Antes da injeção de carmim	10.800	4220	39,06	5400	50,00	810	7,50	235	2,18	135	1,25
20 horas depois	11.200	4574	40,84	5323	47,53	597	5,33	244	2,18	460	4,11
24 » »	11.300	4577	40,50	5420	48,00	712	6,30	226	2,0	362	3,2
40 » »	10.900	4610	42,30	4764	43,70	916	8,40	196	1,8	414	3,8
46 » »	11.800	4578	38,80	5499	46,60	814	6,90	295	2,5	614	5,2
72 » »	12.200	4523	37,07	5891	48,29	893	7,32	61	0,5	832	6,82

QUADRO VII

OBS. XCVI — *Coelho n.º 196.*

	Leucócitos mmc.	Policromat.		Linfócitos		Monócitos		Eosinófilos		Basófilos	
		mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%
Antes da injeção de carmim	6.425	3169	49,33	2784	43,33	257	4,00	86	1,33	129	2
16 horas depois	11.350	4597	40,50	4804	42,33	1760	15,00	38	0,33	151	1,33
21 » »	7.800	2418	31,00	4121	52,83	1170	15,00	13	0,16	78	1
24 » »	9.900	4851	49,00	4221	42,63	737	7,45	0	0	91	0,91
40 » »	9.500	3274	34,46	3873	40,77	2178	22,92	0	0	175	1,84
45 » »	10.600	3201	30,20	5491	51,80	1675	15,80	42	0,2	191	1,80
48 » »	11.300	3390	30,00	5040	44,60	2734	24,20	23	0,2	113	1
64 » »	10.000	2440	24,40	5300	53,00	2120	21,20	20	0,2	120	1,2
67 » »	11.000	3466	31,50	5078	46,16	2273	20,66	55	0,5	127	1,16

QUADRO VIII

OBS. XCVII — *Coelho n.º 198.*

	Leucócitos mmc.	Policromat.		Linfócitos		Monócitos		Eosinófilos		Basófilos	
		mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%
Antes da injeção de carmim	5.700	1288	22,60	3841	67,40	365	6,40	23	0,4	182	3,2
16 horas depois	5.700	1354	23,77	3763	66,03	462	8,11	0	0	118	2,08
19 » »	5.500	1386	25,20	3542	64,40	407	7,40	44	0,8	121	2,2
23 » »	5.050	1212	24,00	3434	68,00	252	5,00	25	0,5	252	2,5
25 » »	5.430	1502	27,66	3222	59,33	597	11,00	0	0	109	2
40 » »	5.650	2344	41,50	2523	44,66	650	11,50	10	0,18	122	2,16
43 » »	5.200	2288	44,00	2392	46,00	338	6,50	26	0,5	156	3
46 » »	5.000	2290	45,80	2160	43,20	340	6,80	50	1	160	3,2
48 » »	6.250	2625	42,00	2896	46,33	438	7,00	63	1	228	3,66

2.ª série — (Obs. XCVIII a CII) — Esplenectomia e determinação do número global de leucócitos e da fórmula leucocitária antes e a diferentes horas depois duma dose de carmim litinado, nas condições das experiências anteriores.

Procurava-se, assim, verificar se as descargas monocitárias se observavam após a esplenectomia.

Nos Quadros IX a XIII menciono os resultados obtidos nestes 5 coelhos.

QUADRO IX

OBS. XCVIII — *Coelho n.º 128.*

	Policromat.	Linfócitos	Monócitos	Eosinófilos	Basófilos
	%	%	%	%	%
Antes da injeção de carmim	52,38	36,66	9,05	0,70	1,20
7 horas depois	57,66	31,66	10	0,16	0,50
20 » »	56,00	34,66	9	0	0,33

QUADRO X

Obs. XCIX — *Coelho n.º 196-A.*

	Leucócitos mmc.	Policromat.		Linfócitos		Monócitos		Eosinófilos		Basófilos	
		mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%
Antes da injeção de carmim	14.200	9088	64,00	3905	27,50	1065	7,50	35	0,25	106	0,75
16 horas depois	14.100	5304	37,62	6891	48,87	1429	10,13	106	0,75	369	2,62
20 » »	14.000	6740	48,14	5420	38,71	1700	12,14	0	0	140	1,00

QUADRO XI

Obs. C — *Coelho n.º 197.*

	Leucócitos mmc.	Policromat.		Linfócitos		Monócitos		Eosinófilos		Basófilos	
		mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%
Antes da injeção de carmim	10.100	2969	29,40	6301	62,40	525	5,20	125	1,25	180	1,80
17 horas depois	7.650	1645	21,50	5304	69,33	535	7,00	64	0,83	102	1,33
22 » »	11.200	2674	23,87	6790	60,62	1512	13,50	112	1	112	1
25 » »	12.000	2862	23,85	7422	61,85	1502	12,85	70	0,57	104	0,85
41 » »	10.700	3274	30,60	6292	58,80	921	8,60	64	0,60	150	1,40
47 » »	10.700	3906	36,50	6063	56,66	642	6,00	17	0,16	72	0,66
49 » »	9.400	3321	35,33	5402	57,47	564	6,00	18	0,20	94	1
65 » »	11.600	3924	34,00	6821	58,80	716	6,00	23	0,20	116	1
68 » »	11.200	4368	39,00	5880	52,50	868	7,75	0	0	84	0,75

QUADRO XII

Obs. CI — *Coelho n.º 198-A.*

	Leucócitos mmc.	Policromat.		Linfócitos		Monócitos		Eosinófilos		Basófilos	
		mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%
Antes da injeção de carmim	9.600	7104	77,00	1032	17,00	749	7,8	0	0	115	1,20
16 horas depois	8.500	3966	46,66	2975	35,00	1105	13,0	28	0,33	425	5
20 » »	8.600	4644	54,00	2722	31,66	989	11,5	43	0,50	200	2,33

QUADRO XIII

OBS. CII — *Coelho n.º 199.*

	Leucócitos mmc.	Policromat.		Linfócitos		Monócitos		Eosinófilos		Ba sófilos	
		mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%
Antes da injeção de carmim	11.200	6092	54,40	4144	37,00	694	6,20	90	0,80	180	1,60
23 horas depois	14.600	9986	68,40	2920	20,00	1314	9,00	58	0,40	321	2,20
28 » »	12.600	8501	67,47	2806	22,26	1134	9,00	47	0,37	110	0,87
31 » »	14.500	9182	63,33	4350	30,00	821	5,66	96	0,66	48	0,33
47 » »	17.500	12190	69,66	4112	23,50	816	4,66	27	0,15	350	2,00
52 » »	16.100	10743	66,73	4361	27,09	820	5,09	87	0,54	87	0,54
55 » »	14.400	11128	77,28	2468	17,14	720	5,00	20	0,14	61	0,42
69 » »	16.600	12989	78,25	2490	15,00	872	5,25	42	0,25	208	1,25
72 » »	15.900	11194	70,40	3591	22,60	859	5,40	32	0,20	223	1,40

3.^a série—(Obs. CIII a CVII)—Estudo das modificações leucocitárias obtidas pela injeção intravenosa de adrenalina, na dose de 0,0001 por quilo de peso vivo, em coelhos normais e esplenectomizados.

Tentava, dêste modo, avaliar a influência exclusiva da espleno-contracção sobre as modificações leucocitárias e apreciar o papel desempenhado pela adrenalina após a exclusão funcional do baço.

Em experiências anteriores, tive ocasião de reconhecer que a colheita de sangue na veia marginal da orelha do Coelho, para contagem de leucócitos e determinação da fórmula leucocitária, era susceptível de causas de erro nem sempre possíveis de evitar ⁽¹⁾; afastei a possibilidade de

(1) Tanto o número total de leucócitos como as suas percentagens sofrem variações consideráveis de colheita para colheita, mercê das modificações de temperatura das orelhas, da maior ou menor actividade da circulação sanguínea e ainda da possível influência, para futuras colheitas, em prazos aproximados, das picadas da colheita anterior.

tais êrros colhendo o sangue directamente no coração. Se se utilizar uma agulha de calibre muito fino (0,4 mm. de diâmetro), êste órgão suporta, sem grande inconveniente, numerosas punções. O fino calibre da agulha permite que o mesmo operador faça a colheita de sangue para contagem de leucócitos e alguns esfregaços para a fórmula leucocitária, com prejuízo apenas de 2 ou 3 gotas de sangue, quantidade absolutamente insignificante para influenciar, de modo apreciável, a leucocitometria.

Depois de frizado êste ponto de técnica, que me parece de grande importância num assunto desta índole, vou relatar os resultados obtidos.

Em 3 dos coelhos da primeira série de experiências, o número global de leucócitos manteve-se sem variações importantes em dois animais (Obs. XCV e XCVII), ao passo que no restante (Obs. XCVI) foram bem aparentes, embora de intensidade muito irregular.

Pelo que respeita aos granulócitos policromatófilos ⁽¹⁾ observei, dentro das primeiras 80 horas após a injeção do corante, variações pouco acentuadas num dos coelhos (Obs. XCV), percentagens progressivamente menores e com pequenas oscilações intermediárias noutra (Obs. XCVI), precisamente o inverso na Obs. XCVII, e uma subida franca, a princípio, e baixa, em seguida, no primeiro animal da série (Obs. XCIV).

Com os linfócitos os fenómenos passaram-se de modo inverso, isto é, nos animais em que aumentou a taxa dos policromatófilos diminuiu, às vezes quasi proporcionalmente, a percentagem dos linfócitos e vice-versa.

(1) No Coelho e na Cobaia os granulócitos neutrófilos são muito raros, quasi excepcionais (LOEWENTHAL).

Os glóbulos que correspondem aos neutrófilos do Homem apresentam granulações volumosas muito semelhantes, pela morfologia, tamanho e, em parte, pelas afinidades tinctoriais, às dos eosinófilos. Por êste motivo, alguns autores denominam tais células granulócitos *pseudo-eosinófilos*, enquanto outros preferem a designação de granulócitos *anfófilos*, dada a afinidade das granulações para os corantes ácidos e básicos.

Em trabalho anterior tive oportunidade de demonstrar que essas granulações, muito irregulares no tamanho e na morfologia, se coram indiferentemente por substâncias neutras, ácidas e básicas e que, no mesmo elemento, se encontra, por vezes, a associação de duas ou até das três espécies de granulações. Êste factó levou-me a chamar granulócitos *policromatófilos* às células em questão.

Os mastleucócitos e os eosinófilos experimentaram leves alterações numéricas em todos os animais; todavia, no coelho da Obs. XCV a taxa mastleucocitária subiu progressivamente, do começo ao cabo da experiência, de 1,25 até 6,82 p. 100.

Nos gráficos das Figs. 27 e 28 apreciam-se rapidamente

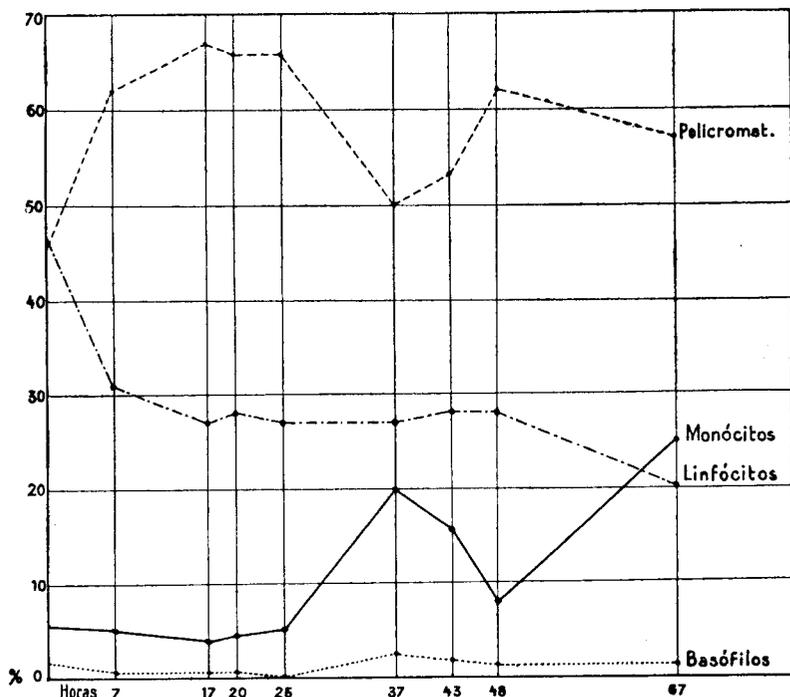


Fig. 27 — Variações da fórmula leucocitária consecutivas à injeção intravenosa de lítio-carmim num coelho normal (Obs. xciv).

as modificações das porcentagens dos diferentes leucócitos em dois dos coelhos desta série.

As variações leucocitárias, tam diferentes, no sentido e intensidade, de animal para animal, parecem-me independentes da influência exercida pela floculação do carmim litinado nas células retículo-endoteliais.

No tocante à percentagem dos monócitos, registam-se variações pouco acentuadas na Obs. XCV — percentagem

mínima 5,33, máxima 8,40 — e mais amplas na Obs. XCVII: a taxa de 6,40, antes da injeccção de carmim, elevou-se a 11 p. 100 ao fim de 25 horas e manteve-se a êste nível até ao cabo de 40.

Nos animais das experiências XCIV e XCVI a monocitose foi franca e intensa, no primeiro ao cabo de 37, 43 e 67 horas, e no segundo depois de 16, 21, 40, 48, 64 e 67 horas. Quere dizer: uma só injeccção, por via intravenosa,

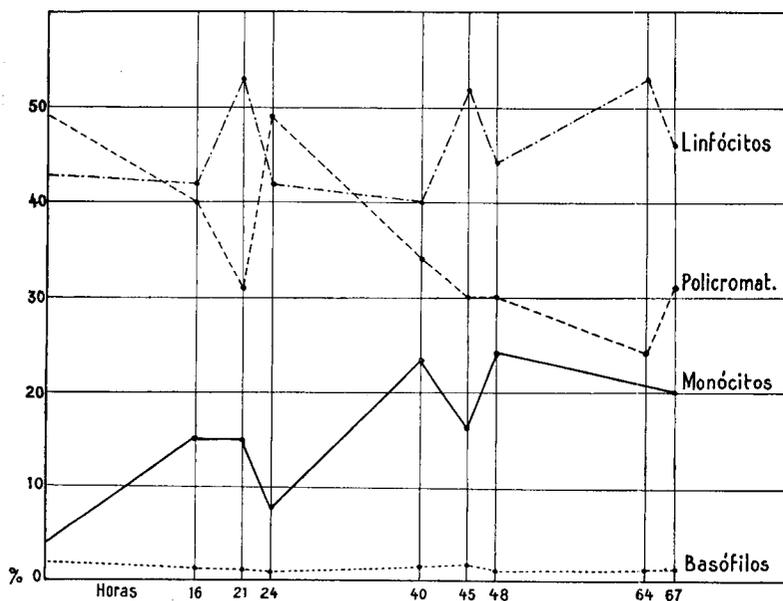


Fig. 28 — Variações da fórmula leucocitária depois da injeccção intravenosa de lítio-carmim num coelho normal (Obs. xcvi).

de carmim litinado, na dose por mim utilizada, é susceptível de determinar as avalanches monocitárias de GOUNELLE. Estas, nas primeiras 80 horas após a administração do carmim, não são constantes, pois em 4 animais estudados faltaram uma vez, embora as colheitas sanguíneas fôsse numerosas dentro daquêle período.

A intensidade e o ritmo são variáveis, como se infere da análise do Quadro XIV, onde se mencionam somente as percentagens de monócitos. Com efeito, na Obs. XCVII o

QUADRO XIV

	Obs. XCIV Monóc. %	Obs. XCV Monócitos		Obs. XCVI Monócitos		Obs. XCVII Monócitos	
		mmc.	%	mmc.	%	mmc.	%
Antes da injeção de carmim	5,80	810	7,50	257	4,00	365	6,40
7 horas depois	5,00	—	—	—	—	—	—
16 » »	—	—	—	1760	15,00	462	8,11
17 » »	4,00	—	—	—	—	—	—
19 » »	—	—	—	—	—	407	7,40
20 » »	4,66	597	5,33	—	—	—	—
21 » »	—	—	—	1170	15,00	—	—
23 » »	—	—	—	—	—	252	5,00
24 » »	—	712	6,30	737	7,45	—	—
25 » »	5,75	—	—	—	—	597	11,00
37 » »	20,00	—	—	—	—	—	—
40 » »	—	916	8,40	2178	22,92	650	11,50
43 » »	16,00	—	—	—	—	338	6,50
45 » »	—	—	—	1675	15,80	—	—
46 » »	—	814	6,90	—	—	340	6,80
48 » »	8,00	—	—	2734	24,20	438	7,00
64 » »	—	—	—	2120	21,20	—	—
67 » »	25,00	—	—	2273	20,66	—	—
72 » »	—	893	7,32	—	—	—	—

número destas células quase duplicou, ao passo que na Obs. XCIV atingiu o quádruplo e na Obs. XCVI excedeu o sêxtuplo. O aparecimento da avalanche verificou-se ao cabo de 37, 16 e 25 horas e os números máximos foram encontrados à 67^a, 48^a e 40^a hora, respectivamente, nas Obs. XCIV, XCVI e XCVII.

Em suma: a excitação do sistema reticulo-endotelial pelo carmim litinado determina uma activa descamação dos seus elementos, provocando uma monocitose nem sempre constante e de intensidade e ritmo variáveis.

Antes da análise dos resultados obtidos nos coelhos esplenectomizados devo lembrar que a simples esplenectomia pode provocar importantes modificações leucocitárias. Assim se deduz do seguinte quadro, que BONANNO pôde elaborar à custa de pesquisas bibliográficas muito completas.

Em seguida à exérese esplênica tem-se observado:

Aumento de glóbulos brancos:

- a) transitóriamente (BLUMREICH & JAKOBY, PUGLIESE & LUZZATTI, BUCALOSSI, FOFANOW & MICHAILOW, AZZURRINI & MASSART, SERRA);
- b) por 3 a 6 meses (ZESAS, PIANESE, PACETTO, TRAMONTANO);
- c) por longo tempo (KURLOFF, EHRLICH, OLLINO, ASHER & MESSERLI, REGLIG, KLUNKA, ROSENOW, GODARD & PALIOS, HARTMANN & WAQUEZ, MULÉ, BAYER, MUSSER, JONNESCU).

Diminuição de glóbulos brancos:

- a) nos primeiros 6 meses (KETTLE & LEPEHNE);
- b) tardiamente (AZURRINI & MASSART).

Nenhuma modificação numérica dos glóbulos brancos (MOSLER, PORT, DUBOIS, FREYTAG, BACKMANN & HULTGREN, MICHELE LEVI).

Modificações da fórmula leucocitária:

- a) leucocitose neutrófila seguida de eosinofilia (AZURRINI & MASSART, SERRA);
- b) polinucleose ou linfocitose, consoante a idade (PIANESE);
- c) neutrofilia (BUCALOSSI);
- d) neutrofilia seguida de eosinofilia e linfomononucleose (FOFANOW & MICHAILOW, PACETTO);
- e) linfocitose e mononucleose nos primeiros dias (HIRCHFELD);
- f) leve mononucleose (ORT, GODARD & PALIOS);
- g) linfocitose duradoira (KURLOFF, EHRLICH, PORT, ASHER & MESSERLI, KLUNKA, DUBOIS);
- h) nenhuma variação (FREYTAG, BACKMANN & HULTGREN).

Nos gráficos das Figs. 29 e 30 apreciam-se as variações numéricas dos diferentes leucócitos em dois coelhos esplenectomizados.

No que respeita à percentagem de monócitos (Quadro XV) pode concluir-se:

Num dos animais (Obs. XCVIII), morto em consequência

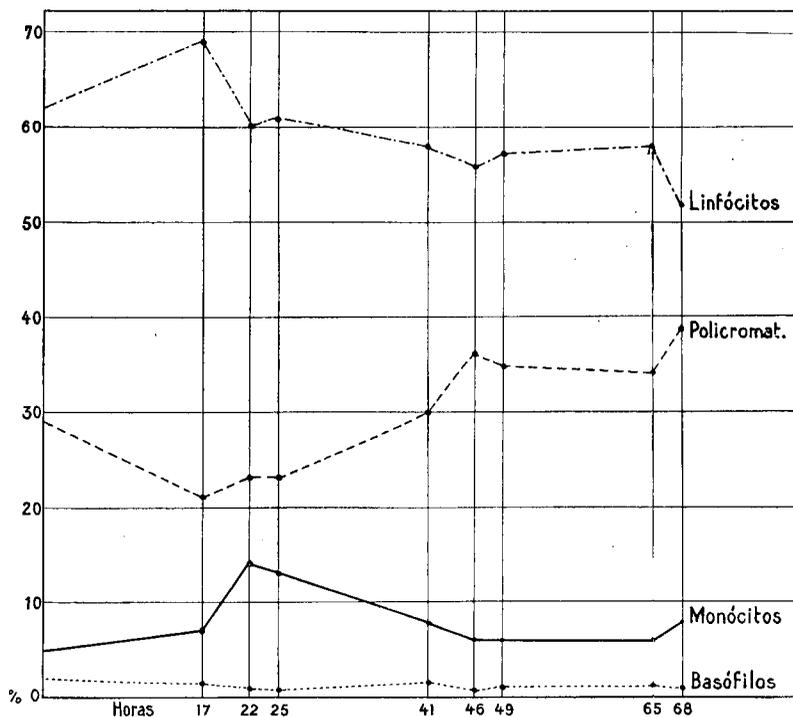


Fig. 29 — Variações da fórmula leucocitária observadas em seguida à injeção intravenosa de lítio-carmim num coelho esplenectomizado (Obs. c).

dum traumatismo casual pouco depois da injeção de carmim, não encontrei modificações sensíveis no estudo hematológico feito ao fim de 7 e 20 horas. No terceiro coelho (Obs. C), o número de monócitos manteve-se sem modificações importantes até ao fim de 17 horas. Passadas, porém, 22 horas, a percentagem subiu de 5,20 para 13,50, mas o número global triplicou; demonstra-se, assim, a exis-

tência duma descarga ou avalanche monocitária, ainda que moderada. Aquêlê número quási não se modifica até à 25.^a hora, descendo em seguida até atingir um número pouco superior ao primitivo e que se torna constante das 46 às 65 horas. No quinto caso (Obs. CII) a monocitose mal atinge o dôbro ao fim de 23 e 28 horas, conservando-se numa taxa

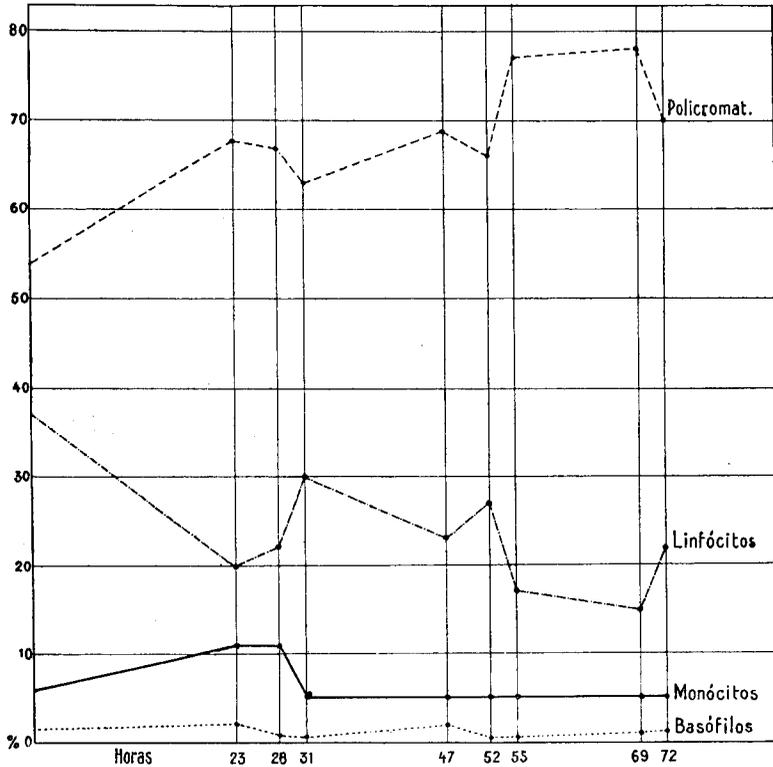


Fig 30 — *Variações da fórmula leucocitária consecutivas à injeção intravenosa de lítio-carmim num coelho esplenectomizado (Obs. CII).*

sensivelmente inferior à normal até ao fim de 72 horas. Nos animais restantes (Obs. XCIX e CI) a monocitose observa-se já ao cabo de 17 e 20 horas.

Verifica-se, pois, que em coelhos esplenectomizados e submetidos às mesmas condições dos da série anterior se podem observar, com certa frequência, avalanches monocitárias.

rias de intensidade e ritmo variáveis. Note-se, contudo, que os números máximos da monocitose dos animais esplenectomizados são bastante inferiores aos obtidos em coelhos normais, como rapidamente se pode verificar pela comparação das Figs. 31 e 32.

Para apreciar o papel desempenhado pela esplenotomização no aumento da percentagem de monócitos procedi a uma terceira série de experiências.

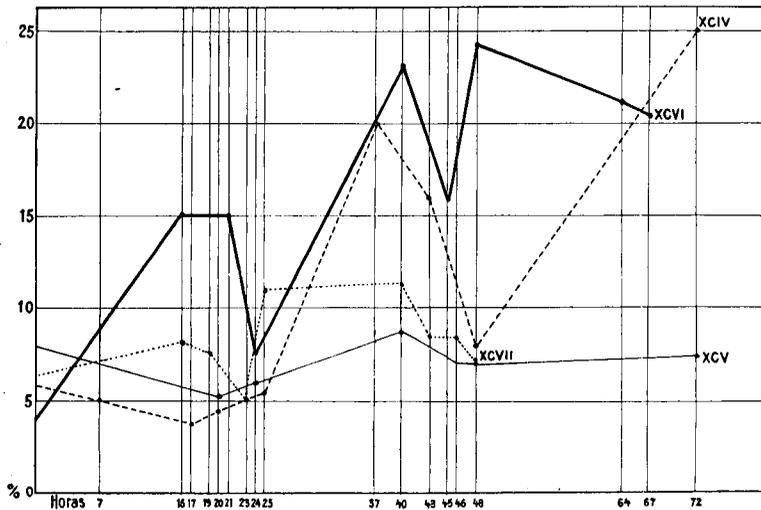


Fig. 31 — Variações das percentagens de monócitos em 4 coelhos normais (Obs. xcvi a xcvi).

A leucitose adrenalínica, mencionada por muitos investigadores, é negada por outros; ao consultarem-se os numerosos trabalhos publicados acêrca desta questão fica-se impressionado com a discordância dos resultados obtidos. Êste desacôrdo é ainda manifesto na interpretação dos fenômenos observados. Parece ser opinião dominante a que admite a existência duma leucitose com variações mínimas da fórmula leucocitária, leucitose esta que se relaciona com a perda de líquido do sangue em seguida à vaso-constricção (SIMÕES RAPOSO), ou se explica pela contracção do baço, que constitui um reservatório de leucócitos (BENIET).

Para ter números comparáveis aos anteriores usei a mesma técnica, estudando as modificações da percentagem de monócitos 10, 20 e 30 minutos depois duma injeção de adrenalina na dose de 0,1 c.c. do soluto normal por quilo-grama de pêso vivo.

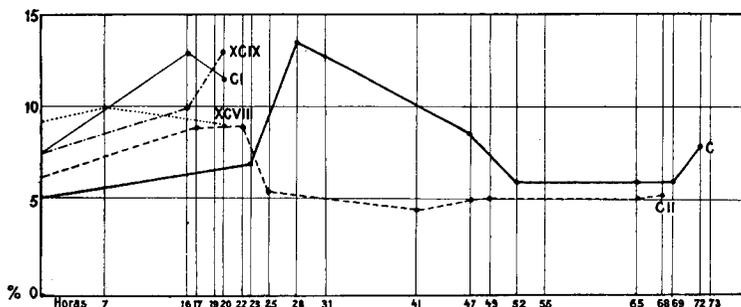


Fig. 32 — Variações das percentagens de monócitos em 5 coelhos esplenectomizados (Obs. xcix a cii).

Os resultados indicados no Quadro XVI permitem-me concluir que, nas minhas experiências, a adrenalina injetada por via intravenosa na dose de um decimilgrama — que determina, como se sabe, uma activa espleno-contracção — não exerceu influência sensível na percentagem de monócitos.

QUADRO XVI

Obs.	Condições da experiência	Antes da inj. de adrenalina Monóc. %	10 minutos depois Monóc. %	15 minutos depois Monóc. %	20 minutos depois Monóc. %	30 minutos depois Monóc. %
CIII	Normal	4,00	—	3,66	—	4,33
CIV	»	4,00	—	4,14	—	3,50
CV	»	5,20	3,91	—	4,00	6,00
CVI	Esplen.º	13,19	—	—	—	9,34
CVII	»	8,16	—	10,50	—	11,00

O número destes elementos nos dois coelhos esplenectomizados (Obs. CVI e CVII) sofreu modificações pouco importantes e em sentido inverso.

De colaboração com o Dr. BEIRÃO REIS apresentei à *Sociedade Anatómica Portuguesa*, reúnida no Pôrto em Setembro de 1934, uma nota preliminar com alguns dos resultados que deixo expostos. Nela escrevêramos:

«Da análise dos nossos resultados pode concluir-se que a espleno-contracção adrenalínica não influencia a percentagem de monócitos e que as descargas monocitárias se podem verificar, embora em menor escala, em coelhos esplenectomizados. Quere dizer, a espleno-contracção não é suficiente nem necessária para determinar as descargas monocitárias; as nossas pesquisas não confirmam, pois, totalmente a hipótese aventada por GOUNELLE.

Em nosso entender, a injeccção de carmim litinado, na dose por nós utilizada, excita os elementos retículo-endoteliais provocando a sua hiperplasia e conseqüente descamação. A identidade morfológica e fisiopatológica das células do sistema retículo-histiocitário leva a pensar que a resposta ao mesmo estímulo (no nosso caso o carmim litinado) seja sensivelmente idêntica e simultânea em todo o sistema. A descamação far-se-ia, assim, por emissões em todos os seus departamentos, determinando a avalanche cuja intensidade será porventura aumentada pela contracção esplénica.

O valor desta contracção não pode ser excluída pelo simples facto de não termos obtido uma monocitose adrenalínica, pois as condições de experiênciã são muito diferentes. Com a adrenalina há, é certo, a contracção do baço, mas este órgão encontrava-se em condições fisiológicas normais: após a injeccção de carmim o baço tem, em determinados períodos, numerosas células endoteliais quasi descamadas e que fãcilmente podem cair na circulaçã sangüínea no momento da contracção. Se, como supomos, esta contracção é susceptível de aumentar a intensidade duma avalanche monocitária, ela não é, todavia, necessária para a explicaçã da sua existênciã, como o demonstra o facto de as avalanches se verificarem em coelhos esplenectomizados. Se nêstes animais a intensidade da avalanche é menor, isso se deve ao facto de, com a excisão daquêle órgão, suprimirmos uma parte importante do sistema encarregado da gênese dos monócitos.»

Depois dum estudo mais completo desta questão, parece-me não ter reunido elementos suficientemente demonstrativos que autorizem conclusão tam categórica. Se, na verdade, se pode admitir que as avalanches monocitárias são determinadas pela descamação, por emissões, das células reticulo-endoteliais hiperplasiadas em consequência da injeção de carmin litinado, também é certo que a simples esplenectomia ocasiona, como referi no capítulo anterior, acentuada proliferação dos elementos retículo-histiocitários em todos os outros departamentos do S. R. E.

Por conseguinte, as avalanches monocitárias encontradas nos coelhos esplenectomizados — de intensidade menor que as observadas nos animais normais — tanto se podem attribuir à excitação determinada pela esplenectomia como à proliferação celular consecutiva à injeção do corante, ou ainda à associação dos dois factores.

A resolução d'este problema exige novas investigações, que eu e o Dr. BEIRÃO REIS estamos no firme propósito de effectuar.

VI

PROVAS FUNCIONAIS DO SISTEMA RETÍCULO-ENDOTELIAL

O estudo experimental da fisiopatologia do sistema de ASCHOFF exige, por vezes, o conhecimento da capacidade funcional dos seus elementos. O exame histológico, que obriga ao sacrifício do animal, em virtude da impossibilidade da colheita de fragmentos dos vários órgãos sem provocar profundas alterações do organismo, apenas orienta sôbre uma das formas dessa actividade — a granulopéxica — sem mesmo fornecer indicações sôbre o sistema no seu conjunto. Impõe-se, portanto, a necessidade de determinar a actividade funcional do S. R. E. por outros meios que, além de poderem elucidar-nos de modo mais completo, não tornem indispensável a morte dos animais e sejam ainda de fácil aplicação à patologia humana.

Os primeiros ensaios nêste sentido devem-se a SAXL & DONATH, que se serviram do oleoconiol.

O oleoconiol é uma emulsão com 20 p. 100 de gordura e cujas gotículas, examinadas ao ultramicroscópio, se apresentam com maiores dimensões e mais brilhantes que as hemocônias; aplicado em injeccção intravenosa, desaparece rápida-

mente do sangue, em virtude da fixação da gordura pelos elementos do sistema retículo-endotelial, especialmente pelas células de KUPFFER.

Partindo-se da hipótese de que estes elementos, carregados de granulações, isto é, bloqueados, não são capazes de flocular, pelo menos na quantidade habitual, outras substâncias, compreende-se a dificuldade da fixação do oleoconiol e, por conseguinte, a sua permanência mais demorada no meio sangüíneo. Se, pelo contrário, por qualquer razão, as células exercem uma granulopexia exagerada, aquêle produto deixa rapidamente a corrente circulatória. A velocidade com que as gotículas de gordura desaparecem do sangue poderia, assim, indicar a actividade coloidopéxica do sistema retículo-endotelial.

Baseados neste conceito, SAXL & DONATH injectam, por via intravenosa, 5 c.c. de oleoconiol e determinam o tempo que esta substância leva a deixar o meio sangüíneo. Em condições normais, bastam 6 a 10 minutos. Uma demora mais curta traduziria o exagêro de actividade, a permanência mais demorada orientaria no sentido duma deficiência granulopéxica.

No domínio da Patologia humana tem esta prova o inconveniente de provocar um conjunto de perturbações, inerentes à injeccão intravenosa duma gordura e que, por vezes, revestem certa gravidade. Além disso, encontraram-se variações tam amplas em indivíduos normais que os resultados, fora dêste estado, difficilmente se podem interpretar. No entanto, alguns autores a têm aproveitado, quer com fins exclusivamente experimentais, quer como meio de apreciação clínica, não obstante JAFFÉ & BERMAN, depois das suas experiências no Cão, não hesitarem em afirmar: «*A fine emulsion of fat can be used as a liver function test, but not as test of the reticulo-endothelial system*».

KAUFFMANN preconiza outro método, que tem o seu nome e consiste no seguinte:

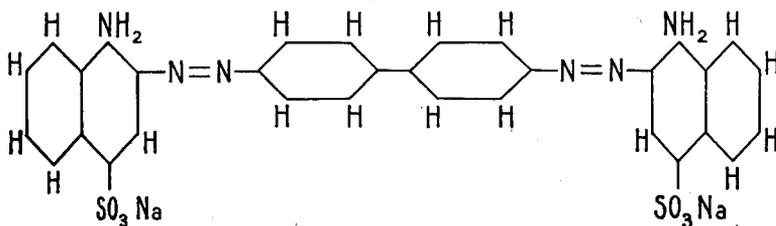
Segundo o autor, a actividade do sistema retículo-endotelial está em relação com a abundância de elementos monocitários na serosidade de flictenas produzidas pela applicação

de ceroto de cantáridas sôbre a pele (porção inferior da coxa ou parte inferior da região dorsal). À grande abundância de monócitos na referida serosidade corresponderia intensa actividade do sistema, e vice-versa.

Êste método, duma simplicidade notável, tem sido objecto de justa crítica: demonstrou-se, de facto, que os elementos mononucleados do liquido flictenular não são apenas monócitos; nêles se compreendem também células endoteliais, provenientes da ruptura dos capilares dérmicos, e histiócitos deslocados do tecido subepidérmico pela acção irritante das cantáridas (CASABONA).

ADLER & REIMANN, quasi contemporaneamente a SAXL & DONATH e baseando-se no mesmo principio que guiou êstes autores, propuzeram, com a mesma finalidade, o uso dum soluto de vermelho do Congo a 1 p. 100. Nesta prova, a actividade funcional do sistema reticulo-endotelial é avaliada pela rapidez de desapareição do corante da corrente circulatória.

O vermelho do Congo (diparadiaminodifenildiazobinaftonato sódico) é uma substância obtida pela combinação das moléculas de ácido naftónico e de benzidina diazotada e tem a seguinte fórmula de constituição (ROFFO & CALCAGNO):



Diluido a 1 p. 100 é completamente inócuo, afirmam todos os autores que o têm usado; há até quem, modernamente, o prescreva como agente terapêutico em determinadas afecções (ZOLEZZI e ROSSAK).

Antes de utilizado por ADLER & REIMANN para o estudo do sistema reticulo-endotelial, serviu a GRIESBACH e outros investigadores para determinar a quantidade de sangue do orga-

nismo, e a BENNHOLD para corar vitalmente a substância amiloide.

O vermelho do Congo, que reveste forma coloidal em meio aquoso, com micelas de carga electro-negativa, está em condições de flocular nas células do sistema retículo-endotelial, — dizem-no, além dos autores do método, PASCHKIS, SCHLAMPFER, NIKOLAEFF & TICHOMIROFF e outros.

No mesmo sentido parecem depor as observações clínicas de WELTMANN & DEUTICKE e de SCHÖNIG, em cujos trabalhos se refere que, em certas afecções, a deminuição da velocidade de eliminação do corante está relacionada com o grau lesional do sistema de ASCHOFF.

Embora tenha de fazer oportunamente referência aos trabalhos de BENNHOLD, não devo deixar de acentuar, desde já, que êste autor, pondo de parte o sistema retículo-endotelial para explicar a permanência, mais ou menos demorada, do vermelho do Congo na corrente circulatória, liga importância preponderante ao papel adsorvente desempenhado pelas albuminas plasmáticas.

Das provas funcionais que acabo de mencionar, ensaiei apenas a de ADLER & REIMANN. As minhas experiências, realizadas exclusivamente no Coelho, representam uma contribuição para o estudo do mecanismo da prova do vermelho do Congo e da sua importância na determinação da actividade funcional do sistema retículo-histiocitário.

Técnica. — Na preparação do soluto de vermelho do Congo segui a técnica aconselhada por MOGENS e minuciosamente descrita num trabalho de STHURRAT, dispensando pequenos pormenores, porque o corante se destinava a ser injectado em Coelhos e não no Homem.

Em tubo de ensaio esterilizado pesa-se um decigrama de vermelho do Congo Grüber retirado do respectivo frasco com uma espátula de vidro passada à chama. Adicionam-se-lhe 10 c.c. de água bidestilada estéril e agita-se até se conseguir a limpidez e transparência perfeitas do soluto, que, depois de filtrado, se submete à temperatura de 90 graus durante 15 minutos.

O corante assim obtido utilizava-o sempre no próprio dia da preparação e na quantidade de 0,8 c.c. por quilograma de peso vivo.

Por punção cardíaca retiram-se 6 c.c. de sangue, que se lançam imediatamente num tubo de centrifuga com oxalato de potássio em pó, e agitam-se muito docemente com uma vareta de vidro para favorecer a mistura. Procedese, em seguida, à injeção da dose conveniente na veia marginal da orelha do animal.

Precisamente 4 e 60 minutos depois desta injeção e com os cuidados já referidos, de novo se colhe sangue, que se centrifuga durante algum tempo, a 2000 rotações por minuto, para separar o plasma. Antes de qualquer ensaio colorimétrico verifica-se a ausência de hemoglobina no plasma, quer por meio do exame espectroscópico, quer pela adição de ácido azótico ao plasma diluído. No primeiro caso, a hemoglobina revela-se pelas suas faixas características e, no segundo, pelo aparecimento de nuvens negras. Se qualquer destas hipóteses se verifica, deve repetir-se a experiência, porque a dosagem colorimétrica seria falseada pela sobreposição da cor vermelha da hemoglobina à cor do vermelho do Congo.

Havendo o cuidado de utilizar seringas e tubos humedecidos com soro fisiológico e de agitar docemente o sangue para a mistura com o oxalato de potássio, a hemólise é excepcional ou, pelo menos, tam pouco acentuada que não se revela pelos métodos habituais de pesquisa.

A punção cardíaca constitui um meio simples e seguro de obter, no Coelho, certa quantidade de sangue, em curto prazo de tempo e nas condições necessárias à prova do vermelho do Congo. Na grande maioria das vezes, a punção é perfeitamente anódina e só em casos raros pode determinar a morte do animal, como na hipótese de a agulha não atingir o ventrículo esquerdo, mas sim a aurícula ou os grossos vasos da base do coração. Nestas condições, se a agulha fôr bastante fina — como convém, aliás — e a morte não surge rapidamente, o sangue, lentamente extravasado, pode acumular-se no pericárdio ou mesmo na pleura, originando uma causa de erro, que é bom conhecer. Para ela chamarei oportunamente a atenção.

No coelho em decúbito dorsal, bem seguro por um ajudante, introduz-se a agulha no espaço intercostal esquerdo correspondente ao primeiro mamilo, dando-lhe uma orientação tal como se a quizessemos fazer sair um centímetro abaixo do lugar simétrico do hemitórax direito; em dado momento, se a introdução da agulha se faz lentamente, notam-se primeiro as pulsações cardíacas transmitidas à mão através da seringa e, pouco depois, vê-se o sangue afluir a esta.

Esta técnica só em casos raros me inutilizou algumas experiências por morte dos animais; quasi sempre me permitiu fazer várias colheitas (10 nalguns casos) no curto espaço de duas horas, sem o mínimo inconveniente.

Obtido assim o plasma, procedia ao exame colorimétrico em comparador de HELLIGE. Numa das provetas lançava exactamente 1 c.c. de plasma colhido 4 minutos depois da injeção, noutra todo o obtido na terceira colheita, isto é, após 60 minutos. Diluindo o plasma mais corado com plasma do mesmo animal, mas isento de corante, até igualdade de coloração, obtinha-se facilmente a percentagem do vermelho do Congo existente no sangue ao cabo duma hora, partindo do princípio de que aos 4 minutos circulavam 100 p. 100 do corante injectado.

O valor assim obtido — *índice de retenção* — indica a quantidade de corante retida no plasma e, portanto, não eliminada nem fixada pelo sistema reticulo-endotelial. Este índice, como bem se compreende, varia na razão inversa da actividade do sistema: aos números mais baixos corresponde maior actividade, e inversamente.

Nalgumas experiências, a par desta dosagem, avaliava ainda as diferentes concentrações ao fim de 4, 30, 60 e 90 minutos, por meio do colorímetro de WALPOLE e tomando como padrão um soluto de vermelho do Congo.

A prova de ADLER & REIMANN, segundo a técnica por mim seguida, assenta nas seguintes bases:

1.^a — São necessários 4 minutos para que o corante esteja homogêneamente espalhado por todo o sangue; durante este tempo a eliminação é nula ou insignificante.

2.^a — O corante desaparece do sangue porque é flocculado ou eliminado pelo sistema reticulo-endotelial.

A primeira afirmação facilmente se demonstra pela seguinte experiência:

Obs. CVIII — *Coelho n.º 180-A, ♂, 1330 gr. de peso.*

Após a laparotomia, introduzi cânulas de vidro nos ureteres e no canal colédoco. Logo que a bilis e a urina afloraram ao tópo das cânulas, injectei 1,06 c.c. de vermelho do Congo. De 90 em 90 segundos, depois da injeccção, colhia sangue numas das veias mesentéricas e recebia uma gota de bilis e outra de urina numa folha de papel de filtro.

Avaliava a concentração do corante no plasma sangüíneo por meio do comparador de WALPOLE; na folha de papel de filtro notava o aparecimento do corante na bilis e na urina. Os resultados obtidos constam do Quadro XVII.

QUADRO XVII

Concentração do V. C. no plasma, na bilis e na urina durante os primeiros 10 minutos

Tempo decorrido após a injeccção	Concentração no plasma	Eliminação	
		pela bilis	pela urina
1,5 minutos	$\frac{1}{4000}$	0	0
3 "	$\frac{1}{4500}$	0	0
4 "	$\frac{1}{4500}$	0	0
5,5 "	$\frac{1}{4500}$	vestígios ténues	0
7 "	$\frac{1}{4750}$	" "	0
8,5 "	$\frac{1}{5000}$	vestígios leves	0
10 "	$\frac{1}{5750}$	vestígios	0

Como ali se vê, a eliminação urinária é nula e a biliar quasi nula, a concentração do corante no plasma torna-se estacionária entre os 3 e 5,5 minutos, só começando a decrescer ao cabo de 7 minutos. Assim se confirma que aos 4 minutos o corante está homogêneamente distribuído pelo sangue, que a eliminação biliar é nula ou de mínima importância

e que pela urina não se elimina corante, pelo menos durante o tempo da experiência.

Nos primeiros 4 minutos, pequeníssima quantidade de corante é, certamente, excretada pelas vias biliares. Todavia, se atendermos à quantidade eliminada naquêlê prazo de tempo (leves vestígios de vermelho do Congo) e a relacionarmos com a sensibilidade do método colorimétrico, verifica-se que essa quantidade de corante é inferior às causas de êrro inerentes à colorimetria.

DIERYCK, que tanta importância liga a êste facto, obtém, nas dosagens efectuadas no plasma, valores levemente superiores aos encontrados no sôro e afirma ser essa diferença suficientemente pequena para não constituir causa de êrro apreciável no estudo comparado da velocidade de desapareção do corante em diversas condições experimentais. Concorro plenamente com esta asserção, mas reconheço também que a quantidade de vermelho do Congo eliminada pela bilis nos primeiros 4 minutos ocasiona um êrro menor, ou pelo menos igual ao motivado pelas diferenças entre as dosagens efectuadas no plasma e no sôro sangüíneo.

DIERYCK usa um método diferente do que acabo de expor: compara, no colorímetro de WALPOLE, os soros colhidos ao fim de 30 e 90 minutos. A quantidade de corante eliminada naquêlê espaço de tempo mediria a actividade funcional do sistema e os seus valores variariam na razão directa dessa actividade. Aquêlê autor justifica o seu procedimento lembrando que ao cabo de 4 minutos já foi eliminada uma parcela de corante e invoca também a maior regularidade de eliminação entre 30 e 90 minutos.

Quanto ao primeiro argumento, já mostrei a pouca importância que se lhe deve ligar; pelo que respeita ao segundo, parece-me que êle contraria o fundamento do método. De facto, se a prova está relacionada com a fixação do corante pelo sistema retículo-endotelial, ¿ como se pode avaliar essa fixação no prazo compreendido entre 30 e 90 minutos, se ao fim de meia hora já do plasma se eliminou uma quantidade importante?

A porção de vermelho do Congo injectada nos coelhos

de todos os meus ensaios foi, como disse, 0,8 c.c. por quilo de pêso vivo. O emprêgo desta dose, cêrca de 5 vezes superior à habitualmente utilizada em Clínica, justifica-se pelo rápido desaparecimento, do sôro sangüíneo, de pequenas quantidades de corante. Êste facto, já referido por DIERYCK, pode verificá-lo em dois coelhos (Obs. CIX e CX). Com efeito, 60 minutos depois da injecção de 0,15 c.c. de vermelho do Congo

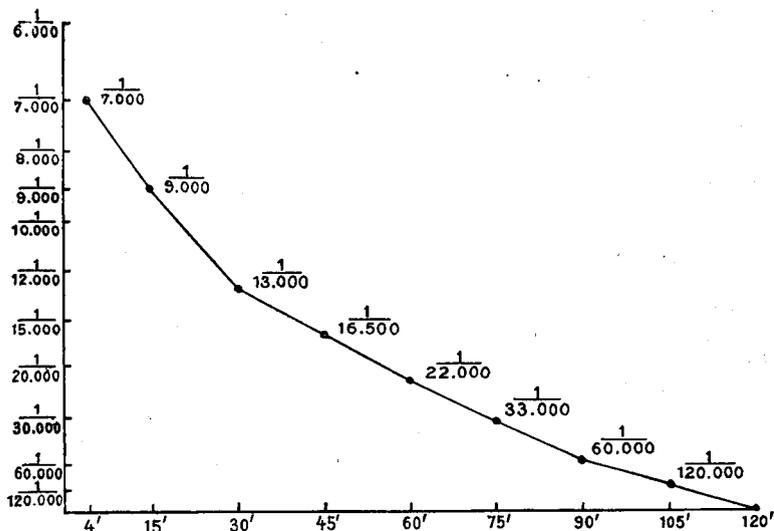


Fig. 33 - *Eliminação do vermelho do Congo num coelho normal.* (Obs. CXXII).

Em abscissas o tempo em minutos, em ordenadas a concentração do corante no plasma.

por quilo de pêso vivo, o sôro sangüíneo não apresentava vestígios do corante.

A eliminação do vermelho do Congo, injectado na dose conveniente para a prova de ADLER & REIMANN, faz-se, com certa regularidade, entre 100 a 150 minutos; de comêço muito rápida, torna-se mais lenta à medida que se afasta o momento da injecção e completa-se no prazo indicado (Fig. 33).

Se a experiência é mal conduzida, pode verificar-se uma excepção a esta regra. Assim aconteceu num animal esplene-

ctomizado e injectado com torotraste (Obs. CXI — Coelho n.º 171) em que a regularidade do desaparecimento do corante não se observou (Fig. 34).

Como se vê no gráfico da figura indicada, a concentração de $1/10.000$, ao 30.º minuto, desceu a $1/18.000$ decorrida uma hora, mas de novo atingiu $1/10.000$ ao cabo de mais meia hora. Quere dizer, a concentração aumentou dos 60 aos 90 minutos,

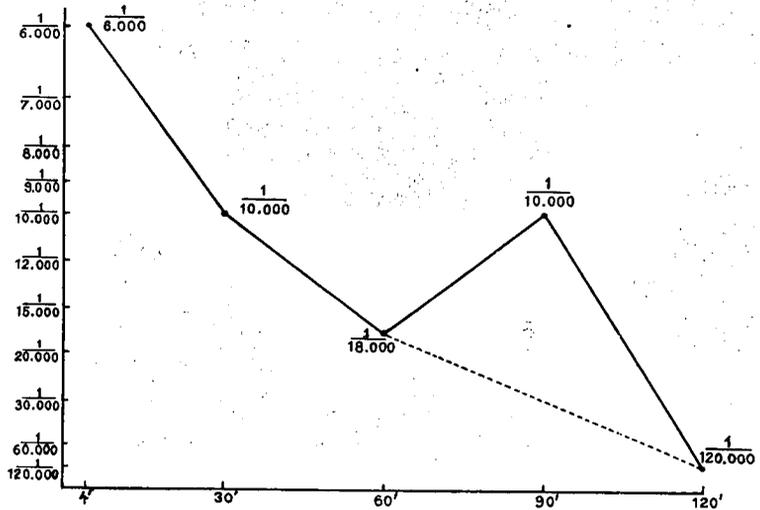


Fig. 34 — *Eliminação do vermelho do Congo num coelho esplenectomizado e injectado com torotraste.* (Obs. CXI).

Erro de técnica inerente à colheita de sangue no coração.

ao contrário do que acontece habitualmente. Todavia, passadas duas horas, a quantidade de vermelho do Congo no plasma era deminuta ($1/120.000$).

Surpreendido com este resultado, sacrifiquei imediatamente o animal para procurar, pela autópsia, a explicação do fenómeno. Na cavidade pericárdica havia grande quantidade de sangue ainda incompletamente coagulado e na aurícula esquerda notava-se, aberto, pequeno orifício feito pela agulha empregada na punção.

Provavelmente, na colheita realizada ao 30.^o minuto, atingiu-se a aurícula esquerda; o orifício deixado pela agulha manteve-se aberto, em virtude da fraca espessura do miocárdio naquêlo ponto, e deixou sair algum sangue para a cavidade pericárdica. A colheita do 60.^o minuto fez-se em pleno ventrículo, mas na imediata — aquela em que há discordância — deve ter-se aspirado sangue do pericárdio, portanto sensivelmente igual ao da colheita dos 30 minutos.

Se a verificação da irregularidade da curva não foi difícil nêste caso, dado o grande número de dosagens a tempos diferentes, o mesmo não aconteceria se fizesse apenas as duas que são necessárias para a determinação da prova de ADLER & REIMANN, segundo a técnica de DIERYCK.

Resultados. — No Homem, o índice de retenção do vermelho do Congo, quando a prova de ADLER & REIMANN se efectua para determinar a actividade funcional do S. R. E., varia entre 50 e 70, segundo UEDA & HARADA. Para BURBI, os valores normais estariam compreendidos entre 55 e 65.

Alguns autores verificaram, no estudo da amilose por meio desta mesma prova, um desperdício normal do corante injectado, o qual, em meu entender, se pode relacionar, *a priori*, com a actividade do sistema histiocitário. Tal desperdício é avaliado por GRAVANO em 23 p. 100 e por BENNHOLD e STHURRAT em 28 p. 100, isto é, os índices de retenção seriam, respectivamente, 77 e 78.

A prova efectuada no Coelho dá valores mais baixos, o que facilmente se explica pela rapidez com que o corante se elimina do sôro sangüíneo dêste animal.

DIERYCK concluiu, do estudo da prova em 100 coelhos normais, que o índice de retenção variava fisiologicamente entre 20 e 30, em 28 p. 100 dos casos; o índice médio era de 28 (1).

(1) Deve notar-se que os valores encontrados por DIERYCK são, respectivamente, 80, 70 e 72, mas eles exprimem o *quociente de eliminação*, que varia no sentido inverso do *índice de retenção* de ADLER & REIMANN — isto é, um quociente de eliminação de 80 corresponde a um índice de retenção de 20, o quociente de 70 ao índice de 30, etc.

Antes de apreciar as variações do resultado da prova em coelhos injectados com diferentes substâncias coloidais e no intuito de obter um termo de comparação normal, fiz a prova do vermelho do Congo em 20 coelhos adultos, aparentemente normais e submetidos ao mesmo regime e habitat (Obs. CXII a CXXXI).

QUADRO XVIII

Resultados da prova do V. C. em coelhos normais

Observação	Índice de retenção	Observação	Índice de retenção
CXII	59	CXXII	32,5
CXIII	55,5	CXXIII	37,5
CXIV	48	CXXIV	35
CXV	55	CXXV	47,5
CXVI	47	CXXVI	43,5
CXVII	43	CXXVII	36
CXVIII	40	CXXVIII	43
CXIX	39	CXXIX	47
CXX	41	CXXX	46
CXXI	41	CXXXI	45
Média aritmética.		43	

No Quadro XVIII indico os respectivos indices de retenção. Como se pode ver, os seus valores estão compreendidos entre limites muito amplos: 32,5 e 59. A média aritmética é de 43, número que se afasta bastante do obtido por DIERYCK.

Como disse, o método empregado por este autor—a que chamarei *método* de DIERYCK—é um pouco diferente daquêle que segui nas minhas pesquisas e que pode considerar-se clássico.

Para comparar os resultados fornecidos por um e outro, efectuei a prova do vermelho do Congo, pelos 2 métodos, em 8 coelhos, dos quais 2 normais, 1 esplenectomizado e 5 injectados com lítio-carmim.

Os números indicados no Quadro XIX permitem-me concluir que o método clássico dá um índice médio de retenção superior em 16 unidades ao de DIERYCK.

Por conseguinte, os meus valores e os deste autor são

QUADRO XIX

Comparação dos resultados da prova do V. C. pelos métodos clássico e de Dieryck

Observação	Condições do animal em experiência	Índices de ret. pelos métodos		Diferenças
		Clássico	DIERYCK	
CXVIII	Normal	40	18	22
CXIX	»	39	27,5	11,5
CXXXIV	Esplenectomizado	45,5	42,5	3
CXXXVI	Inj. com carmim	37	28,5	8,5
CXLI	» » »	15	0	15
CXLII	» » »	33,5	18,5	15
CXLIII	» » »	25	4,5	20,5
CXLIV	» » »	38	7	31
Média aritmética		34,1	18,3	15,8

quási iguais, pois se juntar ao índice encontrado por DIERYCK (28) a diferença de 16 unidades, obtenho o valor do índice médio do resultado das minhas experiências (44).

Todavia, analisando minuciosamente o quadro em questão, verifica-se que ao lado de valores pouco diferentes por um e outro método — 45,5 e 42,5 na Obs. CXXXIV — outros há muito afastados — 38 e 7 na Obs. CXLIV. Pelo exame dos

gráficos da Fig. 35, que representam os resultados obtidos pelos dois processos, nota-se que a diferença de valores não é constante de animal para animal, condição indispensável para se concluir pela equivalência dos resultados.

Num dado animal, o valor do índice de retenção mantém-se sensivelmente constante em provas repetidas, mesmo que se efectuem com curtos intervalos, mas esta regra tem uma excepção, que se verifica na gravidez (DIERYCK).

Com efeito, a actividade do sistema retículo-endotelial

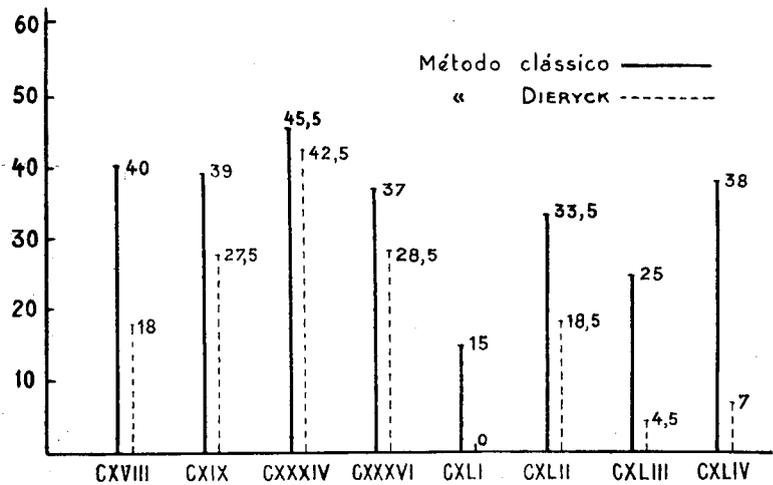


Fig. 35 — Comparação dos resultados da prova do vermelho do Congo efectuada pelos métodos clássico e de DIERYCK nos mesmos coelhos.

modifica-se durante a gestação e o puerpério (PIANESE, VIGNES & LEMANT, CAPOCACCIA & EREDE), e no decorrer da gravidez as diferenças são consideráveis (ORRU).

Parecendo acompanhar estas modificações, a prova do vermelho do Congo dá resultados diferentes consoante o período de que se trata: o índice retencional aumenta na primeira metade do período gestativo, diminui, em seguida, até ao momento do parto, mas atinge progressivamente o valor primitivo no decurso do puerpério.

Na Mulher os resultados são discordantes: enquanto

BENDA e EUFINGER & BADER opinam por um retardamento de eliminação nos últimos meses da gravidez, LUNDWALL & CLAUSER referem, pelo contrário, uma aceleração.

Numa coelha que eu supunha grávida (Obs. CXXXII) determinei, de 5 em 5 dias, a prova do vermelho do Congo e obtive resultados que se afastavam bastante dos mencionados por DIERYCK (Fig. 36). Como o tempo de gravidez se prolongasse anormalmente (mais 25 dias do que o habitual) concluí — muito embora o abdome se mantivesse volumoso e o mamilo desse colostro à pressão — que, ou a coelha não

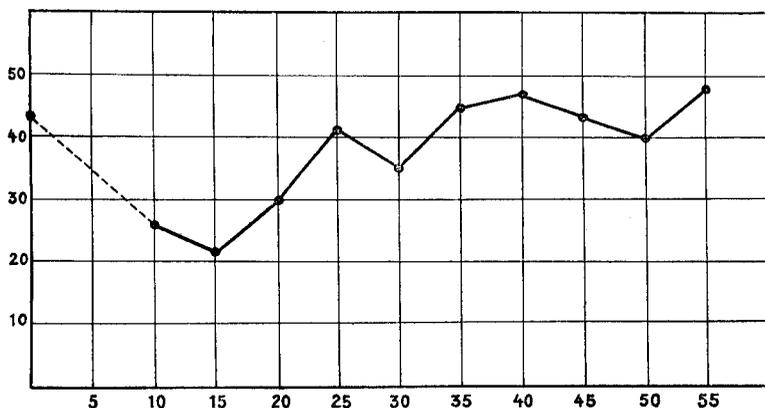


Fig. 36 — *Influência duma gravidez anormal no resultado da prova do vermelho do Congo* (Obs. CXXXII).

Em abscissas o tempo de gestação, em ordenadas o resultado da prova.

estava grávida, ou ela tinha parido sem que o pessoal encarregado da sua vigilância disso desse conta. O animal, aproveitado mais tarde para outra experiência, veio a morrer espontaneamente ao cabo dalgum tempo.

À autópsia encontrei, livres na cavidade abdominal e completamente independentes do útero, dois fetos quási de têrmo, envolvidos por uma membrana fibrosa, macerados e com zonas extensas de calcificação (Fig. 37).

Como não é fácil calcular o início da gravidez e como esta não decorreu normalmente, os diferentes resultados da

prova do vermelho do Congo são desprovidos de qualquer valor para o fim que tinha em vista. No entanto, apresento o gráfico desses valores e relato a observação, simplesmente por se tratar dum caso curioso e raro de Patologia comparada.

Em resumo: as minhas experiências em coelhos normais



(Fotografia de A. COSTA)

Fig 37 — *Fetos em calcificação livres na cavidade abdominal e independentes do útero* (Obs. CXXXII).

permitem-me concluir que o índice de retenção do vermelho do Congo apresenta um valor médio de 43, mas podem considerar-se como normais os índices compreendidos entre 32 e 59.

Parece demonstrado (DIERYCK) que os valores da prova se modificam consideravelmente no curso da gestação e que,

fora dêste estado, as variações são mínimas, mesmo que as diversas provas se efectuem em dias muito próximos.

Estabelecido o valor normal do índice de retenção, posso agora abordar o estudo das alterações funcionais do S. R. E. provocadas pela esplenectomia e por injecções de lítio-carmim e de torotraste em doses consideradas suficientes para o bloqueio.

Influência da esplenectomia. — Como já tive ocasião de dizer num dos capítulos anteriores, a extirpação do baço, praticada com o propósito de excluir funcionalmente uma parte do sistema reticulo-histiocitário, não correspondeu às conclusões previstas. Para explicar a discordância de resultados basta o conhecimento da acentuada hiperplasia das células do sistema, especialmente das células de KUPFFER, determinada pela ablação esplénica e que parece depor menos em favor do bloqueio do que duma excitação.

Também as provas funcionais efectuadas depois da esplenectomia tanto permitem concluir por um afrouxamento como pela exaltação da actividade do sistema.

Enquanto FARKAS & TANGL e LEITES & RIABOW verificaram, em seguida à exérese lienal, um retardamento da eliminação, respectivamente, do sacarato de ferro e do azul do Tripán, DIERYCK observou sempre, depois da exclusão cirúrgica ou funcional daquele órgão, a rápida eliminação do vermelho do Congo.

JAFFÉ & BERMAN não encontraram variações sensíveis do valor da prova do oleoconiol antes e depois da esplenectomia.

Nos dois animais esplenectomizados (Obs. CXXXIII e CXXXIV — Coelhos n.^{os} 172 e 155) em que fiz a prova de ADLER & REIMANN, os índices de retenção foram de 45,5 e 40, respectivamente, valores compreendidos dentro das variações fisiológicas.

Influência do carmim litinado. — Para o estudo da capacidade funcional do sistema reticulo-histiocitário de animais injectados com lítio-carmim aproveitei 11 coelhos: em 5 injectei o corante nas veias, em 1 utilizei a via peritoneal

e nos restantes as duas vias. As diferentes doses eram aplicadas com 24 ou 48 horas de intervalo e a prova do vermelho do Congo praticada entre 2 a 9 dias após a última injeção.

Os resultados obtidos constam do quadro XX, onde se resumem também os protocolos respectivos.

Na obs. CXXXV, relativa ao animal injectado com uma única dose de carmin, o vermelho do Congo eliminou-se to-

QUADRO XX

Resultados da prova do V. C. em coelhos injectados com lítio-carmin

Observação	Número de doses	Via utilizada		Intervalo entre as injeções	Intervalo da última inj. à prova	Índice de retenção
		Ven.	Perit.			
CXXXV	1	1	—	—	2 dias	0
CXXXVI	3	3	—	2 dias	2 "	30
CXXXVII	9	9	—	2 "	4 "	37
CXXXVIII	100 c.c.	—	—	—	5 "	25
CXXXIX	150 + 100 c.c.	—	—	24 horas	3 "	44,5
CXL	3	2	1	2 dias	5 "	5
CXLI	4	—	4	2 "	2 "	15
CXLII	4	2	2	2 "	2 "	22
CXLIII	11	6	5	2 "	9 "	25
CXLIV	11	6	5	2 "	9 "	38
CXLV	15	8	7	2 "	9 "	37

talmente do sôro sangüíneo durante os 60 minutos da prova, o que traduz uma forte exaltação funcional.

Também no coelho da Obs. CXL o índice 5 indica que, a-pesar-de se terem empregado três doses, há, do mesmo modo, uma actividade coloidopéxica muito superior à normal; facto idêntico, ainda que menos acentuado, parece traduzir o resultado da prova na Obs. CXLI (4 doses de carmin por via intraperitoneal).

Em favor do exagêro de actividade do S. R. E. depõem ainda os índices concernentes às Obs. CXXXVIII e CXLII, embora a quantidade de carmim injectada — 100 c.c., por uma só vez, no primeiro animal, 4 doses (2 intravenosas e 2 intraperitoneais) no segundo — seja já muito importante.

Os valores dos índices das restantes observações mantêm-se dentro dos limites fisiológicos; contudo, nos três últimos coelhos indicados no quadro (Obs. CXLIII a CXLV) injectei quantidades consideráveis do coloide: 11 e 15 doses.

O resultado mais elevado, mas ainda compreendido dentro dos valores normais, diz respeito ao coelho da Obs. CXXXIX, o qual recebeu nas veias, por duas vezes, 250 c.c. de carmim.

Com excepção dêste animal, todos os outros apresentam índices inferiores ao número médio normal. Êstes valores não se modificam proporcionalmente à quantidade de corante injectada, nem estão subordinados ao tempo decorrido entre as injeccões e o momento da prova. Com efeito, nas três últimas observações, em que os respectivos animais receberam 11 a 15 doses e a prova se efectuou 9 dias depois da última injeccão, os índices são, respectivamente, 25, 38 e 37.

Do exposto se infere que as quantidades de carmim utilizadas nalguns animais — fortíssimas e excedendo em muito as que habitualmente se empregam com o fim de bloquear o sistema — ou determinam considerável aumento da capacidade funcional do S. R. E., ou não o influenciam de modo notável.

Em 4 coelhos (Obs. CXXXVI, CXXXVII, CXLI e CXLII) continuei o estudo da prova com o intuito de verificar o sentido em que a influenciava a hiperplasia vicariante das células retículo-endoteliais. O resultado destas novas experiências consta do Quadro XXI.

Nêle se regista que o índice de retenção, no coelho da Obs. CXXXVI, de 30 (dois dias depois da última injeccão) desce para 20 ao cabo de 3 semanas; dêste êste momento e até ao fim da 4.^a semana, o índice sobe. Quere dizer, as funções do sistema, primeiro excitadas, enfraquecem em seguida e atingem depois o valor normal. Ilação idêntica se pode tirar

dos resultados obtidos nos dois últimos coelhos mencionados no aludido Quadro (Obs. CXLI e CXLII). Já no animal CXXXVII, injectado com 9 doses de carmim por via intravenosa, se verifica uma acentuação funcional à medida que nos afastamos da última injeção: o índice, primitivamente de 37, desce para 15 e depois para 12.

Em suma: quantidades de carmim geralmente conside-

QUADRO XXI

Influência do tempo de bloqueio no resultado da prova do V. C.

Observação	Número de doses	Via utilizada		Intervalo entre as injeções	Intervalo da última inj. à prova	Índice de retenção
		Ven.	Perit.			
CXXXVI	3	3	—	2 dias	2 dias	30
	3	3	—	2 "	20 "	20
	3	3	—	2 "	24 "	22
	3	3	—	2 "	28 "	37
CXXXVII	9	9	—	2 "	4 "	37
	9	9	—	2 "	9 "	15
	9	9	—	2 "	16 "	12
CXLI	4	—	4	2 "	2 "	15
	4	—	4	2 "	10 "	20,5
CXLII	4	2	2	2 "	2 "	22
	4	2	2	2 "	11 "	20
	4	2	2	2 "	32 "	33,5

radas suficientes para o bloqueio do S. R. E. provocam uma excitação e não uma depressão do sistema. O aumento de actividade não varia proporcionalmente à intensidade da dose, nem o índice, no mesmo coelho, diminui regularmente à medida que se afasta o momento em que se praticam as injeções bloqueantes.

Note-se, porém, que estas conclusões se baseiam no prin-

cípio de que a prova do vermelho do Congo mede a capacidade funcional do S. R. E.

Influência do torotraste. — Desde que o litio-carmim — porventura pela sua rápida eliminação do organismo — se mostrou incapaz de bloquear o S. R. E., com uma substância de eliminação praticamente nula, como o torotraste, dever-se-ia conseguir o bloqueio, senão permanente (devemos contar com a hiperplasia retículo-endotelial), pelo menos durante o

QUADRO XXII

Resultados da prova do V. C. em coelhos bloqueados com torotraste

Observação	Dose total c. c.	Via utilizada		Intervalo entre as injeções	Intervalo da última inj. à prova	Índice de retenção
		Ven.	Perit.			
CXLVI	5	5	—	—	2 dias	77
CXLVII	—	8,5	—	2 dias	2 "	72
CXLVIII	12	8	4	2 "	5 "	20
CXLIX	12,5	8	4,5	2 "	5 "	60
CL	12,5	8	4,5	2 "	5 "	56
CLI	14	7,5	6,5	1 a 6 "	47 "	52
CLII	15,5	12,5	3	2 "	10 "	30

tempo indispensável à realização dalgumas experiências sobre a fisiopatologia do sistema.

Para verificação desta hipótese, injectei o bióxido de tório coloidal em 7 coelhos (dose total variável entre 3,5, 6 e 8 c.c. por quilo de peso vivo) e fiz a prova de ADLER & REIMANN desde o 2.º ao 47.º dia depois da última injeção.

No Quadro XXII apresento o resumo dos protocolos destas experiências.

Em dois coelhos (CXLVI e CXLVII), nos quais a prova se efectuou 24 horas depois da última injeção de tório, os in-

dices de retenção (77 e 72, respectivamente) indicam uma diminuição da actividade, menos acentuada no animal que recebeu maior dose do coloide. A prova feita 5 dias depois do bloqueio mostra valores que excedem levemente os normais em 2 coelhos (Obs. CXLIX e CL) e bastante inferiores em 1 animal (CXLVIII). Enquanto o índice da Obs. CLI é sensivelmente normal, já o da Obs. CLII depõe a favor da excitação funcional. Quere dizer, os resultados da prova de ADLER & REIMANN, em coelhos injectados com torotraste, mostram que há um leve bloqueio em seguida à injeccção desta substância. Algum tempo depois, a diminuição segue-se a exaltação funcional.

Em igualdade de condições experimentais, pelo que respeita à dose injectada e ao tempo que medeia entre a última injeccção e o momento da prova, tanto pode haver uma acentuada excitação (Obs. CXLVIII, índice = 20), como actividade normal ou muito levemente diminuída (Obs. CXLIX e CL, índices de retenção — 60 e 56, respectivamente).

Verifica-se também com o torotraste que não há relação constante entre os valores da prova, a dose injectada e o tempo decorrido após o bloqueio.

A análise dos resultados obtidos nestas 18 experiências permite-me concluir que a actividade funcional da S. R. E., avaliada mediante a prova do vermelho do Congo, é sempre modificada no sentido duma excitação quando se utiliza o carmim litinado, seja qual fôr a dose, desde que a prova se efectue dois dias depois da última injeccção. Com o torotraste consegue-se um afrouxamento funcional, pouco acentuado, nas primeiras 48 horas após a injeccção do coloide, mas, ao cabo de 5 dias, as funções já estão normais ou excitadas e assim se mantêm nos dias seguintes.

Sendo assim, não há possibilidade de bloquear, no sentido fisiológico, o S. R. E., ainda que levemente, durante o tempo requerido pela maioria das experiências de fisiopatologia dèste sistema.

Se a prova do vermelho do Congo está baseada na actividade coloidopéxica das células reticulo-endoteliais e se, por outro lado, está demonstrado que estas células, impregnadas

de substâncias electro-negativas, fixam pequenas quantidades doutros coloides, os valores do índice de retenção não se harmonizam com os elementos fornecidos pelo exame histológico das vísceras dos animais bloqueados.

Como atrás mostrei, as grandes doses de carmim ou de torotraste bloqueiam numerosas células, às vezes a quasi totalidade e, por conseguinte, a prova do vermelho do Congo deveria indicar, pelo menos na maior parte dos animais, uma forte depressão do S. R. E. Ora, tal não aconteceu.

DIERYCK, cujo estudo se baseia em mais de 200 provas praticadas em animais injectados com diferentes doses de variados coloides (tinta da China, sacarato de ferro, caseosan), afirma a possibilidade de a prova de ADLER & REIMANN traduzir, naquêles animais, um bloqueio mais ou menos completo, cuja duração pode ir até um mês. Consegue ainda manejar as doses das referidas substâncias de modo a determinar, à sua vontade, uma acção excitante ou depressora da actividade do sistema.

A divergência entre os meus resultados e os dèste autor, aliada ao facto de não haver concordância entre os valores da prova e o número de células reticulo-endoteliais impregnadas, levaram-me ao estudo do mecanismo de eliminação do vermelho do Congo, com o objecto de verificar se são verdadeiras as bases em que assenta a prova de ADLER & REIMANN.

Os processos de eliminação dos corantes introduzidos por via intravenosa são muito complexos e dependem de factores variados: natureza da substância injectada, intensidade da fixação do corante às albuminas do sôro sangüneo, filtração pelos endotélios dos capilares periféricos, estado dos órgãos por onde se faz a eliminação, influência do sistema reticulo-endotelial.

Para discussão cuidadosa do valor da prova de ADLER & REIMANN, deve passar-se em revista a influência dèstes diversos factores e verificar se ao sistema reticulo-endotelial compete papel preponderante na eliminação do vermelho do Congo.

As substâncias corantes introduzidas no sangue elimi-

nam-se em tempos diferentes, consoante o seu estado fisico-químico, a sua reacção química e, no caso especial dum coloide, conforme o seu grau de dispersão.

A natureza coloidal dos solutos de vermelho do Congo demonstra-se facilmente pelo exame ultramicroscópico, que mostra micelas volumosas dotadas dos característicos movimentos brownianos. No entanto, ao modo de preparação dos seus solutos atribuem-se determinados desequilíbrios coloidais que modificam a velocidade de eliminação.

Para afastar tais inconvenientes, aconselha BURBI que se prepare o corante, extemporaneamente, em sôro fisiológico e se utilize depois dum tempo de amadurecimento compreendido entre 24 horas e 15 dias. A maturação superior a duas semanas altera o soluto, inferior a 24 horas não o torna apto para a prova de ADLER & REIMANN, dada a possibilidade de se obter, uma hora depois da injeção do corante, um sôro sanguíneo mais corado que ao cabo de 4 minutos.

Estas perturbações coloidais são apontadas também quando o vermelho do Congo se dissolve na água destilada. Todavia, STHURRAT, de acôrdo com outros autores, manda que se injecte o soluto aquoso e antes de decorridas 24 horas.

Nas minhas experiências com o coloide de preparação extemporânea em água bidestilada não observei côr mais intensa no sôro obtido ao fim duma hora, com relação ao colhido nos primeiros 4 minutos. DIERYCK também não refere o facto, embora tenha efectuado quasi duas centenas de provas e utilizado, como meio de dispersão, o sôro fisiológico.

O exame ao ultramicroscópio de solutos de vermelho do Congo em água destilada ou em sôro fisiológico e com um tempo de amadurecimento progressivamente crescente mostra que a abundância das micelas e o modo como se fazem os movimentos brownianos não variam duns casos para outros. Note-se, porém, que o estudo ultramicroscópico é nitidamente insuficiente para resolver a questão. De acôrdo com BURBI, reconheço que o grau de estabilidade das combinações entre as proteínas do plasma e o corante *«si deve riferire ad un valore standardizzato dell'equilibrio colloidale della soluzione inoculata, fatto del quale, parrebbe che nessuno abbia*

fin oggi tenuto conto» — o que justifica a necessidade de pesquisas mais completas para marcar bem a importância do factor equilíbrio coloidal.

A-pesar-de há muito se reconhecer às suspensões de albumina a propriedade de fixarem substâncias coradas, a HAAN se deve a demonstração de que os corantes ácidos introduzidos por via intravenosa são fixados imediatamente pelas proteínas do sôro sangüíneo e, em seguida, difundidos por todo o organismo.

Em 1925, por meio de experiências de difusão de corantes em geleia de gelatina, demonstrou BENNHOLD a faculdade, inerente às proteínas do sangue, de adsorverem os coloides grosseiramente dispersos; no caso especial do vermelho do Congo a fixação seria efectuada exclusivamente pela sôro-albumina. O mesmo autor encontrou uma eliminação anormalmente rápida do vermelho do Congo, do sangue de indivíduos com lesões renais, especialmente nefroses e nefro-escleroses. O estudo, nesses casos, das percentagens relativas de serina e globulina permitiu-lhe relacionar a rapidez de eliminação com a quantidade de serina. Com efeito, nas cirroses hepáticas, em que a albumina está, por via de regra, muito aumentada, a eliminação do vermelho do Congo é bem mais lenta do que normalmente.

O grau de retenção do corante no sôro sangüíneo está, pois, relacionado com a quantidade de sôro-albumina nêle existente. Esta relação é constante em experiências *in vitro* (geleia de gelatina), porque uma determinada quantidade de albumina adsorve sempre a mesma quantidade de corante. *In vivo*, a regra sofre excepções, em virtude de entrarem em jôgo, na eliminação dêste coloide, outros factores além daquêle.

Estudando as modificações do espectro de absorção dos corantes combinados com o sangue, HEILMEYER obteve resultados idênticos aos de BENNHOLD.

Todavia, FIESSINGER, WALTER & OLIVIER, no caso particular do rosa bengala, afirmam que a adsorção dêste corante pelas proteínas do plasma não tira qualquer valor à exploração funcional hepática pela prova de ROSENTHAL.

Para verificar o papel desempenhado pelas serinas na prova de ADLER & REIMANN determinei, a par desta prova, as percentagens de albumina e globulina do sôro em 12 coelhos. (1)

No quadro XXIII indico o resultado destas pesquisas.

QUADRO XXIII

Influência da percentagem de serina na retenção do V. C.

Observação	Índice viscosim.	Índice de refração		Proteínas	Globulina	Serina	Índice de retenção
				%	%	%	
CXIX . .	1,68	1,3470	50,7	6,41	4,59	1,82	39
CXXI . .	1,65	1,3460	48,7	5,84	4,37	1,37	41
CXXII . .	1,75	1,3467	50,4	6,22	5,60	0,62	32,5
CXXIII . .	1,65	1,3459	48,4	5,77	4,62	1,15	37,5
CXXIV . .	1,71	1,3464	49,8	6,06	5,15	0,91	35
CXXV . .	1,68	1,3483	54,9	7,17	3,95	3,22	47,5
CXXVI . .	1,58	1,3458	47,9	5,71	3,61	2,10	43,5
CXXVII . .	1,67	1,3465	50	6,12	4,47	1,65	36
CXXVIII . .	1,65	1,3463	49,4	6,00	4,38	1,62	43
CXXIX . .	1,70	1,3474	52,4	6,65	4,19	2,46	47
CXXX . .	1,78	1,3481	54,3	7,05	4,80	2,25	46
CXXXI . .	1,65	1,3469	51,1	6,36	4,33	2,03	45

O índice de retenção é, como se vê, tanto maior quanto mais elevada fôr a percentagem de albumina; contudo, verifica-se que o valor do índice não é regularmente proporcional à quantidade de serina.

Para averiguar a influência d'este albuminoide no resul-

(1) — Para esta determinação utilizei o método de ROHRER, que, como se sabe, exige o conhecimento dos índices refractométrico e viscosimétrico. Entrando, com os valores destes índices, em tabelas especiais, encontram-se rapidamente as percentagens de serina e de globulina.

tado da prova do vermelho do Congo num dado animal, determinei num coelho (Obs. CXXIV) o índice de retenção e a percentagem de serina. Em seguida injectei, por via intravenosa, 15 c.c. de sôro sangüíneo humano muito rico de albumina. Procedi imediatamente à prova do vermelho do Congo e à dosagem da serina (Quadro XXIV).

QUADRO XXIV

Influência do aumento da taxa de serina no resultado da prova do V. C.

	Índice viscosim.	Índice de refração		Proteínas %	Globulina %	Serina %	Índice de retenção
Antes da inj. de sôro . .	1,71	1,3464	49,8	6,06	5,15	0,91	35
Imediatamente depois .	1,86	1,3499	59,1	8,08	4,68	3,40	45

O índice de retenção subiu de 35 para 45, a percentagem daquela proteína elevou-se de 0,91 para 3,40 p. 100. Quere dizer, o albuminoide injectado no sangue do coelho adsorveu também certa quantidade de corante, facto que se traduziu, no resultado da prova, por um aumento de 10 unidades no valor do índice de retenção.

As minhas pesquisas, que confirmam plenamente as de BENNHOLD, mostram o papel importantíssimo desempenhado pelas albuminas do sôro sangüíneo na fixação do vermelho do Congo.

Em certas condições, o corante em questão pode atravessar os capilares periféricos e difundir-se nos líquidos intersticiais. Prova-o a observação de MENDERSHAUSEN, na qual se aponta o aparecimento de corante no líquido proveniente dum edema nefrítico do membro inferior.

A este propósito frequentemente se refere que BENNHOLD obteve resultados contrários, mas como se tratava de doentes com amilose renal, o coloide não se difundia nos líquidos do edema, talvez por ser rápida e electivamente fixado pela substância amiloide.

Nos coelhos em que injectei quantidades enormes de vermelho do Congo (dose 20 vezes superior à habitual) coravam-se constantemente o líquido peritoneal e pleural e num dos animais (Obs. CLVI) em que coloquei um laço no membro posterior, de modo a interromper exclusivamente a circulação venosa, o líquido do edema que se formou apresentava-se levemente tingido de vermelho.

Normalmente e quando injectado na dose utilizada para a prova de ADLER & REIMANN, o vermelho do Congo elimina-se, na quasi totalidade, pela glândula hepática; o rim só excepcionalmente o excreta e em pequena quantidade. O papel desempenhado pelo fígado é tam importante que a laqueação do canal colédoco, a injeccção de sôro fisiológico pelas vias biliares e a hepatectomia parcial determinam sempre um retardamento considerável na eliminação deste coloide (DIERYCK).

Num dos coelhos das minhas experiências (Obs. CLIII), imediatamente depois da laqueação do canal colédoco o índice atingiu o elevado número de 85.

Quando há lesões dos tubos renais, à medida que o corante desaparece do sangue — e o desaparecimento é mais rápido que normalmente — as urinas tornam-se vermelhas. Esta permeabilidade renal, em regra tam pouco importante que na prática da prova de ADLER & REIMANN se despreza, põe-se em evidência quando as doses do vermelho do Congo empregadas (1 c.c. por 100 gr. de pêso vivo) se destinam à coloração maciça do sistema retículo-histiocitário.

Deve concluir-se, portanto, que as lesões do parênquima hepático retardam a eliminação do corante e que a degenerescência das células renais actua, pelo contrário, activando a eliminação.

No capítulo em que me ocupei do problema do bloqueio referi que as diferentes substâncias utilizadas para a impre-

gnação vital determinam lesões parenquimatosas do fígado (torotraste) e do rim (lítio-carmim). Por outro lado, as hepatites espontâneas do Coelho são freqüentíssimas, por vezes com lesões degenerativas e necróticas muito extensas e sem que se denunciem por alterações do estado geral.

Os factos apontados podem induzir em êrros graves, sempre difíceis de evitar, porque a intensidade das lesões varia, como se compreende, de caso para caso. Sendo assim, não devem interpretar-se sem grande prudência os resultados da prova de ADLER & REIMANN, tanto em coelhos normais como nos tratados pelos produtos considerados bloqueantes.

Demonstrar o papel desempenhado pelo sistema reticulo-endotelial geral ou hepático na eliminação do vermelho do Congo é um problema tam difícil que ainda não teve solução satisfatória.

Em primeiro lugar, deve estudar-se o modo como êste corante floclula nos elementos do sistema, muito especialmente nas células de KUPFFER do fígado (1), no decorrer da prova de ADLER & REIMANN.

As seguintes experiências elucidam-nos a êste respeito:

Obs. CLIV — *Coelho n.º 169, ♀, 1180 gr. de pêso.*

Imediatamente depois de ter procedido à laparotomia injectei, na corrente circulatória, a dose necessária de vermelho do Congo (1,04 c.c.) para a determinação da prova de ADLER & REIMANN (23-III-1934). De 10 em 10 minutos, depois desta injeccção, efectuei 9 biopsias hepáticas, tendo o cuidado de fazer uma hemóstase perfeita com o gálvano-cautério e de colher os fragmentos do fígado em zonas não influenciadas pela cauterização. Cortes por congelacção e também depois de inclusão em parafina.

Em nenhuma das preparacções, estudadas cuidadosa e pormenorizadamente, encontrei grânulos vermelhos nas células de KUPFFER. Notavam-se, no parênquima hepático, granulações irregulares, mas de côr amarelada, raras nos primeiros fragmentos biopsiados e abundantes nos últimos.

(1) Como disse já, êste órgão desempenha, na eliminação do corante, papel primordial, senão exclusivo.

Obs. CLV — *Coelho n.º 200, ♀, 1500 gr. de pêso.*

Em 23-III-1934 injectei, na corrente circulatória, 12 c.c. de soluto aquoso de vermelho do Congo a 1 p. 100 e sacrifiquei o animal 90 minutos depois.

O exame histológico das preparações obtidas pelos métodos correntes de técnica histológica mostrou a ausência de floculação em células do S. R. E. No parênquima hepático havia granulações muito abundantes, mas de côr amarela.

Obs. CLVI — *Coelho n.º 189, ♀, 1500 gr. de pêso.*

Injecção intravenosa de 24 c.c. de vermelho do Congo. Imediatamente depois da injecção, coloco um laço no membro posterior, de modo a interromper exclusivamente a circulação venosa, e sacrifico o animal ao cabo de 6 horas.

À autópsia, côr vermelha intensa da serosidade peritoneal e pleural, bem como do líquido do edema que se formara abaixo do laço.

O exame histológico dos cortes obtidos por congelação e observados sem prévia coloração histológica não revela a presença do corante nas células reticulo-endoteliais.

Algumas preparações provenientes da dissociação do fígado e examinadas também sem qualquer coloração notam-se numerosas granulações amareladas no parênquima hepático e bastantes células de KUPFFER coradas difusamente de vermelho.

Só excepcionalmente (duas ou três vezes em algumas dezenas de cortes) vi células dos sinusoides hepáticos com grânulos vermelhos que semelhavam a verdadeira coloidopexia.

Obs. CLVII — *Coelho n.º 211, ♀, 950 gr. de pêso.*

Injecção, na corrente circulatória, de 20 c.c. de água destilada. Sacrificado 2 horas depois.

O exame microscópico do fígado não revela a existência de grânulos amarelos nas células do parênquima ou dos sinusoides.

Mostram estas experiências que as células do sistema reticulo-endotelial, ao contrário do que seria lógico esperar, não floculam o vermelho do Congo injectado em dose fraca, como a que é necessária para a prova de ADLER & REIMANN, ou mesmo em quantidade considerável (10 e 20 vezes superior) como nas Obs. CLV e CLVI.

A coloração difusa, como que empastada, dalgumas célu-

las de KUPFFER do figado do coelho da Obs. CLVI difere consideravelmente da verdadeira coloidopexia. Note-se, porém, que em preparações obtidas por dissociação do figado deste coelho apareciam, com extrema raridade, é certo, grânulos vermelhos nas células dos sinusoides hepáticos.

O corante encontra-se constantemente nas células parenquimatosas do figado, onde apresenta uma côr amarelada.

Estas granulações são, indubitavelmente, do corante injectado, porquanto as observei em todos os animais tratados com o vermelho do Congo. O resultado da Obs. CLVII não justifica a hipótese de lhes atribuir natureza hemoglobínica, hipótese que se poderia aventar em virtude de o soluto hipotónico do corante produzir, como se compreende, a destruição rápida dalguns glóbulos rubros.

Vê-se, portanto, que o vermelho do Congo só excepcionalmente floclula no S. R. E. e que na sua eliminação o papel preponderante, senão exclusivo, cabe à célula hepática.

Em suma: do exposto se deduz que a taxa de retenção do vermelho do Congo depende de factores variados (equilíbrio coloidal do corante, percentagem de serina do sôro sangüíneo, filtração pelos capilares periféricos, grau lesional do figado e do rim, existência de degenerescência amiloide), nos quais não está compreendida a actividade coloidopéxica do S. R. E.

Por conseguinte, posso concluir que a prova do vermelho do Congo de ADLER & REIMANN não mede a actividade funcional do sistema retículo-histiocitário.

VII

O SISTEMA RETÍCULO-ENDOTELIAL

E OS

PROBLEMAS DA IMUNIDADE E DA ANAFILAXIA

Não obstante as múltiplas teorias propostas para explicar os fenómenos alérgicos, pouco se conhece acêrca do seu mecanismo íntimo e, hoje como dantes, estas reacções orgânicas especiais continuam envoltas em mistério que, embora parcialmente desvendado pelas pesquisas mais recentes, está ainda longe do completo esclarecimento.

Nas hipóteses formuladas para a interpretação das reacções imunitárias (imunidade geral ou local, celular ou humoral), quer se admitam as ideas de BUCHNER ou as de METCHNIKOFF, quer as de EHRLICH ou as de BORDET, tem de considerar-se que o factor primacial da resistência orgânica especifica aos diversos agentes depende da actividade dos elementos celulares.

Também na parte concernente à anafilaxia—desde os primitivos estudos de RICHEL sôbre a formação duma substância tóxica, a *apotoxina*, derivada da junção do antigéneo com a *toxogenina*, até à moderna concepção de LUMIERE sôbre a irri-tação do endotélio dos capilares cerebrais motivada pela flo-culação dos coloides sangüíneos—seja qual fôr o modo como

se explique a sensibilização, verifica-se, em última análise, que a causa íntima do fenómeno está, directa ou indirectamente, ligada a reacções exclusivamente celulares.

Não é, pois, de admirar que, em seguida à individualização do sistema retículo-endotelial de ASCHOFF e depois de as células deste sistema se atribuírem propriedades importantíssimas na defesa do organismo contra variados agentes, se procurasse conhecer o papel que lhes compete no aparecimento da imunidade e na anafilaxia.

Como tive o ensejo de realizar algumas experiências para estudo destes dois problemas da Biologia animal, afigura-se-me oportuno apresentar os resultados das minhas pesquisas e fazer, em seguida, algumas considerações acerca do papel desempenhado pelos elementos histiocitários na génese dos anticorpos.

IMUNIDADE

Embora os fenómenos da imunidade não dependam exclusivamente da presença de anticorpos específicos nos humores, certo é que a maioria dos autores orientaram as suas experiências no sentido de apreciar a influência das variações da actividade do S. R. E. na produção dos corpos imunizantes ou no grau de resistência dos animais a determinados agentes.

Assim, KRITSCHESKI e RUBINSTEIN assinalam, em ratos desprovidos de baço, a diminuição da resistência à inoculação subcutânea de sangue de animais injectados com o *Spiroplasma Duttoni*. Se, juntamente com a esplenectomia, praticavam o bloqueio pelo sacarato de ferro, a resistência era ainda menos acentuada.

Em seguida à inoculação do estreptococo hemolítico, BASKIN verificou maior mortalidade nos ratos esplenectomizados do que nos normais. No mesmo sentido depõem as experiências de AMÉLIO: a exérese lienal, associada à impregnação pelo azul do Tripán, evita o aparecimento da imunidade em ratos sobreviventes à espiroquetose de DUTTON.

Nas experiências de TERZA, depois da excisão esplénica,

os coelhos imunizados contra a febre tifoide possuíam menor quantidade de aglutininas que as respectivas testemunhas.

Por outro lado, LEVINSON & GOLUBEWA verificam que a ablação do baço não exerce qualquer influência na produção da imunidade contra o tétano do Rato branco, a qual também não é modificada pela maior ou menor actividade do sistema histiocitário. Do mesmo modo, KOLMER, SCCHAMBERG & MADDEN não notaram diferenças na evolução da tripanosomiase (*tripanosoma equiperdum*) do Rato, em animais sãos e nos submetidos à extirpação daquele órgão.

Os investigadores que utilizaram a injeção de substâncias coloidais para estudar a influência da actividade do sistema de ASCHOFF na produção de anticorpos obtiveram resultados diferentes.

Para TSUGE, as reacções da imunidade, activa ou passiva, atenuam-se nos coelhos bloqueados e intensificam-se pela injeção de pequenas doses de corantes coloidais.

Depois da impregnação do S. R. E. pelo colargol, carmim ou *Wasserblau*, VANNUCCI regista menor produção da quantidade de aglutininas nos animais injectados com bacilos típicos, relativamente aos normais.

CANNON, BAER, SULLIVAN & WEBSTER admitem a formação de hemolisinas anti-carneiro à custa do sistema de ASCHOFF: após o bloqueio, a menor produção destes anticorpos — porque não depende das variações dos animais, da perda de peso e da depressão orgânica — deve relacionar-se sempre com a intensidade da impregnação coloidal.

Em cobaios com o S. R. E. funcionalmente paralizado por doses maciças de tinta da China e seguidamente injectados com uma mistura de toxina e anatoxina diftéricas, JUNGBLUT & BERLOT verificam que a antitoxina correspondente não aparece no sôro sangüíneo nas primeiras três semanas, ao passo que existia em notável quantidade nos animais testemunhas. Ao cabo de um mês, porém, o título da antitoxina dos animais bloqueados igualava o das testemunhas.

Nas experiências de HOWELL & TOWER, em coelhos, a injeção de ferro coloidal exerceu efeito apreciável na quantidade de aglutininas para o bacilo tífico. Também YAMAMOTO, após

o tratamento com tinta da China, carmim litinado e colargol, não encontrou diferença sensível, no que respeita ao aparecimento de aglutininas anti-tíficas, entre animais bloqueados e normais.

Segundo ANGELIS, as injeções, mesmo muito repetidas, de azul do Tripán não modificam a produção de hemolisinas específicas anti-carneiro; pelo contrário, o poder hemolítico do soro seria aumentado pelo emprêgo da prata coloidal. ROCCBI também atribui à fixação do mesmo metal no S. R. E. o aumento considerável do título aglutinante do soro sanguíneo de animais injectados com bacilos tíficos.

BENASSIE responsabiliza o bloqueio pelo aumento de anticorpos, facto que IWATA relaciona com o estímulo funcional do retículo-endotélio dos órgãos hematopoiéticos.

DIERYCK confirma que a quantidade de aglutininas antitíficas é maior nos coelhos corados vitalmente do que nos normais, embora as doses de coloide empregadas sejam as correntemente utilizadas para o afrouxamento da actividade do S. R. E. A prova do vermelho do Congo demonstra, porém, que tais doses, suficientes para o bloqueio de animais normais, são incapazes de determinar idêntica acção em coelhos injectados com bacilos tíficos, o que se pode atribuir à excitação dos elementos histiocitários pela infecção. A maior resistência dum animal infectado poderia, na opinião de DIERYCK, explicar certas contradicções em experiências dêste género; parece-lhe, pois, indispensável verificar previamente a intensidade da impregnação vital por meio da prova de ADLER & REIMANN.

Com injeções de azul do Tripán, consegue MARGINESU tornar pombos sensíveis à acção patogénica da bacteridia carbunculosa. Êste facto atribui-o, porém, o autor à acção tóxica do corante e não propriamente ao bloqueio das células histiocitárias.

Doutrina idêntica é expressa por CALLON: a menor produção de aglutininas antitíficas nos animais injectados com doses fortes de azul do Tripán ou de tinta da China, relativamente a indivíduos normais, não depende do afrouxamento da actividade do S. R. E., mas da toxicidade das substâncias injectadas, que deprimem o estado geral.

Na verdade, nos coelhos injectados com glóbulos de Carneiro para a produção de hemolisinas, observa-se correntemente um aumento progressivo do título hemolítico do sôro enquanto conservam bom estado geral; se, porém, os animais emmagrecem muito a quantidade de hemolisinas fica estacionária ou diminui.

O aumento de anticorpos pode ser obtido pela administração de substâncias que não têm acção directa sobre o sistema retículo-endotelial. Assim, PICO observou, após a injeção de cloreto de manganésio, um aumento considerável do poder antitóxico do sôro dum cavalo imune contra a difteria. WALBUM confirma a realidade do aumento de antitoxina diftérica pela introdução de cloretos de manganésio, de níquel e de zinco na corrente circulatória de cavalos imunizados contra o bacilo de LOEFFLER.

Por último, em trabalho cuidadoso e bem orientado acêrca da acção de estímulos físico-químicos sobre as actividades defensivas do S. R. E., GOYANES & MAC LELLAN escrevem: *«Existe una clara diferencia entre los animales sometidos a estímulos no bloqueantes en relación con los controles. La diferencia se realiza en el sentido de un considerable aumento de la producción de anticuerpos, tanto en las aglutininas como en las hemolisinas».*

Em virtude da falência da impregnação vital na demonstração do papel desempenhado pelos elementos histiocitários na secreção dos anticorpos, alguns autores procuraram resolver o problema pelo estudo histológico das vísceras dos animais imunizados.

Dêste modo, pôde OCCHIONI relacionar o grau de imunidade com o estado do sistema retículo-histiocitário, e AKINOSUTE encontrou, 10 dias depois da injeção de bacilos tíficos, acentuada hiperplasia histiocitária dos órgãos hematopoiéticos.

A êste propósito, EMIL EPSTEIN refere a existência de acentuada hiperplasia retículo-endotelial no baço, no fígado, nos nódulos linfoides e na suprarrenal dos coelhos tratados com antigêneos mortos. Como a hiperplasia é constante nos animais imunes e como há certa relação entre o grau de imunidade, o número de células histiocitárias proliferadas

e a formação de anticorpos, conclui que estes se originam à custa daquelas células. Na reacção defensiva do organismo contra o antigéneo utilizado compreender-se-iam duas fases: na primeira haveria a secreção de anticorpos pelas células histiocitárias, na segunda far-se-ia a remoção do material antigénico e dos produtos de desintegração por fagócitos, histiócitos e polimorfonucleares.

Na concepção de EPSTEIN, os complexos hormónicos segregados pelas células retículo-histiocitárias não são específicos. A especificidade resultaria de reacções físico-químicas, possivelmente eléctricas, operadas no seio das próprias células, entre as substâncias não específicas e os antigéneos.

Outro meio de apreciação da influência do sistema retículo-endotelial na produção dos anticorpos consiste em cultivar órgãos muito ricos de elementos histiocitários (baço, medula óssea, gânglios linfáticos) juntamente com diversas substâncias antigénicas e procurar os anticorpos correspondentes nos líquidos da cultura.

Alguns autores (CARREL & INGEBRIGTSEN, LUDKE, PRZYGODE, LEVADITI, MUTERMILCH, SCHILF e CENTANNI—que vejo citados por SIMÕES RAPOSO) conseguiram demonstrar a existência de variados anticorpos nos líquidos de cultura dalguns órgãos (baço, medula óssea, gânglios linfáticos e pulmão) aos quais juntaram antigéneos de diferentes naturezas.

Também MEYER & LEWENTHAL, por meio de pesquisas muito completas e conduzidas com grande rigor científico, verificaram que pedaços de vísceras procedentes de animais injectados com bacilos tíficos continuavam, *in vitro*, a secreção de aglutininas.

As minhas experiências acêrca do problema aqui versado dizem simplesmente respeito à pesquisa da quantidade de hemolisinas e de aglutininas em coelhos normais, esplenectomizados e bloqueados, que receberam, como antigéneos, glóbulos rubros de Carneiro ou uma emulsão de estafilococos dourados.

Hemolisinas.— Em 1932 apresentei à *Sociedade de Biologia* uma comunicação com os resultados obtidos numa

Obs. CLXI — *Coelho n.º 22*, ♀, 950 gr. de pêso.

Bloqueio com carmim litinado e injeccões de glóbulos de Carneiro como no animal da observação anterior.

Título hemolítico em 30-VI	1/25
» » » 7-VII	1/10

Obs. CLXII — *Coelho n.º 23*, ♂, 1270 gr. de pêso.

Esplenectomia em 5-VI-1932. Bloqueio com lítio-carmim e injeccões intraperitoneais de hematias de Carneiro, como nos coelhos das duas observações anteriores. Morte em 2-VI, pouco depois da última injeccão de glóbulos rubros.

Título hemolítico em 30-VI	1/20
--------------------------------------	------

Obs. CLXIII — *Coelho n.º 24*, ♀, 1100 gr. de pêso.

Coelho esplenectomizado, bloqueado e injectado com glóbulos rubros de Carneiro nas mesmas condições da experiência anterior. Morte em 27-VI, pouco depois da 4.^a injeccão de glóbulos. A morte imprevista do animal não permitiu a colheita de sangue para a pesquisa de hemolisinas.

Êstes 6 coelhos, com 8 meses de idade aproximadamente, pertenciam à mesma ninhada. Escolhendo-os assim, eu pretendia evitar os inconvenientes das diferenças de terreno orgânico em animais de ninhadas diferentes.

No quadro XXV resumo os valores dos títulos hemolíticos determinados 7 dias depois das penúltima e última injeccões de glóbulos rubros.

A análise destes resultados levou-me a escrever na referida comunicação: «*On vérifie que le sérum du lapin témoin avait, dans les deux déterminations, un pouvoir hémolytique très accusé (1/100, d'abord, et 1/375, ensuite), tandis que chez les lapins dont les cellules réticulo-endothéliales étaient fonctionnellement immobilisées par le colorant vital, le titre n'a pas dépassé 1/25; on n'est même pas arrivé a une hémolyse complète à 1/10 sur l'animal splénectomisé. Dans le deuxième titrage, le titre baisse de 1/25 à 1/10 chez l'animal bloqué, peut-être parce qu'il aurait déjà passé la période optimale de la production d'an-*

ticorps, après laquelle on constate d'habitude son abaissement, malgré les injections répétées d'antigène.

Il nous semble donc que, de nos expériences, nous pouvons conclure :

Le système réticulo-endothélial a un rôle important, sinon exclusif, dans la production d'hémolysines.

Ces anticorps apparaissent en quantités minimes chez les animaux dont le système a été bloqué, et il est naturel de supposer que cette production serait complètement annihilée si on réussissait à produire un blocage complet.

La diminution est plus accentuée si le blocage suit immédiatement la splénectomie.

QUADRO XXV

Título hemolítico do sôro sangüíneo de animais normais e bloqueados com carmim e torotraste

Observação	Natureza do coloide	N.º de doses	Via utilizada		Estado do S. R. E.	T. H. ao cabo de	
			Ven.	Perit.		21 dias	28 dias
CLVIII . . .	—	—	—	—	Normal	1/100	1/375
CLX . . .	carmim	8	7	1	Bloqueio	1/25	—
CLXI . . .	"	8	7	1	"	1/25	1/10
CLXII. . .	"	8	7	1	Bloqueio e esplenectomia	1/20	—

Reconheço agora insuficientemente alicerçadas as conclusões que acabo de transcrever. Hoje não as formularia, não só por me parecer muito limitado o número de coelhos observados, mas ainda pelo conceito, que acabei por fazer, acerca do bloqueio e que fica expresso num dos capítulos anteriores.

A-pesar-de tudo, resolvi repetir as experiências em maior número de animais, empregando como coloide modificador da actividade do S. R. E., além do carmim litinado, o bióxido de tório coloidal.

Não me sendo possível obter, na ocasião, coelhos da mesma ninhada, tive de utilizar animais comprados no mercado, com o cuidado, porém, de os deixar, por largo período, em idênticas condições de regime e habitat.

Nesta nova série, desejava eu empregar doses maiores de glóbulos rubros de Carneiro. Com receio de que os animais morressem, por choque anafilático, no decorrer da preparação do sôro hemolítico, injectei, por via subcutânea e de tôdas as vezes que empreguei o antigéneo, um soluto a 10 p. 100 de hipo-sulfito de magnésio, substância que, na opinião de LUMIÈRE & MORIN, preserva os coelhos do choque anafilático e favorece ainda a produção de hemolisinas.

Refiro em seguida os protocolos correspondentes.

Obs. CLXIV — *Coelho n.º 178, ♀, 1600 gr. de pêso.*

Em 20 e 30 de Abril e 5 e 12 de Maio de 1934, injeccção, por via intraperitoneal, de glóbulos rubros de Carneiro na dose de 1 c.c. por 100 gramas de pêso vivo. Na ocasião destas injeccções, apliquei por via subcutânea, 8 c.c. do soluto de hipo-sulfito de magnésio a 10 p. 100.

Título hemolítico em 11-V	1/75
» » » 18-V	1/150

Obs. CLXV — *Coelho n.º 177, ♀, 1770 gr. de pêso.*

Injeccção de glóbulos e do soluto de hipo-sulfito de magnésio como na observação anterior.

Título hemolítico em 11-V	1/150
» » » 18-V	1/140

Obs. CLXVI — *Coelho n.º 170, ♀, 2020 gr. de pêso.*

Injectado com lítio-carmim, glóbulos rubros de Carneiro e hipo-sulfito de magnésio, nas seguintes condições:

18-IV-1934 — 1 dose de carmim litinado por via intravenosa	
19 » » — 1 » » » » » » » »	
20 » » — 1 » » » » » » » »	
20 c.c. de glóbulos por via intraperitoneal	
10 c.c. de hipo-sulfito de magnésio a 10 % por via subcutânea	
23 » » — 1 dose de carmim litinado por via intravenosa	
26 » » — 1/2 » » » » » » » »	

Obs. CLXIX — *Coelho n.º 174*, ♀, 1900 gr. de pêso.

Experiência conduzida como a anterior. Dose total de torotraste injectado, 15 c.c.

Título hemolítico em 11 de Maio	1/30
" " " 18 " "	1/30

Obs. CLXX — *Coelho n.º 171*, ♀, 1750 gr. de pêso.

Esplenectomia em 3 de Abril de 1934, seguida das injecções de torotraste (15 c.c.), de glóbulos rubros de Carneiro e de hipo-sulfito de magnésio como nas observações precedentes.

Título hemolítico em 11 e 18 de Maio: 1/100 e 1/150, respectivamente.

Obs. CLXXI — *Coelho n.º 158*, ♀, 2400 gr. de pêso.

Excitação do S. R. E., provocada por duas injecções de lítio-carmim, em 18 e 19-IV-1934. Em 20 e 30-IV e 5 e 13-V o animal recebe glóbulos rubros de Carneiro e hipo-sulfito de magnésio em doses proporcionadas ao seu pêso.

Título hemolítico em 11 e 18 de Maio: 1/20 e 1/25, respectivamente.

Obs. CLXXII — *Coelho n.º 156*, ♀, 1975 gr. de pêso.

Em 18 e 19-V-1934 procedo à injecção de carmim litinado (1 dose por via intravenosa e 1/2 dose por via intraperitoneal) com o intuito de excitar as funções das células retículo-endoteliais. Dois dias depois começo o tratamento pelos glóbulos rubros de Carneiro, o qual se continua nas três semanas imediatas. A preceder a injecção do antigéneo applicava o soluto de hipo-sulfito de magnésio a 10 %.

Título hemolítico em 11 e 18 de Maio: 1/30 e 1/20, respectivamente.

Para a determinação do título hemolítico — efectuada sempre no Laboratório Nobre da Faculdade de Medicina — utilizei a técnica de RUBINSTEIN simplificada que, como se sabe, dá valores mais baixos do que os obtidos por outras técnicas, por ex., a do Prof. ALBERTO DE AGUIAR, correntemente usada em vários Laboratórios desta cidade.

Dispositivo da reacção, segundo a técnica de RUBINSTEIN simplificada:

Diluição do sôro a examinar	1/10	1/20	1/30	. . .	1/100	1/150
Sôro hemolítico inactivado .	0,1	0,1	0,1	. . .	0,1	0,1
Complemento	0,4	0,4	0,4	. . .	0,4	0,4
Sôro fisiológico a 9 p. 1000 .	1	1	1	. . .	1	1
Glób. de Carneiro a 5 p. 100	1	1	1	. . .	1	1

Meia hora a banho-maria a 37°

O título é indicado pela diluição do sôro examinado que, em 30 minutos a banho-maria a 37°, provoca uma hemólise completa.

No Quadro XXVI menciono os títulos hemolíticos deter-

QUADRO XXVI

Quantidade de hemolisinas anti-carneiro em coelhos normais e injectados com carmim e torotraste

Observação	Natureza do coloide	N.º de doses	Via utilizada		Estado do S. R. E.	T. H. ao cabo de	
			Ven.	Perit.		21 dias	28 dias
CLXIV . .	—	—	—	—	Normal	1/75	1/150
CLXV . .	—	—	—	—	"	1/150	1/140
CLXVI . .	Carmim	9	7	2	Bloqueio	1/30	1/20
CLXVII . .	"	9	7	2	"	1/30	1/20
CLXVIII . .	Torotraste	13 c.c.	10	3	"	1,30	—
CLXIX . .	"	15 "	10	5	"	1/30	1/30
CLXX . .	"	15 "	11	4	Bloqueio e esplenectomia	1/100	1/150
CLXXI . .	Carmim	2	2	—	Excitação	1/20	1/25
CLXXII . .	"	2	2	—	"	1/30	1/20

minados uma semana depois da 3.^a e 4.^a injecções de hematias.

Antes de abordar a discussão dos valores obtidos, frizarei que todos os animais desta série (com excepção do coelho da Obs. CLXX, cuja morte não dependeu das substâncias ministradas), resistiram admiravelmente às injecções

repetidas de grandes doses de glóbulos rubros e de carmin ou torotraste, conservando-se todos êles, do comêço ao fim da experiênciã, com bom estado geral, o que se deveu, talvez, à acção do hiposulfito de magnésio.

Quero ainda fazer notar um pequeno percalço, à primeira vista destituído de importância, mas que, passando despercebido, pode falsear os resultados. Refiro-me à possibilidade de a injeccão de glóbulos rubros ser feita no interior da bexiga ou na cavidade intestinal. No primeiro caso, reconhece-se facilmente o êrro porque o coelho, no final ou mesmo antes de terminada a injeccão, expulsa, com a urina, os glóbulos injectados. A injeccão no lumen intestinal, pode dizer-se, passa sempre despercebida.

Da análise do Quadro XXVI infere-se que a quantidade de anticorpos é muito baixa em todos os coelhos tratados com carmin ou torotraste, excepto naquêle que se injectou com tório após a esplenectomia e cujo titulo hemolítico iguala o dos animais testemunhas.

Ora, dois dos coelhos (Obs. CLXXI e CLXXII) receberam doses de carmin francamente insuficientes para modificarem a actividade do S. R. E. e, contudo, a quantidade de hemolisinas não excedeu a encontrada nos bloqueados. Pelo contrário, no animal da Obs. CLXX, em que à impregnação coloidal se associou a exêrese esplênica para deprimir acentuadamente as funções do S. R. E., o poder hemolítico é bastante elevado.

Do resultado destas experiênciãs poderia depreender-se que o bloqueio das células reticulo-endoteliais pelo carmin litinado ou pelo torotraste, quer os coloides se injectem em doses consideráveis ou em pequena quantidade, inibe parcialmente a produção de hemolisinas específicas. Veremos, dentro em pouco, que circunstâncias de ordem muito variada se opõem a esta conclusão.

Aglutininas. — Para o estudo da influência da actividade do sistema histiocitário na produção de aglutininas utilizei 5 coelhos, dos quais um foi injectado com lítio-carmin em dose excitante, dois bloqueados com carmin ou com toro-

traste, servindo os dois restantes de testemunhas; a todos ministrei, por via subcutânea, uma vacina antiestafilocócica preparada, pelo método de BESREDKA, com estafilococos dourados provenientes dum foco de osteomielite aguda. Relato a seguir as respectivas observações.

Obs. CLXXIII — *Coelho n.º 179, ♂, 1500 gr. de pêso.*

Injecção subcutânea de 1, 1,5 e 2 c.c. (500.000.000 de cocos por c.c.) de vacina antiestafilocócica em 26, 28 e 29-V, respectivamente.

Poder aglutinante em 5-VI 1/75.

Obs. CLXXIV — *Coelho n.º 190, ♂, 1560 gr. de pêso.*

Como no animal da observação anterior, aplico 4,5 c.c. de vacina antiestafilocócica, por via subcutânea, em 26, 28 e 29-V.

Poder aglutinante em 5-VI 1/40.

Obs. CLXXV — *Coelho n.º 183, ♀, 1380 gr. de pêso.*

Excitação do S. R. E., por meio de 2 doses de lítio-carmim, em 14 e 15 de Maio de 1934. Em 26, 28 e 29 do mesmo mês, injecção subcutânea de vacina antiestafilocócica nas doses empregadas nos coelhos anteriores

Poder aglutinante em 5-VI 1/50.

Obs. CLXXVI — *Coelho n.º 181, ♂, 1430 gr. de pêso.*

De 14 a 28-V-1934 injectei 9 doses de carmim litinado (5 na corrente circulatória e 4 no peritoneu) e, por três vezes, a vacina antiestafilocócica (1, 1,5 e 2 c.c.) por via subcutânea.

Poder aglutinante em 5-VI 1/30.

Obs. CLXXVII — *Coelho n.º 182, ♂, 1560 gr. de pêso.*

Bloqueado com 15 c.c. de torotraste de 19 a 28-V-1934. Em 26, 28 e 29-V apliquei, por via subcutânea, 4,5 c.c. de vacina antiestafilocócica.

Poder aglutinante em 5-VI 1/50.

Para a pesquisa das aglutininas adoptei a técnica de WIDAL; a 1 c.c. de diferentes diluições do soro a examinar juntei uma ansa de estafilococos provenientes duma cultura fresca e observei a aglutinação ao cabo de 24 horas.

No Quadro XXVII indico os resultados obtidos.

A quantidade de anticorpos específicos do coelho bloqueado com torotraste e do injectado com uma dose excitante de lítio-carmim está compreendida dentro dos valores encontrados nos dois animais testemunhas. Na Obs. CLXXVI há baixa leve de aglutininas. Quere dizer, a modificação da actividade funcional do sistema retículo-histiocitário pelos coloides injectados não influiu de modo notável na produção de aglutininas.

QUADRO XXVII

Quantidade de aglutininas do sôro sangüíneo de coelhos normais e tratados pelo carmim e torotraste

Observação	Natureza do coloide	N.º de doses	Via utilizada		Estado do S. R. E.	Poder aglutinante
			Ven.	Perit.		
CLXXIII . .	—	—	—	—	Normal	1/75
CLXXIV . .	—	—	—	—	"	1/40
CLXXV . .	Carmim	2	2	—	Excitação	1/50
CLXXVI . .	"	9	5	4	Bloqueio	1/30
CLXXVII . .	Torotraste	15 c.c.	10 c.c.	5 c.c.	"	1/50

ANAFILAXIA

Também para o estudo das relações entre o S. R. E. e a anafilaxia se recorreu aos mesmos métodos experimentais utilizados anteriormente: exaltação ou afrouxamento da actividade funcional das células histiocitárias, estudo histológico das vísceras de animais sensibilizados e pesquisa de anticorpos específicos nos líquidos das culturas de órgãos ricos de histiócitos.

MICHELAZZI assinala, em 1927, que as manifestações anafiláticas são muito atenuadas nos animais impregnados pelo

óxido de sacarato de ferro. Alguns anos mais tarde, HAENDEL & MALET obtêm resultados idênticos com o emprêgo da tinta da China, e MELZAK confirma o facto para o caso especial de o bloqueio pelo azul do Tripán se fazer depois das injeções sensibilizadoras; quando a floculação do corante azul precedia a sensibilização, o síndrome anafiláctico revestia a mesma gravidade que nos animais testemunhas.

MOLDOVAN & ZOLOG supõem que a tinta da China provoca o aparecimento, no sangue dos coelhos e cobaios injectados, duma substância dessensibilizante inibidora do choque anafiláctico; a acção protectora manifesta-se uma hora depois da injeção e dura cêrca de 12 dias.

Conhecedor das experiências destes autores, CRISAN tentou estabelecer o mecanismo do fenómeno e, baseado numa grande série de ensaios, julga-se autorizado a concluir que a protecção se deve a um produto dessensibilizante segregado, sob a influência mecânica das granulações do negro de fumo, primeiro pelas células hepáticas, depois pelos elementos da zona fasciculada da suprarrenal. MICHELAZZI não atribui a esta interpretação mais valor do que o duma simples hipótese por demonstrar.

A resultados diferentes dos que acabam de ser expostos chegaram JUNGBLUT & NEWMAN: a floculação da tinta da China ou do azul do Tripán no S. R. E. não preserva o cobaio da morte pelo choque anafiláctico. JUNGBLUT & BERLOT afirmam também que o sôro de coelhos tratados com fortes doses de tinta da China antes da injeção sensibilizante apresenta o mesmo titulo de corpos anafilácticos que o dos animais testemunhas.

Segundo SIMITICH, o bloqueio praticado com o óxido de sacarato de ferro ou com a tinta da China, imediatamente antes da sensibilização, não diminui a gravidade dos sintomas do choque anafiláctico, mas BAEZA ALONSO, que em experiências bem orientadas, obteve resultados variáveis, escreve: *«En unos casos, las inyecciones de tripán anteriores a las sensibilizantes previnieron el choque; mientras que las inyecciones intermedias de azul entre las sensibilizantes y la chocante no le impidieron; en otros casos, el choque si inhibió con el blo-*

queo posterior a la sensibilizante y no dejó de producirse cuando las inyecciones de tripan precedieron a la sensibilización por una sola inyección».

Por último, devo referir que VERCELLANA, ao estabelecer as relações entre o icto anafiláctico e a actividade do S. R. E., verificou que a tinta da China, injectada no momento do choque, não se distribui pelas diferentes vísceras do modo habitual, donde conclui que o síndrome anafiláctico torna a propriedade granulopéxica dalguns elementos histiocitários de certos departamentos do organismo muito mais intensa do que nos animais normais.

Na parte concernente à produção da anafilaxia activa ou passiva *in vitro*, as experiências decisivas — como lhes chama SIMÕES RAPOSO — de SERENI e GAROFALINI mostram que a produção dos anticorpos se obtém exclusivamente nas culturas dos órgãos ricos de células retículo-endoteliais e nunca em culturas das vísceras pobres de histiócitos.

Para estudar a influência da modificação da actividade funcional do S. R. E., produzida pela coloidopexia do carmin litinado, no aparecimento e na intensidade do síndrome anafiláctico, procedi a três séries de experiências num lote de 9 cobaios.

1.ª série de experiências (Obs. CLXXVIII a CLXXX) — Injecção subcutânea de 1 c.c. de albumina de ovo.

2.ª série (Obs. CLXXXI a CLXXXIII) — Bloqueio com 4 doses de lítio-carmin (2 por via intracardiaca e 2 por via intraperitoneal) imediatamente antes da sensibilização com albumina de ovo.

3.ª série (Obs. CLXXXIV a CLXXXVI) — Bloqueio nas condições da série anterior, mas imediatamente antes da injecção chocante.

Em 4-IV-1935, isto é, 3 semanas depois do início das experiências, provoqueei o choque anafiláctico pela injecção intracardiaca de 0,3 c.c. de albumina de ovo. Todos os

cobaios apresentaram, dentro de pouco tempo, todos os sintomas do síndrome anafilático.

Nas condições das minhas experiências, o bloqueio do S. R. E. pelo carmin litinado não evitou, pois, a sensibilização dos cobaios pela albumina de ovo.

Para concluir o estudo do problema abordado neste capítulo tenho de fazer algumas considerações sobre o valor dos métodos utilizados para demonstrar a gênese dos anticorpos no S. R. E. e que são, como se viu, os seguintes:

1.º — Exclusão duma parte importante do sistema retículo-endotelial por meio da esplenectomia.

2.º — Exaltação ou afrouxamento da capacidade funcional dos elementos do sistema pela injeção de variadas substâncias coloidais.

3.º — Exame histológico dos órgãos de animais imunizados natural ou artificialmente.

4.º — Pesquisa de anticorpos produzidos *in vitro*.

No que toca à esplenectomia praticada com o objecto de diminuir a actividade funcional do S. R. E., abstraindo mesmo das variadas desordens que a extirpação do baço acarreta (perturbações da nutrição, hipertrofia do fígado e dos gânglios linfáticos, variações do *pH* do plasma e dos elementos figurados do sangue), bastaria lembrar a intensidade da hiperplasia retículo-endotelial de todos os departamentos do sistema, consecutiva à exclusão esplénica, para não atribuir a este método de investigação qualquer valor.

Como oportunamente referi, a intensidade dos fenómenos hiperplásticos parece depor menos em favor do bloqueio do que duma excitação. Deve ainda tomar-se em consideração a espécie do animal utilizado para a experiência, pois o volume relativo e a quantidade de células retículo-endoteliais do baço variam de espécie para espécie. Assim, este órgão, relativamente grande no Ratinho, é um pouco menor no Cobaio; no Coelho a diminuição acentua-se e nas Aves a referida víscera tem dimensões relativas muito reduzidas.

Portanto, ao fazer-se a esplenectomia em animais de espécies diferentes, exclui-se uma parte do sistema reticulo-endotelial de valor relativo desigual; nestas condições, a hiperplasia consecutiva será também de grau variável.

Conjugando estes factos com as perturbações do metabolismo geral e com as dependentes das lesões parenquimatosas produzidas pelos colóides bloqueantes, e entrando ainda em linha de conta com a dificuldade e a impossibilidade de impregnar ao mesmo tempo tôdas as células reticulo-endoteliais—compreende-se bem porque são diferentes os resultados das experiências dos autores que estudaram este assunto por meio da esplenectomia ou do bloqueio, isoladamente ou em conjunto.

Pelas mesmas razões, pode também deduzir-se que não é possível relacionar a deminuição dos anticorpos com o afrouxamento da actividade do S. R. E. provocado por qualquer daquêles dois métodos. Este modo de ver reforça-o a circunstância de se poder conseguir um aumento da secreção de anticorpos mediante estímulos físico-químicos que não actuam directamente sobre as células reticulo-endoteliais.

O exame histológico dos órgãos dos animais imunizados não resolve o problema; contudo, não deixa de impressionar-nos a intensa proliferação das células histiocitárias nos referidos animais, proliferação que se acentua à medida que se intensifica o grau de imunidade.

Conclusões desta ordem não se alicerçam apenas em resultados experimentais, como indiquei nas referências bibliográficas, deduzem-se, na Patologia humana, da observação histológica dos órgãos de individuos vitimados por uma doença infecciosa aguda imunizante. O exemplo mais típico é fornecido pela febre tifoide. Às células de RINDFLEISCH, observadas nas lesões tifóidicas dos intestinos, se atribuí mesmo exclusiva origem reticulo-endotelial (MALLORY).

Com o método das culturas de tecidos, ainda o problema está sujeito a controvérsia. Com efeito, a produção de anticorpos não se conseguiu ainda em culturas puras de elementos histiocitários; os corpos imunizantes apenas se formam quando existem, com aquelas, outras células. Mesmo que se

demonstrasse, com tôda a evidência, a genese dos anticorpos à custa dos histiócitos cultivados *in vitro*, nem por isso ficaria provado que a mesma acção não seja exercida, no organismo, por elementos de natureza diferente.

Do que acabo de expor se conclui que os resultados contraditórios obtidos pelos diferentes investigadores se devem tanto à diversidade das condioes experimentais como à falência dos métodos utilizados para o estudo da questão. Se o sistema retículo-endotelial desempenha, como parece depreender-se, papel preponderante na genese dos anticorpos, os meios de que actualmente se dispõe para o provar no têm o rigor científico indispensável, porque assentam em princípios falsos ou incompletamente demonstrados.

VALOR COMPLEMENTAR

Dadas as relaoes tamintimas da alexina com os anticorpos, era natural que alguns investigadores orientassem os seus trabalhos no sentido de estudar a influência da actividade funcional do sistema histiocitário sôbre o valor complementar do sero sangueo.

Na opinião de CAPOCACCIA, o bloqueio pelo azul do Tripan ou pelo óxido de sacarato de ferro determina franca diminuição do valor complementar. Todavia, como a baixa é efmera e coincide com o momento em que se encontram no plasma as maiores quantidades das substâncias injectadas, pensa o mesmo autor que a causa do fenómeno depende mais das modificaoes físico-químicas do sangue produzidas pela presença dos coloides do que, propriamente, da impregnação vital dos elementos histiocitários.

A deminuo do valor complementar consecutivamente à injeção de substâncias bloqueantes é referida também por JUNGEBLUT & BERLOT, TALLO & PARRINO, PACHECO & BIER e por TURCU. O último destes autores verificou que a baixa do título complementar se dá imediatamente depois da administração da tinta da China, persiste cêrca de 24 a 48 horas, mas depressa volta ao valor primitivo.

Para aquilatar da influência exercida pelas injeções de carmin litinado e torotraste, em doses excitantes e bloqueantes, no título complementar do sôro sangüíneo do Coelho, efectuei 4 grupos de experiências, num lote de 11 animais.

1.º grupo (Obs. CLXXXVII a CLXXXIX)—Animais testemunhas.

2.º grupo (Obs. CXC e CXCI)—Excitação da capacidade funcional do mesênquima histiocitário pela injeção intravenosa de carmin litinado a 1 p. 100, na dose de 2 c.c. por 100 gramas de pêso vivo.

3.º grupo (Obs. CXCII e CXCIII)—Bloqueio do sistema reticulo-endotelial: 9 doses de carmin litinado por via intravenosa, em dias consecutivos.

4.º grupo (Obs. CXCIV a CXCVII)—Bloqueio do sistema histiocitário pelo bióxido de tório coloidal injectado, por vias intravenosa e intraperitoneal, até à dose máxima de 0,7 c.c. por 100 gramas de pêso vivo.

As experiências foram conduzidas de tal modo que todos os animais receberam a última injeção no mesmo dia. 24 horas depois, por punção cardíaca, colhi alguns c.c. de sangue; após a coagulação em placas de PÉTRI, aproveitei o sôro para determinar imediatamente o valor complementar.

Dispositivo da reacção

Sôro de Coelho diluído a 1/10	0,4	0,6	0,8	1	1,2
Sôro fisiológico.	1,1	0,9	0,7	0,5	0,3
Glóbulos de Carneiro sensibilizados (1)	1	1	1	1	1

Meia hora a banho-maria a 37°

O valor complementar é dado pela quantidade de sôro diluído que, ao cabo de 30 minutos e a 37 graus, determina

(1) Os glóbulos de Carneiro foram sensibilizados, durante 30 minutos e à temperatura de 37°, com sôro hemolítico previamente titulado e empregado na diluição correspondente a esse título — 1/250, (técnica de RUBINSTEIN simplificada).

a hemólise completa. Os resultados obtidos constam do Quadro XXVIII.

Nos coelhos testemunhas a hemólise completa deu-se com uma quantidade de sôro diluído compreendida entre 1 e 1,2 c.c. O valor complementar diminuiu nos animais injectados com duas doses de lítio-carmim (sistema reticulo-

QUADRO XXVIII

**Valor complementar do sôro sangüíneo de coelhos normais
e injectados com carmim e torotraste**

Observação	Natureza do coloide	Quantidade injectada	Estado do S. R. E.	Valor complementar
CLXXXVII .	—	—	Normal	1,2
CLXXXVIII .	—	—	"	1,1
CLXXXIX .	—	—	"	1,2
CXC . . .	Carmim	2 doses	Excitação	2
CXCI . . .	"	2 "	"	1,8
CXCII . . .	"	9 "	Bloqueio	1,7
CXCIII . . .	"	9 "	"	1,1
CXCIV . . .	Torotraste	7 c.c. p/ quilo	"	1
CXCV . . .	"	"	"	1,1
CXCVI . . .	"	"	"	<2
CXCVII . . .	"	"	"	1,6

-endotelial presumivelmente excitado), pois a hemólise franca apenas se observou com 1,8 e 2 c.c. de sôro diluído.

Nos animais tratados com carmim em dose bloqueante, o valor complementar é normal no coelho da Obs. CXCIII e muito diminuído no da Obs. CXCII.

Nos coelhos do 4.º grupo (bloqueio pelo torotraste) o valor complementar é normal num dos animais (Obs. CXCV),

levemente aumentado noutro (Obs. CXCIV e bastante baixo nos dois restantes (Obs. CXCVI e CXCVII).

Como se vê, o bloqueio exercido pelo carmin ou torotraste modifica o valor complementar nos dois sentidos. Daqui pode depreender-se que não há relação constante entre o grau de impregnação dos elementos reticulo-endoteliais pelos coloides empregados e o valor complementar do sôro sangüíneo.

Em conclusão: o bloqueio e a excitação do sistema reticulo-endotelial não exercem acção apreciável, constante e de sentido definido, sôbre a quantidade de alexina do sangue do Coelho.

VIII

INFLUÊNCIA DO S. R. E. NOS TUMORES EXPERIMENTAIS DO ALCATRÃO

No âmbito da fisiopatologia do sistema retículo-histiocitário destaca-se, por sua importância, o estudo das relações existentes entre a actividade dos elementos do referido sistema e a predisposição ou a resistência natural do organismo ao desenvolvimento do cancro.

Graças aos métodos da produção artificial dos tumores, mormente pelos enxertos cancerosos e por meio do alcatrão, o problema pôde abordar-se experimentalmente; todavia, as tentativas feitas para o apuramento do papel que o sistema de ASCHOFF possa desempenhar na cancerização dos tecidos não têm sido coroadas de êxito completo, porquanto os resultados obtidos são inconstantes e, por vezes, contraditórios, como facilmente se infere da análise dalgumas publicações recentes, já mencionadas num trabalho que o Prof. AMÂNDIO TAVARES publicou, de colaboração comigo, e do qual me vou socorrer para redigir êste último capítulo.

Das suas experiências pôde BORCHI concluir que o S. R. E. desempenha notável acção antiblástica no início do desenvolvimento dos tumores enxertados no Ratinho, acção que

se atenua e desaparece nos blastomas bem desenvolvidos. Com efeito, no primeiro caso, verificara acentuada hiperplasia e hipertrofia do retículo-endotélio do baço, dos gânglios linfáticos e das células de KUPFFER, ao passo que no segundo era manifesta a atrofia destes elementos.

Para VOLTERRA a imunidade antitumoral está relacionada com a existência de aglomerados histiocitários reaccionais em diferentes vísceras; na verdade, a reacção era notável nos órgãos de animais refractários aos enxertos e de deminuta importância naquêles em que o desenvolvimento se fizera precoce e rapidamente.

Quanto à influência da esplenectomia no crescimento dos enxertos cancerosos, APOLANT, OSER & PRIBRAM e KORENTCHEWSKY opinam por uma aceleração do desenvolvimento, BRANCATI, JOANOWICS e MOTTRAM & RUSS assinalam resultados inconstantes e contraditórios, e BULLOCK, ROHDENBURG & JOHNSON, DONATI, OSHIMA, PEARCE & VAN ALLEN, DOBROVOLSKAIA-ZAVADASKAIA & SAMSSNOW, WOGLOM & MORRIS (citados por SIMÕES RAPOSO) concluem que a exérese esplénica não modifica a resistência aos blastomas enxertados.

LIGNAC & BORNE verificam que a inoculação de sarcoma em ratos tratados com doses fortes de azul do Tripan dá maior percentagem de resultados positivos que a inoculação em animais normais. Os tumores desenvolvidos nos ratos bloqueados só pegam bem nos animais com o S. R. E. também impregnado, desenvolvem-se dificilmente e têm vida efémera quando transplantados para ratos não injectados com aquêle corante. Êste facto não foi confirmado por MUNCK, que teria obtido mesmo resultados contrários aos do autor precedente.

Recorrendo ao tratamento com doses fortes de tinta da China, azul do Tripan, lítio-carmim e colargol, JUVENAL MEYER verifica que os enxertos neoplásicos proliferam mais activamente nos animais tratados com os coloides vitais do que nas respectivas testemunhas.

A impregnação do retículo-endotélio pela tinta da China, afirmam BARONI & COMSIA, favorece o desenvolvimento dos tumores enxertados; ainda segundo êstes investigadores, a

imunidade dos ratinhos para o sarcoma, uma vez estabelecida, não é influenciada pelo bloqueio, ao passo que a imunidade em formação é francamente impedida por este meio.

Conclusões idênticas se formulam também em trabalhos de BRANCATI e CHIURCO & VOLPE.

Na opinião de LUDFORD a fixação de coloides vitais nas células histiocitárias determina o enfraquecimento da resistência que alguns animais oferecem ao crescimento dos tumores transplantáveis, enfraquecimento esse que atribui à acção nociva dos complexos químicos injectados sobre os elementos linfomonocitários. Algumas experiências *in vitro* permitiram-lhe aduzir elementos em favor desta hipótese: nas culturas de tumores, a intensidade da proliferação neoplásica era inversamente proporcional à quantidade de leucócitos reaccionais que rodeavam as células da cultura.

Se as experiências que deixo referidas parecem indicar uma acção favorável do bloqueio do sistema retículo-endotelial no desenvolvimento dos tumores enxertados, certo é também que PSAROMITAS, MUNCK e SEYRE obtiveram resultados precisamente opostos. No mesmo sentido depõem as pesquisas de OBERLING & GUÉRIN: as injeções repetidas de torotraste no peritoneu determinaram a reabsorção do enxerto de sarcoma de JENSEN em metade dos ratos sarcomatosos injectados com o referido hidrossol metálico. «*Ce fait, dizem OBERLING & GUÉRIN, franchement anormal dans l'évolution habituelle de notre souche de sarcome, où les résorptions spontanées sont rares, doit donc être mis sur le compte des injections*».

As pesquisas de SIMÕES RAPOSO acerca da influência do bloqueio pela tinta da China ou pelo lítio-carmim sobre o crescimento dos enxertos de tumores M, T, AY, AZ, BA, BB, e BC levaram-no a concluir: «*Os resultados destas experiências são absolutamente contraditórios: Nos animais enxertados com tumor M os fragmentos transplantados só pegam nos animais que não foram bloqueados; pelo contrário, o tumor AZ quasi só pega nos que foram bloqueados. A acção sobre o sistema retículo-endotelial não tem conseqüências nos animais em que foram enxertados os tumores BA e BB (que continuaram a*

ser intransplantáveis) ou os tumores T e BC, em que não diferem sensivelmente as percentagens de resultados positivos nos murganhos bloqueados ou nas testemunhas. Tudo se passa portanto como se o sistema retículo-endotelial não tivesse acção no mecanismo da implantação dos enxertos».

Mediante a injeção de sôro citotóxico (que prepara injectando, a coelhos, extractos de órgãos ricos de elementos histiocitários — baço, medula óssea e epíloon de ratinhos) KANETZKI consegue retardar a evolução dos enxertos cancerosos e fazer retroceder neoplasias já desenvolvidas, ou ainda acelerar o seu crescimento e activar a formação de metástases, consoante a dose de sôro empregada estimulava ou afrouxava a actividade funcional das células retículo-endoteliais.

Por outro lado, WILLHEIM & STERN verificam que o sôro de coelhos tratados com injeções intravenosas de tinta da China, intraperitoneais de litio-carmim e subcutâneas de azul do Tripán se comporta, em presença de células neoplásicas, como o sôro dum canceroso, e ZACHERL observa nos cancerosos, sobretudo em caquexia, um afrouxamento da actividade do S. R. E., avaliada pela prova de KAUFFMANN.

No que toca propriamente ao aparecimento e evolução dos tumores do alcatrão, PERACCHIA & CASTELLANO, em coelhos esplenectomizados, conseguiram obter neoformações malignas do estômago com três injeções daquela substância, sendo duas aplicadas na espessura da parede gástrica.

RÉMOND, SENDRAIL & ROUDIL afirmam que o S. R. E. exerce funções francamente inibitivas do crescimento dos tumores do alcatrão, pois que a esplenectomia e a injeção de extractos de órgãos ricos de elementos do mesênquima activo aceleram o seu desenvolvimento. No mesmo sentido parecem depor as experiências de OIKE: nos coelhos desprovidos de baço é mais precoce o aparecimento dos tumores experimentais.

A resultados nitidamente opostos chega CHAHOVITCH: nos animais em que procedeu à exérese lienal, os tumores do alcatrão desenvolveram-se mais tardiamente do que nos normais. De acôrdo com este último investigador, SATOH verifica que

o bloqueio do sistema histiocitário retarda ou inibe o aparecimento dos mesmos tumores.

Devo recordar, por último, que BABÈS, BORGHÍ e FRANCO & AFFONSO, estudando os órgãos de animais alcatroados, encontraram, como lesões mais importantes, intensa hiperplasia histiocitária e acentuada atrofia dos centros germinativos linfoides, factos êstes que podem levar a pensar na existência duma acção defensiva do S. R. E. contra o aparecimento dos tumores experimentais.

Com o intuito de precisar a acção atribuída ao sistema histiocitário na génese e evolução dos tumores do alcatrão instituí uma série de pesquisas em coelhos normais (33) e bloqueados (33) com doses fortes e maciças de lítio-carmim e de torotraste.

Em seguida dou um resumo dos protocolos destas 66 observações:

A — Experiências com o carmim litinado.

Obs. CXCVIII a CCV — *Coelhos n.os 100, 102, 102-A, 103, 103-A, 106, 108 e 109.*

Injecção de carmim litinado por vias intravenosa e intraperitoneal (4 a 6 doses, consoante a sobrevivência dos animais), ao mesmo tempo que se procedia à pincelagem da face interna das orelhas com alcatrão da hulha aquecido a 56 graus. Os animais relativos a estas observações morreram espontaneamente ao 26.º, 19.º, 29.º, 16.º, 22.º, 29.º, 25.º e 8.º dia de experiência, respectivamente, sem terem apresentado quaisquer neoplasias.

Obs. CCVI — *Coelho n.º 101, ♀, 1820 gr. de pêso.*

De 16-V a 26-XII-1933 injecto 20 doses de lítio-carmim (16 na corrente circulatória e 4 na cavidade peritoneal); 2 dias depois da aplicação da primeira dose do corante pincelam-se as orelhas com alcatrão e continua-se êste tratamento duas vezes por semana até 14-IX-933.

A 15 dias do começo da aplicação do alcatrão dou conta do aparecimento de pequeno nódulo duro e infiltrado e que atinge rapidamente o tamanho dum grão de milho; o exame histológico revela a estrutura dum carcinoma incipiente. Em seguida à biopsia o tumor diminuiu de tamanho e desaparece 11 dias depois. Bem depressa, porém, se desenvolvem várias tuberosidades, umas de evolução efémera e outras mais persistentes, chegando algumas destas a atingir dimensões consideráveis.

Desde que se interrompe a aplicação do alcatrão (118.º dia) até ao

momento da morte (406.º dia — 2-VII-1934) as neoplasias diminuem, a princípio, e tomam um aspecto papilomatoso, mas, depois, aumentam de volume, acentua-se o aspecto papilomatoso, tornam-se pediculadas e destacam-se quasi espontaneamente.

Obs. CCVII — *Coelho n.º 157*, ♀, 1510 gr. de peso.

Injecção, na corrente circulatória, de 9 doses de lítio-carmim (1 a 10-II-1934). Em 12-II começa a ser pincelado com alcatrão na face interna das orelhas.

A primeira neoplasia, que aparece ao 19.º dia de experiência, atinge rapidamente grandes dimensões e apresenta sinais macroscópicos de malignidade, que o exame histológico confirma (acentuada proliferação epitelial formada por uma massa compacta de células, algumas das quais se infiltram até à vizinhança da cartilagem; estroma laxo, muito reduzido e com abundante infiltração linfocitária — carcinoma incipiente). O tumor mantém-se sem qualquer alteração durante 3 semanas; depois, atenua-se bastante e cicatriza ao 63.º dia de experiência. Uma semana antes da morte nota-se o desenvolvimento de duas pequenas tuberosidades que abortam depressa.

Morte em 3-VII-1934, ao 83.º dia, sem quaisquer nódulos.

Obs. CCVIII — *Coelho n.º 107*, ♀, 2250 gr. de peso.

Em 8-VI-1933 iniciam-se as injecções do corante vital (5 doses nas veias e 2 no peritoneu) e as pinceladas com alcatrão. 22 dias depois surgem dois pequenos nódulos, um em cada orelha, que se desenvolvem pouco (não excedem o tamanho dum grão de trigo) e desaparecem sem deixar vestígios.

Morte ao 40.º dia (18-VII).

Obs. CCIX — *Coelho n.º 104*, ♀, 1540 gr. de peso.

Coelho injectado com 20 doses de lítio-carmim (10 por via venosa e 10 por via intraperitoneal — 16-V a 26-XII-1933). Início das pinceladas em 18-V.

Do 43.º ao 103.º dia surgem várias tuberosidades em ambas as orelhas, as quais oferecem alternativas de desenvolvimento e de retrocesso, mas sem nenhuma delas exceder o tamanho duma ervilha pequena, ou apresentar caracteres macroscópicos ou histológicos de malignidade.

Até ao 109.º dia, em que se interrompe o tratamento pelo alcatrão, não há modificações sensíveis no que toca ao número e caracteres dos tumores. A partir de então, todos aumentam de tamanho e outros aparecem. Ao 288.º dia o coelho morre, caquético, com 8 nódulos na orelha direita e 10 na esquerda, a maior parte com dimensões muito reduzidas

e alguns bastante volumosos, mas de aspecto papilomatoso e hiperqueratósico.

Obs. CCX — *Coelho n.º 105, ♀, 1670 gr. de pêso.*

Por vias intravenosa e intraperitoneal injectam-se 13 doses de lítio-carmim, de 8-VI a 30-XI-1933, e ao mesmo tempo fazem-se as aplicações de alcatrão segundo o modo habitual.

O primeiro tumor mostra-se tardiamente (76.º dia), desenvolve-se pouco e desaparece, ao cabo de duas semanas, sem deixar vestígios. Pouco depois surgem novos tumores, dos quais só um assume grandes dimensões (10×18 mm.), mas sem caracteres macroscópicos de malignidade. Até à data da morte do animal (1-XII-1933 — 148 dias depois do início da experiência) não se notam modificações dignas de registo.

B — Grupo de coelhos testemunhas

Obs. CCXI a CCXVII — *Coelhos n.ºs 110, 112, 113, 115, 117, 118 e 119.*

Êstes coelhos, apenas alcatroados, morrem espontâneamente ao 35.º, 25.º, 41.º, 11.º, 22.º, 40.º e 30.º dia, respectivamente. Nenhum dêles apresentou nódulos.

Obs. CCXVIII a CCXXIII — *Coelhos n.ºs 111, 114, 116, 120 e 164.*

Em 5 animais o alcatroamento provoca a formação de tumores, cujo aparecimento se regista ao 17.º, 35.º, 30.º, 21.º e 35.º dias de experiência, respectivamente; são todos precâriamente desenvolvidos, efêmeros, com precoce propensão para o abortamento e cicatrizam depressa sem deixarem vestígios. Outras neoplasias se desenvolvem ainda, mas oferecem os mesmos caracteres e não apresentam sinais macroscópicos ou histológicos de malignidade. No último coelho, o primeiro nódulo aparece ao cabo de um mês e canceriza-se depressa; ao 38.º dia o exame histológico revela a estrutura dum epiteloma espino-celular perfeitamente constituído.

C — Experiências com o torotraste

Obs. CCXXIV a CCXXXIII — *Coelhos n.ºs 137, 138, 140, 141, 142, 143, 147, 148, 149 e 150.*

Injecção, por vias intravenosa e intraperitoneal, de bióxido de tório coloidal até à dose de 0,7 c.c. ou 0,9 c.c. por 100 gr. de pêso vivo. Alca-

treados na face interna das orelhas, 2 vezes por semana. Nenhum dêstes animais apresenta nódulos até à morte espontânea, que se regista ao 10.º, 14.º, 9.º, 42.º, 18.º, 14.º, 12.º, 11.º, 72.º e 38.º dia, respectivamente.

Obs. CCXXXIV — *Coelho n.º 159, ♀, 2060 gr. de pêso.*

De 15-II a 12-III-1934 injectam-se 17 c.c. de torotraste (12 na corrente circulatória e 5 no peritoneu). Uma semana depois da última injeccção, começa-se o tratamento pelo alcatrão, o qual se continua até à morte (92.º dia).

O único tumor que êste animal apresentou apareceu ao 25.º dia, desenvolveu-se lenta e progressivamente durante 2 mêses, chegando a atingir dimensões enormes, mas sem apresentar caracteres microscópicos de malignidade; em dado momento diminui de tamanho e, à data da morte, mal se percebia.

Obs. CCXXXV — *Coelho n.º 144, ♀, 2035 gr. de pêso.*

Injecção de 13 c.c. de torotraste por vias intravenosa (9 c.c.) e intra-peritoneal (4 c.c.) de 19 e 26-XII-1933. Desde esta ocasião até 16-III-1934, é regularmente alcatroado na face interna das orelhas, duas vezes por semana.

O primeiro tumor surge ao 27.º dia, aumenta rapidamente e assume, 3 dias depois, caracteres de malignidade. De facto, o exame histológico mostra cordões irregulares de células epiteliais (umas com núcleos monstruosos, outras em mitose atípica) que se infiltram até à vizinhança da cartilagem.

Após a biopsia o carcinoma atenua-se e acaba por desaparecer. Ao 52.º dia nota-se outro tumor, que depressa se canceriza, mas em breve se atenua também. Ao mesmo tempo desenvolvem-se 5 a 6 pequenas tuberosidades em cada orelha.

Em 16-III-1934 interrompem-se as pinceladas de alcatrão. O animal, que tinha emmagrecido de modo notável, não tarda a melhorar e rapidamente atinge dimensões invulgares. Durante êste período, os tumores desenvolvem-se muito, alguns excedem o tamanho duma noz, mas apresentam-se pediculados, papilomatosos e hiperqueratósicos.

Em 26-III-1935, ao cabo de 17 mêses de experiência, o animal está vivo, tem óptima saúde e apresenta numerosos e volumosos tumores em ambas as orelhas (Fig. 25, pág. 151).

Obs. CCXXXVI — *Coelho n.º 145, ♀, 2300 gr. de pêso.*

Por três vezes, injectam-se 13 c.c. de torotraste e, três dias depois da última injeccção, começa-se o tratamento pelo alcatrão, que se continua com regularidade até à data da morte (107.º dia).

Nêste coelho desenvolvem-se 5 a 6 tumores, um dos quais, notado ao cabo de 1 mês, tem a estrutura dum carcinoma incipiente já ao 33.º dia. O crescimento dos blastomas, muito rápido a princípio, oferece ulteriormente alternativas de agravamento e de retrocesso sem razão apreciável.

Obs. CCXXXVII — *Coelho n.º 121, ♀, 2300 gr. de pêso.*

Nas veias, no peritoneu e na pleura injecta-se torotraste até à dose total de 0,7 c.c. por 100 gr. de pêso vivo (1 a 12-XII-1933). No dia da última injeccção começa o animal a ser alcatroado do modo habitual.

O primeiro tumor surge ao cabo de 1 mês e, três dias depois, tem caracteres de malignidade (o exame histológico revela a estrutura do carcinoma perfeito). Tanto estas como outras tuberosidades (4 a 5), que aparecem depois, atenuam-se e acabam por desaparecer sem deixarem vestígios (48.º dia). Aparecem ainda outras neoplasias, mas de efêmera evolução. À data da morte (25-III-1934) há 2 papilomas em cada orelha finamente pediculados e hiperqueratósicos.

Obs. CCXXXVIII — *Coelho n.º 151, ♀, 2000 gr. de pêso.*

Oito dias antes do início das pincelagens com alcatrão (12-I-1934), introduzem-se, nas veias e no peritoneu, 11 c.c. de tório coloidal.

Desenvolvem-se 4 tumores (dos quais o primeiro ao 34.º dia) que persistem durante muito tempo, têm pequenas dimensões e não oferecem sinais de degenerescência maligna. Na ocasião da morte espontânea (107.º dia) notam-se 3 pequenos papilomas que se destacam com facilidade.

Obs. CCXXXIX — *Coelho n.º 162, ♀, 2030 gr. de pêso.*

Administração de torotraste na dose total de 9 c.c. por quilograma de pêso vivo; comêço do tratamento pelo alcatrão em 12-III-1934.

Durante o tempo de alcatroamento surgem 5 tuberosidades, a primeira das quais ao 35.º dia; desenvolvem-se pouco, têm evolução efêmera e sem sinais de conserização. À data da morte espontânea (31-VII-1934) só uma das neoplasias é aparente e possui estrutura papilomatosa.

Obs. CCXL — *Coelho n.º 160, ♀, 2200 gr. de pêso.*

Depois das injeccões de torotraste (7 c.c.) o alcatroamento da face interna das orelhas motiva o aparecimento, ao 35.º dia, do primeiro papiloma. Em seguida aparecem mais dois que, como no animal da Obs. anterior, duram pouco tempo e não apresentam sinais de malignidade. Nos últimos 50 dias de experiência (o animal morreu espontaneamente

ao 100.º dia) aparecem ainda dois pequenos tumores, que abortam rapidamente e não deixam sinais da sua existência.

Obs. CCXLI — *Coelho n.º 161, ♀, 1720 g. de pêso.*

Este coelho recebe 16,5 c.c. de torotraste e é pincelado regularmente durante 50 dias. Ao 35.º dia desenvolvem-se dois pequeninos nódulos, que crescem pouco e cêdo abortam.

Obs. CCXLII — *Coelho n.º 146, ♀, 2255 gr. de pêso.*

Durante a primeira quinzena de Janeiro de 1934 injecto 11,5 c.c. de torotraste por vias intravenosa e intraperitoneal e inicio as pinceladas das orelhas com alcatrão.

O primeiro tumor aparece no 41.º dia de experiência e, algum tempo depois, surgem novas neoplasias, que se desenvolvem pouco e abortam precocemente; só uma atinge dimensões consideráveis (10 × 8 mm.) e reveste aspecto macroscópico de malignidade, que o exame histológico não confirma.

Obs. CCXLIII — *Coelho n.º 139, ♀, 2100 gr. de pêso.*

Injecções de tório e alcatroamento como nos animais anteriores.

O coelho morreu no dia imediato ao do aparecimento da primeira tuberosidade (42.º dia); a tendência evolutiva não pôde ser apreciada por êsse motivo.

D — Grupo de coelhos testemunhas

Obs. CCXLIV a CCXLVII — *Coelhos n.ºs 165, 166, 167 e 168.*

Êstes animais, simplesmente alcatroados, morreram ao 7.º, 8.º e 15.º dia, respectivamente, sem quaisquer neoplasias.

Obs. CCXLVIII a CCLXIII — *Coelhos que figuram como testemunhas nas experiências feitas pelo Prof. AMÂNDIO TAVARES, na mesma época, para estudo da influência do sistema neuro-vegetativo no cancro experimental e cujos resultados foram publicados numa comunicação que o mesmo Prof. apresentou no XIV Congresso da Associação Espanhola para o Progresso das Ciências (Santiago, Agosto de 1934).*

Dêstes coelhos, 6 morreram espontâneamente ao 13.º, 18.º, 20.º, 21.º, 34.º e 35.º dias sem lesões tumorais. 10 apresentaram neoplasias do 18.º ao 46.º dia, com maior freqüência entre a 3.ª e 4.ª semana. Em 7 os tumores eram benignos e nos 3 restantes a cancerização observou se do 27.º ao 38.º dia.

Estas 66 observações serviram de base à elaboração duma nota, a que já me referi, acêrca da influência do bloqueio do S. R. E. no aparecimento dos tumores experimentais do alcatrão e que o Prof. AMÂNDIO TAVARES e eu apresentámos à *Semana do Cancro*, realizada em Vigo em Abril findo.

Na discussão dos resultados destas experiências deve apreciar-se em separado a resistência dos animais à intoxicação pelo alcatrão (sobrevivência), a época de aparecimento dos tumores, a sua evolução e cancerização.

Sobrevivência. — Como se sabe, a absorção do alcatrão utilizado para provocar tumores nas orelhas dos coelhos determina, por vezes rapidamente, uma intoxicação, mais ou menos grave, que se traduz por emmagrecimento acentuado e anorexia. Em experiências dêste género é frequente registar, durante as primeiras semanas de alcatroamento, a morte de elevado número de animais — em regra sem terem apresentado tumores — principalmente dos que estão inferiorizados por lesões hepáticas de certa gravidade.

Os coelhos que resistem a esta intoxicação primitiva comportam-se, depois, de dois modos: uns continuam a emmagrecer e morrem ao cabo dalgum tempo, com ou sem neoplasias, profundamente emmaciados, sem vestígios de gordura no tecido celular subcutâneo e nas cavidades esplâncnicas e com o sistema muscular muito atrofiado; outros recuperam depressa o estado primitivo, aumentam de pêso e tornam-se refractários à intoxicação pelo produto, mesmo que a sua aplicação se prolongue consideravelmente. Os animais desta última categoria são, porém, menos numerosos do que os anteriores.

A mortalidade dos coelhos utilizados para estudo do assunto versado neste capítulo pode apreciar-se no Quadro XXIX.

Como se pode ver, a mortalidade foi mais importante no grupo das testemunhas do que nos animais bloqueados, facto que impressiona pela circunstância de serem tóxicos o lítio-carmim e o torotraste que serviram para a impregnação

do S. R. E. Já no citado trabalho o Prof. AMÂNDIO TAVARES a êle se referia nos seguintes termos: «a mortalidade não atinge maiores proporções nos animais bloqueados; antes pelo contrário, haveria certa vantagem a seu favor, à medida que as semanas passam, mormente nos que receberam o torotraste, o que viria depor contra a falada toxicidade dêste produto. Contudo, devemos dizer que esta superioridade é em parte apenas aparente,

QUADRO XXIX

Mortalidade dos animais em experiência

Ao cabo de	Injectados com carmim	Testemunhas	Injectados com torotraste	Testemunhas
10 dias	1	—	2	3
15 "	1	1	6	5
20 "	3	2	7	6
30 "	8	6	7	8
45 "	8	10	10	11
60 "	9	10	11	14
75 "	9	12	11	17
90 "	10	13	11	19

pois certo é que precisamente na organização dêste grupo houve o cuidado de escolher os animais mais robustos e mais bem nutridos, visto que, além da influência nefasta do alcatrão, iam ser submetidos à acção doutra substância tida como tóxica.»

E, na verdade, estabelecendo o pêso médio dos animais tratados pelo lítio-carmim (1.800 gr.), pude verificar que êle é superior em 300 gr. ao pêso médio das respectivas testemunhas (1.500 gr.). Com o grupo dos coelhos que receberam o torotraste a diferença é ainda mais acentuada, pois o pêso médio no primeiro caso é de 2.100 gr. e no segundo de 1.580 gr.

Aparecimento dos tumores. — Dos animais da série de experiências com o lítio-carmim apresentaram tumores 5 injectados e 6 testemunhas. Naquêles, o aparecimento de

primeira tuberosidade registou-se ao 15.º, 19.º, 22.º, 43.º e 76.º dia, e nos simplesmente alcatroados ao cabo de 17, 21, 30, 35, e 38 dias de experiência.

No lote dos coelhos que receberam o torotraste, 10 animais mostraram papilomas ao 25.º, 27.º, 30.º, 31.º, 34.º, 35.º, 41.º e 42.º dias. Nas testemunhas respectivas, das quais em 10 se desenvolveram nódulos, o seu aparecimento notou-se do 18.º ao 46.º dia de tratamento, com mais frequência do 20.º ao 30.º.

No Quadro XXX, onde resumo êstes resultados, vê-se que o aparecimento dos tumores é menos precoce nos coelhos

QUADRO XXX

Aparecimento dos primeiros tumores nos coelhos das duas séries de experiências

Ao cabo de	Injectados com carmim	Testemunhas	Injectados com torotraste	Testemunhas
20 dias	2	1	—	1
30 "	3	3	3	5
40 "	3	5	8	9
50 "	4	5	10	10
70 "	4	6	10	10
90 "	5	6	10	10

tratados com o carmim litinado relativamente aos injectados com o tório coloidal; se considerar, porém, cada um dos grupos em separado, verifica-se que os primeiros tumores aparecem sensivelmente na mesma época e em proporções quasi iguais nos lotes de coelhos bloqueados e suas testemunhas.

Evolução e cancerização.— Da referida comunicação à *Semana do Cancro* tiro os elementos que se seguem relativos a êstes dois pontos particulares.

Dos coelhos injectados com lítio-carmim, em dois (Obs. CCVI e CCVII), «além do aparecimento precoce (15.º e 19.º dias),

nota-se o rápido crescimento dos tumores e o exame revela lesões histologicamente malignas (carcinomas incipientes) ao 15.º e ao 39.º dia, respectivamente, mas os nódulos não tardam a atenuar-se e pouco depois apresentam-se com os caracteres dos chamados tumores abortados». Nos animais das Obs. CCX e CCVIII «as tuberosidades—de aparecimento precoce (22.º dia) no segundo, tardio (76.º) no primeiro—desenvolvem-se pouco, atenuam-se rapidamente e desaparecem sem deixar vestígios.» No coelho da Obs. CCIX «surtem, entre o 43.º e o 103.º dia (data da morte), várias tuberosidades que oferecem alternativas de desenvolvimento e de retrocesso; todavia, nenhuma delas excede o tamanho duma ervilha pequena, sem caracteres macroscópicos ou histológicos de malignidade».

Os tumores desenvolvidos em 6 animais dos 13 testemunhas «são todos precariamente desenvolvidos, efêmeros, com precoce propensão para o abortamento; apenas faz excepção o aparecido» no coelho da Obs. CCXXIII, «pois atinge rapidamente consideráveis dimensões, e uma biopsia praticada ao 38.º dia revela um epitelioma espino-celular perfeitamente constituído».

Quanto ao lote dos animais tratados com o torotraste apenas 10 apresentaram neoplasias. «Em 5 os tumores são pouco desenvolvidos, de pequena duração (Obs. CCXXXIX, CCXL, e CCXLI) ou mais persistentes (Obs. CCXXXVIII), ou ainda de crescimento muito lento (Obs. CCXXXIV)—mas, repetimos, sempre de restrito desenvolvimento. Em 2 (CCXXXV e CCXXXVII) os nódulos aumentam rapidamente, assumem caracteres macroscópicos e microscópicos malignos (diagnóstico histológico ao 31.º dia), mas atenuam-se pouco depois e acabam por desaparecer sem deixar vestígios». No coelho da Obs. CCXXXVI, «o crescimento dos nódulos, também rápido a princípio (num dêles a biopsia, feita ao 33.º dia revela um carcinoma incipiente), oferece ulteriormente alternativas de agravamento e de retrocesso sem razão apreciável». No animal da Obs. CCXLII «notam-se nódulos em regra pouco desenvolvidos e precocemente abortados; um único atinge dimensões mais consideráveis e aspecto microscópico de malignidade, que, aliás, a análise histológica não confirma. O último animal deste grupo (Obs. CCXLIII) morreu no dia seguinte ao do aparecimento das pri-

meiras nodosidades, cujas tendências evolutivas não pudemos apreciar por êsse motivo».

Dos animais testemunhas desta segunda série de experiências, 10 apresentaram neoplasias, entre o 18.º e o 46.º dia de tratamento, com maior frequência do 20.º ao 30.º. «*Em 7 os tumores eram benignos em vários estádios de desenvolvimento e benignos permaneceram até ao seu desaparecimento ou até à morte dos possuidores; em um (Obs. CCLXI) a biopsia feita ao 38.º dia revela um carcinoma incipiente, nas dois restantes (Obs. CCLXII e CCLXIII) observam-se carcinomas precoces, diagnosticados histologicamente ao 27.º dia».*

QUADRO XXXI

Evolução dos tumores nos coelhos injectados com lítio-carmim e nas testemunhas correspondentes

Duração da experiência	Animais injectados com carmim litinado (15)		Animais testemunhas, simplesmente alcatroados (15)	
	Com papilomas	Com cancros	Com papilomas	Com cancros
Ao cabo de				
20 dias	1	1	1	—
30 "	2	1	3	—
40 "	2	2	4	1
50 "	3	2	4	1
70 "	3	2	5	1
90 "	4	2	5	1

A evolução e a cancerização dos diversos tumores pode apreciar-se rapidamente pelo cotêjo dos Quadros XXXI e XXXII relativos, o primeiro às experiências com o carmim litinado, o segundo às efectuadas com o torotraste.

Como se vê, não há diferenças importantes na evolução dos diferentes nódulos, que se apresentavam quasi com os mesmos caracteres nos animais bloqueados e nas testemunhas.

Se no lote dos coelhos tratados com o corante vital a

cancerização se antecipa relativamente aos simplesmente alcatroados, já nos do 2.º grupo (torotraste) a antecipação é a favor das testemunhas correspondentes.

Do que acabo de expor se deduz que não há diferenças apreciáveis no que respeita ao aparecimento, evolução e cancerização dos tumores experimentais em coelhos apenas alcatroados ou submetidos conjuntamente ao tratamento pelo alcatrão e a injeções de substâncias coloidais electro-negativas, em doses muitas vezes fortísimas e que correntemente são indicadas como suficientes para o bloqueio do S. R. E.

QUADRO XXXII

Evolução dos tumores nos coelhos tratados com torotraste e nas respectivas testemunhas

Duração da experiência	Animais injectados com torotraste (20)		Animais testemunhas, simplesmente alcatroados (20)	
	Com papilomas	Com cancos	Com papilomas	Com cancos
Ao cabo de				
20 dias	—	—	1	—
30 "	3	—	4	2
40 "	5	3	5	3
50 "	7	3	7	3
70 "	7	3	7	3
90 "	7	3	7	3

Por isso formuláramos, na já aludida nota sobre o assunto, a seguinte conclusão: «o bloqueio do sistema reticulo-endotelial por meio daquelas substâncias, nas doses empregadas e no ritmo seguido, não modifica a predisposição ou a resistência natural dos animais aos tumores do alcatrão».

Esta conclusão está de acôrdo com os resultados de SIMÕES RAPOSO, que não pôde apreciar com segurança a acção do S. R. E. no mecanismo dos enxertos tumorais, mas não

se harmoniza com os dos diferentes autores citados no princípio d'êste capítulo, pois enquanto uns permitem atribuir aos elementos histiocitários propriedades francamente anti-blásticas, outros traduziriam antes a actividade d'êstes elementos num sentido benéfico ao crescimento tumoral.

Analizando os diferentes meios empregados até agora para o esclarecimento da questão, verifica-se que êles se resumem ao estudo dos tumores enxertados ou produzidos pelo alcatrão em animais com o S. R. E. «bloqueado» por diversas substâncias ou submetidos à esplenectomia.

Ora, como por mais que uma vez tive ocasião de dizer, tanto um como outro d'êstes métodos são de resultados deficientes e infieis, porque estão alicerçados em princípios errados ou incompletamente demonstrados. Tanto basta para não se poder concluir categórica e rigorosamente acêrca da influência do S. R. E. no desenvolvimento dos tumores experimentais, quando ela apenas se avalia mediante o bloqueio ou a esplenectomia.

Por conseguinte, são bem oportunas, para fêcho d'êste capítulo, as seguintes palavras com que o Prof. AMÂNDIO TAVARES rematou o trabalho sôbre esta mesma questão e ao qual repetidas vezes fiz referência: *«As nossas experiências mostram que repetidas injeções de lítio-carmim e de torotraste, em doses elevadas e consideradas bloqueantes, não exercem influência decisiva no aparecimento e evolução dos tumores do alcatrão em coelhos.»*

Êstes resultados estão em absoluta discordância com os de anteriores investigações, discordância até certo ponto explicável pela diversidade das condições experimentais. Contudo, tendo em vista a escassez e a incerteza dos nossos conhecimentos acêrca dos efeitos provocados pelas substâncias corantes e coloidais introduzidas na circulação com o fim de bloquear o sistema retículo-endotelial, e bem assim a impossibilidade, geralmente reconhecida, da exclusão funcional d'êste sistema, não se pode garantir que as modificações por vezes notadas na evolução tumoral estejam dependentes da excitação ou da inibição dos elementos que o compõem.

Não pretendemos, evidentemente, negar a realidade nem a

importância das propriedades inibitivas do desenvolvimento neoplásico porventura a cargo do sistema retículo-endotelial, ou que o organismo se aproveite largamente da contribuição deste tecido para promover e assegurar a defesa anticancerosa. Desejamos tam sòmente salientar que neste domínio, como aliás nas demais investigações feitas no intuito de solucionar os numerosos e ainda obscuros problemas da fisiologia do sistema retículo-endotelial de ASCHOFF & KIYONO, a interpretação dos resultados deve fazer-se com a maior prudência. A demonstração do papel por êle desempenhado nas reacções de imunidade ou de resistência anticancerosa continua por fazer. É, pois, cêdo ainda para o definir com precisão.

Por enfermarem das mesmas deficiências das anteriores, as nossas experiências não esclarecem, mais que elas, o problema. Sem embargo, não se nos afiguram de todo inúteis os nossos esforços, assim como não julgamos inteiramente destituída de interêsse a publicação dos resultados a que chegámos. Quando mais não seja, poderá ela servir para fazer ressaltar a insuficiência e falta de rigor dos meios de investigação até agora usados, o que implica a necessidade de orientar futuros ensaios segundo directrizes diversas e que possam conduzir a resultados mais fecundos.»

CONCLUSÕES

1.^a—A impregnação vital reveste variados aspectos morfológicos que dependem da natureza e do grau de dispersão e de difusão dos coloides, sendo a intensidade da floculação condicionada, em grande parte, pelo estado fisiológico das células.

2.^a—No estudo da morfologia do Sistema retículo-endotelial não se devem usar os corantes derivados da benzidina, por apresentarem afinidade para os lipo-albuminoides e para os corpúsculos preexistentes no citoplasma e ainda porque, embebendo difusamente muitas células vivas, tornam difícil, ou até impossível, a distinção entre a verdadeira e a falsa floculação, cujo desconhecimento pode levar a conclusões errôneas.

3.^a—A presença de pigmento hemático ou de detritos de glóbulos rubros nas células reticulo-endoteliais do baço dificulta a floculação do carmin, mas não impede a coloidopexia do torotraste.

4.^a—As células reticulares dos folículos linfóides dos gânglios exercem a coloidopexia com a mesma intensidade que os elementos dos cordões medulares; o número de células dotadas de tal propriedade é, porém, sempre pequeno e muitas vezes nulo.

5.^a—As células reticulo-endoteliais da camada medular da suprarrenal floculam os coloides com a mesma freqüência e intensidade que o reticulo-endotélio da camada cortical.

6.^a—As células reticulares e os elementos dos corpúsculos de HASSALL do timo não possuem capacidade coloidopéxica.

7.^a—Os verdadeiros endotélios apenas floculam os coloides introduzidos em altas doses na circulação.

8.^a—As células do revestimento dos alvéolos pulmonares não exercem a propriedade coloidopéxica.

9.^a—As «células de poeira» podem derivar dos histiócitos do tecido conjuntivo pulmonar.

10.^a—As células da micróglia não floculam os coloides, nem antes nem depois da ruptura da barreira hémato-encefálica.

11.^a—O ciclo evolutivo do ovário condiciona o número de elementos histiocitários do órgão.

12.^a—O Sistema reticulo-endotelial é um agrupamento artificial de células mesenquimatosas, mais ou menos diferenciadas, com certas propriedades comuns; estes elementos não constituem, porém, um sistema, na verdadeira acepção do termo.

13.^a—Nem a Morfologia nem a Fisiologia justificam o conceito do Sistema reticulo-endotelial no sentido restrito.

14.^a—A esplenectomia, porque é seguida da hiperplasia e hipertrofia das células dos diferentes departamentos do S. R. E., não equivale a um bloqueio parcial.

15.^a—O bloqueio total do S. R. E. não é realizável. Não se devem, pois, julgar suficientemente alicerçadas tôdas as conclusões derivadas da prática dêste método de investigação.

16.^a—A esplenectomia e o bloqueio não são métodos aconselháveis para o estudo da Fisiologia do S. R. E.

17.^a—Os monócitos têm sua origem no S. R. E.

18.^a—O resultado da prova do vermelho do Congo em coelhos injectados com carmim litinado ou torotraste é influenciada mais pelas lesões hepáticas ou renais do que, pròpriamente, pelo bloqueio exercido por aquelas substâncias.

19.^a—A floculação do vermelho do Congo nas células histiocitárias é excepcional ou, pelo menos, não se revela pelos métodos histológicos correntes.

20.^a—A prova de ADLER & REIMANN não mede a actividade funcional do S. R. E.

21.^a—No estado actual dos nossos conhecimentos não é possível precisar o papel que compete às células reticulo-endoteliais na produção de anticorpos e no aparecimento da imunidade e da anafilaxia.

22.^a—O valor complementar do sôro sangüíneo não depende da actividade do S. R. E.

23.^a—As injecções de carmim litinado ou de torotraste, mesmo em doses muito fortes, não exercem influência apreciável no aparecimento e evolução dos tumores do alcatrão.

BIBLIOGRAFIA

- AIELLO, L. — Sistema osseo e sistema reticolo-endoteliale. *Arch. Ital. di Anat. e Ist. Pat.*, 1930, pág. 935.
- AKIBA, R. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1926, pág. 326.
- ALBOT, G. — Les hépatites diffuses expérimentales. *Annales d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1931, pág. 437.
- ALEXEIEFF, A. — *Idem*, 1932, pág. 1701.
- ALPERN, D. — *Idem*, 1931, pág. 1338.
- ALVIN FOORD, LAWRENCE PEARSONS & E. M. BUTT. — Leukemic reticulo-endotheliosis (monocytic leukemia). *The Journal of the American Medical Association*, 1931, pág. 1859.
- AMELIO, F. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1929, pág. 208.
- AMELL-SANS, A. — Origine et formation de la cellule de Langhans. *C. R. de la Société de Biologie*, t. CXIV, 1933, pág. 93.
- ANDERS & LEITNER. — Ueber die röntgenologische Darstellung von Milz, Leber und Knochenmark durch Thoriumdioxid u. ihre histologischen Grundlagen. *Klin. Woch.*, n.º 26, 1932.
- ANGELIS, F. — Cfr. ref. in *Haematologica*, 1931, pág. 165.
- ANTIĆ, D. & D. BORIĆ. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1931, pág. 1332.
- ANTONIOLI, G. M. — Sistema reticolo-endoteliale ed immunità istogena. *Giorn. Batter.*, 1931, pág. 86.
- ARGAUD, R. & M. PESQUÉ. — Sur l'hématolyse et l'hématophagie intra-thymique. *C. R. Soc. de Biol.*, 1929, t. CI, pág. 879.
- ARON, M. — L'origine du sang dans le foie embryonnaire. *Idem*, 1921, t. LXXXIV, pág. 362.
- ARRIC, LE FÉVRE & M. MILLET. — La perméabilisation vasculo-méningée aux virus sous l'action de certains colorants. *Idem*, 1927, t. XCVI, pág. 206.

- ASKANAZI, MAX. — Les fonctions de la moëlle osseuse à l'état normal et à l'état pathologique. *Arq. do Inst. de Anat. patol. e de Pat. geral*, vol. XIX e XX, pág. 1.
- BABÈS, A. — L'origine des monocytes et leurs rapports avec le système réticulo-endothélial. *C. R. Soc. de Biol.*, 1929, t. C, pág. 911.
- Les lésions de la rate semblables à celles de la maladie de Gaucher, obtenues par les injections de goudron chez le Lapin. *Bull. de l'Assoc. fr. du Cancer*, 1929, pág. 718.
- & M.^{me} LAZARESCO-PANTZU. — Les lésions de la rate produites chez le Lapin par les badigeonnages au goudron. *C. R. Soc. de Biol.*, 1928, t. XCIX, pág. 1077.
- BACELAR, JOSÉ. — Lesões histológicas produzidas pelo thorotrast. *A Medicina Contemporanea*, 1934, pág. 154.
- BAEZA ALONSO, E. — Sobre las relaciones del sistema reticuloendotelial con la inmunidad. *La Medicina Ibera*, 1933, t. XXVII, págs. 673 e 705.
- BALDINO, S. — Ricerche sperimentali sull'immunità locale acquisita. *Pathologica*, 1923, pág. 490.
- BALOGH, E. — Sur le problème de la résistance naturelle. *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1933, pág. 64.
- BARBEY, E. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1932, pág. 157.
- BARBIERI, E. & U. ROMANO. — Studi sperimentali sul Sistema Reticolo-endoteliale per mezzo di un sale di torio. *Boll. Soc. It. Biol. Sper.*, 1932, pág. 585.
- BARD, L. — De la nature et du rôle physiologique du revêtement des alvéoles pulmonaires. *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1929, pág. 1151.
- BARONI, V. & O. COMSIA. — Blocage du système réticulo-endothélial par l'encre de Chine et immunité envers le sarcome de Jensen. *C. R. Soc. de Biol.*, 1933, t. CXI, pág. 1108.
- BASKIN, M. M. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1932, pág. 2304.
- BAUKE, E. — Milztumordiagnose vermittelt des neuen Kontrastverfahrens nach Radt. *Deutsch. med. Wschr.*, 1931, n.º 27, pág. 1148.
- BAUMANN, H. & SCHILLING. — Zur Kontrastuntersuchung von Milz und Leber. *Klin. Wschr.*, 1931, n.º 27, pág. 1249.
- BEATO, F. — Problemas actuais de immunologia e sistema reticulo-endotelial. *Arch. de Cardiologia y Hematologia*, n.º 8, Agosto, 1933.
- BENASSIE, E. — Sull'importanza degli organi ematopoietici e dell'apparato reticulo-endoteliale nella produzione di sostanze immuni. *Arch. di Pat. e Clin. Med.*, 1926, pág. 145.
- BENNHOLD, H. — Über die Ausscheidung intravenös einverleibter Farbstoffe bei Amyloidkranken. *Kongress der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin*. Wiesbaden, 1922.
- Eine spezifische Amyloidfärbung mit Kongorot. *Separata de Münch. med. Wschr.*, 1922, pág. 1537.
- Über die Ausscheidung intravenös einverleibten Kongorotes bei den

- verschiedensten Erkrankungen, insbesondere bei Amyloidosis. Separata de *Deutsch. Arch. Klin. Med.*, 142, 32, 1923.
- BENNHOLD, H. — Über die Vehikelfunktion der Serumeiweisskörper. Separata da *Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde*, vol. 42, 1932.
- Vehikelfunktion der Bluteiweisskörper. *Medizinische Kolloidlehre*, 1933.
- BENOIT. — Structure, origine et fonction des cellules interstitielles du testicule chez le coq domestique. *Arch. d'Anat. Microscopique*, t. xxv, 1929, pág. 173.
- BERLOT. — Il meccanismo delle reazioni anafilattiche nell' animale bloccato. *Pathologica*, 1927, pág. 561.
- BESREDKA, A. — Études sur l'immunité dans les maladies infectieuses. Paris, 1928.
- Immunité antidiphthérique par voie cutanée. *C. R. Soc. de Biol.*, 1931, t. CVI, pág. 87.
- BINET, LÉON. — Recherches histophysiologiques sur le poumon. *Presse Médicale*, 1926, pág. 931.
- La rate, réservoir d'éléments figurés du sang; causes et effets de la spléno-contraction. *Idem*, 1927, pág. 540.
- Remarques physiologiques sur la cellule alvéolaire et sur la cellule à poussières. *Bull. et Mém. Soc. Méd. des Hôpit. de Paris*, 1926, pág. 1319.
- & CH. CHAMPY. — Sur les cultures de poumon *in vitro*. *C. R. Soc. de Biol.*, 1926, t. XCIV, pág. 1133.
- & M^{lle} MADELEINE MARQUIS. — La perfusion du poumon. *Presse Médicale*, 1934, pág. 129.
- & J. VERNE. — L'absorption des graisses par la plèvre. *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1925, pág. 97.
- BISCEGLIE, V. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1931, pág. 104.
- BOCK, HANS-ERHARD & KURT WIEDE. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1932, pág. 2266.
- BOGLIOLO, L. — Studi sulle Leishmaniosi vi sui rapporti tra sistema reticolocitario e leishmanie. *Pathologica*, 1934, pág. 735.
- BONANNO, A. M. — Milza e globuli bianchi. *Idem*, 1934, págs. 758, 820 e 1935, págs. 48 e 106.
- BOOKMANN, A. & J. ROSENTHAL. — *Idem*, 1927, pág. 308.
- BORGHI, B. — Ricerche sul comportamento dell'apparato reticolo-endoteliale nei tumori da innesto. *Tumori*, t. III, f. 3, 1929.
- BORREL, A. — Tuberculose pulmonaire expérimentale. Cellules à poussière, leur signification, leur rôle. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1893, págs. 393 e 613.
- Réseau fondamental pigmentaire chez Alytes obstetricans et apparition des cellules pigmentaires. *C. R. Soc. de Biol.*, 1913, t. LXXV, pág. 139.
- Analogie de la formation sous-basale de M. NAGEOTTE et du réseau fondamental pigmentaire. *Idem*, 1914, t. LXXVII, pág. 16.
- Plan pigmentaire et nævocarcinoma. *Bull. de l'Assoc. fr. du Cancer*, 1914, págs. 357 e 368.
- BORY, L. — La glande pigmentaire de la peau. *Progrès Médical*, 1926, n.º 18.
- BOSCH, H. — Cfr. ref. in *Les Néoplasmes*, 1934, pág. 186.

- BOSSAN & GUIEYSSE-PÉLISSIER. — Recherches sur la pénétration d'une substance médicamenteuse dans le poumon sain ou tuberculeux par injection trachéale. *C. R. Soc. de Biol.*, 1919, pág. 148.
- BOUFFARD. — Injection des couleurs de benzidine aux animaux normaux. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1906, pág. 539.
- BOUIN, P. — Éléments d'Histologie. Paris, 1929 e 1932.
- BRACALONI, C. — Nuove vedute sulla morfologia degli elementi macrofagi. *Haematologica*, 1931, vol. XII, pág. 469.
- BRANCATI. — Reticolo-endotelio e tumori. *Arch. Ital. di Chir.*, 1931, vol. xxx, pág. 716.
- BRATIANO, S. & A. LLOMBART. — Limites du système réticulo-endothélial. Systèmes locaux; système général. *C. R. Soc. de Biol.*, 1928, t. c, pág. 138.
- — Recherches sur l'histophysiologie du tissu réticulo-endothélial. Méthodes de recherches. *Idem*, 1929, t. CI, pág. 135.
- — Fonction colloïdo-pexique et fonction de colloïdo-stabilisation du système réticulo-endothélial. *Idem*, idem, pág. 299.
- — Blocage physiologique du système réticulo-endothélial. *Idem*, idem, pág. 332.
- — Le poumon, système réticulo-endothélial local. Fonction colloïdo-pexique du poumon. *Idem*, idem, pág. 555.
- — La mésoglie (microglie) dans la maladie de Borná. *Idem*, idem, t. CI, pág. 792.
- — Système réticulo-endothélial local de l'encéphale. Rôle de la pie-mère profonde et superficielle. Rôle de la mésoglie. *Idem*, idem, pág. 905.
- — Système réticulo-endothélial local de l'encéphale (Rôle de la pie-mère profonde et superficielle. Rôle de la mésoglie). *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1929, pág. 849.
- — Nouvelles recherches sur l'histophysiologie du système réticulo-endothélial. *Idem*, 1930, pág. 69.
- & GUERRIERO. — La cellule pulmonaire. Sa fonction hystiocitaire. *Arch. d'Anat. Hist. et Embryol.*, 1930, pág. 11.
- — Sur la fonction de colloïdopexie (ultraphagocytose) et le pouvoir phagocytaire des éléments cellulaires du poumon des Oiseaux. *C. R. Soc. de Biol.*, 1930, t. CIV, pág. 91.
- — Nouvelles recherches expérimentales sur les cellules à fonction colloïdopexique de l'encéphale et sur la microglie de DEL RIO HORTEGA. *Arch. d'Anat. Microscopique*, 1930, pág. 335.
- & V. ANGHELESCO. — Étude histophysiologique sur le poumon de hérisson (*Erinaceus Europeus*). *Idem*, 1932, t. XXVIII, pág. 98.
- BRITES, GERALDINO. — O ensino da morfologia humana. Notas colhidas numa viagem de estudo. Coimbra, 1929.
- BROWN. — Do the alveoli of the Lungs possess squamous epithelium? *Lancet*, 1874, pág. 681.
- BRŪDA, B. E. & KREINER, W. M. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1932, pág. 1334.

- BRUNELLI, BRUNO. — *Idem*, 1931, pág. 740.
- BRUYNOGHE & N. COLLON. — Le blocage du système réticulo-endothélial dans l'infection récurrente. *C. R. Soc. de Biol.*, 1927, t. xcvi, pág. 213.
- BUNGELER, W. — Recherches expérimentales sur les monocytes du sang et leur genèse dans le système réticulo-endothélial. *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1928, pág. 980.
- BURBI, L. — Comportamento del potere granulopessico del sistema reticolo-endoteliale nei diversi stadi dell'infezione sifilitica. *Arch. Italiano di Derm., Sifil. e Venereologia*, 1933, pág. 111.
- BUSINCO, A. & G. GIUNTI. — Sull'apparato distrettuale respiratorio in funzione reticoloendoteliale. *Haematologica*, 1930, pág. 499.
- BUSQUET, H. & CH. VISCHNIAC. — Le poumon, organe de fixation élective de l'huile injectée dans le sang. *C. R. Soc. de Biol.*, 1921, t. LXXXIV, pág. 852.
- CALIRI. — Splenectomia e produzione di anticorpi. *Haematologica*, 1931, pág. 163.
- CALMETTE & SAENZ. — Sur l'immunité para-spécifique conférée par le B. C. G. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1933, pág. 433.
- CALÓ, A. — Sistema reticolo-endoteliale e sviluppo di tumori de trapianto. *Bull. et atti R. Accad. med. di Roma*, 1932, pág. 104.
- CANDIA, G. — Cfr. ref. in *Gynécologie et Obstétrique*, 1933, pág. 283.
- CANNON, RAYMOND, BAER, SULLIVAN & WEBSTER. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1931, pág. 1705.
- CAPOCACCIA. — Sull concetto di blocco del sistema reticolo-endoteliale. *Arch. di Biol.*, 1927, pág. 47.
- L'apparato reticolo-endoteliale. *Pathologica*, 1927, pág. 469.
- L'apparato reticolo-endoteliale. *Haematologica*, 1927, pág. 321.
- Cfr. ref. in *Pathologica*, 1928, pág. 31.
- & A. VALLEBONA. — L'azione dei raggi X sui tessuti di origine mesenchimale. Raggi X e apparato reticolo-istiocitario. *Idem*, 1929, pág. 411.
- & UGO EREDE. — Rapporti fra apparato reticolo-istiocitario e gravidanza. *Idem*, 1930, pág. 68.
- CAPUA, F. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1932, pág. 451.
- CARDIA & PERETTI. — Cfr. ref. in *Annali Italiani di Chirurgia*, 1929, pág. 47.
- CARLETON. — The origin of Dust-cells in the Lung. *Quarterly Journ. of Micr. Science*, 1927, pág. 223.
- CARVALHO, ROBERTO, ÁLVARO RODRIGUES & SOUSA PEREIRA. — La mise en évidence par la radiographie du système lymphathique chez le vivant. *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. norm. méd.-chir.*, Fevereiro de 1931.
- — — Sur une nouvelle méthode de mise en évidence des lymphatiques chez le vivant. *C. R. de l'Assoc. des Anatomistes*, Varsóvia, Agosto, 1931.
- CASABONA, E. — Sulla possibilità di saggiare la funzione del S. R. E. in gravidanza col metodo di Kauffmann. *Pathologica*, 1931, pág. 414.
- CASSIANO NEVES e P. ROBERTO CHAVES. — Leucémia aguda de células monocitoides. *Lisboa Médica*, 1934, pág. 26.

- CATALANO, O. — La epatosplenografia, nuovo metodo per l'esame radiologico della milza e del fegato. *Rassegna Internazionale di Clinica e Terapia*, 1931, n.º 16.
- CATTANEO. — Contributo allo studio della genesi dei monociti. *Haematologica*, 1931, pág. 567.
- Sulla formazione di tessuto mieloide nell'arteria carotide del coniglio doppiamente legata. *Pathologica*, 1931, pág. 407.
- Sulla leucocitosi basofila sperimentale (contributo allo studio della genesi dei mastleucociti del sangue circolante). *Haematologica*, 1933, pág. 29.
- CAVALLARO, V. — Cellule istioidi (emoistioblasti) e loro derivati granulocitici nel fegato e nella milza embrionale. *Idem*, 1924, pág. 266.
- Contributo allo studio della microglia. *Pathologica*, 1927, pág. 11.
- La microglia e i processi di fagocitosi del cervello. *Idem*, 1928, pág. 13.
- X CESA-BIANCHI, D. — La patologia del sistema reticolo-endoteliale. Separata da *Rassegna Clinico-Scientifica*, 1927, n.º 3.
- Sindromi anemiche epatosplenomegaliche e sistema reticolo-endoteliale. Separata da *Atti del XXXII Congresso della Soc. Ital. de Med. Int.*, Padova, 1926.
- Le epatiti croniche. Sep. de *Rassegna Clinico-Scientifica*, 1932, n.º 12.
- Le sindromi emolitiche. Sep. de *La Riforma Medica*, 1933, n.º 39.
- CESARIS-DEMEL, A. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1934, pág. 514.
- CHAHOVITCH, X. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1932, pág. 451.
- CHIARIELLO, A. G. — *Idem*, 1931, pág. 65.
- CHAMPY. — Étude des réactions épithéliales dans les sacs aériens et les bronches des Oiseaux. *Arch. d'Anat. Microsc.*, 1929, pág. 236.
- & BINET. — Sur les cultures de poumon in vitro. *C. R. Soc. de Biol.*, 1926, t. XCIV, pág. 1133.
- CHIODI, V. — Sulla natura delle cellule libere del polmone e del rivestimento dell' alveolo polmonare. *Arch. Anat. Histol. et Embr.*, 1928, pág. 311.
- CHIURCO, G. A. & VOLPE, A. — Cfr. ref. in *Index Analyticus Cancerologiae*, 1933, pág. 327.
- CIONINI, A. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1927, pág. 189.
- CLASING, C. — Cfr. ref. in *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1931, pág. 153.
- CLAUSER, F. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1930, pág. 319.
- CLEMENT, G. — Comportamento del tessuto reticolare negli innesti muscolari nel fegato. *Idem*, 1927, pág. 264.
- COLLON, N. — De l'effet du blocage du S. R. E. sur l'immunité naturelle et acquise. *Arch. Internat. de Méd. Exp.*, 1927, pág. 273.
- CONTI, F. — Mielose aplastica. *Haematologica*, 1933, pág. 85.
- Influenza del Thorotrast sulla biligenesi e sul ricambio idrico. *Rass. Int. di Chir. e Terap.*, n.º 18, 1932.
- CORNIL & RANVIER. — Manuel d'Histologie pathologique. Paris, 1901.
- COSTANTINI, P. — Ricerche sperimentali sui processi riparativi del polmone. *Arch. Italiano di Anat. e Istol. patol.*, 1933, n.º 5, pág. 852.

- CRISAN, C. — Répartition de l'encre de Chine dans l'organisme du Cobaye; ses rapports avec le syndrome anaphylactique. *C. R. Soc. de Biol.*, 1928, t. XCVIII, pág. 53.
- Répartition de l'encre de Chine dans les organes du Cobaye après les injections intrapéritonéales. *Idem*, 1928, t. XCIX, pág. 1074.
- DANTSCHAKOFF, W. & RICHTER, M. — Hemopoiesis in the embryonic mesenchyme of Chick. *Anat. Record*, 1920, pág. 231.
- DELATER. — De l'immunisation locale à l'immunité générale. Tendances modernes à expliquer l'infection et l'immunité par un processus de réaction localisée. Vaccination locale. *Presse Médicale*, 1924, pág. 3.
- DEMANT, P. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1927, pág. 122.
- DENIER. — Traitement combiné des néoplasmes par la Roentgénéthérapie et le bleu d'isamine. *Néoplasmes*, 1933, pág. 545.
- DESPLANQUES, S. & VERGE. — Anaphylaxie tissulaire. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1932, pág. 653.
- DIAS, E. — Le *trypanosoma cruzi* et ses rapports avec le système réticulo-endothélial. *C. R. Soc. de Biol.*, 1932, pág. 206.
- DELLEPIANE, G. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1931, pág. 1923.
- DERMAN, G. L. — Cfr. ref. in *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1929, pág. 811.
- DIERYCK, J. — L'épreuve au Rouge-Congo de ADLER & REIMANN. *Revue belge des Sciences Médicales*, 1929, n.º 8, pág. 685.
- Du rôle du système réticulo-endothélial dans la production des anticorps. *C. R. Soc. de Biol.*, 1931, t. CVII, pág. 1598.
- DI GUGLIELMO, G. — La patologia e la clinica del sistema reticolo-endoteliale. *Haematologica*, vol. VII, 1926, pág. 481.
- Le eritremie. *Idem*, 1928, pág. 301.
- La patologia e la clinica del sistema reticolo-endoteliale. *Idem*, 1928, pág. 349.
- Sistema reticolo-endoteliale. In *Le emopatie* de FERRATA, vol. I, p. II, 1933.
- DOWNNEY, H. — «Histiocytes» and «macrophages» and their relations to the cells of normal blood in animal stained intra-vitam with colloidal dyes. *Anat. Record*, 1917, pág. 350.
- Further studies on the reactions of blood and tissue-cells to acid colloidal dyes. *Idem*, 1918-19, pág. 103.
- DREYFUS, A. & PIRES FERAZ. — Gonades de la Souris blanche, injection de bleu trypan et injection d'urine de Femme enceinte. *C. R. Soc. de Biol.*, 1933, pág. 1511.
- Contribution à l'étude du S. R. E. du testicule de la Souris blanche. *Idem*, 1933, t. CXII, pág. 1505.
- DU BOIS, A. H. — Système réticulo-endothélial et réactions méningées. *Idem*, 1931, t. CVI, pág. 1114.
- Variations des albumines et de la pression colloïdo-osmotique du sérum sanguin sous l'influence du blocage réticulo-endothélial. *Idem*, 1931, t. CVIII, pág. 637.

- DU BOIS, A. H. — Fixation vitale réticulo-endothéliale des colloïdes électro-négatifs ingérés. *Idem*, 1932, t. CXI, pág. 576.
- Physiologie et physiopathologie du système réticulo-endothélial. Paris, 1934.
- DUHAMEL. — Fixation au niveau du foie des métaux et métalloïdes en solutions colloïdales introduits dans l'organisme par voie veineuse. *C. R. Soc. de Biol.*, 1919, t. LXXXI, pág. 724.
- & TIEULIN, R. — Localisations de l'or colloïdal électrique dans les organes. *Idem*, 1919, t. LXXXII, pág. 1178.
- DUJARRIC, R. & V. KOSOVITCH. — Globules rouges et immunité. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1933, pág. 149.
- DUSTIN, A. P. — La pycnose expérimentale — ou crise caryoclasique — réalisée par l'injection de dérivés de l'aniline. *C. R. Soc. de Biol.*, 1925, t. XCIII, pág. 465.
- Les sensibilités différentielles aux poisons caryoclasiques chez la Souris blanche. *Idem*, idem, pág. 1535.
- Les poisons caryoclasiques. Moyens d'analyse cytophysiologique. *Archives d'Anat. Microsc.*, 1929, pág. 37.
- PITON & ROCMANS. — Étude comparative des altérations histologiques et des variations du pH sanguin après irradiation. *C. R. Soc. de Biol.*, 1931, t. CVII, pág. 1562.
- & S. ZYLBERSZAC. — Mise en évidence du S. R. E. par une substance sans effet caryoclasique. *C. R. de l'Assoc. des Anat.*, 1933, pág. 275.
- EGAS MONIZ. — L'encéphalographie artérielle, son importance dans la localisation des tumeurs cérébrales. *Revue Neurol.*, n.º 1, Julho, 1927.
- Injections intracarotidiennes et substances injectables opaques aux rayons X. *Presse Médicale*, n.º 63, 6 de Agosto, 1927.
- Emprego do «torotrast» na encefalografia arterial. *Boletim da Academia das Ciencias*, 1931, pág. 1030.
- L'angiographie cérébrale. Paris, 1934.
- A. PINTO e A. LIMA. — Resultados obtidos com o emprêgo do «torotrast» na prova da encefalografia arterial. *A Medicina Contemporanea*, n.º 45, 8 de Novembro de 1931.
- — — Le thorotrast dans l'encéphalographie artérielle. *Revue Neurologique*, n.º 5, Novembro, 1931.
- A. CHAVES e P. CALDAS. — Interpretação das opacidades nas séries angiográficas da cabeça. *Lisboa Médica*, 1933, pág. 122.
- EINHORN. — L'hépatographie. *Presse Médicale*, n.º 79, 1927.
- EPSTEIN, E. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1931, pág. 484.
- ESPOSITO, A. — Sulle cellule reticolo-endoteliali nel sangue circolante dei tifosi. *Haematologica*, 1928, pág. 157.
- Morfologia e significato anatomico degli emoistioblasti nelle leucemie. *Idem*, v. 4, 1932, pág. 269.
- FABRONI, S. M. — Il sistema reticolo-endoteliale nella difesa dell'organismo contro l'azione dei sali di metalli pesanti. *Idem*, 1929, pág. 89.
- FARSMANN & SKOG. — L'influence des injections d'encre de Chine sur l'ana-

- phylaxie renversée et sur le syndrome carotidien du Cobaye après injection de certains sérums. *C. R. Soc. de Biol.*, 1925, t. XCIII, pág. 145.
- FAU, J. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1929, pág. 595.
- FERNBACH, H. & F. HEPNER. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1927, pág. 881.
- FAURÉ-FRÉMIET. — À propos des «cellules à graisse» de l'alvéole pulmonaire. *C. R. Soc. de Biol.*, 1920, t. LXXXIII, pág. 11.
- Action des différents composés chimiques sur la cellule épithéliale pulmonaire. *C. R. Acad. des Sciences*, 1920, pág. 1344.
- & DRAGOIU. — Caractérisation microchimique d'un composé sulfuré dans la cellule épithéliale granuleuse du poumon. *C. R. Soc. de Biol.*, 1923, t. LXXXIX, pág. 304.
- — Le développement du poumon foetal chez le Mouton. *Arch. d'Anat. Microsc.*, 1923, pág. 411.
- FAVILLI, G. — Osservazioni sul tessuto connettivo reticolare e sulla struttura dei capillari nei tessuti di granulazione. Separata de *Lo Sperimentale*, 1925, n.º 6.
- L'anatomia, la fisiologia, la fisiopatologia del sistema reticolo-endoteliale. Separata do *Bollettino dell'Istituto Sieroterapien Milanese*, Dezembro, 1927.
- FERRATA, A. — Le emopatie. Roma, 1933.
- & MICHELS, N. — Les cellules sanguines de la période préhépatique chez l'embryon de cobaye. Importance de l'étude des premières formes sanguines pour la pathologie du sang. *C. R. Soc. de Biol.*, 1923, pág. 437.
- & NEGREIROS RINALDI. — Emoistioblasti e monociti nella milza malarica. *Haematologica*, f. 1, 1920.
- FIESCHI, A. — Ricerche sulla colorazione sopravvitala dei leucociti in alcune emopatie. *Pathologica*, 1929, pág. 349.
- FISSINGER, N. & LONGCHAMPT. — La méthode de Rosenthal pour l'exploration fonctionnelle du foie. *Prog. Méd.*, n.º 52, 1925.
- OLIVER & CASTERAN. — Le rôle de la rate et en particulier du couple endothélial splénohépatique dans la fonction chromagogue du foie. *Presse Médicale*, 1917, pág. 1105.
- & H. WALTER — Du mode de diffusion et d'élimination du rose bengale dans l'organisme humain. *C. R. Soc. de Biol.*, 1926, t. XCIV, pág. 510.
- — & H. R. OLIVER. — Les phénomènes d'adsorption du rose bengale dans le milieu sanguin. *Idem*, 1927, t. LXXXIX, pág. 8.
- — — Les rétentions colorantes comparées au cours des maladies du foie. *Presse Médicale*, 1927, pág. 305.
- FILIPPIS, V. & C. SCAGLIONI. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1932, pág. 160.
- FIRKET, J. — Les réactions réticulo-endothéliales médullaires des lapins hypercholestérolémiques. *Arch. d'Anat. Microscop.*, 1929, pág. 471.
- & S. COMHAIRE. — Hyperplasies et prétendus «blocages» réticulo-endothéliaux chez des lapins hypercholestérolémiques. *C. R. Soc. de Biol.*, 1928, t. XCVIII, pág. 1441.
- FISCHER, A. — Sur la transformation, in vitro, des gros leucocytes mononucléaires en fibroblastes. *Idem*, 1925, pág. 109.

- FRANCO, E. — Hémohistioblaste et leurs dérivés monocytiques, lymphocytiques et granulocytiques dans la rate et dans le sang circulant d'enfants atteints de Leishmaniose. *J. de Sc. Mat. Fis. e Naturais*, n.º 9, 1922.
- Cellule istioïde (emoistioblasti) e loro derivate nel sangue circolante. *Arch. par le Sc. Med.*, vol. XLII, 1919, pág. 109.
- Hémohistioblaste et leurs dérivés monocytiques, lymphocytiques et granulocytiques dans la rate et dans le sang circulant d'enfants affectés de Leishmaniose. *C. R. Soc. de Biol.*, 1920, t. LXXXIII, págs. 1187 e 1189.
- & C. AFFONSO. — Le alterazioni istologiche di alcuni organi interni dei topi trattati col catrame. *Pathologica*, vol. XVIII, 1926, pág. 8.
- FREUND, J. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1927, pág. 85.
- GALEA & E. FALCHETTI — Étude sur l'action des foyers inflammatoires locaux. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1933, pág. 673.
- GANDOLFO, S. — À propos de la nature des cellules sanguines primitives. *C. R. Soc. de Biol.*, 1924, t. XCI, pág. 139.
- GÉRARD, M. J. — Effets des injections de thorium sur les épreuves d'hyperglycémie et de galactosurie provoquées. *Idem*, 1932, t. CXI, pág. 227.
- GHEORGHIU, I. — Le cancer des plantes et l'immunité anticancéreuse. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1933, pág. 535.
- GILBERT & JOMIER — Sur la présence de gros blocs graisseux coalescents dans les capillaires sanguins du poumon normal. *C. R. Soc. de Biol.*, 1905, t. LVII, pág. 38.
- — Note sur les cellules à graisse et à poussières du poumon. *Idem*, t. LVIII, pág. 87.
- — Étude histologique générale de la graisse du poumon. *Idem*, idem, pág. 89.
- — Note sur les cellules à graisse et à poussières du poumon. *Paris Médical*, 1924, pág. 87.
- GNOINSKI, H. — Variations du niveau de la glycémie chez les chiens néphrectomisés sous l'influence du blocage du système réticulo-endothélial. *C. R. Soc. de Biol.*, t. XCVIII, 1928, pág. 72.
- GODARD, H., C. PALIOS & A. CODOUNIS. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1934, pág. 63.
- GOEBEL, F. — Influence de la thyroïde sur le blocage du S. R. E. *C. R. Soc. de Biol.*, 1929, t. CI, pág. 586.
- & H. GNOINSKI. — Le métabolisme de la cholestérine et le S. R. E. *Idem*, 1927, t. XCVI, pág. 1483.
- GOLDNER, J. — L'histiocyte, cellule phagocytaire des sarcolytes. *Idem*, 1933, t. CXIV, pág. 1131.
- GOLDZIEHER, M. A. & HIRSCHHORN. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1931, pág. 88.
- GOTTARDI, G. — *Idem*, 1927, v. I, pág. 944.
- GOUNELLE, H. — La production expérimentale et l'histogénèse du monocyte à partir du système réticulo-endothélial. *Paris Médical*, 1928, pág. 224.
- GOYANES, A. & C. MAC LELLAN. — Ensayos experimentales acerca de la

- acción de estímulos fisicoquímicos sobre las actividades defensivas del sistema reticuloendotelial. *Revista Médica de Barcelona*, 1933, t. xx, pág. 318.
- GOZZANO. — Sugli effetti delle cosiddette colorazioni vitale nel sistema nervoso centrale. *Haematologica*, 1927, t. 8, fasc. 5.
- GRADINESCO, AR. & L. JONESCO. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1934, pág. 63.
- GRANEL. — Sur les cellules à graisse des cavités alvéolaires du poumon. *C. R. Soc. de Biol.*, 1919, t. LXXXII, pág. 1329.
- Sur l'élaboration de la graisse dans l'épithélium pulmonaire. *Idem*, *idem*, pág. 1367.
- Les lipoïdes de l'épithélium pulmonaire. *C. R. Assoc. des Anat.*, Paris, 1921, pág. 251.
- & HEDON. — Recherches histologiques sur le fer et le charbon du poumon. *C. R. Soc. de Biol.*, 1928, t. XCVII, pág. 194.
- GRAVANO, L. — Amilosis renal. Estudio clinico. *El Dia Médico*, 1933, ano V, n.º 23, pág. 481.
- GRIESBACH, W. — Eine klinisch brauchbare Methode der Blutmengenbestimmung. Separata de *Deut. Med. Wochen.*, 1921, n.º 43.
- GRONCHI, V. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1931, pág. 1333.
- GRYNFELT, E. — Interréactions cortico-médullaires dans les surrénales normales et dans leurs adénomes. *C. R. de l'Assoc. des Anat.*, Lisboa, 1933, pág. 275.
- GUERRIERO. — Sur les éléments à fonction colloïdopexique du cal irradié. *C. R. Soc. de Biol.*, 1930, t. CIV, pág. 889.
- GUILLIERMOND, A. — Toxicité des colorants vitaux. *Idem*, 1930, pág. 468.
- HADJIGEORGE, E. — L'amylose expérimentale. *Progrès Médical*, 1933, pág. 1826.
- HAENDEL, M. & J. MALET. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1931, pág. 1710.
- HAMMERSCHMIDT. — Cfr. ref. in *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1930, n.º 5, pág. 591.
- HEILMEYER, L. — Comportamiento del rojo Congo respecto de los coloides del suero y una aportación metódica a la determinación de la cantidad de sangre con el rojo Congo par el método de GRIESBACH. Trad. de *Biochem. Zeitschr.* 212, 1929, pág. 430.
- HERZENBERG, H. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1926, pág. 352.
- HIGGINS, G. M. & G. T. MURPHY. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1931, pág. 1678.
- HIRSCHFELD, H. & F. P. TINOZZI. — Cfr. ref. in *Index Anal. Cancerol.*, 1928, pág. 337.
- HOWELL, K. M. & L. E. TOWER. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1927, pág. 309.
- HUDELO & CAILLIAU. — Le tissu réticulo-endothélial à l'état normal et pathologique. *Ann. de Derm. et Syphiligr.*, 1928, n.º 1 e 3, págs. 19 e 145.
- HUGUENIN, R. & J. DELARUE. — Recherches expérimentales sur les réactions pathologiques initiales de l'alvéole pulmonaire. *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1929, pág. 1181.

- HUGUENIN, R., P. FOULON & J. DELARUE. — Le revêtement de l'alvéole pulmonaire. Ses destinées pathologiques. *Idem*, 1929, pág. 775.
- NEMOURS & ALBOT. — Les hépatites et les cirrhoses expérimentales au bioxyde de thorium. *Idem*, 1932, pág. 263.
- INTROZZI, P. — Sul comportamento delle cellule del KUPFFER negli animali splenectomizzati. *Bollettino Soc. Medico-Chirurgica di Pavia*, f. 5, 1926.
- Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1927, pág. 836.
- & C. DESSYLLA. — Contributo allo studio degli elementi reticolo-istiocitari del sangue circolante. *Haematologica*, v. XIII, 1932.
- IWATA, A. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1926, pág. 526.
- JUNGEBLUT, C. W. & J. A. BERLOT. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1927, pág. 86.
- — *Idem*, 1927, pág. 1111.
- W. C. & G. NEWMAN. — *Idem*, 1931, pág. 1113.
- & BARBARA. — *Idem*, idem, pág. 1414.
- JAFFÉ, R. — Studies on vital staining in experimental tuberculosis. Separata de *American Review of Tuberculosis*, 1926, n.º 2.
- Aleukemic myelosis. *Idem de Archives of Pathol. and Lab. Med.*, 1927, pág. 56.
- Zur Frage der Beeinflussung des retikulo-endothelialen Systems durch die Drüsen mit innerer Sekretion. *Idem de Zeitschrift für die gesamte exper. Medizin*, 1928, v. 62, n.º 3.
- Course in Hematology. Chicago, 1930.
- & L. BERMAN — The relations between KUPFFER cells and liver cells. Separata de *Archives of Pathology*, 1928, v. 5, pág. 1020.
- JANKE, H. — Thorium in der urologischen Röntgendiagnostik. *Med. Welt*, 1931, n.º 20, pág. 702.
- JOLLY. — Involution aiguë du thymus produite par une injection d'alcool. *C. R. Soc. de Biol.*, 1925, t. XCIII, pág. 478.
- JONNESCO & TUPA. — À propos de l'origine mésodermique de la microglie et de son rôle physiologique. *Idem*, 1929, t. C, pág. 184.
- JOSEPH, F. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1926, pág. 148.
- JOUSSET. — Les pigmentations pulmonaires et la fiction de l'anthracose. *Presse Médicale*, 1928, pág. 30.
- JUSSIN, W. & S. BELAWENETZ. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1932, pág. 714.
- KADRKA, S. — Ostéomyéographie expérimentale par voie endoveineuse. *Acta Radiologica*, 1933, f. 2.
- L'hépto-splénographie. — *Journal de Radiologie et d'Electrologie*, 1932, pág. 149.
- & JUNET. — Recherches expérimentales sur l'opacification radiologique de divers organes parenchymateux par injection intraveineuse de thorotrast. *Idem*, Dezembro de 1932.
- & ROSSIER. — Hépatosplénographie, acesoirement ostéomyéographies et néphrographies expérimentales. *Acta Radiologica*, f. 4, 1931.

- KAGAN, M. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1931, pág. 1348.
- KAHLSTORF, A. — Cfr. ref. in *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1929, pág. 77.
- KANETZKI. — Cfr. ref. in *Index Anal. Cancerol.*, t. IV, 1930, pág. 51.
- KARLO RADONICI. — Nouvelles méthodes d'examen clinique et radiologique du foie. *Presse Médicale*, 1932, pág. 1736.
- KATSUGA, S. — Cfr. ref. in *Gynécologie et Obstétrique*, 1933, t. XXVIII, pág. 631.
- KATSUNUMA, S. & K. SUMI. — Cellules réticulo-endothéliales et immunité locale. *C. R. Soc. de Biol.*, 1924, t. XCI, pág. 1401.
- KERGUNTUL, R. — La greffe des tumeurs malignes entre espèces animales distinctes. Ses difficultés et les éléments biologiques du problème. Étude critique. *Rev. Pathol. comparée et Hyg. générale*, 1933, n.os 442 a 445.
- KINGSLEY, W. — Regressive structures and the lymphocyte. The plasma cell; its origin and development. A study of the mammalian nictitating membrane. *The Anatomical Record*, 1924, vol. 29, pág. 1.
- KISSMEYER, A. — Études sur les nævi pigmentaires de la peau humaine. Paris, 1927.
- KIYONO. — Istiociti e cellule del sangue. *Folia Haematologica*, 1914, pág. 149.
- KOLLE & HETSCH. — Bactériologie expérimentale. Paris, 1911.
- KOLMER, SCHAMBERG, RULE & MADDEN. — Cfr. ref. in *Annales de Dermat. et de Syphil.*, 1933, pág. 891.
- KONRAD E. BIRKHAUG. — The relation of the sedimentation reaction bacillemia and the monocyte-lymphocyte ratio in the tuberculous guinea-pig. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1933, pág. 428.
- KRUMBHAAR, E. B. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1927, pág. 267.
- KUBIE, L. S. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1929, pág. 194.
- LAMBIN, P. — Sur les rapports des cellules réticulaires et des cellules limphoïdes du parenchyme myéloïde. *Haematologica*, 1924, pág. 294.
- Recherches sur le rôle hématopoïétique du système réticulo-endothélial. *Idem*, vol. VIII, 1927.
- Influence du dioxyde de thorium colloïdal (thorotrast) sur la formule sanguine. *C. R. Soc. de Biol.*, 1931, t. CVIII, pág. 264.
- LANG, F. Y. — Cfr. ref. in *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1928, pág. 192.
- Sui fagociti alveolari dei polmoni. *Pathologica*, 1931, pág. 49.
- LARRÚ. — Cfr. ref. in *La Medicina Ibero*, 16-XII-1933.
- LEIPERT, T. — Über die Verteilung des Thoriums im Organismus nach Injektion von Thorotrast. *Wien. Klin. Wschr.*, 1931, n.º 36, pág. 1135.
- LENZI, L. — La monocitosi saturnina. *Arch. Italiano di Anat. e Ist. patol.*, 1934, pág. 891.
- LETTERER. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1928, pág. 489.
- LEURET, E. & J. CAUSSIMON. — Réactions du tissu pulmonaire à la pénétration de corps étrangers par voie sanguine. *Presse Médicale*, 1933, pág. 754.
- LEVI, M. — Osservazioni sulla costituzione morfologica del sangue dopo la splenectomia. *Pathologica*, 1929, pág. 126.

- LEVINSON, L. B. & E. E. GOLUBEWA. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1932, pág. 168.
- LIGNAC & K. BORNE. — Cfr. ref. in *Index Analyticus Cancerologiae*, 1928, pág. 340.
- LIPSCHÜTZ, A. — La pluralidad de las hormonas iso-orgánicas y la teoría de los complejos endocrinos. Separata de *Anales de Medicina Interna*, t. 11, n.º 2, 1933.
- LIVERANI, E. — Ricerche sperimentali di istopatologia sull'uso del thorostrast. *Il Policlinico (Sez. Med.)*, n.º 8, 1932.
- LOEWENTHAL, N. — Étude sur les globules blancs du sang dans la série des Vertébrés. *Arch. d'Anat. d'Hist. et d'Embriol.*, 1928, pág. 225.
- Observations sur les globules blancs du sang des Mammifères. *Idem*, 1933, pág. 247.
- LUDFORD, R. G. — The influence of vital dyestuffs and of metallic colloids on resistance to transplantable new-growths. *Report on the investigations of the Imperial Cancer Research Fund.*, 10, 1932, pág. 1.
- Cfr. ref. in *Index Analyticus Cancerologiae*, 1934, pág. 37.
- LUMIÈRE, A. — Colloïdes et micelloïdes. — Paris, 1934.
- R. H. GRANGE & A. DUBOIS. — Protection contre le choc anaphylactique au moyen du cholestérol. *C. R. Soc. de Biol.*, 1931, t. CVII, pág. 159.
- & B. MORIN. — Les accidents anaphylactiques au cours de la préparation des sérums hémolytiques chez le Lapin. *Idem*, 1933, t. CXIV, pág. 1116.
- LUZZATTO. — Funzione emocateretica delle ghiandole linfatiche delle cavie splenectomizzate. *Haematologica*, f. 4, 1926.
- Cfr. ref. in *Journal of the Am. Med. Assoc.*, n.º 8, 1933, pág. 618.
- MALYSCHEW, B. — Cfr. ref. in *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1929, pág. 77.
- MANAI, A. — Sistema reticolo-endoteliale e infezione malarica. *Haematologica*, 1929, pág. 407.
- MARCHAND. — Les pores alvéolaires du poumon chez les animaux. *C. R. Soc. de Biol.*, 1911, t. LXX, pág. 912.
- MARIE, A. C. — Virus rabique et encre de Chine. *Idem*, 1929, pág. 6.
- MARINESCO. — Recherches sur la structure normale et pathologique de la microglie. *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1930, pág. 153.
- Quelques données nouvelles sur la neuronophagie. *Idem*, idem, pág. 341.
- & J. MINEA. — Note sur les modifications de la névroglie dans la paralysie générale étudiées à l'aide de la méthode de l'or et du sublimé de Cajal. *C. R. Soc. de Biol.*, 1920, pág. 557.
- MASSON, P. — Essai sur les tumeurs næviques. *Bull. de l'Assoc. fr. du Cancer*, 1921, pág. 303.
- Les cellules de Langerhans. Leur rôle dans les échanges dermo-épidermiques. *Bull. de la Soc. fr. de Dermat. et Syphiligr.*, Março, 1921.
- MATTEO TESTA. — Sulla genesi e funzione delle cellule interstiziali e luteiniche dell'ovaio e di quelle interstiziali del testicolo. *Haematologica*, vol. X, 1929, pág. 1.

- MATTEO TESTA. — Le cellule di rivestimento degli alveoli pulmonari: loro genesi mesenchimale e loro comportamento nell'infezione tubercolare sperimentale. *Idem*, 1929, pág. 423.
- MAXIMOW, A. A. — Les relations des cellules sanguines avec le tissu conjonctif et avec l'endothélium. *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1927, pág. 701.
- MAWAS, J. — Note sur la structure et la signification glandulaire probable des cellules névrogliales du système nerveux central des Vertébrés. *C. R. Soc. de Biol.*, 1910, t. LXIX, pág. 45.
- MCJUNKIN, F. A. — The identification of endothelial leucocytes in human tissue. *Anatomical Record*, 1918-19, pág. 159.
- MELZAK. — Azione del blocco del sistema reticolo-endoteliale sulla anafilassi classica. *Pathologica*, 1930, t. XXII, pág. 625.
- MERKLEN, P. — Le système réticulo-endothélial. *Paris Médical*, 1928, pág. 85.
- & A. DEVAUX. — La neurophagie. *Presse Médicale*, 16 de Abril, n.º 31, 1902.
- L. GÉRY & C. ISRAEL. — Étude clinique et anatomique d'un cas d'aleucie vraie. Absence de globules blancs dans le sang. Discussion diagnostique notamment sur le syndrome de FRANK. *Idem*, 1934, n.º 80, pág. 1553.
- & WOLF. — Le monocyte. Cytologie et histogénèse du mononucléaire granuleux des tissus et du sang. *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1927, pág. 621.
- — Monocytes-monocytoses. Leucémies à monocytes. Trialisme leucocytaire. *Presse Médicale*, 1927, pág. 145.
- — Participation des endothéliites artério-capillaires au syndrome de l'endocardite maligne lente. *Idem*, 25 de Janeiro, n.º 7, 1928.
- METALNIKOV, S. & TOUMANOFF. — La phagocytose et les réactions des cellules dans l'immunité locale. *Ann. Inst. Pasteur*, 1925, t. XXXIX, pág. 2.
- METCHNIKOFF. — Pathologie comparée de l'inflammation. Paris, 1892.
- Immunité dans les maladies infectieuses. *Idem*, 1901.
- MEYER. — Influencia do bloqueio do systema reticulo-endotelial sobre o desenvolvimento do linfosarcoma transplantavel do Camondongo. *Ann. Faculd. Med. São Paulo*, 1929, pág. 191.
- Cfr. ref. in *Revue Neurologique*, 1932, pág. 218.
- MICHELAZZI, L. — Sistema reticolo-endoteliale e anafilassi. *Pathologica*, 1927, pág. 527.
- MIDY, R. — Cfr. ref. in *Presse Médicale*, n.º 77, 1934.
- MIGLIAVACCA, A. — Sull'origine delle cellule eosinofile dei tessuti. *Haematologica*, 1930, pág. 151.
- MILLOT. — Sur le rôle adipopéxique du foie des Vertébrés. *C. R. Assoc. des Anat.*, Paris, 1928.
- MISCHTSCHENKO, J. P. — Cfr. ref. in *Biol. Abst.*, 1931, pág. 413.
- MOLDOVAN, J. & M. ZOLOG. — Réduction de l'hypersensibilité et modification du choc anaphylactique chez le Cobaye. *C. R. Soc. de Biol.*, 1923, t. LXXXVIII, pág. 1239.

- MOLDOVAN, J. & M. ZOLOG. — Le mécanisme de l'action protectrice de l'encre de Chine dans l'anaphylaxie chez le Cobaye. *Idem*, idem, pág. 1242.
- — La coagulabilité du sang dans le choc anaphylactique. *Idem*, t. LXXXVII, pág. 937.
- — Sur un principe désensibilisant sécrété dans le sang après l'injection d'encre de Chine. *Idem*, 1925, t. XCII, pág. 720.
- & T. SLAVOACA. — Sur la nature du principe désensibilisant après injection de l'encre de Chine. *Idem*, 1926, t. XCIV, pág. 1305.
- MOLE, R. H. — Cfr. ref. in *Biol. Abst.*, 1931, pág. 1644.
- MOLLO, L. — Il blocco del sistema reticolo-endoteliale in rapporto alla guarigione della ferite. *Pathologica*, 1932, pág. 387.
- MOMIGLIANO, E. — Cfr. ref. in *Gynécologie et Obstétrique*, 1933, t. XXVIII, pág. 649.
- MONTEIRO, HERNÂNI. — Visibilidade do sistema linfático no vivo. *Portugal Médico*, n.os 4 e 5 de 1934.
- MONTEMARTINI, G. — Cfr. ref. in *Biol. Abst.*, 1931, pág. 1333.
- *Idem*, idem, pág. 1350.
- MORAIS, ERNESTO. — Contribution à l'étude des leucocytes chez de Lapin. *Folia Anat. Univ. Conimbr.*, 1932, vol. VII, n.º 6.
- Nouvelles données pour l'étude des leucocytes chez le Lapin. *Idem*, 1933, vol. VIII, n.º 7.
- Le blocage du système réticulo-endothélial et la production d'hémolysines. Com. à *Soc. de Biol.*, Novembro, 1932.
- Sôbre o valor da prova do vermelho do Congo de ADLER & REIMANN. Com. ao XIV Congresso de la Assoc. Españ. para el Progreso de las Ciencias, Santiago, Agosto de 1934.
- & J. BACELAR. — Modifications leucocytaires au cours de la cancérisation expérimentale au goudron chez le Lapin. *C. R. Soc. de Biol.*, 1933, t. CXV, pág. 574.
- & BEIRÃO REIS. — Sôbre a monocitose consecutiva à excitação do sistema retículo-endotelial. *A Medicina Contemporanea*, n.º 42, 1934.
- Influence du taux de sérine du sérum sanguin dans les résultats de l'épreuve d'Adler et Reimann. *C. R. Soc. de Biol.*, 1935, t. CXVIII, pág. 1513.
- MOREL, P. — Dédoublément des éthers par la muqueuse pulmonaire. Lipase pulmonaire. *Bull. de la Soc. de Chimie Biol.*, Junho, 1919.
- MULÈ. — Contributo sperimentale allo studio del comportamento morfologico del midollo osseo negli animali splenectomizzati. *Gazz. Intern. Napoli*, Setembro, 1905.
- MUNCK, W. — Ref. in *Index Anal. Cancerol.*, 1928, pág. 341.
- MURPHY, J. B. — The lymphocyte in resistance to tissue grafting, malignant disease, and tuberculous infection: an experimental study. *Monographs of the Rockefeller Institute for Medical Research*, n.º 21, 1926.
- NAEGELI, TH. — Die Kontraströntgendarstellung der Milz und ihre praktische Verwertung. *Fortschr. Röntgenstr.*, 1931, n.º 3, pág. 401.

- NAGEOTTE, J. — Phénomènes de sécrétion dans le protoplasma des cellules névrogliques de la substance grise. *C. R. Soc. de Biol.*, 1910, t. LXVIII, pág. 1068.
- NASTA, M., M. BLECHMANN & C. TUNARU. — Modifications du nombre des leucocytes et de la formule leucocytaire chez le Cobaye infecté avec le Bacille bilié de CALMETTE et GUÉRIN. *Idem*, 1929, t. CI, pág. 320.
- NICOLAS, J. & DUMOULIN. — Influence de la splénectomie sur la richesse globulaire du sang, sur sa valeur colorimétrique et sa teneur en fer chez le Chien. *Idem*, 1904, t. LVI, pág. 105.
- NICOLAS, V. — Apparition de *Bartonella muris ratti* dans le sang des rats blancs splénectomisés. *Idem*, 1929, t. CII, pág. 173.
- NINNI, C. & A. GUALDI. — Influence du blocage du système réticulo-endothélial par le bleu trypan sur la bacillémie tuberculeuse expérimentale. *Idem*, 1933, t. CXII, pág. 960.
- NORONHA. — Sur la morphologie de l'épithélium des alvéoles pulmonaires chez les Amphibiens. *Idem*, 1927, t. XCVII, pág. 885.
- OBERLING, CH. — Le système réticulo-endothélial. *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1924, pág. 87.
- & M. GUÉRIN. — Action du thorotrast sur le sarcome de Jensen du Rat blanc. *Bull. de l'Assoc. franç. du Cancer*, t. XXII, 1933, pág. 469.
- OCCHIONI. — Stati immunitari e S. R. E. *Haematologica*, vol. I, f. III, 1931, pág. 166.
- OIKE, M. — Cfr. ref. in *Biol. Abst.*, 1932, pág. 100.
- *Idem*, idem, pág. 2306.
- OLMI, G. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1931, pág. 95.
- ORR, J. W. — Monocytic leukaemia: two cases. *Lancet*, 1933, pág. 403.
- ORRU, M. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1931, pág. 375.
- OSELLADORE, G. — *Idem*, 1929, pág. 585.
- & J. SACCHETTO. — *Idem*, 1928, pág. 98.
- OUTERIÑO, N. & V. GOYANES. — Estudio experimental de las variaciones morfológicas de la sangre bajo el influjo de la inoculación de productos tuberculosos en Cobayos normales y esplenectomizados. Separata de *Archivo de Cardiología y Hematología*, n.º 6, 1933.
- PACHECO, G. & O. BIER. — Influencia do «Bloqueio» sobre a actividade do complemento. *Arch. Inst. Biol. São Paulo*, 1929, pág. 291.
- PANISSET, M. — L'influence du blocage des cellules de KUPFFER sur la résistance du foie à l'égard d'une substance hépatotoxique. *C. R. Soc. de Biol.*, 1928, t. XCVIII, pág. 1520.
- PAOLAZZI. — Modificazioni ematiche e metaboliche indotte dalla legatura dell'arteria splenica. *Haematologica*, v. XV, 1934, pág. 191.
- PAOLO BARCO. — Il comportamento della lipemia dopo la splenectomia. *Pathologica*, 1928, pág. 510.
- Milza e digestione. Ref. in *Arch. Ital. di Chir.*, 1929, pág. 1.
- PAPILIAN, V. & P. RUSSU. — Effets de la ligature de la veine splénique sur le système réticulo-endothélial. *C. R. Soc. de Biol.*, 1931, t. CVII, pág. 380.

- PAPILIAN, V. & R. RUSSU. — Nouvelles recherches sur la ligature de la veine splénique. *Idem*, 1931, t. CVIII, pág. 283.
- & STEFAN. — Influence du système nerveux végétatif sur le système réticulo-endothélial. *Idem*, 1928, pág. 60.
- PARAF, J. — Le blocage du système réticulo-endothélial et l'immunité antituberculeuse du Cobaye. *Idem*, 1930, t. CIII, pág. 587.
- PATELLA. — La genesi endoteliale dei monociti, delle forme di passaggio e dei cosidetti linfociti del sangue. *Haematologica*, 1923, pág. 59.
- PAULO TIBIRIÇÁ. — Estudo sobre as relações entre o baço, o systema reticulo-endothelial e o cancer. A influencia comparada do baço normal, do baço de animais cancerosos e de extractos de baço sobre o S. R. E. *Revista de Biologia e Hygiene*, 1934, pág. 54.
- PAUTRIER, L. M. & G. LÉVY. — Contribution à l'étude de l'histophysiologie cutanée. Les échanges dermo-epidermiques et le reseau tropho-melanique. *Ann. Dermat. et Syphiligraphie*, 1921, t. v, pág. 700.
- PÉLISSIER, G. A. — Recherches sur l'absorption de l'huile dans le poumon. *C. R. Soc. de Biol.*, 1920, t. LXXXII, pág. 809.
- Origine épithéliale de la cellule à poussière de l'alvéole pulmonaire. *Idem*, idem, pág. 1215.
- Absorption par le poumon d'huile renfermant des produits de macération des bacilles tuberculeux. *Idem*, idem, pág. 1137.
- Nouvelles recherches sur les cellules libres de l'alvéole pulmonaire. *C. R. Assoc. Anat.*, Liège, 1926.
- L'organe lymphoïde du poumon. *Arch. d'Anat. Microscop.*, 1927, pág. 347.
- Les réactions épithéliales des sacs aériens chez les Oiseaux. *C. R. Soc. de Biol.*, 1929, t. CII, pág. 641.
- PERACCHIA & CASTELLANO. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1928, pág. 584.
- PETTINARI, V. — Greffe ovarien et action endocrine de l'ovaire. Paris, 1928.
- PIANESE, F. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1929, pág. 594.
- PICO, C. E. — Influence du manganèse sur les phénomènes de l'immunité. *C. R. Soc. de Biol.*, 1924, t. XCII, pág. 1049.
- PIERAERTS, G. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1929, pág. 431.
- PIERRE BOURGEOIS. — La névroglie et la microglie. *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1930, pág. 853.
- POLICARD. — Sur quelques points de la cytologie des plexus choroïdes. *C. R. Soc. de Biol.*, 1912, t. LXXIII, pág. 430.
- À propos du revêtement des alvéoles pulmonaires. *C. R. Assoc. des Anat.*, 1926, pág. 487.
- Sur la nature du revêtement des alvéoles pulmonaires des Mammifères. *Bull. d'Histol. appl.*, 1926, pág. 236.
- Les nouvelles idées sur la disposition de la surface respiratoire pulmonaire. *Presse Médicale*, 1929, pág. 1293.
- PONTICACCIA, L., D. CAMPANACCI & M. ISALBERTI. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1927, pág. 81.
- POPA, T. & FIELDING. — L'expansion des mélanophores sous l'action de l'extrait

- du lobe antérieur de l'hypophyse mélangé avec des globules rouges. *C. R. Soc. de Biol.*, 1933, t. CXIV, pág. 1139.
- POPPER, H. & C. RAILEANU. — Recherches sur le rôle du système réticulo-endothélial dans la tuberculose expérimentale du Cobaye. *Idem*, 1932, pág. 1379.
- & KLEIN. — Ueber Hepatolienographie. *Münch. Med. Wschr.*, n.º 43, 1931.
- Ueber Leberschädigungen nach intravenösen Thorotrastinjektionen. *Wien. Klin. Wschr.*, n.º 12, 1932.
- PÓVOA, H. — Noções de Anatomia pathológica. Rio de Janeiro, 1931.
- POZZAN, A. — Emocateresi fetale. *Pathologica*, 1933, pág. 331.
- PRATT, D. W. — Cfr. ref. in *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1929, pág. 78.
- PSAROMITAS. — Cfr. ref. in *Index Anal. Cancerol.*, t. IV, 1930, pág. 60.
- PUCCINELLI, E. — Sulla presenza e sul significato di cellule contenenti ferro nell'ovaia. *Pathologica*, 1925, pág. 433.
- RADOVICI, A. & O. MELLER. — La liquidographie chez l'Homme. Essais d'encéphalographie par le thorotrast en injection sous-occipitale. *Presse Médicale*, 1934, vol. 1, pág. 153.
- J. BAZGAN & O. MELLER. — Recherches histologiques sur l'encéphalographie liquidienne par le thorotrast. *C. R. Soc. de Biol.*, 1933, t. CXIV, pág. 207.
- RAMIREZ CORRIA. — Cfr. ref. in *Index Anal. Cancerol.*, 1928, pág. 458.
- RAMON, G. — Procédés pour accroître la production des antitoxines. *Ann. Inst. Pasteur*, 1926, t. 2, pág. 1.
- & LEMETAYER. — À propos de la production de l'antitoxine tétanique par addition à l'antigène de substances non spécifiques. *C. R. Soc. de Biol.*, 1931, n.º 2, pág. 71.
- RANDERATH, E. — Anatomische Befunde nach intravenöser Thoriuminjektion beim Menschen zum Zwecke der Hepatolienographie. *Klin. Wschr.*, n.º 4, 1932.
- RANVIER, L. — Des clasmatoocytes. *Arch. d'Anat. Microsc.*, t. III, 1899-1900, pág. 122.
- RASZEJA, F. — Recherches histologiques sur la synoviale. *Bulletin d'Histologie appliquée à la Physiologie et à la Pathologie*, t. XI, n.º 3, 1934, pág. 97.
- RAVALICO, G. — Influenza della putrefazione sul reticolo endoteliale di pulmone di neonato. *Pathologica*, 1934, pág. 464.
- RAVENNA, P. — Cfr. ref. in *Presse Médicale*, n.º 13, 1934, pág. 39, anex.
- REEVES, R. & E. APPLE. — The use of thorium dioxide in the diagnosis of liver abscess. *Journ. Am. Med. Assoc.*, n.º 15, 1933.
- REGELSBERGER. — Schleimhautdarstellung mit Umbrathor. *Münch. med. Wschr.*, 1930, n.º 38, pág. 1649.
- RÉMOND, A., M. SENDRAIL & V. ROUDIL. — Cancer du goudron et système réticulo-endothélial. *C. R. Soc. de Biol.*, t. CI, 1929, pág. 1000.
- RENAUT, J. — Les cellules connectives rhagiocrines. *Arch. d'Anat. Microsc.*, vol. 9, 1907, pág. 495.

- RENAUT, J. & DUBREUIL. — Sur les cellules rhagioclines libres du liquide des diverses séreuses. *C. R. Soc. de Biol.*, vol. LX, 1906, pág. 34.
- REVELLO, M. — Sulla presenza di elementi reticolo-endoteliali nel tessuto cerebrale. *Pathologica*, 1930, pág. 613.
- REZZESI, F. D. — La infezione da «Bacterium Monocytogenes» e il problema del monocito. *Haematologica*, 1933, pág. 287.
- RIEUX, J. — L'hématopoïèse d'après les données actuelles. *Folia Haemat.*, vol. x, 1910.
- RINGOEN, A. — The hemohistioblasts of FERRATA. *Anat. Record*, 1924, pág. 216.
- RIO HORTEGA. — Concepts histogénique, morphologique, physiologique et physio-pathologique de la microglie. *Soc. Neur.*, Junho, 1930.
- ROBUSCHI, L. — Cfr. ref. in *Arch. des Mal. du Cœur*, 1933, n.º 4, pág. 267.
- ROCCHI, F. — Agglutinação e blocco dell'apparato reticolo-endoteliale. *Pathologica*, 1926, pág. 257.
- RODI, G. — Lipomatosi e pseudolipomatosi articolare. *Idem*, 1934, pág. 38.
- RODRIGUES, ÁLVARO. — O sistema linfático e a sua importância cirúrgica. In *Trabalhos do Laboratório de Medicina Operatória*, Pôrto, 1932.
- & SOUSA PEREIRA. — Novas orientações no estudo do sistema linfático. *Arquivo de Pathologia*, vol. III, n.º 2, Agosto de 1931.
- ROBERTO CARVALHO & SOUSA PEREIRA. — Le thorotrast dans la mise en évidence radiographique des lymphatiques chez le vivant. *C. R. de l'Assoc. des Anat.*, Lisboa, 1932.
- — — A visibilização radiográfica das artérias vertebrais e seus ramos no vivo. *A Medicina Contemporanea*, n.º 16, Abril, 1934.
- ROFFO, A. H. & O. CALCAGNO. — El rojo Congo en los cultivos de los tejidos normales y neoplásicos *in vitro*. *Bol. del Inst. de Med. Exp.*, 1931, t. VIII, pág. 352.
- ROGER & BINET. — Le métabolisme des graisses. Lipopexie et lipodiérèse pulmonaires. *Presse Médicale*, 1922, pág. 277.
- — Nouvelles recherches sur la lipopexie et la lipodiérèse pulmonaires. *C. R. Soc. de Biol.*, 1922, pág. 24.
- & VERNE. — Le processus histologique de la lipodiérèse pulmonaire. *Idem*, 1933, t. LXXXVIII, pág. 1140.
- — Sur la destinée de la graisse dans les capillaires au point de vue histologique. *C. R. Assoc. des Anat.*, Strasbourg, 1924, pág. 237.
- ROHRER. — *Deutsch Archiv für Klin. Med.*, 1917, pág. 221.
- ROMANIELLO, G. — Cfr. ref. in *Biol. Abst.*, 1931, pág. 1365.
- RONZINI, M. — L'esplorazione delle funzioni epatica e reticolo-endoteliale in chirurgia. *Archivio Italiano di Chirurgia*, vol. XXVI, 1930, pág. 355.
- ROSSAK, M. — Cfr. ref. in *Journal de Chirurgie*, 1933, pág. 297.
- ROUSLACROIX, A. — Nouvelle vue d'ensemble sur le système réticulo-endothélial. Paris, 1931.
- ROUSSY, G., CH. OBERLING & C. RAILEANU. — Lésions expérimentales des centres nerveux provoquées par application locale de goudron. *C. R. Soc. de Biol.*, 1930, t. CIV, pág. 726.

- ROUSSY, G., CH. OBERLING & GUÉRIN. — Action cancérogène du dyoxide de thorium chez le rat blanc. *Bull. de l'Académie de Médecine*, t. CXII, n.º 41, 1934.
- J. LHERMITTE & CH. OBERLING. — La névroglie et ses réactions pathologiques. *Revue Neurologique*, Paris, Junho, 1930.
- RUGIERI. — Cfr. ref. in *La Medicina Ibera*, 1933, pág. 527.
- RUSSEL. — Intra vital staining of microglia with trypan blue. *Amer. Journ. of Pathol.*, 1929, pág. 45.
- SACERDOTE, G. — Cfr. ref. in *Index Anal. Canc.*, 1928, pág. 344.
- SALAZAR, A. L. — Sur la période chromatolytique de la granulosa atrétique de la Lapine. *Mém. Soc. port. des Sc. nat., série biol.*, n.º 2, 1919.
- Formes leucocytoides des corpuscules de la chromatolyse atrésique ayant donné origine à des erreurs d'interprétation. *Bull. de la Soc. port. des Sc. nat.*, t. IX, 1921.
- Les mitoses de la granulosa atrésique dans l'ovaire de la Lapine. *Mém. Soc. port. des Sc. nat.*, n.º 4, 1923.
- En quoi consiste l'atypie des cinèses de la granulosa ovarienne et pourquoi cette atypie doit être considérée comme le prélude de l'atrésie. *C. R. Soc. de Biol.*, 1924, t. XC, pág. 586.
- Les débuts de l'atrésie folliculaire. Réponse à DE WINIWARTER. *Idem*, 1925, t. XCII, pág. 929.
- Quelques points de l'histologie de l'ovaire de la Lapine étudiés par la méthode tanno-ferrique. *Arch. port. des Sc. biol.*, Lisboa, 1925, t. I, fasc. 2.
- Période post-chromatolytique de l'atrésie des follicules de DE GRAAF. Atrésie des follicules jeunes et primordiaux de l'ovaire de la Lapine. *C. R. Soc. de Biol.*, 1931, t. CVI, pág. 1182.
- Notes de Laboratoire. *Folia Anatomica Universitatis Conimbrigensis*, 1932, vol. VII.
- SALVIOLI, J. & G. OSELLADORE. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1931, pág. 1391.
- SANCTIS MONALDI. — Modification de la formule hémoleucocytaire chez le Cobaye inoculé avec de fortes doses de B. C. G. *C. R. Soc. de Biol.*, 1929, t. CII, pág. 310.
- SANTOS, REYNALDO DOS. — Nouvelles applications cliniques de l'aortographie à quelques problèmes de chirurgie rénale. *A Medicina Contemporanea*, 1933, pág. 359.
- Pielographie descendente. *Idem*, idem, pág. 289.
- L'artériographie en série. *Bull. et Mém. de la Soc. Nat. de Chir.*, 4 Janeiro, 1933.
- A. C. LAMAS & J. P. CALDAS. — Artériographie des membres et de l'aorte abdominale. Paris, 1931.
- SAPINOSO, P., N. BERG & J. JOBLING. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1927, pág. 53.
- SATO, K. — *Idem*, 1932, pág. 997.

- SATOH, A. — Cfr. ref. in *Néoplasmes*, 1932, pág. 248.
- SCAGLIONI, C. — Sistema reticulo-endoteliale o sistema reticulo-istiocitário ed avitaminosi. *Arch. ital. di Anat. e Istol. patol.*, 1934, pág. 835.
- SCALA, G. & A. SPINA. — Gli elementi reticulo-endoteliali del simpatico addominale. *Folia Médica*, n.º 5, pág. 196.
- SCAPIER, J. — Étude de la régénération et de la cicatrisation des lésions cutanées expérimentales. *Néoplasmes*, 1934, págs. 5 e 65.
- SCARPELLO, A. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1929, pág. 590.
- SCHILLING. — Zur Kontrastuntersuchung von Milz und Leber. *Röntgenspr.*, 1931, n.º 11, pág. 492.
- El cuadro hemático y su valor en la clínica. Barcelona, 1934.
- SCHUSTEROWNA, H. — De l'influence des Rayons X sur les éléments réticulo-endothéliaux de la rate. *C. R. Soc. de Biol.*, t. CVIII, 1931, pág. 168.
- SCOTT, W. G. & H. PEARSE. — Cfr. ref. in *Biological Abstracts*, 1927, pág. 80.
- SEBAH, P. — Les lésions hépatiques consécutives a l'hépatographie par le thorotrast chez l'Homme. *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1934, pág. 840.
- SEEMANN, G. — Cfr. ref. in *Idem*, 1931, pág. 495.
- SEVERI, R. — Sulla difficoltà di attener l'anafilassi passiva eterologa nel coniglio. *Pathologica*, 1930, pág. 556.
- SEGRE. — Cfr. ref. in *Néoplasmes*, 1934, pág. 125.
- SEWELL, W. F. — The phagocytic properties of the alveolar cells of the lung. *Journal of Pathology and Bacteriology*, vol. 22, 1918-1919, pág. 41.
- SHUTE, E. & E. DAVIS. — Cfr. ref. in *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1934, pág. 66.
- SIMITICH, V. — Cellules réticulo-endothéliales et l'anaphylaxie. *C. R. Soc. de Biol.*, 1926, t. XCIV, pág. 23.
- SIMÕES RAPOSO, L. — Le revêtement alvéolaire et les cellules à poussière du poumon. *C. R. Soc. de Biol.*, 1930, pág. 922.
- Sur la susceptibilité et la résistance aux greffes cancéreuses. *Idem*, t. XCV, 1926, pág. 1297.
- Les conditions locales de la susceptibilité aux greffes cancéreuses. *Idem*, t. CV, 1930, pág. 158.
- Circulação capilar, edema pulmonar e mal das altitudes. *Jornal da Soc. das Ciênc. Méd. de Lisboa*, 1932.
- Contribuição para o estudo da imunidade anti-cancerosa. *Arquivo de Patologia*, vol. v, 1933, pág. 5.
- Sistema reticulo-endotelial. In *Actualidades Biológicas*, Coimbra, 1934, pág. 201.
- SMETANA, H. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1928, pág. 313.
- SOULA, L., J. TAPIE & J. FAU. — Monocytose expérimentale provoquée et entretenue par injections d'extraits lipidiques de rate. *C. R. Soc. de Biol.*, 1929, t. c, pág. 395.
- SOUZA, A. — Cellule istioïdi nel sangue circolante nel paludismo cronico. *Haematologica*, 1925, pág. 328.

- STEWART. — Étude de l'histogénèse de l'épithélium respiratoire. *Anat. Record*, 1923, pág. 181.
- STHURRAT, F. E. E. — La prueba del rojo Congo en las nefropatías. *El Día Médico*, ano IV, pág. 681.
- STORTI. — L'allacciatura dell'arteria splenica e la splenectomia. *Haematologica*, 1934, pág. 107.
- STRASSER, A. — Über Spätfolgen der Kreislaufstörungen. Die Polyglobulie der Herzkranken und ihre Behandlung. Separata de *Physikalische Therapie*, 1923, vol. 27.
- SUCHARD. — Structure du poumon de Triton. *C. R. Assoc. des Anat.*, 1903, pág. 1.
- TAIT. — Cfr. ref. in *Paris Médical*, 1928, pág. 432.
- TALLO, F. & G. PARRINO. — Sul bloccaggio del «S. R. E.» nei sui rapporti con l'immunità naturale. Influenza di alcune sostanze, inoculate negli animali o aggiunte in vitro, sul valore fagocitario a sul potere complementario del serio. *Riv. di Patol. Sperim.*, 1927, pág. 484.
- TARANTOLA, R. — Sul comportamento degli elementi del S. R. I., in seguito alla splenectomia ed alla legatura della vena lienale. *Pathologica*, 1933, pág. 848.
- TAVARES, AMÂNDIO. — Subsídios para o estudo da influência do sistema nervoso no cancro experimental. *Arquivo de Patologia*, vol. IV, n.º 1, 1932.
- Novas investigações acêrca da influência do sistema neuro-vegetativo no cancro experimental. Com. ao XIV Congreso de la Assoc. Españ. para el Progreso de las Ciencias, Santiago, Agosto de 1934.
- & ERNESTO MORAIS. — Sur les éléments à fonction colloïdopexique dans l'ovaire. *C. R. de l'Assoc. des Anatomistes*, 28.ª reunião, Lisboa, 1933.
- Sistema reticulo-endotelial e tumores experimentais. *Germen*, 1935, n.º 1, pág. 5.
- TERZA, E. — Cfr. ref. in *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1932, pág. 1048.
- THOMOFF, Z. — Influence du blocage du système reticulo-endothélial sur le phénomène de Koch e sur l'intradermo-réaction tuberculínique chez les Cobayes. *C. R. Soc. de Biol.*, 1932, pág. 168.
- TORRACA, L. — Contributo allo studio delle cellule giganti da corpi estranei per mezzo della colorazione vitale. *Haematologica*, 1920, pág. 156.
- TRAMONTANO. — Le alterazioni determinate in conigli sani e smilzati con la inoculazione endovenosa di thorotrast. *Pathologica*, 1934, pág. 157.
- TSCHETSCHUJEVA, T. — Cfr. ref. in *Biol. Abstr.*, 1931, pág. 1366.
- TSHISTOWITSCH. — Des phénomènes de phagocytose dans le poumon. *Ann. Inst. Pasteur*, 1889, pág. 337.
- TSUGE, K. — Cfr. ref. in *Pathologica*, 1928, pág. 254.
- TURCU, T. — Modifications sanguines consécutives aux injections intraveineuses d'encre de Chine. *C. R. Soc. de Biol.*, 1928, t. XCVIII, pág. 1620.
- UEDA, H. & F. HARADA. — Studi sulla funzione del sistema reticolo-endoteliale. *Pathologica*, 1929, pág. 586.

- VAJANO. — L'epatolienografia col thorostrast. Ricerche sperimentali. *Archivio di Radiologia*, f. 1, 1933.
- VASILIU, T. — Contribution à l'étude des cellules migrantes primitives: hémohistioblastes de FERRATA. *Haematologica*, vol. v, 1924, pag. 34.
- VELOSO DE PINHO. — Atrésie de l'épithélium folliculaire ovarique chez les Mammifères. *C. R. Soc. de Biol.*, t. LXXXVIII, 1923, pag. 830.
- Atrésie chromatolytique et métaplasie folliculaire chez l'ovaire du Lérot. (*Eliomys quercinus*). *C. R. Assoc. des Anat.*, 20^e réun. (Turin), 1925.
- VERATTI, E. — Culture in vitro di sangue umano normale e patologico. *Haematologica*, 1928, pag. 89.
- Gli elementi del sangue e degli organi ematopoietici nelle culture in vitro. In FERRATA, *Le Emopatie*, Roma, 1934.
- VERCELLANA, G. — L'influenza dell'ictus anafilattico sulle modalità colle quali si effettua il cosiddetto blocco del sistema reticoloendoteliale. *Pathologica*, 1932, pag. 148.
- VICTOR, J., J. R. BUREN & H. P. SMITH. — Cfr. ref. in *Biol. Abstr.*, 1931, pag. 1335.
- VIGNES, H. & J. LEMANT. — Modifications du système réticulo-endothélial pendant la grossesse normale et pathologique. *Gynécologie et Obstétrique*, 1933, pag. 232.
- VILLA, L. — Cfr. ref. in *Biol. Abstr.*, 1931, pag. 759.
- & C. LUCCHINI. — Contributo allo studio del sistema reticoloendoteliale. *Pathologica*, 1926, pag. 384.
- VITETTI, G. — Cfr. ref. in *Paris Médical*, 1928, pag. 544.
- VIVOLI, D. — Le rouge congo comme moyen de diagnostic de la maladie amyloïde. *Revue Sud-Américaine de Méd. et de Chir.*, 1932, pag. 208.
- VOLICER, J. — Die Leber und die Milz im Röntgenbild. *Cas. lék cesk.*, 1931, n.º 14, pag. 486.
- VOLTERRA, M. — Ricerche sul sistema reticolo-istiocitario. *Sperimentale*, 1927, pag. 319.
- Sui quadri di stimolazione del sistema reticolo-istiocitario. Passaggio in circolo di megacariociti. *Pathologica*, 1928, pag. 409.
- Cfr. ref. in *Néoplasmes*, 1932, pag. 243.
- Cfr. ref. in *Index Anal. Canc.*, t. IV, 1932, pag. 302.
- WALLACE, M. Y. & S. O. LAURENCE. — Hepatosplenography with thorium dioxide sol. *The Journal of the Amer. Med. Assoc.*, 1933, pag. 507.
- WASHINGTON, B. — Cellules du système nerveux prenant la coloration vitale. *C. R. Soc. de Biol.*, 1933, t. CXIV, pag. 785.
- WEIL, P. E. & B. MARCEL. — Maladies du sang. In *Pathologie Médicale*, de BEZANÇON & SICARD, Paris, 1926, t. IV, pag. 51.
- WEISER, A. — Die Verwendung von Thoriumverbindungen zur Urographie. *Wien. Med. Wschr.*, 1930, n.º 44, pag. 1427.
- Experimentelles zur Röntgendarstellung der Milz und Leber. *Wien. klin. Wschr.*, 1931, n.º 5, pag. 165.

- WEISER, J. — Bemerkungen zur Histologie der Leber nach Splenektomie. *Klin. Wschr.*, 1933, pág. 666.
- WENSLAW. — Étude cytologique comparée de l'épithélium pulmonaire. Batraciens. *C. R. Soc. de Biol.*, 1926, t. xcv, pág. 700.
- Idem. Reptiles. *Idem*, idem, pág. 702.
- Recherches sur les cellules à grains lipoidiques du poumon des Oiseaux. *Idem*, idem, pág. 1430.
- Recherches sur les cellules nucléées de l'épithélium pulmonaire des Mammifères. *Idem*, 1927, t. xcvi, pág. 970.
- Nouvelles recherches sur la cellule nucléée de l'épithélium pulmonaire des Vertébrés. *Idem*, 1930, t. cxiii, pág. 809.
- WESTHUES, H. M. — Cfr. ref. in *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1928, pág. 181.
- WILLHEIM & STERN. — Cfr. ref. in *Index Anal. Cancerol.*, t. vii, 1933, pág. 448.
- WINIWARTER, H. — Les débuts de l'atrésie folliculaire. Réponse à A.-L. SALAZAR. *C. R. Soc. de Biol.*, t. xc, 1924, pág. 1282.
- WORMS, G. & A. P. KLOTZ. — Le thymus au cours de quelques intoxications chimiques. *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1934, pág. 1.
- YAMAMOTO, G. — Cfr. ref. in *Biol. Abstr.*, 1932, pág. 2309.
- ZACHERL, H. — *Idem*, 1931, pág. 792.
- Cfr. ref. in *Index Anal. Cancerol.*, t. v, 1931, pág. 343.
- ZAND, N. — La microglie et les histiocytes. *Ann. d'Anat. pathol. et d'Anat. nor. méd.-chir.*, 1930, pág. 565.
- ZOJA, L. — Sulla clinica del reticolo endotelio. Separata das *Atti. della Società Lombarda di Scienze Med. e Biol.*, Abril de 1926.
- ZOLEZZI, G. — Particolarità di azione del rosso congo sull'apparato emopoietico. *Pathologica*, 1935, pág. 93.
- ZYLBERSZAC, C. — Mise en évidence du système réticulo-endothélial par une substance sans effet caryoclasique. *C. R. Soc. de Biol.*, 1933, pág. 89.
- À propos du mécanisme du choc caryoclasique. *Idem*, 1933, t. cxiv, pág. 177.

ÍNDICE

	PÁG.
I – Introdução	15
II – Morfologia e limites do sistema retículo-endotelial	33
Material e técnica	39
Observações	41
Baço	65
Gânglios linfáticos	68
Medula óssea	68
Fígado	70
Suprarrenal	73
Hipófise	76
Tiroideia e paratiroideia	76
Timo	77
Testículo	77
Rim	78
Outros órgãos	80
III – Sistemas retículo-endoteliais locais	89
Pulmão	90
Encéfalo	103
Ovário	109
IV – Bloqueio do sistema retículo-endotelial	125
Esplenectomia	126
Bloqueio	133

	PÁG.
V – Monócitos e sistema retículo-endotelial	157
VI – Provas funcionais do sistema retículo-endotelial	183
Técnica	186
Resultados	193
Influência da esplenectomia	199
— do carmim litinado	199
— do torotraste	203
VII – O sistema retículo-endotelial e os problemas da imunidade e da anafilaxia	215
Imunidade	216
Hemolisinas	220
Aglutininas	228
Anafilaxia	230
Valor complementar	235
VIII – Influência do S. R. E. nos tumores experimentais do alcatrão	239
Sobrevivência	249
Aparecimento dos tumores	250
Evolução e cancerização	251
Conclusões	257
Bibliografia	261

ACABOU DE IMPRIMIR-SE
AOS 5 DE JUNHO DE 1935.