ESTRUCTURA E COMPOSIÇÃO DA CÉLLULA

Amaralo

ANTÓNIO DE PÁDUA

LICENCIADO EM MEDICINA

ESTRUCTURA E COMPOSIÇÃO DA CÉLLULA

COIMBRA
IMPRENSA DA UNIVERSIDADE
—
1898

A

ANTÓNIO SOTTOMAIOR

MEU AMIGO

PRÓLOGO (1)

A dissertação, que vae lêr-se, versa dois assumptos dos mais intrincados da Cytologia; qualquer delles é empreza difficil de tratar e quando alguem se aventura a ella, mais duma vês sente as forças enfraquecidas. O tempo em que a céllula era considerada um organito elementar e simplez, facil de descrever na sua estructura e de comprehender nas suas funcções, passou; de momento a momento se reconhece que a sua complexidade é enorme, que a sua organização é complicada e que os orgãos, que a constituem, sam duma morphologia melindrosa; o organito simplez, que nella se suppôs, é hoje reconhecido como um mundo de complicação inextricavel, em que cada parcella disputa pri-

---

(1) O presente volume constituiu a dissertação do meu acto de licenciado em medicina, sendo o seu titulo o Ponto que a respectiva faculdade me forneceu.

mazias de importáncia com a sua vizinha. Os factos comprovativos deste asserto veem-se accumulando dia a dia numa superabundáncia tal, que os problemas surgem da céllula cada vês mais numerosos; a cada facto novo apurado, a cada interpretação colhida, succede logo uma multidão de aspectos novos e de interrogações mudas; dia a dia, a impressão formal e final que em última análise vem a fixar-se no espírito, é que a céllula está por conhecer, que della ignoramos tudo ou quasi, e que ella será, por consequencia, para os biologistas, durante um largo período, o objectivo das suas investigações fundamentaes. A céllula ha de esclarecer muito problema actual, mas para isso tem de esclarecer-se os que ella mesma offerece, os quaes parecem residir ahi num estado latente, sempre promptos e prestes a revellar-se a cada inquirição mais aguda e a cada interpretação mais sagaz.

Eu procurei vêr se conseguia fazer resaltar, num trabalho de conjuncto, esta dupla verdade: — as dúvidas singulares que a céllula offerece, e a esperança radiosa que nella se contém. Conseguil-o-hia?

Para este trabalho possuir valor effectivo e real, muito era de estimar que eu me podesse consagrar a trabalhos de experimentação, que me permittissem verificar o pouco que está apurado e ensaiar alguma coisa do muitissimo que está duvidoso. É possivel que esse trabalho fosse inutil; a complicação do problema alliava-se neste caso á inaptidão de quem procurava sondá-lo; mas nem esta dupla razão me entibiaria, se não fosse a falta material do tempo oppôr-se terminantemente a isso; não sam os olhos das creanças os que ás vezes veem primeiro e melhor as coisas?

Não possuindo trabalhos experimentaes, o meu exforço concentrou-se todo em extraír quanto podesse, e condensar

na fórma mais ligeira possivel, o que os biologistas teem apurado ácerca deste assumpto, — horizonte immenso que se antolha como destinado a illuminar-se um dia com factos preciosos; na condensação a que procedi afastei-me quanto pude, por aquella razão, da descripção de processos téchnicos; não os tendo praticado melhor se me affigurou limitá-los quanto possivel ás exigencias da exposição do assumpto, quando num ou noutro ponto este podesse ser prejudicado com a sua omissão.

Por outro lado preoccupei-me afincadamente com a enumeração chronológica dos factos, procurando guardar a fidelidade histórica mais meticulosa. Para isso tive de percorrer, numa diligéncia laboriosa, os tractados dos diversos cytologistas, como Yves Delage, Oscar Hertwig, Mathias Duval, S. Lukjanow, R. Bonneval, Ranvier, Henneguy, etc., etc., onde colhi os indispensaveis elementos.

A propósito dos problemas mais litigiosos da estructura e composição da céllula muito me auxiliaram as numerosas memórias de VAN GEHUCHTEN, CARNOY, LEE, LEBRUN, GIBSON, etc., contidas no jornal — *La Cellule* — bem como aquelles tractados, porque, em verdade, um trabalho desta natureza quasi se póde dizer que não é de quem o escreve.

Ácerca da disposição que dei ás matérias, procurei cingir-me quanto possivel ao enunciado do ponto, descrevendo primeiro a estructura das differentes partes da céllula, que formam outras tantas secções da dissertação, e em seguida a sua composição chymica; esse resultado consegui-o em geral; uma excepção apenas tive de commetter, levado pela natureza do assumpto, ao tractar da membrana cellular.

Procurei ainda esclarecer o texto com a juncção de al-

gumas figuras, de vários tractados extraídas, e que sob este ponto de vista podem considerar-se auxiliares poderosos; o auxilio é tanto maior quanto é certo, que para a sua factura tinha á minha disposição a apreciabilissima habilidade manual do sr. António Augusto Monteiro de Figueiredo, que as desenhou com uma diligéncia merecedora do meu melhor agradecimento.

Na enunciação da terminologia, embaraçosa e vasta em Cytologia pela synonímia enorme que esta sciéncia emprega, desejei tambem ser o mais rigoroso e claro possivel; com esse intuito construí no fim de alguns capítulos quadros de correspondéncias dos termos empregados pelos differentes auctores, os quaes facilitam consideravelmente a apprehensão dessa synonímia.

Com a associação destes elementos, tractei de solver o compromisso, que para mim o ponto encerra e donde resul-

tou este trabalho; se o não consegui, não quero pelo menos que me falleça a esperança de que, ao lêrem-no, os claros espíritos, que teem de julgá-lo, ham de ter acordada e vigilante a sua benevoléncia.

Coímbra, 24 de abril de 1898.

António de Pádua.

PRELIMINARES

I. — História

A descoberta da céllula foi uma consequéncia da descoberta do microscópio [Fins do seculo XVI: ZACHARIAS JANSEN? da Hollanda]; mas só meio século depois deste ser inventado se fallou pela primeira vez em — *céllula*. [ROBERT HOOKE, inglês, 1665 (Exame de pequenos fragmentos de cortiça)].

NEHEMIAS GREW [11 de Maio de 1671] e MARCELLO MALPIGHI [7 de Dezembro de 1671], em communicações feitas á Sociedade Real de Londres, annunciáram que os diversos orgãos dos vegetaes sam compostos de partes elementares, das quaes umas teem a fórma de saccos providos duma parede rígida e cheia de líquido, — *utrículos* e *vesículas*, — outras a fórma de tubos percorrendo o tecido fundamental.

Estes tubos sam o que hoje chamamos — *vasos*. Os termos — *utrículo* e *vesícula* foram empregados durante todo o século XVIII para designar as céllulas de HOOKE, e só em 1800 BRISSEAU-MIRBEL retomou a designação de — *céllula*, a qual desde então prevaleceu.

TURPIN [1826] apresenta a noção da individualidade da céllula e as suas ideias sam ulteriormente acceites e diffun-

didas por MEYEN [1830] cujo modo de vêr se synthetiza nestas palavras: — «As céllulas vegetaes ou estam isoladas, e cada uma dellas constituë então um indivíduo, como acontece nas algas e cogumellos; ou estam associadas em massas mais ou menos volumosas para constituír um vegetal altamente organizado. Mesmo neste caso, porém, cada céllula fórma por si um todo separado: nutre-se por si mesma, reproduz-se por si mesma, e transfórma a substáncia bruta que absorve em substáncias e orgãos muito diversos» (1).

No anno seguinte ROBERT BROWN [1831] observa no interior das céllulas um pequeno corpo arredondado a que chama — *núcleo;* os seus estudos foram feitos na epiderme das *Orchídeas* e das *Asclepiadáceas,* mas este mesmo corpo arredondado tinha sido já observado por FONTANA [1781] nas céllulas epitheliaes da *enguía* e tinha por elle sido descripto como «um corpo redondo, oviforme, provido duma mancha no meio».

LEUWENHOEK nos glóbulos sanguíneos dos *peixes,* e CAVOLINI [1787] nos óvulos destes mesmos animaes, fizeram observação egual; o mérito de BROWN foi generalizar esta noção e apresentar o *núcleo* como um elemento normal da céllula. A observação de BROWN foi confirmada por MIRBEL [1831–1832], nas investigações feitas nas *Marchantia,* o qual chamou ao *núcleo* de BROWN, — *sphérula;* afinal a designação de BROWN foi a adoptada; logo a seguir VALENTIN [1837] encontrou este corpo nas céllulas da conjunctiva, deu-lhe o nome de — *núcleo,* e ao mesmo tempo signalou um facto novo importante: — a existéncia, no interior do núcleo, de um corpúsculo redondo que chamou — *nucléolo* e que formava «uma especie de segundo núcleo» no núcleo.

---

(1) Cit. in FÉLIX HENNEGUY: *Leçons sur la céllule. Morphologie et Reproduction,* pag. 6, Paris, G. Carré, ed. 1896.

Apurados estes factos, os histologistas começáram a consagrar a sua attenção á origem das céllulas. Para os vegetaes SCHLEIDEN [1838] attribuíu ao núcleo grande importância na resolução deste problema, visto que o núcleo apparecia como um orgão constante: Imaginemos um líquido organizado homogéneo; chamemos-lhe — *Cytoblastema*; figuremos que nesse líquido o núcleo surge por geração espontánea, tal como se fôra um crystal que se precipitasse numa água-mãe; se a matéria constitutiva da céllula se congregar em torno deste núcleo como centro, nós temos formada uma céllula; o nucleo será portanto o gerador da céllula, o *Cytoblasta;* como VALENTIN tinha descoberto o nucléolo este sería o primeiro precipitado; em torno delle formar-se-hia o Cytoblasta e depois a céllula. É o que se traduz bem na fig. I.

DUTROCHET em 1824 tinha emittido a ideia de que os vegetaes e os animaes sam organizados segundo o mesmo typo, ideia fecunda traduzida néstas suas palavras: — «tudo deriva evidentemente da céllula no tecido orgánico dos vegetaes, e a observação vem provar-nos que acontece o mesmo nos animaes»; em 1837 juntava: — «todos os tecidos, todos os orgãos dos animaes, não sam realmente senão um tecido cellular diversamente modificado». No anno seguinte apparece a doutrina de SCHLEIDEN e ao mesmo tempo observações se foram produzindo, notaveis devéras para impressionar um espírito observador e sagaz: TURPIN,

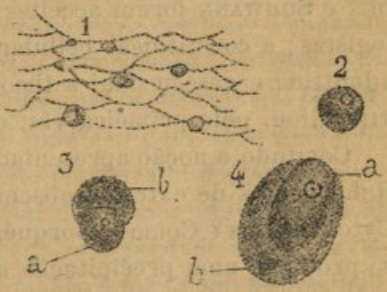

Fig. I. — Genése das céllulas por formação livre. 1, fragmento de cytoblastema do albumen da *Chamaedorea Schiedeana*, encerrando cytoblastas livres. 2, um cytoblasta livre com um augmento maior. 3 e 4, *a*, cytoblastas em torno das quaes se organiza uma céllula *b*. (Segundo SCHLEIDEN, 1838).

PURKINGE, VALENTIN, MÜLLER, HENLE registraram a analogia de estructura dos tecidos vegetaes com certos tecidos animaes, — corda dorsal, epithélios, cartilagem, tecido glandular. Associando estes differentes resultados SCHWANN estendeu aos animaes a theoria formulada por SCHLEIDEN para as plantas e suppôs a génese das céllulas animaes similar com a descripta por este; para SCHWANN nos animaes ha tambem a formação de Cytoblastemas; por uma espécie de precipitação apparece o nucléolo; em volta deste deposita-se uma membrana; então, por endosmose, o líquido cytoblastemático penetra entre o nucléolo e a membrana, e assim se gera o núcleo — *cytoblasta;* em torno deste nova membrana se deposita, nova endosmose se produz e a membrana é, por esta penetração de líquido, distendida; a céllula está formada e constituída por todas as suas partes: — membrana, plasma, núcleo e nucléolo. As ideias de SCHLEIDEN e SCHWANN foram acceites por grande número de biologistas; a constituição cellular dos animaes e plantas foi admittida e nasceu dahi a theoria cellular, em que VALENTIN fallou, pela primeira vês, em 1839.

Comtudo a noção apresentada por SCHLEIDEN e SCHWANN tinha pontos de extrema obscuridade: Como se formava o Cytoblastema? Como e porquê, em virtude de que forças se produzia uma precipitação nesse líquido inorgánico, precipitação duma substáncia organizada que todos os dias se mostrava mais complexa? Estas difficuldades fizeram modificar a theoria de SCHLEIDEN-SCHWANN e foi ROBIN que apresentou a modificação: na formação cellular não haveria, segundo ROBIN, uma pura e símplez geração espontánea: o Cytoblastema seria um líquido orgánico segregado por céllulas preexistentes e não um líquido inorgánico. É no seu seio que *d'emblée* se fórmam núcleos; em volta do núcleo deposita-se uma camada de *Protoplasma*, quer dizer,

o corpo cellular, o qual póde cercar-se ou não duma membrana cellular; mas a producção desta de nenhum modo é essencial, pode faltar, e quando existe apparece tardiamente e não precocemente como SCHLEIDEN e SCHWANN imaginaram, devendo considerar-se uma producção secundária e não primitiva.

Apparece-nos aqui pela primeira vês esta designação de — *Protoplasma*, que na theoria cellular conseguiu desempenhar um papel culminante. Em 1835 DUJARDIN, estudando os *Foraminíferos* e os *Rhizópodos* reconheceu que elles eram constituídos por uma especie de gelêa que podia mudar de fórma, emittir pseudópodos, filamentos que servem para a prehensão de alimentos e para o deslocamento do ser. «Proponho-me, — diz — chamar *sarcódio* ao que outros observadores teem chamado gelêa viva, a esta matéria glutinosa, diáphana, homogénea, elástica e contráctil» (1). PURKINGE em 1840 creou o termo — *Protoplasma* para designar a matéria viva dos embryões dos animaes; e HUGO MOHL, em 1846, adoptou este mesmo termo para designar a substância contida nas cavidades cellulares das plantas. Esta substância foi apresentada por MOHL como de primeira importância: considerou-a como a parte essencial da céllula, preexistindo ás outras duas, núcleo e membrana, e descreveu-a como existindo accumulada em torno do núcleo e formando á superficie da membrana das céllulas vegetaes uma camada delgada, — *Utriculo primordial* ou *Utriculo azotado*, que é séde de movimentos particulares, vistos já por CORTI em 1772 e por TREVIRANUS em 1807. Hoje este utrículo primordial das céllulas pode descrever-se assim: — Duma pequena massa de protoplasma, onde reside o núcleo, partem lamellas protoplásmi-

(1) Cit. in HENNEGUY, loc. cit., pag. 8.

cas mais ou menos delicadas; essas lamellas formam membranas, limitando os diversos vacúolos e unem-se finalmente numa camada parietal contínua, a qual constituë o *Utriculo primordial,* que está intimamente applicado contra a face interna da membrana cellular (1). Nestes vacúolos ou espaços deixados pelas lamellas protoplásmicas existe um succo que MOHL chamou — *succo cellular* e que apresentou como inteiramente distincto do protoplasma.

Emquanto se realizavam os trabalhos de MOHL, outros observadores apontavam a semelhança que havia entre o *Sarcódio* dos animaes inferiores e o *Protoplasma* vegetal: foram COHN, THURET e PRINGSHEIM; por fim MAX-SCHULTZE e DE BARY estabeleceram nitidamente que o *Protoplasma* das plantas e dos animaes era uma substância idéntica ao *Sarcódio* de DUJARDIN; desde então a designação de — *Protoplasma* ficou definitivamente introduzida na sciéncia.

Como se vê, os trabalhos de MOHL foram de grande alcance; não ficáram porém aqui e sob um outro ponto de vista MOHL levantou uma questão notavel, posto que não a formulasse. Em 1835 estudou uma alga filamentosa,—*Cladóphora,* e viu que os seus utrículos primordiaes, ou as suas céllulas, se multiplicavam por divisão directa; um pouco mais tarde observou a divisão das céllulas nos grãos do pollen, nos esporos do *Anthoceros laevis* e durante a formação dos estómatos; nessa observação verificou que as céllulas se dividiam e, facto notavel, que a divisão do núcleo tinha logar antes da divisão da céllula.

Em 1841 REMAK estudando os glóbulos vermelhos do sangue do embryão, épocha em que sam nucleados, verificou que esses glóbulos se multiplicam por divisão. O núcleo

---

(1) OSCAR HERTWIG: *La Cellule et les Tissus.* Trad. de Charles Julin. Paris, G. Carré, Ed. 1894, pag. 31.

alonga-se, estrangúla-se no meio do seu comprimento e, por fim, segmenta-se em duas porções; o corpo cellular soffre as mesmas mudanças de fórma, a mesma segmentação e, finalmente, em logar da céllula primitiva ha duas, cada uma com seu núcleo. Fig. II.

UNGER, no mesmo anno, seguiu os trabalhos de MOHL e estudou a formação das céllulas no ponto vegetativo dos caules em via de crescimento: reconheceu que as céllulas se formam por divisão das céllulas preexistentes; generalizou theoricamente este processo e levantou a campanha contra a theoria dos blastemas. Essa generalização é confirmada pelos trabalhos extensissimos de NAEGELI, que se lhe seguem; e este, acceitando calorosamente a generalização de UNGER, formúla em 1846 esta lei fundamental: — «as céllulas-mães dão origem a duas ou muitas céllulas-filhas por um processo de divisão observado pela primeira vês por MOHL».

Fig. II. — Glóbulos sanguineos dum embryão de *carneiro* de 6mm,6 de comprimento. *a, a, a,* Estado já adeantado da divisão directa. *b, b, b,* Glóbulos simplez ou no principio da divisão do núcleo. *c,* Céllula sanguinea de pequena dimensão (nova).

D'aqui por diante os factos colhidos só teem confirmado esta lei, que bateu completamente a theoria de ROBIN. Nas mãos de todos os observadores, o exito tem sido egual: BERGMANN, SIEBOLD, VOGT, KOELLIKER, BISCHOFF, REICHERT, COSTE, mostraram que o óvulo se transforma numa massa de espheras de segmentação por divisões successivas do seu vitello e que cada esphera se transforma por fim numa céllula; JOHN GOODSIR [1845], VIRCHOW, estudáram a multiplicação cellular nos tecidos mórbidos e nelles, como nos normaes, a lei de NAEGELI encontrou confirmação plena:

os blastemas caíram e VIRCHOW pôde enunciar o aphorismo célebre: — *Omnis cellula e cellula,* paraphraseando o de HARVEY: — *Omne vivum ex ovo.*

Entretanto NAEGELI no momento mesmo de formular a sua lei mostrou-se reservado na sua applicacão para a formação das céllulas no endosperma do sacco embryonário das Phanerogámicas; a despeito de todas as descobertas effectuadas, tanto nos animaes como nos vegetaes, muitos botánicos ficaram admittindo para ellas a formação livre, porque outra não tinha sido possivel jámais revelar; essa lacuna preencheu-a porém STRASBURGER em 1879, o qual chegou a verificar e demonstrar que os núcleos do endosperma proveem dos núcleos preexistentes; ao aphorismo de VIRCHOW poude desde então juntar-se est'outro egualmente verdadeiro: — *Omnis nucleus e nucleo* [FLEMMING].

Com a acquisição destes factos a theoria cellular tem soffrido um desenvolvimento extraordinário. Depois delles apurados muitos outros teem vindo juntar-se-lhes, formando um conjuncto enorme de trabalho. Para o abarcar convenientemente, quasi se reconhece a necessidade de crear uma sciéncia nova, — a *Cytologia.*

Realmente nada no organismo existe que da céllula não provenha; o conhecimento da sua actividade é a pedra angular de toda a educação biológica; infelizmente as acquisições que todos os dias se effectuam veem sempre envoltas num ar tão ennevoado, quasi num ar tão fundo de mystério, que a construcção de um edifício sólido edificado sobre ellas tem levado e levará aínda annos e annos de trabalho e ha de consumir os esforços de muitas gerações. Depois das descobertas apontadas entramos no período moderno do estudo da céllula, mais fecundo aínda, se é possivel, do que o que até aqui fica resumido.

II. — Definição

Actualmente não é ponto assente que todas as céllulas tenham núcleo; tambem por isso MAX SCHULTZE attendendo sobretudo ás propriedades physiológicas da céllula, que CLAUDE BERNARD chamava — «o primeiro representante da vida» definio-a: — *massa ou grumo de protoplasma dotado das propriedades da vida.*

Em quasi todas as céllulas, porém, se admitte duma maneira geral que ha um ou mais núcleos e por esse motivo HERTWIG (1) referindo-se á definição de MAX-SCHULTZE propõe-lhe a substituição seguinte: — *A céllula é uma massa de protoplasma, encerrando um elemento figurado especial,* — o *núcleo;* definição que é quasi egual á de RANVIER: — *céllula é uma massa de protoplasma provida de núcleo.*

Hoje a céllula póde definir-se assim: — *pequena massa de substância orgánica apresentando sensivelmente os mesmos diámetros em todos os sentidos e geralmente provida dum núcleo.*

---

(1) Loc. cit. pag. 10.

MEMBRANA CELLULAR

I. — Sua composição

Os materiaes de eleição para o estudo da membrana cellular sam as céllulas vegetaes: é nellas facilmente observavel e nellas se pode isolar para o estudo da sua composição chymica. Esta, nas céllulas vegetaes, foi durante muito tempo attribuida a um hydrato de carbono, — a cellulosa, cuja fórmula empírica determinada pela anályse elementar se fixou em $C_6H_{10}O_5$, mas cuja fórmula molecular $(C_6H_{10}O_5)_x$ não é aínda conhecida, sabendo-se sómente que x é um número algo elevado. A cellulosa é pois uma substáncia ternária, chymicamente definida, com reacções características. O estudo dessa substáncia convenientemente isolada, permittiria applicar aos córtes e preparações microscópicas reagentes appropriados, que facilitassem o estudo da membrana: foi o que realmente se fez.

A cellulosa córa-se de azul se fôr tractada por uma solução diluída de iodeto de potássio e depois por ácido sulfúrico [2 partes de ácido e 1 de agua]; toma a mesma côr se fôr tractada pelo chloreto de zinco iodado ou chloro-iodeto de zinco; a acção desses reagentes é conhecida: sob a influencia dos ácidos diluídos ou do chloreto de zinco, a

cellulosa transforma-se num outro hydrato de carbono seu polymero inferior, — o *amylo*. Este córa-se de azul pela acção do iode; a acção daquelles reagentes reduz-se portanto primeiro á transformação da cellulosa em amylo e combinação ulterior deste com o iode; o iodeto de amylo tem em verdade a côr azul.

Se córtes de tecido vegetal forem tractados por estes reagentes, a sua membrana cellular apparece com esta côr azul, cujo mechanismo de producção se comprehende assim facilmente.

A membrana pode porém revelar-se de modo aínda mais claro. A cellulosa é insoluvel na agua, alcool e ether. Supponhamos que se tracta uma céllula vegetal pela agua; esta entrará por endosmose para dentro da céllula, afastará o protoplasma do utrículo primordial para o interior da cavidade da céllula, isolando-o da parede, a qual apparecerá então mais nítida; córando-a em seguida a observação será singularmente proveitosa (1). Estas conclusões serão perfeitamente rigorosas se a membrana cellular fôr constituida exclusivamente por cellulosa, como a maior parte dos cytologistas admittem; mas a este propósito algumas observações devem fazer-se.

A respeito da cellulosa reina na litteratura médica uma certa confusão e nem todos os auctores lhe attribuem a mesma significação; se a membrana cellular é inteiramente formada de cellulosa, como muitos querem, essa membrana é uma individualidade chymica definida; mas outros admittem na membrana a existéncia, não de uma cellulosa apenas, mas de muitas modificações physicas da cellulosa; outros aínda designam por cellulosa corpos que consideram chy-

(1) René Bonneval: *Nouveaux Eléments d'Histologie Normale.* Paris, A. Maloine, Ed. 3.ᵉ edit., 1891, pag. 2.

micamente differentes. Vê-se por isto como é difficil emittir juizos a respeito de coisa tão intrincada.

Para elucidar a questão alguns trabalhos modernos teem sido effectuados e teem valor real, sob este ponto de vista, os encerrados nas memórias de E. SCHULTZE, de 1890.

Uma das propriedades chymicas da cellulosa é dissolver-se no óxydo de cobre ammoniacal ou reagente de SCHWEIZER; lançando mão della e das reacções com o iode, E. SCHULTZE, de collaboração com E. MAXWELL e E. STEIGER fizeram um estudo aprofundado da membrana; numa primeira memória deixáram demonstrado que na membrana cellular vegetal existem hydratos de carbono muito differentes, que devem ser considerados como poly-anhydrídos de diversas glucosas; taes seriam a dextrosa, a galactosa, a arabinosa, a mannosa.

Em sua opinião, porém, o nome de *cellulosa* deve reservar-se só para o elemento que se dissolve no óxydo de cobre ammoniacal, que não é atacado pelos ácidos diluídos mesmo em ebullição, mas que é córado de azul pelo ácido sulfúrico concentrado e iode, ou pelo chloro-iodeto de zinco; a cellulosa sería provavelmente um poly-anhydrído da dextrosa; não haveria muitas cellulosas, como alguns queriam; haveria uma apenas, que assim se devia considerar. Aos constituintes da membrana cellular, que se dissolvem rapidamente nos ácidos diluídos, deram o nome de — *hemi-cellulosas*.

Numa segunda memória, que completa a primeira, E. SCHULTZE estuda cellulosas de differentes proveniências sob um outro ponto de vista, — o das glycosas a que dam origem por hydratação effectuada por meio do ácido sulfúrico. Essas differentes cellulosas produziram de um modo geral dextrosa; em tres casos todavia achou mannosa ao lado da dextrosa; em resultado do que SCHULTZE julga-se auctori-

zado a concluír daqui a existéncia duma segunda cellulosa fornecendo por hydratação dextrosa e mannosa; chamou-lhe — *manno-cellulosa*, e considera-a uma cellulosa que não differe da dextro-cellulosa senão nos productos de hydratação; de resto possue as mesmas reacções daquella: a mesma resisténcia aos ácidos diluídos e aos álcalis, a mesma córação pelos reagentes iodados, etc.

O estudo da cellulosa foi retomado por EUGÈNE GIBSON. A cellulosa foi até á apparição dos seus trabalhos considerada como amorpha; GIBSON mostrou que ella era crystallizavel. Para isso tomou córtes de beterrabas ou outras raízes e deixou-as na solução cupro-ammoniacal 5–12 horas; lavou-as em seguida no ammoníaco a 5–10 % durante meia hora, depois em agua distillada. Encontráram-se então nos córtes esphero-crystaes ou arborizações crystallinas que apresentavam todas as reacções da cellulosa: azulavam pelo iode e ácido sulfúrico; dissolviam-se no reagente de SCHWEIZER; córavam-se pelo vermelho Congo. As conclusões textuaes de GIBSON são as seguintes:

1.ª O corpo que se obtém crystallizado na membrana cellular, cellulosa, não fornece por hydratação senão dextrosa: deve por isso considerar-se como uma individualidade chymica.

2.ª Não existe na membrana cellular senão um corpo insoluvel nos ácidos diluídos em ebullição, soluvel no licor de SCHWEIZER e córando-se de azul pelo chloreto de zinco iodado; não existe senão uma cellulosa.

3.ª A mannoso-cellulosa de E. SCHULTZE é uma mistura de cellulosa e dum hydrato de carbono que não tinha aínda sido isolado até aqui, — a *Paramannana* (1).

---

(1) *La Cellule*, Tomo XI, 1893. EUGÈNE GIBSON: *Mëm.: La Cristallisation de la cellulose et la composition chimique de la membrane cellulaire végétale*, pag. 434.

GIBSON reconheceu por outro lado que os crystaes de cellulosa se accùmulam sobre tudo na parte externa da membrana; encontrou-os num grande número de plantas, salvo nos *cogumellos;* mas mesmo nestes RICHTER demonstrou a existéncia da cellulosa. Devem acceitar-se os trabalhos de GIBSON sem terem sido sanccionados por outros observadores? — De modo nenhum: registrêmo-los apenas e sirvam elles para mostrar como a composição da membrana cellular dos vegetaes é assumpto muito de molde para estudos ulteriores, visto que até agora não está, dum modo definitivo, determinada.

Ao lado da cellulosa, na membrana, existem outras substáncias: — a *callosa* de MANGIN, chymicamente distincta da cellulosa porque se não dissolve no reagente de SCKWEIZER posto resista aos ácidos; a *linhina*, que se não córa de azul pelo iode, assim como a *suberina*, a *cutina*, que apresentam reacções semelhantes ás da cellulosa, mas que sam já desoxydações desta; por outro lado a membrana póde aínda conter substáncias mineraes, como acontece nas *gramíneas*, nas *diatomáceas*, etc. Parece deduzir-se do que acaba de lêr-se que a composição da membrana cellular é complexa, tem por base fundamental a cellulosa, mas não está aínda claramente fixada em todas as suas minudéncias. Isto pelo que respeita aos vegetaes.

Quanto aos animaes o problema é mais difficil aínda: a primeira difficuldade com que se lucta é demonstrar a existéncia ou auséncia de membrana. Muitas céllulas animaes não a possuem, e quando ella existe o seu estudo é duma delicadeza extrema. Póde dizer-se que uma céllula não possuë membrana todas as vezes que o corpo cellular é capaz de apresentar deformações e movimentos amiboides. Já a recíproca não é verdadeira; é mais difficil convencêrmo-nos que uma céllula possuë realmente uma membrana; uma

reacção demonstrativa é a da agua, em que já fallei; se a distensão da membrana chegar ao máximo, a membrana póde mesmo lacerar-se e poderão vêr-se então os seus fragmentos irregularmente engelhados. Para as céllulas adiposas, dissolve-se pelo ether o seu conteúdo de gordura e vê-se então a membrana desenhar pregas, que nenhuma dúvida deixam sôbre a sua existéncia. Em geral é chegando a fazer-lhes produzir pregas que se reconhece a presença de certas membranas, [Myolemma das fibras musculares; baínha de SCHWANN, dos nervos;] que morphológicamente e genéticamente teem a significação de membranas cellulares (1).

Quando exista, qual é a sua composição? Compõe-se de cellulosa, como nos vegetaes? A cellulosa existe no reino animal; não tem isso dúvida alguma: as céllulas animaes podem produzir cellulosa, mas em geral não a produzem. Todavia o manto das *Ascídias* é composto duma matéria gelatinosa, contendo céllulas estrelladas, que offerece todas as reacções da cellulosa e a que se deu o nome de — *tunicína*. Estudando esta substáncia na *Phallúsia mamillata* pelos mesmos processos por que estudou a cellulosa vegetal, GIBSON chegou a obtê-la como esta sob a fórma de crystaes; vêmos por isto que a cellulosa não é própria sómente das membranas das céllulas vegetaes; entretanto nos animaes a membrana não é formada de cellulosa mas duma substáncia proteica em geral mal determinada, a qual se tem chamado impropriamente, — *elastina*. Nas céllulas animaes a membrana apresenta aínda uma propriedade singular: é que ou é completa, como a cápsula das céllulas cartilagíneas, ou

(1) MATHIAS DUVAL: *Précis d'Histologie*. Paris. Masson et C.ie, Ed., 1897, pag. 74.

incompleta, como a dalgumas céllulas epitheliaes caliciformes; e sendo como nos vegetaes um producto de secreção protoplásmica a ponto de ás vêses uma condensação periphérica deste nos illudir pela simulação duma membrana, a sua composição está inteiramente por determinar, sendo perfeitamente justas as palavras de YVES DELAGE: — «a composição da membrana cellular é quasi ignorada; apenas se pôde determinar a composição da membrana vitellina de alguns óvulos; KRUKENBERG no ôvo do *Scyllium*, LIEBERMANN no da *Gallinha*, acháram uma substáncia análoga á ceratina. De resto, tudo está por fazer.»

É a triste conclusão a que chega, e com elle todos os histologistas, a propósito deste ponto.

II. — Estructura da membrana cellular

O estudo da estructura da membrana cellular tem de fazer-se nas céllulas vegetaes; a dos animaes é anhysta; não tem sido possivel até agora revelar-lhe nenhuma estructura. Nos vegetaes, como algumas membranas sam notavelmente espessas, é destas que se lança mão para o estudo da sua estructura.

Observando com um forte augmento estas membranas espessas, em córtes transversaes, reconhece-se que ellas sam formadas por uma série de camadas concéntricas, alternativamente claras e escuras, porque ellas sam desegualmente refringentes: as duas camadas extremas, — a mais externa e a mais interna, — sam sempre claras. Esta desegualdade de refringéncia parece devida a uma desegual repartição da agua na espessura da membrana: as camadas claras seriam

pobres em agua; as escuras pelo contrário possuí-la-hiam em excesso. Fig. III.

Outras membranas examinadas em córte longitudinal com grande ampliação, apresentam um aspecto differente: mostram a existéncia de dois systemas de estrias, alternadamente claras e escuras, cortando-se sob um ángulo mais ou menos agudc e que correspondem com verosimilhança a dois systemas de camadas desegualmente refringentes, dirigidos perpendicularmente á superfície da membrana. A desegualdade de refringéncia será talvês devida aínda a uma desegual distribuição da agua. Fig. IV.

Approximando esta observação da precedente, somos

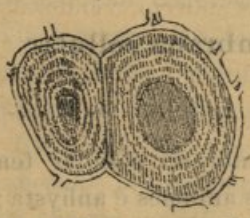

Fig. III. — Corte transversal de duas céllulas de membranas muito espessas, de duas fibras liberinas de *Dioon edule* (segundo Reinke).

Fig. IV. — Membranas cellulares de estructura estriada, vistas de face (segundo Reinke).

levados naturalmente a considerar cada uma das camadas concéntricas, claras ou escuras, como decompostas á maneira dum mosaico numa multidão de elementos de fórma parallelipípeda desegualmente ricos em agua e alternando segundo uma lei regular. Nesta hypóthese a estructura da membrana sería bastante comparavel á dum crystal e, de facto, certas membranas muito espessas examinadas entre nicoes cruzados apresentam o phenómeno da cruz negra,

que manifesta a bi-refringéncia dalguns corpos crystallizados. NAEGELI chamou — *Micellas* a estes elementos cuja justaposição formaria a membrana inteira (1). BÜTSCHLI considera essas partículas como alvéolos.

Se examinarmos o modo de crescimento da membrana, colherêmos talvês algum esclarecimento. Em verdade a membrana cellular cresce simultaneamente em superfície e espessura. Para NAEGELI a membrana cresce ao mesmo tempo em todas as suas partes; deixar-se-hia penetrar em toda a sua espessura pelos elementos novos; nutrir-se-hia, numa palavra, por intussuscepção. As micellas antigas augmentariam até attingirem um certo limite imposto á sua estatura; ao mesmo tempo micellas novas depositar-se-hiam por uma espécie de crystallização nos intervallos das micellas antigas.

SCHMITZ, STRASBURGER e outros, porém, vendo a difficuldade que tal explicação encerra para mostrar o crescimento em espessura, que tanto se desenvolve nalgumas céllulas, admittem que a membrana cresce apenas por um depósito de elementos novos á superfície dos antigos, por símplez apposição.

WIESNER fez observar recentemente que se a theoria da apposição permitte comprehender facilmente o crescimento da membrana em espessura, é todavia insufficiente para explicar o seu crescimento em superfície e aggrega-se portanto á theoria de NAEGELI; mas notando que todo o crescimento ou do conjuncto ou duma parte do ser vivo parece geralmente ligado a um phenómeno de multiplicação, que toda a céllula nova, por exemplo, provém da multiplicação duma céllula preexistente, WIESNER propoz-se attribuír

(1) AUG. DAGUILLON: *Leçons élémentaires de botanique*. Paris. Libr. Belin, Ed., 1895, pag. 31.

aos corpusculos elementares ou micellas de NAEGELI uma individualidade e uma autonomía maiores: considerou-os como elementos vivos, capazes de se multiplicarem por bipartições successivas. No seio do proprio protoplasma succederia outro tanto: na sua constituição entrariam organitos elementares semelhantes que chamou, — *plasomas,* designando os da membrana cellular por — *dermatosomas.* A emissão dum juízo definitivo ácerca destes modos de vêr differentes não tem sido effectuada por ninguem; a estructura da membrana cellular é um ponto escuro na morphologia da céllula, ponto que aínda espera solução.

PROTOPLASMA

I. — Estructura do protoplasma

O protoplasma é definido por MATHIAS DUVAL (1) — a substancia viva que cérca o núcleo da céllula; é quasi apresentado como synónimo de corpo cellular, e estudar a sua estructura é o mesmo que estudar a do corpo cellular; considerando-o como substância de composição complexa, que é séde dos phenomenos vitaes, com estructura própria, vamos estudar esta estructura.

A respeito della como de todos os pontos que dum modo geral dizem respeito á morphologia cellular está longe de haver uniformidade de vistas; o seu conhecimento foi-se tornando mais delicado e meticuloso á medida que as observações se succediam e accumulavam.

*

Theoria da estructura homogénea ou theoria de STRASBURGER — Durante muito tempo o protoplasma foi conside-

(1) Loc. cit., pag. 27.

rado uma substáncia homogénea; quando DUJARDIN o descreveu em 1841 sob o nome de—*sarcódio,* assim o apresentou como «substáncia glutinosa perfeitamente homogénea, elástica, contractil, diáphana.... Nenhum vestigio de organização se distingue ahi, nem fibras, nem membranas, nem apparéncia de cellulosidade. O *sarcódio* é uma fórma de passagem á carne propriamente dita e destinado a transformar-se nella».

Todavia o exame do protoplasma feito com mais minúcia nalguns elementos cellulares começou a mostrar nelle algumas fibrillas, que davam ás preparações um aspecto estriado. Assim o observaram REMAK em 1837 na parte central das fibras nervosas de origem medullar dos *Vertebrados;* o mesmo REMAK um pouco mais tarde nos grossos troncos nervosos da cadeia ganglionar ventral do *Camarão,* e em 1844 nas céllulas ganglionares do mesmo animal; WILL em 1844, nas céllulas ganglionares da *Helix pomátia;* LEYDIG em 1854 nas céllulas da face interna do intestino dum Isópodo, —o *Oniscus;* FRIEDREICH em 1859 nas céllulas de cílios vibrateis da superfície do epéndymo ventricular dos *Vertebrados;* FROMANN em 1864 e 1866 nas céllulas nervosas, em certas céllulas epitheliaes e conjunctivas; HENLE e PFLÜGER em 1866 nas céllulas dos canalículos excretores das glándulas salivares dos vertebrados; HEIDENHAIN em 1868 e 1875, nestas mesmas glándulas e nas céllulas dos *tubuli contorti* do rim.

A estes factos de observação isolada, associaram-se outros mais complexos. Já FROMANN, quando publicou as suas observações sôbre as céllulas nervosas, certas céllulas epitheliaes e conjunctivas, verificou que a estriação dava o aspecto de uma rêde de filamentos entre cruzados. PFLÜGER em 1869 contraprova a mesma disposição nas céllulas do fígado fixadas pelo ácido ósmico, e faz notar além disso que a estriação e a rêde sam sobretudo visiveis na periphe-

ria da céllula; ao mesmo tempo, estudando as ramificações mais finas das fibras nervosas do fígado, descobre que os filamentos do cylindro-eixo se põem directamente em relação com os das céllulas próprias do fígado. KUPFFER em 1870 observa as céllulas folliculares, que cercam o ôvo da *Ascidia canina*, e verifica que o seu corpo protoplasmático é constituído por um retículo cujos filamentos estam dispostos radialmente á periphéria e em torno do núcleo.

Estes factos isolados fôram associados por HEITZMANN em 1873 e por elle aproveitados para repellir a theoria da estructura homogénea do protoplasma, ao mesmo tempo que lançava as bases da theoria reticular. A theoria da estructura homogénea apresentava-se distinguindo o protoplasma do corpo da céllula do protoplasma nuclear; ao primeiro designou pelo nome de — *Cytoplasma*, ao segundo pelo de — *Nucleoplasma*.

Desenvolvida principalmente por STRASBURGER, nella as coisas passar-se-hiam assim: — O cytoplasma seria formado duma substáncia fundamental de aspecto homogéneo, na qual residiriam as propriedades essenciaes do corpo cellular; ao mesmo tempo perdidos nessa substáncia e tendo sempre um papel secundário existiriam granulações várias, indifferentes, que no seio da massa cytoplásmica se moviam arrastadas numa rotação monótona, misturando-se arbitrariamente, nada tendo de fixo entre si e nenhum papel importante representando portanto.

Tanto isto é assim, que as granulações não sam constantes nem existem em todo o protoplasma. A *Amaeba Proteus*, por exemplo, é desprovida dellas á superfície; isso que acontece nesta amiba acontece dum modo geral em todas as céllulas; essa camada de protoplasma, habitualmente mais densa, duma consisténcia mais rija que o resto do cytoplasma, recebeu uma designação especial de — *Ecto-*

plasma; é mesmo o ectoplasma que nas céllulas que carecem de membrana, — e no reino animal é isso vulgar, — desempenha as funcções da membrana nas céllulas onde ella existe.

A este respeito podem comparar-se diversas céllulas a uma gotta de solução de gomma, que se deixasse seccar ligeiramente; formar-se-hia á sua periphéria uma camada de gomma mais espessa, mais sólida, de aspecto pellicular, que não seria todavia de natureza differente da da gomma que permaneceu líquida no interior da gotta (1). Se no interior da céllula as granulações sam em muitos casos numerosas, nenhuma importáncia funccional se lhes deve attribuír; essa pertence toda ao cytoplasma; este é que é extremamente complexo. Para mostrar a independéncia da massa homogénea a respeito das granulações KOELLIKER deu-lhes designações differentes; o seu conjuncto chama-se *cytoplasma,* mas áquella só, isolada, deve chamar-se — *Hyaloplasma* e a estes, — *Microsomas* ou *Cytomicrosomas*; nomenclatura análoga foi adoptada para o núcleo, creando o termo de — *Caryomicrosomas.*

No hyaloplasma observam-se ás vezes fibrillas, mas só em dados momentos, para o exercício de dadas funcções; de modo nenhum sam permanentes nem constantes, posto sejam incontestaveis; devem admittir-se como formações de occasião, de fins determinados e nada mais; a sua apparição transitória só vem mostrar como o hyaloplasma é complexo.

Tambem STRASBURGER aínda nelle distingue duas substáncias differentes, como que dois hyaloplasmas com papeis e funcções diversas: um hyaloplasma nutritivo, e um hyaloplasma formativo; o primeiro, — *Trophoplasma,* — tendo apenas um papel nutritivo secundário; o segundo, — *Cino-*

(1) MATHIAS DUVAL, loc. cit., pag. 74.

plasma, — é o unico activo: é elle que fórma os filamentos do *Aster* e as fibrillas do *Fuso,* no momento da divisão. Mas só então essas fibrillas apparecem.

A theoría da estructura homogénea foi apresentada por STRASBURGER com toda a sua amplitude em 1884; grande número de botánicos acceitáram-na, mas os factos ulteriores vieram demonstrar a sua falsidade; tambem hoje é geralmente repellida. Para as céllulas animaes apenas foi admittida em todo o seu rigor nas céllulas sanguíneas por KNOLL em 1893 e GRIESBACH em 1894; actualmente, o próprio STRASBURGER já admitte que até para os vegetaes a estructura do protoplasma varia segundo os orgãos e as plantas.

*

Theoria reticular ou **theoria de** HEITZMANN — A estriação encontrada em muitas céllulas, atrás relatada chronologicamente, foi verificada e desenvolvida por HEITZMANN; a esses factos reuníu os da sua observação pessoal effectuada no estudo da estructura das *amibas,* dos glóbulos brancos do *Camarão,* do *Tritão* e do *Homem:* n'elles encontrou tambem a estriação, e mantida de modo tão constante que construíu com este conjuncto uma theoria sobre a estructura do protoplasma, theoria que ficou sendo conhecida com o nome de — **theoria reticular.**

Para HEITZMANN o protoplasma seria composto de finos filamentos anostomosados entre si, formando uma rêde de malhas finissimas, cujos pontos nodaes representavam as granulações; nas malhas desta rêde um líquido está encerrado, semi-fluido, muito menos denso e muito menos rijo

do que a substância filamentosa da rêde; esse líquido seria viscoso, amorpho e conteria espalhadas na sua massa algumas granulações accidentaes, alguns microsomas; mas a grande maioria do que com esta designação é descripto seriam os pontos nodaes dos filamentos, no cruzamento que realizam para a construcção da rêde tenuissima do protoplasma. A substância dos filamentos é a fundamental, a que tem importância na estructura do protoplasma; e tanto que a mesma disposição é observada no núcleo, que fórma por assim dizer o nódulo central da rêde e cujos nucléolos teem a mesma origem que as granulações cellulares: os nucléolos seriam pontos de entre-cruzamento mais ou menos engrossados do retículo nuclear.

A disposição seria tam geral que ella estender-se-hia ás substâncias amorphas inter-cellulares: segundo HEITZMANN a substância amorpha do tecido cartilagíneo fórma um systema de filamentos ligado ao das céllulas cartilagíneas encerradas nesta substância.

A theoria seria portanto geral e essencialmente fixada nestas bases: o protoplasma compõe-se de duas substâncias: uma essencial, contráctil, filamentosa e reticulada; outra accidental, viscosa, semi-fluida e amorpha, enchendo as malhas da rêde delicadissima que a primeira constituë.

As ideis de HEITZMANN assentavam num grande número de dados de observação, que não podiam contestar-se, nem foram contestados; a sua theoria é muito mais precisa e tem muito mais rigor experimental que a anterior; sôbre pontos secundários é que alguns auctores discordaram della, mas a contextura geral da theoria fez carreira e encontrou prosélytos de primeira auctoridade.

*

Assim VELTEN modificou a theoria de HEITZMANN em 1873, substituindo-lhe a **theoria tubular.** Os estudos de VELTEN foram feitos nas céllulas vegetaes, especialmente nas da *Cucúrbita pepo;* para elle a massa protoplásmica seria cavada ou percorrida por um grande número de utrículos alongados ou de canalículos cheios duma matéria homogénea, semi-fluida; o córte óptico destes canalículos daria a apparéncia da disposição reticulada; as duas substáncias, — canalículos e conteúdo, — não differiam senão pela sua riqueza em agua; e as granulações intra-cellulares, designadas por — microsomas e interpretadas como pontos nodaes da rêde protoplásmica seríam granulações realmente, mas contidas na espessura da parede dos canalículos.

A descripção de VELTEN não teve confirmação válida em observações ulteriores; foi por isso abandonada totalmente, e nenhum outro mérito se lhe reconheceu que não fôsse o de desenhar grosseiramente a futura theoria alveolar de BÜTSCHLI. Foi ao que levaram logo no mesmo anno de 1873 os trabalhos de ROUGET feitos sobre céllulas formadoras dos capillares da *rã,* céllulas da epiderme dos *batráchios* e do apparelho eléctrico da *Tremelga;* ROUGET admittiu a existéncia desses utrículos alongados de que falava VELTEN, considerou-os como independentes, como cavidades fechadas e cheias, numa palavra, cavadas na massa cellular; essas cavidades teem o nome de — *vacúolos* e ROUGET designou por isso todas as céllulas que estudou, como céllulas de vacúolos. Este modo de vêr desenvolveu-o largamente mais tarde BÜTSCHLI. Nem VELTEN nem ROUGET, porém, comba-

tiam as opiniões de HEITZMANN; havia estas pequenas divergéncias de fórma, pequenos accidentes de estructura, mas fundamentalmente todos estavam de accordo em admittir no protoplasma uma estructura intrincada contrastando singularmente com a simplicidade homogénea de STRASBURGER; e pelo que respeita ao exame dos córtes nenhum contestava o aspecto reticulado que elles affectavam.

Assim tambem as ideias de HEITZMANN foram acceites por FROMANN logo em 1875; annos depois KLEIN, em 1878, filiou-se na mesma escola, mas este fez-se acompanhar de algumas ideias originaes, posto que accessórias.

KLEIN estudou as céllulas da mucosa intestinal do *Triton cristatus*, do intestino, fígado e glándulas salivares do *coelho, cávia, cão, porco* e outros animaes. Estudou tambem as céllulas da mucosa do estomago e quer nestas, quer nas do intestino, descreveu uma rêde longitudinal de filamentos ligados entre si por finas trabéculas transversaes, como mostra a fig. V.

Portanto ha aqui dois systemas de filamentos e não um só como HEITZMANN tinha supposto e descripto, e sam os pontos

Fig. V. — Céllulas epitheliaes do intestino delgado do *Porco* (segundo KLEIN).

Fig. VI. — Céllula epithelial do intestino grosso do *Porco*: *a* vista pela extremidade livre; *b* vista de face (segundo KLEIN).

de cruzamento destes dois systemas que constituem as granulações protoplásmicas. A substáncia interfibrillar hyalina póde absorver uma quantidade de agua maior ou menor e

transformar-se em mucina; as malhas da rêde afastam-se então; é o phenómeno que, em grande, se vê na constituição duma céllula caliciforme. Fig. VI.

O aspecto do retículo mudará portanto segundo o estado de actividade ou de repouso da céllula, que o mesmo é que dizer, segundo a riqueza em agua da substância contida nas suas malhas; como se vê, a divergencia entre KLEIN e HEITZMANN é meramente accidental, secundária; de resto KLEIN, como HEITZMANN e FROMANN, admitte a continuídade do retículo protoplásmico com o retículo nuclear; os trabalhos de KLEIN foram publicados em 1879; — pois logo no mesmo anno ARNOLD toma o mesmo partido e neste anno tambem FROMANN vem com novos factos corroborar a theoria, que estendeu mesmo aos vegetaes; effectivamente nas céllulas epidermicas do *Rhododendron,* da *Dracoena* e do *Jacintho* encontrou a mesma disposição reticular.

Com esta nova acquisição de factos, a theoria diffunde-se mais e logo em 1880 contou um novo e importante partidário, — SCHMITZ.

Mais tarde, em 1883 e 1884, um novo adepto appareceu — BRASI; e depois, em 1885, outro — LEYDIG, que apresenta a *theoria do Espongioplasma.*

*

Nesta theoria, — a **theoria do Espongioplasma,** — LEYDIG apresenta as coisas por uma fórma differente da primitiva descripção de HEITZMANN mas a divergéncia é tambem secundária e accidental: ella não incide realmente d'um modo sensivel sobre a disposição morphológica, mas a differença

importante está no papel attribuído a cada um dos elementos constitutivos do cytoplasma, nas funcções que se lhes propõem.

Para LEYDIG o retículo não é contractil, — é inerte; a substáncia activa, o *Cytoplasma*, não é o retículo, é o que enche as suas malhas; chamando ao retículo *Espongioplasma*, as suas malhas seríam preenchidas pelo *Hyaloplasma*, em verdade único fundamental, a que o retículo serviria como que de esqueleto desempenhando no corpo cellular um papel análogo ao do esqueleto calcáreo ou silicoso dos espongiários; dahi a designação de — *Espongiolasma*, dada ao retículo, sustentáculo da matéria homogénea e contractil, — o *Hyaloplasma*.

NANSEN adopta o modo de vêr de LEYDIG, em 1886, e mais tarde filiam-se ainda na mesma opinião GRIESBACH e SCHÄFER, em 1891. As razões invocadas por este último veem do exame dos movimentos pseudopódicos dos leucócytos; o primeiro observou os do *Anodonte* e do *Camarão*, o segundo o de vários animaes: para o primeiro, os pseudópodos sam expansões hyaloplásmicas sempre desprovidas de fibrillas; o segundo, fixando os leucócytos rapidamente pela acção d'um jacto de vapor, não observou a estructura reticulada senão na porção central destes elementos; nunca ella existiria nos pseudópodos; por isso seria secundária e insignificante a existéncia do retículo para o exercício dessa alta funcção, o deslocamento amiboide dos leucócytos.

GRIESBACH por outro lado admitte que as granulações observadas no corpo cellular seriam fragmentos do *Espongioplasma*, cahidos e perdidos no seio da massa activa do protoplasma.

É totalmente impossivel neste momento ajuízar da theoria de HEITZMANN; pode dizer-se que ella prestou o serviço relevante de mostrar que o protoplasma é uma substáncia

extremamente complexa, de estructura muito complicada; a veracidade da sua descripção, porém, não pode affirmar-se porque o problema é extraordinariamente difficil.

*

Theoria filamentosa de KUPFER-FLEMMING: — Em 1874 e 1875, KUPFER estudou as céllulas glandulares da *Barata* [*Periplaneta orientalis*] e as céllulas hepáticas da *rã;* encontrando, como HEITZMANN, uma estructura reticulada parece que devia juntar-se immediatamente aos partidários da theoria deste; não succedeu, porém, assim. KUPFER admitte a existéncia d'uma rêde formada por uma substáncia fundamental fibrillar ou *Protoplasma propriamente dito,* nas malhas do qual existe uma outra substáncia mais líquida, menos densa, — o *Paraplasma;* a constituíção desta rêde porém era para KUPFER differente da concebida e descripta por HEITZMANN. Vê-la-hemos quando forem descriptos os trabalhos de FLEMMING, que generalizou as ideias de KUPFER. Resultados de observação análogos aos de KUPFER, e confirmando-os portanto, foram effectuados em 1876 por SCHWALBE nas céllulas dos gánglios espinaes da *rã,* nos glóbulos brancos do *Tritão* e do *Camarão.* Por outro lado, no mesmo anno, STRASBURGER descreve nas céllulas do *Aethálium septicum* estrias que tinha já encontrado nas céllulas do *Oniscus,* e que já em 1864 DE BARY, e em 1867 HOFFMEISTER haviam observado. Essas estrias sam sobretudo accentuadas na periphería da massa protoplásmica. Resultado igual colhe na observação da região periphérica dos Zoósporos da *Vauchéria* que sam cobertos de cílios vibrateis,

e constata que cada cílio parece estar em continuação directa com uma estria protoplásmica.

Em 1878 FLEMMING estuda as céllulas da larva da *Salamandra;* chega aos mesmos resultados de KUPFER; FLEMMING porém viu que confórme os processos de córação que empregava assim a estriação tomava fórmas differentes. Nas céllulas cartilagíneas observadas sem preparação, FLEMMING reconheceu a estructura concéntrica das fibrillas do protoplasma, isto é, as fibrillas dispõem-se concentricamente em tôrno do núcleo; nas céllulas de cartilagem tractadas pelo ácido ósmico, a disposição concéntrica desapparece para dar logar a um ennovelamento semelhante a uma rêde. Procedendo egualmente para as céllulas hepáticas viu que examinadas sem a acção de reagentes os filamentos se encontram sobretudo na periphería da céllula, formam fascículos que irradiam para o núcleo sem o attingir e parece que muitas vezes se anastomosam entre si para determinar a formação de malhas; entre os filamentos apparece uma substáncia hyalina, granulosa, quando observada com um forte augmento.

Nestas mesmas céllulas hepáticas fixadas pelo álcool ou por uma solução de ácido chrómico a 2 ou 4 %, a observação mostra outra coisa: a zona periphérica é constituída por uma camada densa, homogénea, da qual partem filamentos dirigidos em todos os sentidos e convergindo para o núcleo; entre os filamentos encontra-se um líquido granuloso. As céllulas hepáticas do *pôrco* comportam-se como as da *rã,* mas as granulações ahi sam mais abundantes.

A suspeita de FLEMMING era portanto inteiramente justificada; e a esta altura os seus trabalhos sam mais aproveitados para mostrar a possibilidade da estructura homogénea do protoplásma, do que para a construcção da theoria a que depois deu e ligou o seu nome; a theoria de HEITZ-

MANN era, em verdade, como se vê, sériamente prejudicada por estas observações de FLEMMING. Os seus trabalhos porém continuaram em número consideravel e sam verdadeiramente conscienciosos; FLEMMING continuou as suas observações sobre um grande número de elementos; céllulas ganglionares, cartilagíneas, hepáticas, epitheliaes, conjunctivas, leucócytos e óvulos de differentes animaes; e chegou a demonstrar que a alteração observada pelos reagentes é real, mas que ella é evitavel se houver cuidado de escolher para cada céllula um reagente proprio, um como que reagente de eleição; tal céllula que é deformada por tal reagente apparecerá com o mesmo aspecto vista sem ou com reagentes quando tractada por tal outro; é o que se esclarece melhor com os seguintes exemplos.

O ácido ósmico conserva bem a estructura dos ovos dos mammíferos e das céllulas cartilagíneas, mas retráe o esqueleto fibrillar das céllulas hepáticas e altera a fórma e a relação dos filamentos nas céllulas da *Spirogyra;* o ácido chrómico e o ácido pícrico conservam duma maneira satisfatória o esqueleto fibrillar e a substáncia interfibrillar das céllulas animaes, dos ovos de *echinodermes* e de *molluscos*, mas alteram os óvulos dos *mammíferos*, que o ácido ósmico por seu turno conserva bem.

Desde que este resultado estava colhido, as difficuldades de interpretação tinham-se afastado para um plano já muito secundário; a estructura reticular não podia mais pôr-se em dúvida e não mais podia attribuír-se a um artifício téchnico; era real e verdadeira a observação de HEITZMANN e dos cytologistas que o acompanhavam; o que lhes faltava era alguma coisa, que novas investigações, com estes processos assim destrinçados e precisados, haviam de revelar.

Nas céllulas ganglionares do *cão,* FLEMMING encontrou filamentos curtos, independentes uns dos outros; nas céllulas

da glándula salivar do *Chironomus*, o protoplasma apparece tambem formado de filamentos curtos, independentes, parecendo constituídos por granulações juxtapostas; outros observadores em outros elementos e seguíndo a mesma téchnica de FLEMMING, chegavam a conclusão semelhante; os factos estavam colhidos e a theoria filamentosa constituíu-se.

O aspecto do protoplasma é, como queria HEITZMANN, reticular, mas a rêde não é formada por filamentos anostomosados como elle suppôs; os filamentos do protoplasma sam independentes, sam individualizados, autónomos, finamente entrelaçados, e possuem as propriedades fundamentaes do protoplasma porque nelles reside a esséncia da actividade cellular; do seu entrelaçamento provém o aspecto reticular e esse é incontestavel em muitos casos, mas o que elle não significa nem demonstra é a existéncia de anastomoses que constituam uma verdadeira rêde; estas ideias foram esboçadas por KUPFER mas foi FLEMMING quem as diffundiu e demonstrou; para este portanto o protoplasmas ou Cytoplasma consta de duas partes distinctas: — uma fundamental, activa, essencial, — é o *Protoplasma propriamente dito* de KUPFER que FLEMMING denominou — *Substáncia Filamentosa* [**Filarsubstanz**], ou *Massa-Filar* ou *Mytoma* ou *Cytomitoma;* outra homogénea, secundária e inerte, — *Paraplasma* de KUPFER, chamado por FLEMMING — *Substáncia Intermediária, Massa Interfilar* [**Interfilarmasse**] ou *Paramitoma.* Esta mesma linguágem, adaptada ao núcleo, fez introduzir o termo — *Caryomitoma* (1).

Até aqui, como se vê, alguma coisa estava conquistada: a existéncia innegavel das fibrillas na massa do protoplasma

---

(1) YVES DELAGE: *La Structure du Protoplasme et les théories sur l'Hérédité.* Paris. C. Reinwald & C.ie. Eds., 1895, pag. 24.

e a sua independéncia. Quer isto dizer que em todas as céllulas assim succeda? De modo nenhum; mas em muitas este facto era incontestavel; o que restava saber é se elle seria sufficiente para edificar uma theoria.

Esta todavia nasceu e foi logo acceite por PFEFFER em 1886, por PFLÜGER em 1889, e nesse mesmo anno um novo partidário appareceu que lhe ajunctou algumas noções de valor: — é BALLOWITZ, que fez um grande número de investigações sobre um grande número de animaes, e todas ellas o levaram uniformemente a concluír que a cauda dos espermatozoides é constituída por um fascículo de fibrillas intimamente unidas; ora a cauda dos espermatozoarios é animada sempre de movimentos vivos e ageis; se fibrillas a constituem é porque estas sam contrácteis, de outro modo o movimento seria impossivel. BALLOWITZ reune assim os typos de estructura fibrillar que se podem encontrar nas céllulas: — *estructura fibrillar propriamente dicta* em que as fibrillas sam muito alongadas e parallelas entre si, como na cauda dos espermatozoides; *estructura fibrilloide* em que as fibras sam curtas e parallelas como nas céllulas ganglionares do *cão; estructura filamento-reticulada* em que as fibrillas curtas se cruzam e talvez mesmo se anastomozam entre si. BALLOWITZ admitte portanto as anastomozes.

Dois annos depois, — em 1891, — CAMILLO SCHNEIDER appareceu a admittir tambem a theoria de FLEMMING; as suas investigações foram feitas sobre os ovos de *Oursinus*, da *Ascaris megalocéphala*, em certos *Infusórios* e nas céllulas testiculares do *Camarão;* os resultados a que chegou concordam perfeitamente com os de FLEMMING: para SCHNEIDER o protoplasma é percorrido por numerosos filamentos, espessos, refringentes, apresentando um trajecto serpentino, parecendo constituír uma rêde por que se cruzam em todos os sentidos, mas não se anastomosam entre si; estes fila-

mentos estariam em continuïdade directa com os cílios nas céllulas de cílios vibrateis.

Um anno depois, — em 1892 — MARTIN HEIDENHAIN admitte que os elementos contrácteis do protoplasma se apresentam sob a fórma filamentosa, mas para elle a estructura destes filamentos não é homogénea : observam-se sobre o seu trajecto numerosas granulações ou nodosidades; HEIDENHAIN compara-as, por seu alvedrio, com as fibras musculares que se compõem de discos contrácteis.

Tal é o estado actual das coisas àcêrca da *theoria filamentosa.*

*

Theoria espiro-fibrillar de FAYOD: — Em 1891 FAYOD injectando céllulas vegetaes com mercúrio ou fazendo germinar sementes numa solução de anil, descobriu nellas tubos vasios, espiralados, a que chamou — *espiro-fibrillas* ou *espiro-spartes;* estes tubos formados de substáncia sólida estavam cheios de uma substáncia semi-fluida. Construiu assim uma theoria com aquella designação, que como se vê, é uma nova fórma da theoria de VELTEN; entretanto HENNEGUY e GUIGNARD, em 1891, procurando repetir os trabalhos de FAYOD não colheram resultado algum.

*

Theoria espherular: — KUNSTLER em 1892 apresenta uma concepção segundo a qual o protoplasma sería consti-

tuído por pequenas esphérulas proteicas de invólucro denso e de conteúdo semi-fluido. Estas esphérulas podem estar ou muito approximadas ou muito distendidas por uma matéria intermediária, plasma ou serosidade. Nas *amibas*, por exemplo, cujo protoplasma é extremamente fluido, as esphérulas seriam separadas por muita serosidade; nos elementos mais densos e mais sólidos ellas estam, pelo contrario, em contacto. KUNSTLER trata de generalizar a sua theoria e figura estes corpúsculos como as individualidades elementares que constituem a substância do corpo de todos os organismos, se estes sam, como é uma ideia antiga, constituídos por organitos deste género; a theoria cellular e a unidade da céllula é assim posta por KUNSTLER em cheque: os Protozoarios, por exemplo, não seriam para KUNSTLER nem organismos unicellulares, nem organismos pluricellulares: — «estes organismos sam formados pela reunião de esphérulas proteicas, não apresentando o modo de agrupamento em corpúsculos que affectam em seres differentes.» (1).

KUNSTLER modificou ulteriormente este modo de vêr; da estructura esphérular passou para a alveolar, que mais tarde BÜTSCHLI irá desenvolver notavelmente; mas a sua theoria foi em geral batida rudemente pela maioria dos cytologistas, já pelo pequeno número de factos em que assentava, já pela falta de rigor interpretativo a que esses factos foram sujeitos.

*

Theoria alveolar: — BÜTSCHLI fundando-se ou em observações directas feitas sobre o protoplasma, ou em prepara-

(1) L. HENNEGUY, loc. cit., pag. 40.

ções destinadas a reproduzir artificialmente uma estructura análoga á do protoplasma, suppõe este formado de alvéolos semelhantes a bolhas de ar contidas em espuma de sabão; o protoplasma seria espumoso. BÜTSCHLI confessa que o protoplasma affecta nos córtes um aspecto reticular, mas que esse retículo é uma illusão [1889]; trata-se em verdade duma fina vacuolização cavada numa substância homogénea. Para base das suas affirmações BÜTSCHLI invocava o aspecto que toma o protoplasma examinado a fresco num grande número de céllulas animaes, onde elle encontrou a estructura alvéolar já por elle observada na camada periphérica, que chama *camada alvéolar,* dos *rhizópodes* e dos *infusórios.* Mas os argumentes principaes tirou-os da imitação artificial do protoplasma. A ideia dessas imitações tinha sido apresentada por outros auctores:

DUTROCHET em 1824 víu que, submettendo á acção da pilha soluções de albumina ou uma emulsão de gêmma de ôvo, se produziam glóbulos.

ASCHERSON em 1840, misturando corpos górdos com albumina líquida, verificou que as gottas de gordura se cercam d'uma fina membrana e constituem vesículas fechadas.

TRAUBE em 1864 e 1867 obteve estas mesmas vesículas d'outra maneira: lançava gotta a gotta um liquido colloide noutro líquido semelhante, podendo dar com o primeiro uma combinação insoluvel, uma solução de gelatina numa solução de tannino, por exemplo. Cada gotta cercava-se dum delgado invólucro, insoluvel e amorpho, e tornava-se uma vesícula fechada susceptivel de crescer e apresentar phenómenos osmóticos.

RAINEY, em 1868, misturando soluções de gomma com soluções saturadas de cloreto de zinco, obteve artificialmente céllulas com vacúolos.

Moniez e Vogt em 1882, com o auxílio de soluções xaroposas de silicato de sódio em que lançavam saes finamente pulverizados, como os sulfatos de cobre, ferro, zinco, nikel chegaram a produzir artificialmente formações vesiculosas ou tubulosas, céllulas artificiaes dotadas de propriedades osmóticas e encerrando granulações.

Todas estas preparações foram estatuídas para explicar a formação cellular e a sua génese possivel por forças puramente physicas (1). Bütschli foi máis longe, — procurou reproduzir a estructura mesma do protoplasma. Como os seus predecessores, serviu-se de gorduras misturadas com substáncias salinas e albuminoides; primeiro serviu-se do azeite velho que misturou com chloreto de sódio, assucar de canna e carbonato de potássio; depois variou os materiaes de estudo empregando o óleo de fígado de bacalhau, o óleo de linhaça, o de amendoas doces e outras gorduras aínda, que emulsionou com albumina, assucar e mesmo com agua pura; mas foi com o azeite e o chloreto de sódio, que obteve os melhores resultados. O exame de uma gotta preparada pela trituração do sal, juncção do azeite, trituração consecutiva e exame da massa obtida na agua, mostra no seu centro grandes vacúolos arredondados ou polyédricos; na peripheria os vacúolos sam mais pequenos, unidos uns contra os outros e a gotta é limitada exteriormente por uma zona de cavidades alongadas, parallelas entre si e perpendiculares à superfície, (Fig. VII) zona que se chama, — *camada alveolar*.

Fig. VII. — Corte óptico da parte cortical duma gotta duma emulsão d'azeite e chloreto de sódio mostrando uma camada alveolar muito nitida e relativamente espessa *Alv.*: augmento 1250 diámetros (segundo Bütschli).

Os resultados colhidos por Bütschli foram aínda estes: —

(1) L. F. Henneguy, loc. cit., pag. 48.

quando trez vacúolos se acham em contacto, vê-se no seu ponto de reunião commum uma nodosidade lembrando absolutamente granulações protoplásmicas; se, quando se faz a emulsão, se mistura com o óleo um pouco de pó inerte este apparece alojado nos pontos nodaes dos vacúolos.

Comparemos estes resultados com o exame das figuras VIII e IX, e comprehender-se-ha então a analogia por Bütschli defendida: os alvéolos que apparecem na substáncia

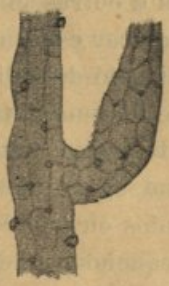

Fig. VIII. — Dois cordões protoplásmicos vivos de um pêlo de uma *Malva*. Augmento proximamente 3000 diámetros (seg. Bütschli).

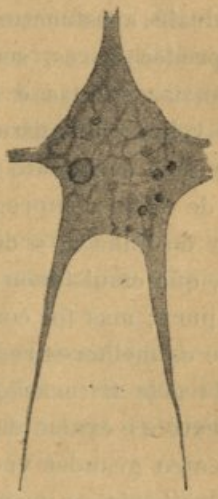

Fig. IX.—Expansão palmiforme, com estructura muito nitida, duma rêde pseudopódica duma *Miliolida*. Augmento proximamente 3000 diámetros (segundo Bütschli).

emulsionada sam semelhantes aos que constituem o protoplasma; a parede desses alvéolos sería formada de protoplasma homogéneo; elle preenche os espaços inter-alveolares, e mesmo os espaços estellares comprehendidos entre os pontos de tangéncia e cuja existéncia determinou a creação

dos microsomas. Em 1890, 1891, 1892 BÜTSCHLI junta novos factos em que se apoia; em 1892 CRATO descreve a mesma disposição alvéolar nalgumas plantas inferiores, e em 1894 BÜTTSCHLI, apresentando novas observações, radica-se inteiramente na sua theoria a que dá todo o desenvolvimento: — a parte activa do Cytoplasma é a parede do alvéolo, a qual possuë mobilidade própria, que exercita respeitando a integridade do alvéolo e na qual residem as propriedades vitaes da céllula; o alvéolo é preenchido por uma matéria líquida, secundária e indifferente, que recebeu a designação de — *Chylema;* a sua parede sempre mantida conserva a continuídade do protoplasma, que jamais se rompe ou altera; desde que essa continuídade desappareça, ou desde que desapparece a integridade alveolar, o protoplasma perde as suas propriedades; estas cessam sob qualquer ponto de vista, logo que cesse a estructura alveolar.

*

Theoria aréolar de EISMOND: — Em 1890 e 1894 EISMOND apresenta uma modificação ligeira á theoria de BÜTSCHLI. Para elle os alvéolos sam limitados não por paredes esphéricas mas por lamellas anastomosadas, separando pequenas cámaras — *aréolas*, que communicam todas entre si: a rêde filamentosa descripta por muitos auctores não sería portanto mais que o córte óptico destas lamellas.

*

Theoria de HANSTEIN, 1880: — Observadores antigos como CORTI em 1774 e TREVIRANUS em 1806 verificaram

que as granulações contidas no protoplasma raras vêzes estam em repouso; sempre, mais ou menos, se encontram animadas de algum movimento, arrastadas por correntes que as conduzem do centro para a periphería e vice-versa. HANSTEIN, em 1880, consagrou a sua attenção a este facto, guiado sobretudo pelo exame dessas granulações na céllula vegetal, onde ellas, como se sabe, percorrem num movimento contínuo as trabéculas ou fitas protoplasmicas que ligam o núcleo ao útriculo primordial e que atravessam o succo cellular.

Levado por estes factos HANSTEIN concebe as fitas protoplásmicas como constituídas por tubos cuja parte periphérica, — *Hyaloplasma,* — é mais densa que a central, — *Enchylema,* — na qual se acham as granulações ou *microsomas.* O Hyaloplasma e o Enchylema seriam assim duas fórmas da mesma substância — a *Protoplastina,* e o Enchylema sería por isso inteiramente distincto do succo cellular, o qual não representa mais do que um producto de absorpção ou excreção cellular e não uma parte fundamental e estructural da céllula.

*

Theoria granular: — Quando DUJARDIN em 1835 descreveu o *Sarcódio* apontou a existéncia nelle de granulações: pouco depois a observação mostrou que um certo número de reagentes como o álcool, o ácido chrómico, etc., quando actuam sobre o succo cellular determinam nelle a apparição d'um precipitado granular que nada tem de commum com os microsomas e que é preciso não suppôr uma estructura normal; este facto é constante e a sua verificação perma-

nente levou alguns cytologistas a um estudo aprofundado destas granulações protoplásmicas.

Em 1867 BÉCHAMP, com o nome de — *mycrosimas,* descreveu nas céllulas, d'um modo confuso, algumas granulações, que suppôs a séde dos phenomenos vitaes, esforçando-se por destruír a theoria cellular e substituír á noção de *céllula* a de *granulação.* Mais tarde MAGGI em 1874 (1) considera no protoplasma granulações com propriedades muito notaveis e chama-lhes — *Plastídulas.*

Na substáncia plástica primitiva, viva, que chama — *Glia* ou *Autoplasson,* substáncia aínda desprovida de fórma, individualizam-se algumas pequenas partes, as *Plastídulas,* da associação das quaes resulta a *Monéra* e em seguida a *Céllula.*

ARNDT em 1874 examinando glóbulos vermelhos de *batráchios* alarga este estudo sensivelmente. Nestas céllulas ha granulações em toda a massa do protoplasma que vão augmentando de volume do núcleo para a periphería. Para ARNDT estas granulações seriam glóbulos cercados duma membrana mais densa e constituindo verdadeiros organitos independentes, que representariam a parte essencial do protoplasma. Este sería afinal constituido por uma substáncia fundamental homogénea em que os organitos estariam mergulhados. Esta generalização propô-la em 1881. Em 1882, em França, MARTIN chega a conclusões análogas; na matéria protoplásmica contráctil e fundamental, as granulações existem comparaveis a micrococcus, dispondo-se ou arbitráriamente ou em série. A sua theoria resume-a nas palavras seguintes: — «A granulação proteica do protoplasma é talvês um elemento vivo, uma céllula cuja vida e funcção

(1) YVES DELAGE, loc. cit., pag. 28.

regularizariam e especificariam num sentido physiológico determinado o ser complexo, que designaremos aínda com o nome de céllula símplez ou primitiva».

Estas observações esboçadas e mal seguras foram a base dos trabalhos de ALTMANN e da theoria granular a que deu o nome. ALTMANN começou por estudar as granulações das céllulas de EHRLICH ou *Plasmazellen*, que sendo volumosas e contendo granulações numerosas e facilmente revelaveis estavam indicadas para esta observação; das céllulas de EHRLICH, ALTMANN passou ao estudo de outros elementos cellulares da série animal e fixou-se numa téchnica especial para as suas observações; emprega como reagente fixador, depois de tentativas várias, uma solução a 30 % de azotato de potássio saturada de óxydo de mercúrio, a que junta 3 volumes de agua e 1 volume de ácido fórmico a 50 % ou uma mistura de partes eguaes duma solução de molybdato de ammónio a 2,5 % e d'uma solução de ácido chrómico de 0,5 a 1 %; fixando os elementos cellulares por este reagente, ALTMANN notou que granulações semelhantes ás encontradas nas céllulas de EHRLICH sam facilmente observaveis em todos os elementos cellulares; em todas as céllulas ha ou granulações isoladas ou filamentos que parecem elles mesmos constituídos por granulações e que teem portanto a mesma origem. A estas granulações chamou anatómicamente — *gránulos* e, physiologicamente — *bioblástas*.

Os bioblastas seriam os elementos verdadeiramente vivos do protoplasma, o qual póde figurar-se como uma colónia de organismos elementares, como uma *zooglêa* de micro-organismos; tambem ALTMANN considera estes bioblastas livres e chama-lhes — *Autoblastas;* os bioblastas seriam os unicos depositários das propriedades da substáncia viva, multiplicar-se-hiam por divisão, seriam os unicos factores da hereditariedade. A sua associação levaria á monéra; esta

differenciando-se internamente daria a metamonéra, depois uma céllula na qual os bioblastas se distinguiriam em bioblastas do núcleo ou *caryoblastas* e do corpo cellular ou *somatoblastas*.

Os trabalhos de ALTMANN começaram a ser publicados em 1886 e continuáram depois ininterruptamente; dois discípulos delle, os irmãos L. e R. ZOJA, em 1891, chegáram á demonstração de que o reagente que melhor córa os bioblastas é a fuchsina ácida; adoptando o termo de *bioblasta* como synónimo da *plastídula* de MAGGI, chamam aos *bioblastas*,— plastidulas fuchsinóphilas e asseguram ter verificado a sua presença em todas as céllulas que examináram nos *protozoários, celenterados, vermes, echinodermes, molluscus, arthrópodes, tunicários* e *vertebrados*, depois de os terem fixado pelo reagente de ALTMANN. Em certos casos viram que o número dos bioblastas augmenta consideravelmente mas nunca poderam verificar a sua divisão, que ALTMANN affirmou: resultarão elles, quando o seu número augmenta, da individualização de uma substáncia fundamental ou simplezmente do augmento do volume de elementos primitivamente invisiveis, ultra-microscópicos? O futuro o dirá. Por agora fixemos as noções fundamentaes de ALTMANN, que em 1890 ZIMMERMANN estendeu aos vegetaes.

A theoria de ALTMANN mostra, que a estructura do protoplasma é de uma determinação difficíllima; o papel que attribue aos bioblastas e que seria de valor inestimavel para a explicação dos phenomenos hereditários é muito semelhante ao que WIESNER tinha attribuído aos plasomas, a que me referi ao descrever a estructura da membrana cellular, onde os plasomas tomam a designação de — *dermatosomas;* semelhantes unidades elementares foram admittidas no protoplasma por outros biologistas e tivemos já disso exemplo nas *micellas* de NAEGELI.

Este chamava assim ao agrupamento de um número consideravel de moléculas orgánicas, possuindo uma estructura crystallina; da sua associação deriva a estructura da matéria orgánica, facil de conceber depois de conhecida a micella. As micellas exercem uma attracção umas sobre as outras e sobre a agua; conforme esta se introduz em quantidade maior ou menor entre as micellas, assim as micellas estam mais ou menos separadas; entretanto ellas sam insoluveis na agua porque, como diz NAEGELI, «a força da attracção para a agua, quando as micellas se affastam, diminue mais rapidamente que a força de attracção das micellas entre si, de modo que, quando as camadas de agua tem attingido uma certa poténcia estabelece-se um estado de equilíbrio, que corresponde precisamente ao limite de afastamento»; essa agua ou existe no estado crystallino ou está adherente e fixada á superfície das micellas de um mesmo agrupamento, ou está interposta por capillaridade entre os diversos agrupamentos de micellas. Estas podem ser de volume e fórmas differentes, constituídas pela mesma substáncia ou por substáncias diversas, e reúnem-se em agrupamentos regulares.

A apparição desta noção das micellas foi determinada pela necessidade de explicação de muitos phenómenos biológicos, sobretudo os que se referem á transmissão hereditária; foi todavia insufficiente, e os biologistas reconheceram a necessidade de suppôr a estructura da matéria organizada, que na sua expressão mais simplez é o protoplasma, ainda mais delicada; para que muitos factos tivessem explicação sufficiente era necessário admittir partículas ainda menores. A este respeito as plastídulas de MAGGI, de que HAECKEL fez mais tarde um uso tam lato, e os bioblastas de ALTMANN gozaram de uma consideração inteiramente justificada, e seríam elles talvez os representantes morphológicos

das noções abstractas e physiológicas que DARWIN designou por—*Gémmula,* SPENCER por—*Unidade physiológica,* HERTWIG por—*Idioblasta* ou *Partícula idioplásmica,* e DE VRIES por—*Pangene.*

*

Se fosse necessária uma argumentação muito delicada, para mostrar que a estructura do protoplasma é mal conhecida, nós encontrariamos no facto mesmo da multiplicidade de theorias, que tentam explicá-la, uma demonstração completa; e se attendermos á necessidade em que se teem visto os cytologistas de recorrerem a noções theóricas, a concepções abstractas e problemáticas sobre as suas unidades fundamentaes, concluiremos naturalmente que todos os trabalhos feitos até agora sam insufficientes para explicar os phenómenos de que o protoplasma é a séde; — tanto a sua morphologia é ignorada, que nada explicamos com as descripções que della se teem feito, apesar de variadas.

Para esta ignorância em que nos achamos devem ter concorrido naturalmente causas muito poderosas, de caracter bem geral, para que os effeitos sejam assim desanimadores. Em primeiro logar cada observador, que colhe um resultado qualquer num número limitado de exemplares, tem sempre tendéncia para vêr por toda a parte e sempre, o que uma vês apprehendeu; ninguem se furta á inclinação natural e espontánea de generalizar o que individualmente observou e d'ahi veem os exclusivismos prejudiciaes e incómmodos, com que as theorias se apresentam e o ardor, com que se combatem. Por outro lado no estudo da estructura do protoplasma empregam-se processos téchnicos; não tem dúvida alguma que a introducção desses processos facilitou muito

o estudo e ampliou consideravelmente o campo das observações, tornando-se de uma fecundidade extrema e assombrosa; mas é ponto averiguado tambem para toda a gente, que alguma vês tem lidado com histologia experimental, que o emprego dos processos téchnicos é duma melindrosa laboração. Lidamos aqui com substáncias de uma delicadeza de estructura tal, de uma tal complexidade de composição que a menor acção effectuada por qualquer agente póde alterar completamente a fórma e o aspecto das coisas; depois ha a predileccão sempre manifesta, por mais que contra ella se reaja, para determinados caminhos téchnicos a seguir; não ha trabalhador, por mais modesto que seja, que não dê uma tal ou qual preferencia a tal ou tal processo de preparação; e d'ahi vem uma conclusão natural e lógica: é que cada observador tem sempre, por mais que se esforce, uma téchnica pessoal com que se dá melhor, com que trabalha mais depressa, com que lhe parece que vê mais e vê mais perfeitamente, e nenhum ha tambem que consinta em sacrificar os resultados da sua observação, quando ella é conscienciosa, aos de qualquer outro. Todas estas causas, que poderiam chamar-se causas de êrro, levam naturalmente a uma diversidade de resultados lamentavel, quando se trata de observações em que toda a meticulosidade é pouca, porque a sua difficuldade é inexcedivel. A propósito da morphologia do protoplasma muitos resultados falsos terám tido nestas palavras a sua génese.

Uma das coisas que mais deveria desejar-se neste assumpto era o exame das preparações feito com a maior simplicidade possivel, o mais despido que ser possa de intrincadas operações manuaes; e a este respeito todos os resultados colhidos no exame dos elementos cellulares, feito sem o emprego de nenhuns agentes chymicos, sam os que devem merecer o maior crédito.

Seriam incontaveis os exemplos que poderiam citar-se, mostrando como o mesmo elemento anatómico pode dar uma multiplicidade de aspectos quando submettido á acção de reagentes diversos; e é altamente elucidativa a comparação, que pode fazer-se, entre o aspecto que certos elementos apresentam quando vistos sem nenhum artifício, e o aspecto com que se revelam se alguma substância os actuou; a descripção das coisas tomaria um caracter verdadeiramente labyrínthico se fosse feita sem tal comparação effectuada. Foi o conhecimento desta verdade que fez nascer a convicção, hoje geral, de que para o estudo de cada elemento era preciso determinar um reagente próprio, — o reagente que lhe convinha, o seu reagente de eleição, a substância emfim que, quando empregada, apenas permittisse vêr melhor o que no exame nú se via já de modo menos perfeito, sem que deforme e altere as relações naturaes, normaes e physiológicas das coisas; Flemming sob este ponto de vista prestou serviços de valor real e incontestavel; a introducção dos líquidos indifferentes na téchnica histológica foi tambem de utilidade evidente. Com estas noções presentes no espírito, o exame e a comparação das theorias descriptas leva a conclusões desagradaveis para todas ellas, posto se tenha de confessar que nenhum dos factos aproveitados para a sua base deve desprezar-se; esta convicção entra naturalmente no espirito, se se attender a que, nas mãos de muitos observadores conscienciosos os factos teem apparecido isolados, a harmonizar-se ora com uma ora com outra das theorias emittidas.

Assim:

Henneguy, estudando as céllulas cartilagíneas da cauda de uma larva de *Axolott,* viu filamentos finissimos percorrendo a substância fundamental; nos espermatócytos dos *Pyrrhocoris,* da *Helix pomatia,* estudados no estado vivo,

verifica-se egualmente a existencia de finos filamentos orientados concèntricamente em torno do núcleo, — o que está de accôrdo com a theoria de FLEMMING.

Se estes mesmos espermatócytos forem fixados apparece immediatamente um retículo na massa protoplásmica; o mesmo succede com os ovos dos mammíferos, — o que está de accôrdo com HEITZMANN (1).

BALBIANI nos *infusórios, stentores* e *opalinos* viu filamentos constituidos por granulações livremente suspensas no protoplasma; R. GREEFF observou o mesmo em *amibas;* o proprio BÜTSCHLI fez observação egual na *Amaeba blattae,* o que tudo está de accôrdo com ALTMANN.

Em 1888 FABRE DOMERGUE, no protoplasma de um infusório ciliado — o *Cyrtostomum leucas,* encontrou um verdadeiro retículo, — o que está de accôrdo com HEITZMANN.

Em 1891 HENNEGUY num outro infusório, — a *Fabrea salina,* achou uma rêde cujas trabéculas estavam cheias de granulações pigmentares, que communicam ao animal uma côr azul bastante accentuada; esmagando o animal de maneira a desorganisar o seu protoplasma podiam fazer-se saír das trabéculas da rêde pequenos vacúolos claros, visíveis durante a vida, perfeitamente isolaveis e constituindo por conseguinte verdadeiras pequenas esphérulas protoplásmicas, — o que está de accôrdo com KUNSTLER.

Na parte periphérica do corpo dos *infusórios* observa-se muitas vezes uma série de pequenas cavidades fechadas, radialmente dispostas, e que sam manifestamente uma camada cortical alveolar; encontra-se uma estructura nitidamente alveolar nas céllulas das glándulas salivares da *Helix;* nos *rhizópodos* acha-se tambem ás vezes um aspecto

(1) HENNEGUY, loc. cit., pag. 54.

alveolar: tudo isto está de accôrdo com BÜTSCHLI. Mas, examinando as céllulas epitheliaes das larvas do *Axolotl* vivas, vê-se que o seu protoplasma superficial é cavado por uma multidão de pequenos vacúolos, que communicam ao elemento um aspecto análogo ao que se observa nas emulsões de BÜTSCHLI. Pondo a superfície da céllula exactamente em fóco, os vacúolos quasi regulares e de contôrno polyédrico apparecem refringentes e sam cercados de linhas escuras; examinando um plano um pouco mais profundo, o aspecto muda: os vacúolos apparecem escuros e as linhas que os limitam refringentes. Trata-se aqui de uma estructura alveolar ou de um delicado e fino retículo muito regular? É impossivel responder. De resto HERTWIG põe á theoria de BÜTSCHLI duas difficuldades muito graves: — primeiro: a theoria não poderia applicar-se á estructura do núcleo porque neste, pelo menos durante a divisão indirecta, produzem-se figuras estriadas que de modo nenhum a theoria alveolar póde explicar. BÜTSCHLI nada tem que responder a isto. Segundo: a pretendida analogia entre a estructura alveolar e as figuras obtidas nas emulsões não se comprehende bem; HERTWIG fez notar que numa emulsão de azeite, por exemplo, as paredes dos alvéolos são constituidas por uma substáncia não miscivel á agua, emquanto que as substáncias albuminoides o sam num alto gráo. BÜTSCHLI responde com a hypothese nada provada da camada alveolar não ser formada de albuminoides no estado puro, mas duma mistura destes últimos com ácidos gordos, cuja presença diminue a miscibilidade do protoplasma com a agua.

Estudando as céllulas conjunctivas emigradoras da parte profunda da cauda duma larva viva de *Axolotl*, vê-se que estas céllulas sam constituidas por uma massa homogénea, na qual se encontram suspensas finas granulações animadas

de um movimento browniiano muito vivo; observação egual fez FLEMMING nas céllulas da *Spirogyra;* HENNEGUY viu a mesma coisa num glóbulo sanguíneo da larva de *Axolotl,* glóbulo intacto porque foi observado num capillar situado bastante profundamente; todos estes factos estão de accôrdo com a theoria da estructura homogénea.

Vemos portanto que sería de uma imprudéncia manifesta ir attribuir a qualquer das theorias apresentadas um alcance, que a tornasse de applicação geral; não póde ser: todas ellas teem factos em que assentam, comprehendem um certo número de phenómenos, explicam-no-los e descrevem-no-los, mas nenhuma adquiriu fóros de exclusivamente verdadeira. Quanto ao auxílio que nos prestam para a interpretação de muitas funções, — a da transmissão hereditária por exemplo, — o seu papel é modestissimo; a este respeito a mais acceitavel sería a de ALTMANN.

Este resultade tem sido tão geralmente acceite, que theorias eclécticas teem sido apresentadas, sem haver meio nenhum de affirmar ou negar a sua veracidade; sam modos de vêr mais ou menos engenhosos, destinados a interpretar os factos de observação, que nenhuma das theorias apresentadas explica. Ennumeremo-los:

BERTHOLD em 1886 e SCHWARZ em 1887 admittem que o Protoplasma é uma mistura de duas ou muitas substáncias não misciveis entre si: no protoplasma não existe nenhuma rêde, nenhum esquelêto; mas este protoplasma póde em certos pontos da céllula differenciar-se, para dar origem a formações que apresentem a fórma de cordões, ou filamentos, ou rêde, ou granulações, etc.

Em 1889 KOELLIKER apresenta a theoria eclética mais completa que tem apparecido. Para elle acha-se nas céllulas novas um protoplasma absolutamente homogéneo, sem nenhuma estructura; este protoplasma é formado por uma

mistura de substáncias diversas, molles, semi-fluídas, em que podem distinguir-se: — 1.º substáncias albuminoides propriamente ditas; 2.º plastinas. Aos albuminoides está entregue a contractilidade; sam substáncias soluveis nos ácidos. o seu conjuncto constitue a matéria amorpha contráctil análoga ao *Sarcódio* de DUJARDIN. As plastinas pelo contrário sam desprovidas de contractilidade e insoluveis nos ácidos fortes.

Num protoplasma assim constituído apparecem mais tarde vacúolos contendo uma espécie de succo cellular. Se os vacúolos sam muito pequenos, ter-se-ha uma estructura alveolar. Os vacúolos podem romper-se, fusionar-se e dar logar a uma formação vacuolar; podem tornar-se maiores aínda, communicar entre si e dar ao protoplasma o aspecto reticular. Em certos casos, emfim, o retículo pode romper-se e dar origem a filamentos livres.

KOELLIKER distingue tres espécies de rêdes cellulares: — umas, formadas de matérias albuminoides e contrácteis, observam-se nas céllulas amiboides; outras, que se encontram nas céllulas das glándulas sebáceas e dos oviductos, sam constituidas por plastina e não apresentam nenhuma contractilidade; emfim, pode existir uma terceira fórma mixta de retículo composto de uma mistura de plastina e de albuminoides.

Quanto aos microsomas, cujo estudo é ainda muito incompleto, compõem-se provavelmente de granulações, ou albuminóidicas ou plastínicas. HENNEGUY, de quem esta exposição é tirada, conforma-se completamente com as ideias de KOELLIKER.

Hoje pretende-se que no seio da massa protoplásmica ha alguns outros elementos, de funcções altamente differenciadas. Depois veremos quaes sam.

II. — Composição chymica do protoplasma

O protoplasma constitutivo do corpo cellular está num estado de actividade permanente. Das substáncias ambientes, em que mergulha, o protoplasma extráe as substáncias com que se nutre. Estas sam porém differentes daquellas com que o protoplasma se constituë; no seio deste passam-se por isso phenómenos altamente complicados, que consistem na preparação de elementos próprios e aproveitaveis, que o protoplasma fixa; por outro lado alguns elementos inuteis existentes na mistura nutritiva, sam rejeitados, despresados pela céllula; e é o protoplasma que faz a differenciação entre as substáncias aproveitaveis e as inúteis.

Alem disso o protoplasma das céllulas elabora princípios de actividade indispensavel para os organismos superiores, os quaes sam aggregados de céllulas, princípios que ou sam necessários para o exercicio de certas funcções, ou consistem em preparados que á propria céllula mesmo conveem para o exercício ulterior das suas funcções sob qualquer ponto de vista especial. A substáncia protoplásmica é por isso séde constante de mutações variadas, de transformações contínuas, que ou terminam na fixação de elementos ou na produção doutros; é o conjuncto dessas mutações que se designa por — *nutrição;* das operações elementares, em que se divide, a preparação de substáncias utilizaveis á custa das que lhe fornece o ambiente, e a sua fixação consecutiva, constitue a — *assimilação;* a preparação, á custa de materiaes do meio interno, de substáncias que devem ser eliminadas e a sua rejeição ulterior constitue a — *dessassi-*

milação. O estudo destas acções levou á demonstração de que na sua maxima parte os phenómenos chymicos, que formam a sua esséncia, sam oxydações; é portanto necessário fornecer oxygénio ao protoplasma para que elle elabore as substáncias que fixa ou as que regeita; o protoplasma precisa, por consequéncia, de respirar; a funcção — *respiração* pertence-lhe tambem evidentemente.

Os biologistas inglêses, GEDDES e THOMSON entre outros, usam uma nomenclatura differente desta, geralmente adoptada em França e na Allemanha. Á série ascendente, synthética, constitutiva das mudanças intraprotoplasmáticas, que terminam na formação da materia viva, chamam elles — *Anabolismo*; á série descendente, destructiva, terminando na desorganisação da matéria viva chamam elles — *Catabolismo;* e o conjuncto dos processos de anabolismo e de catabolismo constituë o — *Metabolismo*. É facto averiguado que os processos intimos da nutrição cellular consistem na assimilação e desassimilação; mas elles sam sempre precedidos por duas operações meramente physicas de osmose, que precedem e seguem aquellas; a endosmose precede a assimilação, como a exosmose segue a desassimilação.

*

Tonoplastas de DE VRIES, **Hydroleucytos de** VAN-TIEGHEM: — A nutrição da céllula não se effectua só á custa das substáncias em que ella está immersa e que penetram no protoplasma por osmose; ás vezes em vacúolos contidos na cavidade cellular, ha deposição de matérias orgánicas, que num dado momento sam aproveitadas. Este facto é de observação geral e ninguem o põe em dúvida; o mechanis-

mo da nutrição á custa dellas effectuada é que se ignora aínda, a menos que não sejam verdadeiras as observações de DE VRIES.

Em 1885 DE VRIES e um anno depois WENT apresentáram os vacúolos das céllulas como verdadairas formações independentes, orgãos especiaes das céllulas. As razões em que se fundam sam os phenómenos de *Plasmólyse,* a que as céllulas podem dar origem. Tractando certas céllulas ricas em vacúolos por uma solução de azotato de potássio a 10 % e addicionada de eozina, vê-se o líquido penetrar na céllula, produzir-se uma contracção do protoplasma, e ao nivel dos vacúolos praticar-se uma laceração do protoplasma, que os isola e os faz apparecer como cercados por uma parêde própria. A esses vacúolos chamaram — *tonoplastas,* consideráram-nos orgãos especialisados de certas céllulas, e admittíram a possibilidade da sua multiplicação por divisão.

DE VRIES multiplicou consideravelmente as suas observações, empregando líquidos diversos; além do azotato de potássio empregou o chloreto de sódio a 1 %, o iodeto de potássio, o sulfato de magnésio, o phosphato de potássio, na mesma concentração; e creou o termo de — *Plasmólyse* para indicar *a acção sobre o protoplasma de certas substáncias dissolvidas num certo gráo de concentração.* Conforme as quantidades de substáncias differentes que é preciso empregar para obter o mesmo effeito plasmolysante, assim ellas possuem maior ou menor *tonicidade* ou *tonismo.* Sam isotónicas as soluções do mesmo poder plasmolysante. Uma solução de 0,746 gr. % de chloreto de potássio tem o mesmo poder plasmolysante que uma outra de 1,661 gr. % de iodeto de potássio; essas duas soluções são *isotónicas,* e se para cada sal se determinar o gráo de concentração necessária para obter o mesmo effeito sobre o succo cellular, tem-se determinado o *coefficiente isotónico.*

De Vries observou vacúolos isolaveis nas céllulas do pedúnculo floral do *Plumbago amplexicaulis*, nos *Rhizópodos, Actinophrys* e *Orbitolites*, em *Celenterados*, em *Hydrários*, na corda dorsal do embryão dos *vertebrados*, nas céllulas do fígado e rim dos *molluscos*.

Pfeffer em 1888 e Massart em 1889 não poderam verificar as asserções de De Vries, posto reconhecesssem a differente sensibilidade que o protoplasma manifesta a respeito das várias dissoluções e dos diversos gráos de concentração da solução de uma mesma substáncia: o primeiro fez as suas observações sobre os *antherozoides* das *cryptogámicas*, sobre *bactérias* e *flagellados*; o segundo em *bactérias, flagellados, infusórios ciliados, hydras, rãs* e córnea do *homem*: os resultados foram nullos. Pfeffer apenas apurou o facto importante seguinte: — nos *myxomycetos* podiam produzir-se á vontade vacúolos artificiaes. Klebs em 1890 não encontrou tambem as coisas que de Vries descreveu.

Van-Tieghem em 1891 admittiu os *tonoplastas* de de Vries e deu-lhes a designação de — *Leucytos* ou *Hydroleucytos*; Bokorny, em 1893, admittiu-os tambem e affirma tê-los encontrado nas céllulas córadas das pétalas das tulípas *Cyclamen* e *Primula Sinensis*, empregando como agente plasmolysante uma solução de cafeína a 1 %.

De Vries generalizou prematuramente o resultado das suas observações; encontrou tonoplastas em algumas céllulas e admittiu logo a sua existéncia no maior número dellas e a sua multiplicação por divisão; como o núcleo e o centrosoma, o tonoplasta sería destinado a uma funcção própria; mas como ella é especial falta nalgumas céllulas porque a funcção não existe. Todo o mundo reserva por emquanto o seu juizo a respeito das descripções do auctor hollandês.

*

Physodos de CRATO: — Em 1892 CRATO descreveu no protoplasma das algas pequenos corpos brilhantes constituidos por uma pequena gotta de substáncia refringente; situados nas trabéculas protoplasmáticas, poderiam augmentar ou diminuir de volume, seriam dotados de movimentos amiboides e pulsações, e sobre tudo numerosos na visinhança do núcleo; estudados sob o ponto de vista chymico, sobre tudo nas *algas escuras,* essas pequeninas vesículas conteriam corpos da família dos phenoes, principalmente phloroglucina. Como a respeito dos tonoplastas, reserva-se a opinião ácêrca da descripção de CRATO.

*

Acidez do conteúdo dos vacúolos: — Os vacúlos alimentares dos protozoários foram estudados em 1879 por ENGELMANN, em 1888 por FABRE DOMERGUE e MEISSNER, em 1889 por METCHNIKOFF, em 1891 por LE DANTEC, e o seu conteúdo reconheceu-se sempre uma substáncia ácida, — o que concorda com a descripção de CRATO.

*

A nutrição protoplasmática ou nutrição cellular tem aínda um caracter notavel neste facto: — o protoplasma

prepara substáncias determinadas, physiologicamente determinadas, e isso mais complica o estudo da sua composição.

Effectivamente: — dado o phenómeno osmótico da absorpção segue-se o chymico da assimilação, conjuncto de reacções cuja natureza, rebelde a todos os mais persistentes esforços da sciéncia, aínda é ignorada, mas onde talvez intervenham fermentações por meio das quaes a céllula elabora e fixa as substáncias, que lhe conveem, á custa das que, por osmose, recebeu; e, como estas últimas lhe não sam fornecidas differenciadas, é ella mesma que antes de as fixar as prepara. Nisto consiste um dos caracteres mais notaveis da matéria organisada: da dissolução das substáncias albuminoides que lhe é fornecida, das matérias ternárias e salinas que absorve, a céllula faz nucleínas, núcleo-albuminas, globulinas, gorduras, assucares, substáncias salinas determinadas; fabrica a pyrenina para o seu nucléolo, a linina para a sua rêde chromática, etc., e não uma pyrenina ou uma núcleo-albumina qualquer; prepara, para as fixar, substáncias que lhe sejam eguaes, donde deriva a justeza com que se diz que a assimilição é uma *ad-similação* graduada e progressiva.

Se a céllula contém vacúolos e nestes gránulos alimentares, esses gránulos sam gradualmente dissolvidos pelo líquido vacuolar, que não é agua pura mas um líquido activo, ácido, como foi demonstrado por Le Dantec e outros, e a dissolução trocada com o meio plasmático através da parede do tonoplasta ou do physodo, se um e outro existem, por processo ainda ignorado; mas a descoberta da acidês do conteúdo dos vacúolos veio assimilar a digestão vacuolar a uma verdadeira dissolução estomacal.

Sendo isto assim, em que momento se hade estudar a composição chymica de protoplasma? Não é a nutrição um

phenómeno constante, permanente, que se realiza em todos os momentos, e em todos elles portanto dá ao protoplasma uma variabilidade de composição manifesta? Sem dúvida, e traduziu bem a constância de variabilidade dessa composição HAACKE em 1893 (1) dando da nutrição cellular um eschema de conjuncto rasoavel. Esse schema é o seguinte:

$$1)\ N + S = S' = 2S + N'$$
$$2)\ N' + K = K' = 2K + N''$$
$$3)\ N'' + P = P'$$
$$4)\ P' + O = P'' = 2P + E.$$

A sua interpretação é esta:

1) A substância nutritiva N, penetrando no cytoplasma ou protoplasma S, e sob a sua influéncia, transforma-se numa substância nova S', que se desdobra em Cytoplasma, mas em quatidade maior 2S, e numa substância nutritiva modificada N'.

2) Esta penetra no núcleo (χάρυον) K, e por um processo semelhante ao precedente augmenta a substância deste em 2K e soffre uma transformação em N''.

3) A substância nutritiva N'' repassa para o cytoplasma e unindo-se a elle transforma-se em P'.

4) Emfim este cytoplasma P' recebe oxygénio O pela respiração e transforma-se em P'', que se dissocia em 2P, identico ao cytoplasma mas em quantidade maior, donde provém o crescimento da céllula, e E, que representa os *excreta* cellulares.

Do eschema se deriva a demonstração do crescimento ou augmento de volume do protoplasma; o mechanismo desse

(1) YVES DELAGE, loc. cit., nota de pag. 62.

crescimento é que é ignorado, porque a ad-similação mergulha aínda nas sombras de um mystério; para as substáncias líquidas comprehende-se bem que a assimilação crie moléculas idénticas ás existentes na céllula de modo que o orgão, o protoplasma, póde crescer sem que o arranjo das suas moléculas preexistentes seja em nada modificado; será a intussuscepção tão íntima quanto possivel, indo até aos constituintes chymicos.

Mas para as partes sólidas o problema é muito mais difficil de comprehender; entretanto não póde figurar-se senão como resultante da formação de moléculas novas appostas ás preexistentes, nos espaços intermoleculares; um crystal cálcico depositado numa solução magnésica acaba por se transformar num crystal magnésico sem que a sua fórma se tenha modificado, por mera substituição interna de moléculas de magnésia ás moléculas de cal; succederá o mesmo na assimilação das substáncias sólidas effectuada pelo protoplasma?

Por outro lado nós nunca temos meio de destrinçar o protoplasma dos productos da sua secreção; quando a substáncia segregada ou produzida por elle está morphologicamente differenciada, reconhecêmo-la, mas se ella está constantemente a fabricar-se como distinguir o que é protoplasma do que é secreção para fixar a composição chymica daquelle? A continuidade desta producção vê-se bem nas céllulas mucíparas; a substáncia mucígena enche o interior das céllulas encarregadas da sua elaboração; ás vezes fá-lo em tal quantidade que as céllulas incham, distendem-se em vesículas, tomam até a fórma de calix [Fig. VI (pag. 48)]; o protoplasma contendo o núcleo está muitas vezes accumulado nas bases da céllula; além disso envolve a substáncia mucígena numa delgada camada parietal donde partem filamentos protoplásmicos reticulados, os quaes percorrem

todo o espaço cellular (1); ora o estudo da secreção mucosa tem mostrado que o muco provem insensivelmente do protoplasma, de transformações inapprehensiveis, para as vesículas em que se accumula e com que é eliminado; é a conclusão a que chegou VAN GEHUCHTEN aínda ha pouco fazendo o estudo dessa secreção no tubo intestinal da *Arsenícola piscatorum* e da *Ascaris megalocéphala,* como tinha já verificado precedentemente na *Ptychoptera* (2). Fig. X.

Fig. X. — Céllulas epitheliaes da parede intestinal da *Ascaris megalocephala* (segundo VAN GEHUCHTEN).

Estas razões mostram bem como o estudo chymico do protoplasma é erriçado de difficuldades e não permitte nunca chegar a uma determinação absolutamente rigorosa.

Antes de estabelecer o resultado das análises convém notar que não devem ter-se como fazendo parte do protoplasma as suas producções; é preciso travar conhecimento com estas, enumera-las, mas abstrahir dellas quando se estude a composição do protoplasma em si; doutro modo nenhum rigor teriam as affirmações que se fizessem.

Productos cellulares: — O protoplasma das céllulas é susceptivel de se modificar ou de trabalhar no sentido de fabricar muitas substáncias diversas; umas sam expellidas logo, constituindo as producções exoplásmicas da céllula de que a membrana cellular e a substáncia inter-

(1) HERTWIG, loc. cit., pag. 150.

(2) VAN GEHUCHTEN, *Contribution à l'étude du mécanisme de l'excretion cellulaire. La Céllule,* tomo IX, pag. 95 e seg.

cellular ou fundamental dos tecidos sam óptimos exemplos; outras ficam encerradas na céllula, ou transitória ou permanentemente, com fins diversos e intuitos variados; formam por sua vês as producções endoplásmicas. A enumeração de todas as producções plasmáticas daria logar a um trabalho infindavel pelo número extraordinário dellas; a sua systematisação impõe-se como uma necessidade de estudo e uma conveniéncia de descripção. Para proceder com méthodo nós devemos attender primeiro a que todas as producções plasmáticas sam ou nocivas ao organismo ou fabricadas com um fim util; as primeiras formam os — *productos excretados;* as segundas os — *productos segregados.* Umas e outras podem ser internas ou externas, sólidas, líquidas ou gazosas.

α) *Productos de excreção interna:* — Sam raros, porque os elementos cellulares tendem sempre a eliminar o que os prejudica; mas existem, encravados como cálculos, e podem num dado momento dissolver-se a pouco e pouco e ser eliminados, ou, pelo contrário, crescer continuamente até á repleção completa do elemento cellular, que acaba por succumbir: a substáncia encravada ou retida liberta-se então para o seio dos tecidos. Encontram-se exemplos d'elles nas céllulas renaes dos *molluscos acéphalos* e *gasterópodos,* de alguns *crustáceos* e *vermes inferiores,* no corpo adiposo pericárdico de alguns *insectos;* ahi apparecem concreções de guanina, xanthina ou ácido úrico.

β) *Productos de excreção externa:* — Estám neste caso o anhydrido carbónico, a agua, o ácido úrico, o ácido hyppúrico; a guanina, que póde apparecer sob a fórma crystallina, — crystaes de guanina, — como acontece nas céllulas da pelle e do peritoneu dos *peixes,* donde provém o brilho de prata caracteristico destes orgãos, as matérias córantes da bilis, etc.

γ) *Productos de secreção interna:* — Sam muito numero-

sos; alguns sam reservas alimentares como os óleos, o gluten, o glycogénio das céllulas hepáticas e dos músculos, (o glycogénio existiria ainda segundo CARTER no baço e no rim; segundo ROUGET nos epithélios da placenta e no amarello do ôvo, onde se transforma lentamente em assucar) e o amylo, que existe nas céllulas em fórma de gránulos. Em muitas céllulas podem existir granulações que sam próprias só de certas especies de céllulas; nestas sam então constantes, permanentes, e teem a designação geral de *leucitos*, ou *hydroleucitos* ou *trophoblastas* dos histologistas allemães; possuem propriedades muito variadas e teem sido assumpto de melindrosos estudos de muitos biologistas; o amylo, que é uma substáncia ternária, provém de *leucitos* incolôres chamados — *amyloleucitos,* ou *leucoleucitos,* ou *leucoplastas* e *amyloplastas* dos auctores allemães; VAN TIEGHEM chama-lhes — *trophoblastas,* como já tive occasião de dizer; muitos auctores apresentam os leucytos como orgãos autónomos, susceptiveis até de se multiplicarem por divisão; affirmam ter visto esse phenómeno SCHWITZ, SCHIMPER e MEYER; EBARDT, em 1890, não admitte a descripção que delles dá VAN TIEGHEM, apresentando-os como orgãos similares ou equivalentes dos tonoplastas de DE VRIES; E. BELZUNG, em 1891, acceita as idéas de EBARDT e com elle suppõe os leucitos símplez gránulos da substáncia fundamental do amylo; este existe no maior número das céllulas vegetaes; mas nos animaes existe tambem, como por exemplo, nas *Euglenas.* KLEBS chamou ao amylo destas — *Paramylo.* Dos productos de secreção interna fazem parte os *grãos de aleurona,* tambem leucitos de reserva e que se encontram, por exemplo, nas céllulas do albúmen e do embrião das sementes; no interior destes leucitos ha crystaes e corpos de natureza orgánica, que receberam respectivamente o nome de — *Cristalloides* e *Globoides.* Os cristalloides apresentam

todas as reacções das substáncias albuminoides, e sam fáceis de encontrar em muitas *Oleáceas,* nas escamas dos gommos, onde sam muito numerosos [STOCK, 1892]; nos núcleos de *Polypodiáceas* e *Cyatháceas* existem tambem [POIRAULT, 1894].

Os globoides sam formados pela mistura de magnésia, cal e ácido phosphórico associado a um ácido orgánico que não está apurado se é o glycérico se o sacchárico [VAN TIEGHEM]. Materiaes de reserva sam aínda as *substáncias lecíthicas;* estas existem já no ovo antes da segmentação *(substáncias proto-lecíthicas),* ou nas céllulas embryonárias depois della *(substáncias deuto-lecíthicas).*

A enumeração que venho fazendo das substáncias contidas no protoplasma sem delle fazerem parte, sendo tão numerosa, tentou os biologistas á creação de uma designação geral que as abrangesse a todas; não foi extranho a isto a apparição do *Paraplasma* de KUPFER, e do *Deutoplasma* de VAN BENEDEN; entretanto, como esta palavra — *Plasma* traz sempre associada comsigo uma idéa de composição albuminoide complexa, e as substáncias que com ella se querem significar sam umas ternárias, outras binárias, deve rejeitar-se a designação que a encerre; é a opinião de HERTWIG, perfeitamente razoavel; mais vale especializar as coisas quando ellas teem de descrever-se, ou então agrupá-las segundo os casos em designações *ad hoc* como esta de — *materiaes de reserva;* o protoplasma é uma substáncia permanente; as substáncias que elle encerra sam, pelo contrário, materiaes de consumo; as substáncias lecíthicas sam desta categoria e por isso as considerei materiaes de reserva; a lecithina tem sido encontrada em ovos de aves, de reptís, nas céllulas dos canaes seminíferos, na vesícula umbilical, no fígado, nas cápsulas supra-renaes; onde porém existe em maior quantidade é nos ovos, fazendo parte dos elementos

vitellinos, todos destinados, reservados, para a nutrição ulterior, e que sam muito variados.

Nos ovos de *amphíbios, reptís* e *peixes cartilagíneos,* ha elementos vitellinos em fórma de placas, a que os biologistas chamaram *placas vitellinas;* nellas VALENCIENNES e FRÉMY encontráram duas substáncias especiaes, — a *ichtina* e a *enydina;* nos ovos das *aves* ha materiaes de reserva com aspecto vesiculoso, formados por *cholesterina* e *cerebrina;* nos dos *Hydrozoários* ha elementos de reserva a que KLEINENBERG deu em 1872 o nome de — *pseudocellas;* nos *Esporozoários* ha glóbulos albuminoides semelhantes, cuja substáncia foi chamada em 1885 por BÜTSCHLI — *paraglycógénio* e por MAUPAS, em 1886, — *zoamylina;* o mesmo resultado colheu THÉLOHAN nas *myxosporídias,* KHAWKINE, FABRE-DOMERGUE e outros nos *Infusórios.*

Algumas secreções internas desempenham no organismo um papel puramente passivo como os esqueletos intracellulares de alguns zoóphytos; em muitos protozoarios, — *Arcellas, Difflúgias,* etc., — ha, no seio do protoplasma, formações radiolares constituíndo um apparelho esquelético formado por *achantina.*

As céllulas do tecido nervoso fabricam a matéria albuminoide específica do seu cylindro-eixo, e a *Myelina,* composta sobretudo de corpos gordos phosphorados, lecithinas, ou de princípios intermediários entre os corpos gordos e os albuminoides, princípios a que se tem chamado — *protágon;* as céllulas do tecido muscular fabricam o *Myosinogénis* e a *Myoglobulina,* duas albuminas da família das globulinas, essencialmente próprias dos músculos. HERTWIG (1), mantém a opinião de ser aínda necessario collocar entre os productos

(1) Loc. cit., pag. 165.

da secreção interna das céllulas as fibrillas musculares e as fibrillas nervosas, assim como a myelina: estes elementos, formados elles mesmos de substáncias proteínicas, sam pela sua natureza chymica muito vizinhos do protoplasma; todavia pertencem ás formações cellulares porque sam nitidamente distinctos do protoplasma e porque constituem elementos próprios capazes de exercer uma funcção específica na vida das céllulas.

Entre as secreções internas é preciso collocar aínda as formações pigmentares, que sam compostos quaternários, e das quaes umas servem para córar os tecidos, — como os pigmentos tegumentares, — outras para os proteger, — como o pigmento da choroidêa, — outras para desempenharem um papel chymico, como o pigmento retiniano, a hemoglobina, etc.

As granulações córadas proveem de leucitos especiaes, chromoleucitos ou chromoplastas, susceptiveis de tomarem a fórma crystallina como acontece com os crystaes córados, que dam as côres vermelhas e amarellas ás pétalas das flôres.

Nas céllulas epidérmicas de differentes animaes, como no *Camaleão*, por exemplo, ha céllulas pigmentadas, que sob a influéncia de certas excitações reflexas mudam de fórma ou de situação e determinam assim modificações notaveis na córação do animal; estas céllulas, *chromoblastas*, pertencem ao systema conjunctivo (1).

Nas céllulas lympháticas, vaso-formadoras de Ranvier, e nas céllulas vermelhas da medulla dos ossos e do baço produzem-se pequenas massas albuminoides especiaes, ricas em albumina, que se tornarám no glóbulo vermelho do sangue.

Um dos pigmentos mais notaveis que existe, vulgar nos

(1) Bonneval, loc. cit., pag. 9.

vegetaes, é a chlorophylla; nos chromoleucitos póde depositar-se pigmento amarello constituído por *etiolina* ou *xantophylla (Xantholeucito)*, que depois se transforma em matéria verde, — *chlorophyllina (chloroplasta)*; o chloroleucito está então formado, e, segundo SCHWARZ, compõe-se de filamentos juxta-postos de uma substáncia fundamental, — a *chloroplastina*, contendo muitas vezes gránulos refringentes ou *Grãos de* MEYER, e outra interposta aos filamentos, soluvel na agua, — a *metaxina*.

Este pigmento verde existe tambem nos animaes mas alguns auctores suppõem, que ha nisto uma illusão: vegetaes parasitas, algas microscópicas, installam-se parasitáriamente nos elementos anatómicos de alguns animaes, e ahi ficam a viver em symbiose; dahi a pigmentação verde observada nos animaes; mas para muitos outros não é assim; a chlorophylla existe nas céllulas animaes e affirmam tê-la encontrado alli. Assim:

MAC-MUNN, em observações que vam de 1883 a 1890 diz havê-la encontrado na *Anthea cereus*, em esponjas dos géneros *Halichondria, Halina, Grantia, Leuconia* e *Pachymastina*.

ENGELMANN em vários infusórios, — *Vorticella Campanulla, Paramoecium bursária, Hydra víridis;*

K. BRANDT nos radiolários amarellos;

SALIST na *Vorticella chlorostigma;*

RYDER no *Stentor mülleri* e *Freya producta;*

SCHUBERG no *Stentor polymorphus;*

DELAGE em 1886 e HABERLANDT em 1891 na *Convoluta roscofensis;*

DANGEARD no *Acanthocystis víridis;*

SCHEWIAKOFF no *Frontónia leucas;*

BROCK, nas *Tridacnes*, descreve-a no sangue das lacunas palleaes ou nos tecidos que cercam os orgãos hypocraterifórmes do manto.

O número de observadores que affirma a sua existéncia é tamanho que realmente parece dever admittir-se esta.

MAC-MUNN descreve aínda um pigmento verde —*Enterochlorophylla* ou *Pigmento chlorophylloide*, no fígado dos *Molluscus*, dos *Echinodermes* e de certos *Arthrópodes*.

O pigmento dos vegetaes póde aínda ser vermelho como a *Phycoerythrina* das *algas florídeas;* ou escuro como a *Phycopheína* das *algas escuras;* ou azul como a *Phycocyanína* das *Oscilláreas;* ou amarello como a *Diatomina* ou *Phycoxanthina* das *Diatomáceas*.

Dentro de algumas céllulas podem encontrar-se corpos figurados de natureza mineral em que entram o oxalato de cálcio, o carbonato de cálcio, o silício, o enxofre; ha crystaes com enxofre em sulfobacteriácias,—*Beggiatoa;* nas céllulas hepáticas dos *Pulmonados terrestres* ha-os de phosphato de cálcio e nas céllulas do tecido conjunctivo destes e dos *Pulmonados aquáticos* ha-os de carbonato de cálcio.

As granulações das céllulas eosinóphilas sam por muitos consideradas como materiaes de reserva; o próprio EHRLICH é dessa opinião; WEISS em 1891 demonstrou a natureza albuminosa dessas granulações. Céllulas semelhantes ás de EHRLICH descreveu-as CUÉNOT em 1892, como encontradas nos molluscos pulmonadas — *Helix* e *Limnea,* no meio das céllulas vesiculosas chamadas — céllulas de LEYDIG e que já em 1883 BROCK tinha descripto com o nome de—*Körnchenzellen*. Se estas granulações devem considerar-se materiaes de reserva não póde affirmar-se; mas que sam producto de secreção interna, sem dúvida alguma.

No mesmo caso estám as granulações que se encontram nas céllulas das glándulas salivares, da glándula lacrimal [NICOLAS, 1892] da hypóphyse [SAINT-REMY, 1892] de muitos vertebrados *(amphíbios, aves* e *mammiferos);* o mesmo deve dizer-se de granulações que existem nas céllulas das

glándulas de LIEBERKÜHN, cujo papel é problemático mas que PANETH suppõe desempenharem uma alta funcção na absorpção das gorduras, a qual synthetezariam dentro da glándula; a essas granulações deu-se o nome de — *grãos de* PANETH.

Formações semelhantes a estas granulações sam descriptas noutros elementos cellulares.

Nos *Ctenóphoros* e nalguns *Gasterópodos,* dentro de algumas céllulas chamadas — *Cnidoblastas* ou *céllulas urticantes,* ha um filamento especial chamado — *Cnidocílio,* encerrado numa cápsula — *Nematocysto,* cujo papel é ignorado; céllulas semelhantes ha nas *myxosporídias* e nalguns *infusórios.*

Noutros infusórios foram descriptos por ALTMANN filamentos análogos com o nome de — *Trichocystos;* as céllulas epidérmicas de quasi todas as regiões do corpo dos *Turbellariados* encerram elementos particulares em fórma de bastonetes, a que GRAFF, em 1882, deu o nome de — *Rhabditos.* É possivel que todas estas formações sejam fermentos e desempenhem um papel especial na nutrição da céllula como *orgãos zymogénicos;* mas nada está assente, com rigor, a seu respeito. Vê-se que a lista dos materiaes de reserva é longa, que longa é a das producções internas do protoplasma, mesmo carecendo de interpretação o destino physiológico de algumas dellas; a chymica da céllula é portanto deveras complicada, mesmo só sob o ponto de vista das producções internas; as análises e sýntheses que ella effectua para produzir as gorduras e os assucares, por exemplo, sam das mais complexas; pois a complexidade mantem-se se examinarmos o grupo de productos seguinte:

δ) *Productos de secreção externa:* — Sam os mais numerosos de todos: comprehendem o producto da actividade de todas as glándulas, como das salivares que produzem o fermento *ptyalina;* das céllulas centraes das glándulas do

succo gástrico, que produzem sómente outro fermento, — *pepsina;* das céllulas parietaes das mesmas glándulas que fabricam um succo rico em ácido chlorhydrico; das que segregam o succo pancreatico onde apparece a — *trypsina.* Nas lágrimas, no muco nasal, em todas as secreções apparecem um grande número de sáes, como provam as análises mais modestas; o fígado fornece um grande número de substáncias chymicas, — a uréa, a taurina, a glycocolla, os ácidos biliares, o ácido tauro-chólico, sob cuja fórma sobretudo é eliminado o enxofre das substáncias albuminoides, que o fígado dissocia, e a cholestesina; todo o mundo sabe que a bilis arrasta uma certa quantidade desta substáncia, $0^{gr},5$ a $2^{gr},7$ %; e um símplez exame do sangue das veias supra-hepáticas, comparando-o com o da veia porta, demonstra-o claramente. Eis as analyses de DROSDORFF:

	Sangue das veias supra-hepáticas	Sangue da veia-porta	Sangue das arterias hepáticas
Matérias sólidas.	220	223	»
Cholesterina	3,32	1,60	1,60

Os productos da secreção cellular podem ser altamente especificados; veja-se o que acontece em certas céllulas das *Crucíferas* e das *Caparídeas,* que sam as únicas em que se produz a *Myrosina,* fermento específico apto para desdobrar o myronato de potássio em essencia de mostarda e outros productos.

Exemplos magníficos de productos cellulares complicados sam fornecidos pelas *Leucomaínas,* que GAUTIER classifica do seguinte modo:

a) Leucomaínas neurínicas: — cholina, betaína, neurina, muscarina, etc.;

b) Leucomaínas creatínicas: — creatina, glycocyanina,

lysatina, creatinina, cruro-creatinina, xanthocreatina, lysatinina, etc.

c) Leucomaínas xánthicas: — adenina, sarcina, xanthina e iroxanthina, guanina, carnina, etc.

d) Leucomaínas indeterminadas: — Protamima, espermina, samandarina, etc.

As *Ptomaínas* formam-se sobre tudo durante a putrefacção mas encontra-se tambem sempre uma pequena quantidade dellas nos tecidos e nas urinas; poder-se-ha com ellas constituir talvês uma quinta familia de Leucomaínas.

Entre os productos externos deve incluir-se ainda a *cellulosa* ou membrana das céllulas, impregnada ou não de sáes variadissimos e de substáncias diversas como a *suberina*, a *linhina*, a *vanilhina*, etc.; estam no mesmo caso a *concha* dos molluscos, e a *cutícula chitinosa* dos insectos e crustáceos.

A chitina segundo STADLER, LEHMANN e SCHMIDT, $C_{18}H_{15}O_{12}N$, segundo GAUTIER $C_{15}H_{24}N_2O_2$ existe nos *arthrópodos* não só na sua cutícula chitinosa mas tambem no interior do seu tubo digestivo, ao qual fórma uma especie de revestimento; é uma verdadeira amida glycósica collocada no limite da familia dos assucares amidados e das amidas mais complexas derivadas dos albuminoides; forma-se na céllula da carapaça dos articulados e nas trachêas dos arthrópodos segundo um mechanismo análogo áquelle por que a *chondrosina* e a *glycosamina* $C_6H_{11}(NH_2)O_5$ deriva da chondromucoide da cartilagem.

Producção análoga é a *tunicina*, que como uma cellulosa animal foi assignalada no manto dos *Tunicários*, das *Cynthias*, das *Phallusias*, no invólucro cartilagíneo das *Ascídeas*.

Producções análogas sam aínda as substáncias intercellulares dos tecidos, como a *osseína* do tecido ósseo, a *chondromucoide* do tecido cartilagíneo, as fibrillas e fibras

elásticas do tecido conjunctivo; o mesmo se deve dizer da massa gelatinosa das zoogleas, etc.

*

Vê-se daqui que a chymica cellular é duma complicação sem egual; por assim dizer dentro da céllula tudo se fórma e tudo se destróe, desde as combinações mais elementares ás decomposições mais enérgicas; uma céllula bem símplez, — *mycoderma acéti,* transforma o álcool por combustão interna em ácido acético; outra, — o *mycoderma vini,* desdobra o mesmo álcool, em anhydrido carbónico e agua; outra, — o *fermento láctico,* converte a lactosa em ácido láctico; muitissimos ácidos se formam no organismo, — o láctico, o fórmico, o acético, o butyrico, os ácidos gordos elevados, o ácido úrico, etc.; e se nós quizermos por um exemplo símplez vêr os productos que um organismo elementar é capaz de fornecer, bastar-nos-ha examinar a acção exercida pela *invertina* ou *levadura da cerveja* sobre a *saccharosa* (1).

1000 grammas de saccharosa, transformadas pela *invertina* em 1055 grammas de *glycosa* e *levulosa* fermentisciveis, deram:

	Grammas
Álcool vínico	506,15
Álcool propylico	0,02
Álcool isobutylico	0,015
Álcool amylico	0,51

(1) Gautier, loc. cit., pag. 49.

	Grammas
Ether oenanthylico	0,02
Glycol isobutylénico	1,51
Glycerina	28,30
Ácido acético	2,05
Ácido succínico	4,52
Materias azotadas	»
Vestigios de aldehyde	»
Outros corpos não doseados	»
Anhydrido carbónico	492,95
	1036,11

Como se vê, foi preciso executar um número consideravel de reacções para que tantos productos se formassem; quem as effectuou foi o protoplasma; a actividade deste, esséncia mesma da vida, nunca se detém; determinar-lhe a composição em qualquer instante será por consequéncia tarefa difficillima senão mesmo impossivel.

Querendo descer á intimidade profunda das acções chymicas de que elle é séde permanente, lucta-se com grandes embaraços; nós temos a noção clara da sua respiração e vêmo-la demonstrada a todos os instantes; dizer porém que o protoplasma respira não é affirmar que em todos os pontos da sua massa estejam a produzir-se sempre oxydações; os phenómenos de assimillação sam talvez mais reductores do que oxydantes, e por isso já hoje GAUTIER e EHRLICH vam a distinguír as reacções da peripheria do protoplasma das das suas partes centraes; aquellas seriam reductoras, estas oxydantes, porque é nas partes periphéricas que a acção do sangue oxygenado mais se fará sentir. EHRLICH fez penetrar no sangue, durante a vida, em differentes animaes, no estado de sáes de sódio soluveis, o azul

de alizarina ou de ceruleína, substáncias muito córadas mas aptas, unindo-se ao hydrogénio, para dar corpos incolores. Sacrificando os animaes pouco depois, a investigação da desapparição da côr azul permittiu determinar, á símplez vista, o poder reductor, hydrogenante de cada tecido; os resultados foram acharem-se descórados: as partes brancas do cérebro, da medulla e dos nervos, as cartilagens, o fígado, os músculos que se não haviam contraído, a parte cortical dos rins, o parenchyma pulmonar; todos esses orgãos seriam por isso durante a vida meios essencialmente reductores; a interpretação estará na hypothese apresentada acima? Talvês. Por agora devemos comtudo esperar que as experiencias de EHRLICH sejam repetidas e depois examinar a significação que ellas podem ter; o que não offerece dúvida é que do que fica exposto se deduz claramente a incerteza, o embaraço com que se lucta para assignar ao protoplasma uma composição qualquer.

As anályses do protoplasma: — Do estudo das anályses chymicas feitas com o intuito de lhe determinar a composição, nenhumas noções de valor se deduzem para a resolução desse problema; nem isso surprehende: a sua composição é tam emmaranhada que os resultados das anályses ham de por força ser obscuros; e elles dam razão a HERTWIG para dizer que o protoplasma não é uma noção chymica, mas morphológica; o protoplasma não é uma substáncia chymica, mesmo de natureza muito complexa, mas uma mistura de numerosas substáncias chymicas, que nós devemos representar na nossa imaginação como partículas de moleculas reünidas numa textura extremamente complicada; por isso alguns auctores teem procurado designá-lo por expressões que lembram mais as suas propriedades biológicas do que as suas propriedades chymicas; tal é o motivo porque BEALE

em 1862 lhe chamou — *bioplasma;* tal é o motivo porque VAN BENEDEN, em 1871, lhe chamava — *protagon,* quando aínda não differenciado da formação nuclear. Associado ao núcleo dentro da céllula, nós podemos conformar-nos inteiramente com as ideias de GAUTIER (1), para prevermos a difficuldade extrema da sua anályse; o protoplasma e o núcleo sam essencialmente formados por matérias albuminoides; ora estas sam as mais complexas das matérias orgánicas conhecidas, aquellas cujo peso molecular é mais elevado e em que os elementos sam mais numerosos; aquellas tambem que sam as mais instaveis, que o calor, os saes, os reagentes mais fracos modificam mais facilmente, aquellas por consequéncia em que os arranjos atómicos sam os mais complicados e os mais delicados possiveis. Comprehende-se, portanto, que a organisação puramente chymica destes compostos comporte um conjuncto de funcções moleculares multiplicadas, muito delicadas, quer dizer, uma aptidão para reagir segundo modos muito diversos conforme interveem taes ou taes agentes chymicos ou physicos.

Apresentar uma noção chymica do protoplasma é totalmente impossivel; um corpo define-se quando apresenta caracteres constantes em condições determinadas; se considerarmos, por exemplo, um corpo como o chloreto de sódio, podemos dizer que elle resulta da combinação em proporções definidas do sódio e do chloro, que apresenta a uma dada temperatura tal densidade, que crystalliza num systema determinado, que é soluvel na agua em proporções definidas para a mesma temperatura; que se conduz de tal ou tal maneira na presença de reagentes apropriados: sempre que nos encontremos em presença de um corpo que

(1) Loc. cit., pag. 12.

apresente esses caracteres, nós sabemos que lidamos com o chloreto de sódio; com o protoplasma, infelizmente, isto não acontece.

De Bary e Max Schultze demonstraram a identidade do protoplasma vegetal e animal; mas quando o fizeram de modo nenhum tiveram a pretensão de apresentar tal identidade como chymica; identidade morphológica apenas porque em verdade o protoplasma parece ser tão variavel como os seres e como os orgãos destes; e comtudo nenhuma maneira ha de destrinçar um protoplasma do outro; não haveria embryologista, por mais habil que fosse, que soubesse distinguir um óvulo duma vacca dum óvulo duma cadella; e contudo esses óvulos evolucinando dam origem a seres bem differentes; plausivel será que o phenomeno das isomerias desempenhe na composição do protoplasma o seu papel mais culminante.

Daqui se deduz claramente, creio eu, que a ideia de protoplasma não é uma ideia chymica; é uma ideia abstracta, geral, que não corresponde a um corpo determinado, mas que possuë um valor terminológico semelhante ao que possuë o termo — *Ave* ou o termo — *Mammífero;* como qualquer destes designa uma categoria de seres, tambem o termo protoplasma designa as substáncias vivas contidas nas céllulas (1), a substáncia que nos apparece viscosa, semi-fluida, incolor, insoluvel na agua, mais refringente do que ella, ás vezes bi-refringente e que possuë uma cohesão ás vezes consideravel. Para deformar um pequeno grumo plásmico da *Chondrioderma difforme* é preciso uma pressão de 80 milligrammas por millímetro quadrado; para romper um dos prolongamentos da mesma plasmódia é preciso uma

(1) Henneguy, loc. cit., pag. 18.

tracção de 120 a 300 milligrammas por millímetro quadrado.

Sob o ponto de vista chymico a reacção do protoplasma parece ser nitidamente alcalina; como tal a apresentou SCHWARZ em 1887, tendo-a estudado com a tinctura de tornesol, mas prevenindo contudo o erro possivel, se houvesse vacúolos, de se encontrar reacção ácida devida ao conteúdo destes; ulteriormente A. MEYER, em 1890, contestou essa alcalinidade.

O protoplasma apresenta uma grande affinidade para certas materias córantes, quando nelle tenha cessado a vida; durante esta a maior parte dos histologistas contestam-lhe a propriedade de se córar; entretanto BRANDT, em 1879, affirma tê-lo córado conservando-lhe a vitalidade; em 1881 CERTES obteve uma córação em *amibas*, que sam em verdade protoplasma nú, e mesmo nalguns *infusórios* com a cyanina, a dhália, as côres violetas, a chrysoïdina, a nigrosina, o azul de methylena, o verde de iode, a hematoxylina, etc. em soluções muito diluídas de $^1/_{10.000}$ a $^1/_{100.000}$, a cyanina mesmo de $^1/_{500.000}$; no mesmo anno HENNEGUY com o licor BISMARK neutralizado pela cré e depois filtrado, obteve tambem a córação de alguns infusórios, o *Paramoecium aurelia*, por exemplo, e mesmo do protoplasma de alguns tecidos; num outro infusório, — o *Nyctotherus cordiformis*, obteve até a córação do núcleo; e em *rãs*, injectando subcutaneamente o licor, obteve a córação de todos os tecidos no fim de algumas horas; nalgumas injectou fuchsina, verde de methylo, negro de anilina e verificou que a pelle, os músculos e a maior parte dos tecidos ficavam vivamente córados; em 1886 PFEFFER obteve resultados semelhantes e EHRLICH, RETZIUS e outros começaram a applicar o methodo, com exito, ao estudo das terminações nervosas.

Com os saes de prata obtiveram a córação em negro,

proveniente da sua reducção, LOEW e BOKORNY, em 1881; o licor de prata é assim preparado: — faz-se uma solução de nitrato de prata a 1 % e prepara-se uma mistura de 13 cc. duma solução de potassa cáustica com uma densidade de 1,33, com 10 cc. de ammónia de densidade 0,964 e com 77 cc. de agua distillada; 1 cc. da solução de prata e 1 cc. da mistura alcalina misturam-se com 998 cc. de agua distillada. Collocam-se em meio litro desta solução a $^1/_{100.000}$ algumas céllulas vegetaes de *Spirogyra*, por exemplo, e deixam-se permanecer ahi 6-12 horas; no fim o protoplasma está córado de negro pela reducção da prata. HOPPE-SEYLER e WÜRSTER attribuiram essa reacção a alguma pequena quantidade de agua oxygenada que o protoplasma contivesse; mas BOKORNY e PFEFFER não podéram encontrar vestigios nem de agua oxygenada, nem de ozone nas céllulas da *Spirogyra*.

LOEW e BOKORNY fizeram aínda uma outra observação importante: tractando as céllulas da *Spirogyra* por uma solução de antipyrina ou de cafeína, sufficientemente diluída, a 0,5 %, por exemplo, viram apparecer no seu protoplasma pequenas granulações, pequenas esphérulas, que reduzem fortemente os saes de prata. A céllula póde manter-se viva na solução de alcaloide por quatro ou cinco dias, sem que as esphérulas se destrúam; collocando-as em seguida em agua, as esphérulas desapparecem e a céllula toma o aspecto primitivo; se o protoplasma antes de submettido ao alcaloide for morto, as esphérulas não se formam.

A essas granulações deram a denominação de — *Proteosomas*, mas ignora-se aínda hoje o seu papel e o mechanismo da sua formação.

O protoplasma morto apresenta um certo número de reacções constantes: — tractado pelo ácido azotico e em seguida pelo ammoníaco ou pela potassa, córa-se de ama-

rello; a solução de iode em iodeto de potássio córa-o tambem de amarello; a acção successiva do sulfato de cobre e da potassa, ou do ácido sulfúrico e duma solução de assucar, córam-no de violeta; o nitrato ácido de mercurio córa-o de vermelho.

O calor, o álcool, os ácidos diluídos, os alcalis concentrados tornam o protoplasma granuloso, concentrado, — coagulam-no; os ácidos concentrados, os álcalis diluídos, o ácido acético fazem-no distender, tornam-no transparente e acabam por dissolvê-lo.

Ora estas reacções nada teem de característico, de especial para o protoplasma, porque ellas pertencem de um modo geral ás albuminas. Como a fibrina, como a caseína, tambem o protoplasma é constituído por albuminas, cuja complexidade é enorme e que examinadas ou analysadas grosseiramente logo mostram uma enorme quantidade de elementos: — o carbono, o hydrogénio, o azote, o oxygénio, o enxofre, o phosphoro, o fluor, o chloro, o silício e aínda metaes como o sódio, o potássio, o cálcio, o magnésio, o ferro.

Da mistura de substáncias albuminoides, que constituem o protoplasma, tem-se extraído ou isolado a albumina, a fibrina, a lecithima, a globulina, a plastina, a nucleína. Esta mistura complexa de substáncias proteínicas é, como se vê, formada pelos corpos orgánicos mais complicados, a respeito dos quaes a análise não nos fornece aínda dados de valor. Naegeli procurou exprimir as relações dos differentes elementos fundamentaes, carbono, hydrogénio, oxygénio, azote e enxofre pela fórmula $C_{72}H_{106}SO_{22}N_{18}$, que representaria a molécula da albumina e crê que de todas as matérias albuminoides só a plastina será característica do protoplasma; Reinke, Zacharias e Schwarz teem opinião egual, mas nunca poderam isolar a plastina: limitaram-se a

dar della algumas reacções. A plastina é insoluvel no chloreto de sódio e no sulfato de magnésia a 10 %, precipitavel pelo ácido chlorhydrico concentrado, soluvel no ácido acético diluído; mas o que a caracterisa sobretudo é a resisténcia á digestão pela pepsina, pela trypsina, mesmo a quente; quanto a reacções córadas, a plastina fixa apenas as côres ácidas.

A distincção da acidez, neutralidade e basicidade das côres da anilina foi feita em 1879 por EHRLICH: — Dividiu essas côres em duas classes: — uma encerra as côres básicas, em que a materia córante desempenha o papel de base e está unida a um ácido incolor; outra contém as côres ácidas, nas quaes a materia córante desempenha o papel d'ácido a respeito de uma base incolor; um terceiro grupo menos importante encerra as côres neutras.

Os córantes básicos teem em geral uma grande affinidade para a chromatina e podem ser designados sob o nome de — *córantes nucleares;* córam egualmente as bactérias. Os córantes ácidos teem pelo contrário affinidade para o protoplasma e seus derivados (1). Esta córação pelos córantes ácidos é de grande importáncia (2).

SCHÜTZENBERGER attribuë á molecula de albumina uma fórmula um pouco differente da de NAEGELI; o peso molecular da albumina, como de todas as substáncias proteínicas, é muito elevado. Para SCHÜTZENBERGER a fórmula

---

(1) HENNEGUY, loc. cit., pag. 25, nota.

(2) Evidentemente eu forneço aqui notas muito geraes a respeito das matérias córantes, que sam de applicação genérica em todos os trabalhos de histologia; de modo algum pretendo indicar sequér a multidão de reagentes usados hoje nos differentes departamentos das sciéncias médicas.

sería: — $C_{62}H_{108}N_{16}O_{20} = 1389$ com a seguinte constituição:

$$
\begin{array}{l}
CO\text{-}N < \begin{array}{l} CO.\ C_5H_{10}.\ NH \times C_2H_4 \times NH \times C_2H_4.\ CO.\ OH \\ CO.\ C_4H_{10}.\ NH \times CH_2 \times N.\ C_2H_4\ CO \end{array} \\
| \\
CO\text{-}N < \begin{array}{l} CO.\ CH_3 \\ CO \\ CO \end{array} > C_7H_{12} < \begin{array}{l} NH \times CH_2.\ NH.\ C_2H_3.\ CO.\ OH \\ NH \times CH_2.\ NH.\ C_2H_3.\ CO.\ OH \end{array} \\
\quad N < H \\
CO | \\
\quad N < \begin{array}{l} CO.\ C_4H_{10}.\ NH \times CH_2 \times N.\ C_2H_4\ CO \\ CO.\ C_5H_{10}.\ NH \times C_2H_4 \times NH \times C_2H_4\ CO.\ OH. \end{array}
\end{array}
$$

$$C_{62}H_{108}N_{16}O_{20} = 1389$$

O protoplasma é uma substância muito rica em agua; REINKE no receptáculo fructífero do *Aethalium Scepticum*, — o myxomyceto que melhor se conhece e que fórma a flor do tanino, — achou 71,6 % de agua e 28,4 % de matérias seccas; a agua no protoplasma, independentemente do estado de agua de absorpção, póde existir num estado tal que se separe mechanicamente, como se fôra agua de crystallização; tambem REINKE e RODEWALD em 1881 extraíram do *Aethalium* empregado na mesma quantidade que para a análise precedente, por expressão, 66,7 % dum liquido cuja densidade era 1,209 e que encerrava 7 a 8 % de albumina afora outras matérias soluveis.

A análise das matérias seccas deu as seguintes substâncias nas proporções indicadas pelos números:

Matérias azotadas	30
Matérias ternárias	41
Matérias mineraes	29

As matérias azotadas sam: — a plastina, a vitellina, a

myosina, peptônas, pepsina, lecithina, guanina, sarcina, xanthina e carbonato de ammónio.

As matérias ternárias sam: — a paracholesterina, uma resina especial, uma matéria córante amarella, a amylodextrina, um assucar não reductor, ácidos gordos, — oleico, esteárico e palmítico, — e corpos gordos neutros.

No protoplasma existem aínda corpos orgánicos binários, como as esséncias.

As matérias mineraes sam: — a cal combinada com os ácidos gordos, e com os ácidos láctico, acético, fórmico, oxálico, phosphórico, sulfúrico e carbónico; os phosphatos de potássio, magnésio e o chloreto de sódio.

Admitte-se geralmente que a composição chymica do núcleo é differente da do corpo cellular; as análises do protoplasma teem sido feitas com céllulas, não com protoplasma puro; portanto nisto os seus resultados sam contestaveis. Os analystas teem procurado remover a difficuldade fazendo análises sobre líquidos em que predomina ora o núcleo, ora o cytoplasma; comparando os resultados alguma illação se póde tirar, pelo menos para fazer uma ideia grosseira da composição chymica do protoplasma. Foi o que fizeram Hoppe-Seyler em 1871 e Miescher em 1874; o primeiro analysou glóbulos de pús tão separados quanto possivel do líquido em que mergulhavam; o segundo analysou o esperma do *Salmão;* na primeira análise as substáncias cytoplasmáticas predominam; na segunda, como se trata quasi duma massa compacta de espermatozoides, o elemento nuclear domina enormemente. Os resultados foram:

Análise de Hoppe-Seyler *(glóbulos de pús); Proporções* %:

Substáncia albuminoide indeterminada.	13,762
Nucleína	34,257

Substáncias insoluveis	20,566
Lecithina e gorduras	14,383
Cholesterina	7,4
Cerebrina	5,199
Substáncias extractivas	4,433

Anályse de MIESCHER *(esperma do salmão); Proporções* $^0/_0$:

Nucleína	48,68
Protamina (substáncias albuminoides mal definidas)	26,76
Albumina	10,32
Lecithina	7,47
Cholesterina	2,24
Gordura	4,53

Nas cinzas HOPP-SEYLER achou sódio, potássio, ferro, magnésio, cálcio, ácido phosphórico e chloro.

Podemos daqui deduzir e ficar nella, a seguinte conclusão: — o cytoplasma comprehende:

1.º *Nucleo-albuminas:* — substáncias ligeiramente phosphoradas soluveis no succo gástrico.

2.º *Globulinas:* — substáncias albuminosas não phosphoradas, soluveis na agua pura.

3.º *Lecithina:* — gordura phosphorada soluvel no álcool.

4.º *Cholesterina.*

5.º *Saes orgánicos e saes mineraes:* — dos ácidos chlorhydrico, sulfúrico, carbónico e phosphórico, de sódio, potássio, magnésio, cálcio e ferro.

É preciso não suppôr que todas estas substáncios sam chymicamente definidas; algumas não o sam; a nucleína, a globulina, a plastina sam chymicamente definidas; mas outras como as protaminas e muitas globulinas, a linina, a

pyrenina, a paranucleína, a amphypirenina não o sam: distinguem-se mais por meio de reacções morphológicas ou córantes, por tal ou tal aspecto microscopico ou por tal ou tal coloração por um dado agente, do que por meio de reacções chymicas.

A isto se reduzem os conhecimentos actuaes sobre a constituição chymica do protoplasma; vê-se bem que é pouco e que muito tem de trabalhar-se aínda para a chegar a obter; estamos limitados a considerá-lo como uma mistura de albuminoides associados a princípios binarios e ternários; para isto abstraímos, — é claro, — dos productos que nelle podem conter-se, por elle produzidos; se assim não fôra a composição do protoplasma sería indescritivel, tal é o número de princípios que fabríca; na sua actividade assimiladora e secretora está mesmo o princípio inevitavel da inconstáncia da sua composição; na sua estructura complicada o da sua composição complexa; um e outro sam irreductiveis e por isso a determinação da composição do protoplasma ha de por muito tempo, emquanto se não levarem os processos de anályse a uma perfeição incomparavel com o seu actual estado, ser para nós um problema sem solução.

Temos até aqui estudado a estructura e composição de duas partes da céllula, — a membrana cellular e o protoplasma ou corpo cellular; proseguindo vamos entrar no estudo do núcleo.

O NÚCLEO

I. — A membrana nuclear

A existéncia de uma membrana nuclear nas céllulas é um dos assumptos mais controvertidos em Cytologia e para os auctores, que a descrevem, a sua constituição um ponto abertamente litigioso.

A maior parte dos auctores antigos admitte no núcleo uma membrana, mas já PFITZNER e RETZIUS, em 1881, negam a sua existéncia; PFITZNER modificou mais tarde a sua opinião e fê-lo por uma fórma extravagante; mas nesta epocha suppõe, com RETZIUS, que o aspecto óptico da membrana é devido a uma condensação maior do cytoplasma em torno do núcleo combinado a uma reticulação mais apertada da rêde nuclear na sua peripheria.

Em 1882 FLEMMING crê, que pelo menos para algumas céllulas ha uma membrana nuclear composta de duas camadas: uma interna chromática, outra externa, achromática; a primeira, que R. HERTWIG e SOLTWEDEL chamam — *camada cortical*, sería frequentemente perfurada e derivaria do desdobramento, na face interna da segunda, das trabéculas chromáticas do retículo nuclear.

Em 1883 VAN BENEDEN admitte uma membrana formada,

como a substância nuclear, de núcleo-fios e núcleo-microsomas, muito condensados na peripheria do núcleo; entre estes elementos póde haver intervallos, — o que produz perfurações. LEYDIG é de opinião semelhante mas admitte a passagem das fibrillas do núcleo para o seio do cytoplasma e a possibilidade, nalguns casos, da existéncia de uma segunda membrana egualmente porosa, externa com relação á primeira.

Em 1884 BRASS volta a negar a existéncia da membrana; muitas vezes ella poderia ser devida só á acção dos reagentes. STRASBURGER tem tambem essa opinião: — o núcleo alojar-se-hia numa parte mais condensada do cytoplasma, que designa com HANSTEIN por—*ninho do núcleo;* entretanto STRASBURGER não admitte, que a rêde nuclear communique ou se anastomose com a rêde cytoplásmica. HENSER, pelo contrário, admitte a existéncia da membrana e tambem a sua porosidade.

Em 1884 CARNOY crê na existéncia de membrana com uma estructura reticulada. RABL é da mesma opinião, mas ajunta que a membrana só é visivel no momento da divisão cellular; não se pronuncía, porém, sobre a sua porosidade. PFITZNER, depois do estudo das céllulas da *Hydra cinzenta* e da *Salamandra,* descreve no núcleo quatro membranas: — 1.ª uma membrana chromática perfurada, formada pela parte periphérica do reticulo chromático; 2.ª uma membrana achromática da qual a camada externa é muitas vezes differenciada e constituë então dum lado uma 3.ª membrana parachromática e do outro uma 4.ª membrana correspondente á membrana cytoplásmica de STRASBURGER.

Em 1885 GUIGNARD admitte uma membrana de natureza cytoplásmica.

Em 1891 AUERBACH descreve a existéncia de duas membranas, que nalgumas céllulas se limitam a uma só e noutras

faltam completamente; quando apparecem, uma é externa ou *Cytogénica,* outra interna ou *Caryogénica.* CAMILLO SCHNEIDER admitte a existéncia apenas, ás vezes, da segunda.

Em 1892 SCHOTLANDER apresenta opinião egual.

HERTWIG admitte a existéncia apenas, ás vezes, da primeira.

Como se vê ha uma perfeita desordem nestas observações, que por ordem chronologica deixo apontadas; mas se attendermos a que num grande número de casos, mesmo quando nenhum vestígio de membrana é possivel revelar, a *enucleação* é possivel, isto é, o núcleo póde trazer-se ou expellir-se para fóra do protoplasma sem se deformar, somos levados a crêr que, com qualquer que seja a sua estructura, haverá uma tal ou qual formação, que separará o conteúdo nuclear do cytoplasma. Entretanto de modo nenhum se póde aqui comprometter uma opinião formal.

II. — Estructura do núcleo

Como tive já occasião de dizer o núcleo foi entrevisto primeiro por LOEWENHOEK nos glóbulos sanguíneos dos *peixes,* por CAVOLINI no ôvo dos *peixes,* depois por FONTANA, em 1781, nas *céllulas epitheliaes;* quem primeiro porém o descreveu com toda a sua importáncia, porque lhe suspeitou a presença constante nas céllulas, foi ROBERT BROWN, em 1831; nas observações de FONTANA apparece já a noção do nucléolo, mas incerta e mal segura; BROWN tornou-a definitiva.

Para o estudo do núcleo é preciso empregar, como em geral para todas as partes da céllula, reagentes; nas céllulas

vivas o núcleo é difficilmente perceptivel; isto não é lei absoluta, certamente; por exemplo: nos glóbulos brancos do *Axolotl* o núcleo póde vêr-se durante a vida, facilmente; mas é uma regra geral. Desde que a céllula morre póde observar-se em qualquer dos seus pontos, a maior parte das vezes no meio, sob a fórma de uma mancha clara, e póde constatar-se então que elle apresenta uma ou muitas granulações brilhantes, que receberam o nome de — *nucléolos* (1); uma das substáncias que mais se emprega para revelar o núcleo é o ácido acético, que dissolvendo o protoplasma sem actuar sobre o núcleo, põe este em evidéncia; o mesmo faz a agua pura coagulando o protoplasma e revelando assim o núcleo; é o que póde verificar-se com os corpúsculos lympháticos, com as céllulas da córnea, com as céllulas epitheliaes das lamellas branchiaes das larvas da *salamandra,* etc.

A necessidade do emprego dos reagentes deu logar á desconfiança de que as partes descriptas no núcleo como fazendo parte da sua estructura fossem illusões, artificios de preparação, producções morphológicas devidas aos agentes chymicos; e foi AUERBACH quem levantou essa suspeita; ella não é, porém, justificada, como demonstrou FLEMMING em 1892. Este seguío para o núcleo o mesmo processo que tinha empregado para o estudo do protoplasma; escolha de reagente próprio, que mostrasse com nitidez o que a observação sem reagentes esboçava confusamente mas de modo categórico; e conseguío esse resultado em muitos elementos cellulares: — núcleos de *Chironomus* e outras larvas de *Dípteros;* ovos de certas *Ascídias;* céllulas das glándulas testiculares dos *Urodelos* e dos *Axolotls,* para os quaes o

(1) BONNEVAL, loc. cit., pag. 6.

reagente de eleição é o ácido acético diluído; HENNEGUY confirmou já as observações de FLEMMING estudando óvulos vivos de *ratos*. Desse conjuncto de trabalhos deduziu-se a regra geral de empregar para agentes fixadores do núcleo as substáncias ácidas; não só o ácido acético, mas aínda o chrómico, o ósmico, o pícrico, etc.; a regra generalizou-se depois ás substáncias córantes; as côres ácidas devem ser as empregadas e estám neste caso o carmim aluminado ácido, o carmim bórico, o carmim acético, o verde de methylo acidulado pelo ácido acético, a fuchsína ácida, a safranina, o violete genciana.

*

A fórma do núclo é muito variavel; ordinariamente é um corpúsculo arredondado ou ovalar, que está immerso no corpo cellular, já no meio, já mais ou menos próximo da parede da céllula; a fórma redonda ou ovalar, que se observa por exemplo nas céllulas lympháticas, não é porém constante; o núcleo póde distender-se num filamento mais ou menos alongado, como acontece nas fibras musculares, nos tubos nervosos, mesmo nalgumas céllulas conjunctivas, etc.; o núcleo póde ter uma fórma ramificada, percorrendo a céllula em todos os sentidos, como encontráram MECKEL, em 1840, e depois LEYDIG nas glándulas sericígenas e nos tubos de MALPIGHI de um grande número de *insectos*, MAYER em 1878 nas patas de um crustáceo, — a *Phronina*, HEIDER em 1879 nas glándulas cutáneas do cephalothorax de um outro crustáceo, — o *Lernanthropus;* o núcleo póde ser estrellado como VOM RATH encontrou na *Anilocra mediterránea*, em

que o núcleo tem a fórma de roseta, e MANILLE IDE, em 1892, na *Ione thoracica;* nalguns *Rhizópodos,* nas *Amibas* sobre tudo, o núcleo apresenta granulações que tomam a fórma de corôa; na *Espirogyra* tem a fórma de um corpo alongado com uma membrana de envólucro, contendo no centro uma única granulação córada, fórma que CARNOY designou — Nucléolo-núcleo, e que MEUNIER e HENNEGUY, em 1887, verificáram bem como KULTSCHITZKY, em 1888, na *Ascaris marginata.* Um grande número de infusórios ciliados apresentam duas espécies de núcleos: — um mais volumoso e mais apparente designado por *núcleo, endoplasta* ou *màcronúcleo;* outro, muito mais pequeno, muito mais difficil de revelar, e designado por *nucléolo, endoplastula* e por fim, definitivamente, por MAUPAS, *micronúcleo*; o macronúcleo dêstes infusórios ciliados tem ordinariamente a fórma de um cordão mais ou menos sinuoso, como póde ver-se na *Urostyla,* na *Bursária,* nas *Vorticellas,* no *Amphileptus;* outras vezes tem a fórma moniliforme, como BALBIANI em 1890 e depois SCHEWIAKOFF e FABRE DOMERGUE descreveram no *Loxephyllum meleagris* e HENNEGUY na *Fabrea salina;* algumas vezes o núcleo tem a fórma de alforge, como acontece em muitas céllulas lympháticas; nalguns infusórios a fórma de ferradura; outras vezes é perfurado, como GÖPPERT encontrou nas céllulas da camada lymphática cortical do figado do *Tritão alpestris,* FLEMMING no epithélio da bexiga da *rã;* outras vezes aínda nitidamente gemmante, como por exemplo nas céllulas da medulla óssea; o núcleo ou a cabeça do espermatozoide da *Salamandra maculata* tem a fórma de um gládio; o núcleo de muitos outros espermatozoides tem a fórma de um cone.

*

Eminentemente variavel é tambem o número de núcleos contidos em cada céllula; habitualmente é um só, mas céllulas ha que conteem dois, como vimos succeder já nalguns infusórios ciliados, como acontece tambem, por exemplo, em grande número de céllulas hepáticas; nas céllulas do tecido dalguns tumores, epitheliomas, por exemplo, ha muitos; nas céllulas gigantes da medulla dos ossos, as osteoclastas, chegam a encontrar-se em número extraordinário, mais de uma centena até.

*

Os primeiros trabalhos de valor realizados para o conhecimento da estructura do núcleo sam de HARTIG, que em 1854 reconheceu a affinidade que apresentavam certos núcleos para o carminato de ammoníaco; em 1858 GERLACH desenvolve a téchnica de HARTIG e logo no anno seguinte STILLING reconhece, por meio della, que os núcleos das céllulas ganglionares do *Boi* conteem filamentos contornados.

Em 1865 BALBIANI estuda ovos de vários invertebrados, *myriápodos* sobre tudo, e annuncia que o seu nucléolo é animado de movimentos; no ovo do *Geóphilo* descreve prolongamentos, que partindo do núcleo irradiam no protoplasma e parece-lhe ver esses prolongamentos formados de tubos, no interior dos quaes penetraria uma ramificação do nucléolo; nos ovos dos *Peixes* reconhece no interior do

núcleo,—Vesícula germinativa,—as manchas germinativas, — nucléolos, — ligados entre si por tubos, que formam uma rêde.

No mesmo anno FROMMANN, nas céllulas frescas da medulla do *Boi,* descreve um retículo no núcleo, que seria formado de tubos prolongando-se no interior do protoplasma, através dos quaes passaria um filamento oriundo do nucléolo, o qual se continuaria até ao cylindro eixo.

Em 1871 e 1872 HEIMER apresenta estudos notaveis do núcleo effectuados sobre a céllula epidérmica do focinho da *Toupeira,* estudos que proseguem de 1875 a 1877 e segundo os quaes para o núcleo se poderia fixar a seguinte constituição: — cada nucléolo seria cercado de uma zona hyalina, que denominou — *zona hyaloide;* a esta zona seguir-se-hia outra, envolveado-a, granulosa; uma zona granulosa commum periphérica reuniria todas estas zonas parciaes; do nucléolo partiriam filamentos que, através da zona hyaloide, se dirigiriam ás granulações das camadas parciaes; e na camada granulosa periphérica haveria uma rêde de finos filamentos anastomosados.

Em 1872 KLEINENBERG descreve, nos ovos da *Hydra de agua doce,* o núcleo constituido pelo nucléolo, em volta deste uma massa granulosa donde partem prolongamentos egualmente granulosos, os quaes se dirigem até á camada externa ou periphérica do núcleo, camada que apresenta a mesma constituição granulosa.

A seguir, em 1873, apparece HEITZMANN, attribuindo ao núcleo uma estructura análoga á do protoplasma, que se descreve com a maior simplicidade: trata-se de uma rêde de filamentos, nas malhas da qual existe uma substáncia semi-líquida; os nucléolos não seriam mais do que os pontos de cruzamento desta rêde nuclear.

Em 1874 apparecem os trabalhos de AUERBACH, que

sam de primeira importância porque introduzem algumas noções novas. AUERBACH procura systematizar a questão do número dos nucléolos contidos nas céllulas e divide por isso os núcleos em *paucinucleolares, plurinucleolares* e *multinucleolares,* segundo conteem respectivamente 1-2 nucléolos, 3-5 ou 5-100; para exemplo dos primeiros cita os núcleos dos tecidos dos *Reptis;* para exemplo dos segundos os dos *Mammíferos* e das *Aves;* para exemplo dos terceiros os dos *Batráchios* adultos; em todo o núcleo novo não haveria primitivamente senão um nucléolo, que por divisões ulteriores daria origem a um número maior; essa multiplicação não sería indefinida; depois da céllula ter attingido uma certa edade os nucléolos deixariam de multiplicar-se para apenas augmentarem de volume; é o que acontece por exemplo nas céllulas do corpo adiposo da larva da *Mosca,* em que o número dos nucléolos cresce só até ao quinto dia. Hoje está verificado que a systematização de AUERBACH é perfeitamente arbitrária: as céllulas nervosas dos *Mammíferos* teem apenas um nucléolo; ás da corda dorsal dos *Batráchios* succede outro tanto.

Ao mesmo tempo AUERBACH demonstra que no interior do próprio nucléolo póde ás vezes existir um corpo central, aínda mais pequeno, o que já tinha sido apontado por SCHRÖN; a essa formação, que se chamava *corpúsculo de* SCHRÖN, AUERBACH deu o nome de — *Nucleólulo,* que BALBIANI mais tarde havia de considerar como uma vesícula do nucléolo.

Por último AUERBACH contesta aos nucléolos a propriedade de serem uma formação constante do núcleo; nunca os poude encontrar no núcleo dos ovos maduros dos *Insectos* e doutros animaes; para os núcleos que os não conteem cria o *estado enucléolar,* com que designa essa falta. Desde então constroe a sua noção símplez do núcleo: vesícula cavada no protoplasma cellular, cujo contôrno se differencía

para formar uma membrana e cujo conteúdo se condensa para constituir os nucléolos.

Em 1875 FLEMMING, na vesícula germinativa dos *Najades,* e O. HERTWIG, na dos *Echinodermes* e do *Rato,* descreveram uma rêde que partindo do nucléolo termina na membrana do núcleo e que foi observada sem o emprego de reagentes; a estructura reticulada do núcleo é confirmada por FROMMANN. As ideias de HEITZMANN desde então ganham terreno; aínda em 1876 SCHWALBE descreve uma disposição vacuolar nas céllulas ganglionares da retina dos *Mammíferos:* primitivamente, na céllula nova, o núcleo é homogéneo, mas, mais tarde, na substância nuclear, apparecem vacúolos, depois nucléolos e uma membrana de invólucro derivada da condensação desta substância, tornada reticular pela presença dos vacúolos; porém logo no mesmo anno VAN BENEDEN descreve uma rêde nuclear partindo do nucléolo e attingindo a peripheria do núcleo, na vesícula germinativa dos *Mammíferos* e do *Asteracanthion,* e BÜTSCHLI dá uma descripção egual para os glóbulos sanguíneos dos *Amphíbios.*

Theoria de FLEMMING: — FLEMMING acceita as descripções de HEITZMANN e descreve para o núcleo uma estructura semelhante á descripta para o protoplasma. Os seus trabalhos de 1875 proseguem em 1876; então effectua-os na *Salamandra* e convence-se da existéncia no núcleo de uma rêde, em cujas malhas ha uma substância líquida interposta.

Em 1878 publicou uma série de exames de differentes céllulas do batráchio, que o radicam nessa opinião, e que examinou sem o emprego de reagentes; a mesma impressão colheu do exame das céllulas de LEYDIG e das céllulas cartilagíneas dos arcos branchiaes; o núcleo apparece transparente, muitas vezes com incisuras nos seus bordos e com

movimentos que lhe modificam constantemente a fórma. Empregando como reagentes as côres da anilina verificou que o núcleo se córa mais fortemente do que o corpo cellular, e que é portanto constituído por substância differente da deste; dentro do núcleo mesmo os nucléolos córam-se aínda mais fortemente; depois delles a intensidade de córação seguinte é para a rêde nuclear; depois a membrana e, por fim, a substância líquida interposta nas malhas da rêde, que fica quasi incolor.

PRUDDEN e SCHLEICHER, logo em 1879, acceitam as ideias de FLEMMING em toda a sua integridade.

Em 1880 FLEMMING publica novos trabalhos e constituë a sua theoria, distinguindo no núcleo: um *esqueleto nuclear* (**Kerngerust**) ou *retículo nuclear* (**Netzwerk**), constituido por uma substância especial, a que chamou, — *caryomitone;* esse retículo apresentaria pontos nodaes ou *pseudonúcleolos.* Nisto consiste a differença fundamental entre FLEMMING e HEITZMANN; emquanto este considerava esses pontos nodaes como nucléolos, FLEMMING descreve estes como formações independentes; para FLEMMING ha ainda o *succo nuclear* e, por fim, a *membrana nuclear.* Á substância córavel do núcleo, que impregna a materia homogénea, de que os filamentos sam formados, chamou-lhe — *chromatina* e á substância que fica incolor — *achromatina.*

MIESCHER no mesmo anno encontra a disposição descripta por FLEMMING nas céllulas vegetaes; a theoria fica constituída e alguns cytologistas confirmam-na com trabalhos subsequentes, posto que dentre elles haja quem a modifique. Assim SCHMITZ aínda em 1880 encontra nos vegetaes a disposição de FLEMMING, mas admitte que as trabéculas do núcleo sam de uma substância análoga á que fórma as do protoplasma, apenas mais condensada. Depois KLEIN e PFITZNER acceitam as ideias de FLEMMING na sua

integridade, que a fig. XI apresenta na sua textura fundamental, e a respeito della convém assignalar que nós estamos fazendo por emquanto o estudo do núcleo no estado de

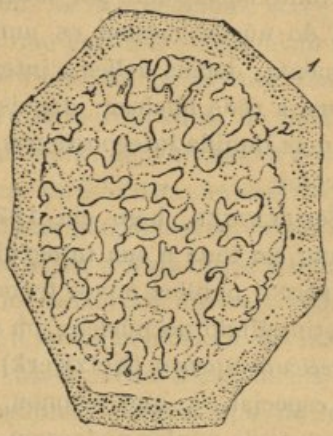

Fig. XI. — Célula epithelial da região buccal duma larva de *Salamandra*. 1, limite do corpo cellular; 2, núcleo volumoso formado de um novello filamentoso (segundo Flemming).

repouso, no estado *quiescente,* segunde a expressão usada por alguns, e não no estado de movimento e de differenciação, tão melindrosa, que affecta no momento da multiplicação das céllulas.

Em 1883 Leydig estudou o núcleo num grande número de especies — *Bombus terrestris, Nepa-cinéria, Musca vomitória, Bombyx neustria, Molluscos, Lymax cinereus, Cyclas,* etc. e chega em geral ás mesmas conclusões de Flemming; descreve um tecido esquelético, que corresponde ao retículo deste mas não formado de filamentos, antes semelhante a uma esponja, e dá-lhe o nome de — *Schwammwerk*; as suas malhas seriam preenchidas por uma substáncia intermediária mais molle — *Zwischenmaterie;* os nucléolos seriam uma parte da rêde e não formações independentes.

Em 1883 tambem apparecem os trabalhos de VAN-BENEDEN feitos sobre o ovo da *Ascaris megalocephala;* para este o retículo existe tambem; no núcleo haveria um esqueleto reticulado — o *núcleo-plasma* e uma substância líquida, que enche as suas malhas, — o *succo nuclear*. O *núcleo-plasma* comprehende duas substâncias: — a *substância achromática* e a *substância chromática;* aquella existe sob a fórma de filamentos variaveis, monili-formes, constituídos por elementos figurados, — os *nucleomicrosomas;* esses filamentos sam reunidos uns aos outras por fibrillas tenuissimas — os *nucleofios*. A substância chromática seria um pigmento, que póde existir no estado de imbebição ou nos nucleofios, ou nos nucleomicrosomas, ou na membrana do núcleo. A ideia de que essa substância seja um pigmento já HENNEGUY a tinha apresentado no anno anterior estudando a segmentação nos *Peixes ósseos*.

Em 1884 um outro histologista, RABL, estuda o núcleo em differentes céllulas do *Proteus* e nas céllulas epidérmicas e glándulas cutáneas do *Tritão cristatus;* a sua descripção quadra com a de FLEMMING fundamentalmente mas não acceita a existéncia de filamentos encruzados numa rêde banal; a sua descripção é muito minuciosa: de uma extremidade do núcleo, de um dos pólos, partiriam ansas que teriam as suas extremidades nesse polo, e que nunca attingiriam o outro; neste ficaria portanto sempre um espaço claro, que se chama — *campo-polar;* essas ansas seriam formadas por um *filamento primário;* o conjuncto das ansas daria o aspecto de um novello, que é o que FLEMMING toma pela rêde; mas, na verdade, *filamentos secundários,* partindo lateralmente dos primários, uniriam as ansas entre si; outros *filamentos terciários,* por fim, fariam o mesmo aos secundários. Fig. XII.

Até esta altura nós vimos, que um grande número de

observadores dos mais auctorizados teem encontrado a estructura reticular no núcleo; com pequenas variantes de uns para os outros, — disposição espongiária de LEYDIG ou ansiforme de RABL, — todos no fundo estam de harmonia em rejeitar a homogeneidade do núcleo e em acceitar essa reticulação, que HEITZMANN indicou e que depois FLEMMING desenvolveu largamente. Serám múltiplos os filamentos constitutivos da rêde? Será um filamento único, que ennovellando-se dê o aspecto reticular? Num grande número de céllulas a primeira disposição tem de admittir-se, mas a segunda existe tambem e fórma a base de uma theoria differente da primeira; o que convém é não as oppôr, não as considerar inimigas; a verdade perfeita consiste em admitir que ha núcleos com uma disposição e núcleos com outra; é o que vae deduzir-se dos trabalhos, que vou apontar:

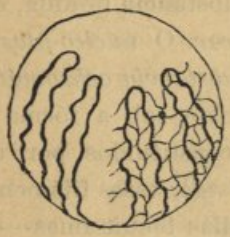

Fig. XII. — Estructura do núcleo, eschemática (segundo RABL).

Theoria de BALBIANI: — A theoria de BALBIANI gerou-se accidentalmente nas ideias emittidas por ARNDT sobre a constituição do núcleo; a este, em 1876, ARNDT estendeu a sua concepção da estructura do protoplasma, suppondo-o formado de uma substáncia fundamental homogénea, onde granulações, em maior ou menor número, se acham mergulhadas; esta descripção de ARNDT é hoje totalmente abandonada; mas ella deu ensejo a uma série de trabalhos, que levaram a conclusões muito positivas, a descripções muito rigorosas e á apresentação de uma estructura especial innegavel.

Em 1876 BALBIANI, estudando a divisão cellular no *Stenobrotus,* affirmou que nas céllulas deste a rêde chromática

é formada de granulações dispostas em séries ou em rosários.

Em 1880 BARANETSKY, nas céllulas pollínicas da *Tradescántia,* vê que o núcleo é formado por filamentos e que um destes filamentos se desenrola como se fôra um fio córado, enrolado em espiral em tôrno de uma substância clara, que lhe formasse o eixo.

Em 1881 PFITZNER descreve o retículo não como uma substância homogénea, mas como formado por uma substância incolor na qual mergulham granulações córadas. Foi nesse mesmo anno que BALBIANI encontrou materiaes de estudo, que o leváram á construcção da sua theoria.

Os estudos de BALBIANI iniciáram-se sobre céllulas das granulações salivares do *Chironomus*, cujos núcleos attingindo até $^1/_{10}$ de millímetro de diámetro sam quasi visiveis a olho nú; examinando essas céllulas sem o emprego de reagentes o núcleo apparece formado por uma vesícula fechada contendo dois grossos nucléolos ás vezes encostados, e um grosso filamento cujas extremidades veem soldar-se aos nucléolos. Fig. XIII. Estes sam irregulares, formados duma substância refringente e granulosa, que contém um número consideravel de vacúolos isolados ou confluentes. O filamento, que é um verdadeiro cordão, parece ter a fórma de um tubo e sobre elle, ás vezes, ha perto dos nucléolos duas pequenas dilatações granulosas em fórma de anneis; esse cordão examinado com um forte augmento apresenta uma estriação transversal semelhante á duma fibra muscular

Fig. XIII. — Núcleo da glándula salivar de *Chironomus plumosus* (segundo BALBIANI).

estriada; e depois de córado apparece composto de uma série de *discos pállidos* e *discos refringentes,* alternando entre si; a chromatina parece por isso condensada nos discos refringentes e BALBIANI assignalou aínda que os nucléolos e o cordão nuclear se córavam diversamente.

BALBIANI verificou depois que todas as céllulas da larva do *Chironomus* apresentam uma estructura nuclear análoga a esta, posto que menos nítida; BALBIANI varía então as suas observações e encontra disposições semelhantes nas céllulas do grande sympáthico da *Rã* e na vesícula germinativa da *Coelha.* Fig. XIV. Daqui parte para uma generalização theórica, suppondo a maior parte dos núcleos compostos de um cordão único fortemente enovellado sobre si mesmo muitas vezes, considerando a disposição reticular, pelo contrário, rara e excepcional.

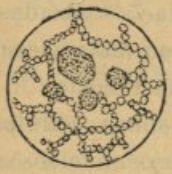

Fig. XIV. — Vesícula germinativa de um óvulo de *Coelha* (segundo BALBIANI)

A descripção de BALBIANI é verdadeira e FLEMMING mesmo reconheceu a sua veracidade; em muitas céllulas vegetaes STRASBURGER, em 1892, constata a mesma disposição; aos discos refringentes dá porém uma outra designação; suppõe o núcleo formado de duas substáncias: — um *succo nuclear* e um *nucleoplasma;* este último fórma o cordão nuclear, mas comprehende elle mesmo um *nucleohyaloplasma* homogéneo e incolor, e nucleomicrosomas coraveis pelos reagentes; estes sam os discos refringentes e seríam os únicos que fixam as côres.

No anno seguinte, em 1883, LEYDIG encontra a mesma disposição no *Chironomus,* que estuda tambem, e considera os nucléolos como pontos mais condensados do cordão; nas disposições reticulares tinha-os egualmente supposto uma

parte da rêde. RABL, a seguir, em 1884, encontra aínda essa disposição no *Chironomus*, e GUIGNARD no mesmo anno, no *Lilium mortagon;* dahi para cá novas observações confirmativas teem apparecido: — as de HENNEGUY nas glándulas salivares de alguns insectos, como em todas as larvas de *Dípteros;* as de VIALLANES nos mesmos animaes: as de J. CHATIN nas céllulas dos tubos de MALPIGHI do *Gryllotalpa;* as de VAN BAMBECKE e outros nas céllulas de muitos *crustáceos*, nas céllulas do intestino e canaes deferentes do *Oniscus*.

A accumulação destes materiaes mostra, que a descripção de BALBIANI é verdadeira, e que não póde contestar-se; o que convém é fazer a mesma observação enunciada para a theoria de FLEMMING: não suppôr todos os núcleos com filamento ennovellado, mas admittir essa disposição em muitos delles. Será o novello constituído por um filamento único como quer BALBIANI, ou em vez disso pela associação de muitos filamentos, como querem STRASBURGER, RABL, WALDEYER, VAN GEHUCHTEN e outros? Actualmente é impossivel decidí-lo.

Descripção de CARNOY: — Em trabalhos que começam em 1884 e que continúam aínda, CARNOY dá a descripção do núcleo por uma fórma muito mais complicada do que a emittida até aqui: para CARNOY o núcleo é formado por um retículo de caryoplasma, o seu conteúdo, succo nuclear, e além disso por um *tubo nucleínico*. Este é capaz de affectar fórmas muito variadas: umas vezes ennovellar-se de uma maneira tal que toma o aspecto de um retículo como nas céllulas dos *batráchios*, outras segmenta-se, divide-se em pequenos troços, como acontece nos ovos dos *Peixes*, dos *Amphibios*, dos *Reptis* e das *Aves*, outras aínda, como na cabeça dos espermatozoides, constituë uma massa completamente homogénea.

Tratando os núcleos pelas soluções alcalinas fracas, ou pelo ácido chlorhydrico concentrado, o conteúdo do tubo dissolve-se e será portanto nucleína ou um composto análogo; a parede permanece e será portanto plastína. Este facto, que mostra a existéncia do tubo, a composição da sua parede e a do seu conteúdo, permitte tambem verificar que a nucleína ora fórma um tubo contínuo, revestindo interiormente o tubo de plastina (Fig. XV: *a* e *b*), ora se divide em segmentos annullares que dão ao todo um aspecto estriado (Fig. XV: *c* e *d*), ora fórma granulações irregulares. O tubo não occupa um logar determinado no núcleo, mas

Fig. XV. — Córtes ópticos longitudinaes de diversos tubos nucleínicos. *a*, tubo nucleínico do *Porquinho de Santo Antão*. O manto de nucleína é muito espesso e mal deixa ver o canal central. *b*, tubo do orgão sexual larvar dum *Zangão*. O manto é delgado e o canal central largo. *c*, tubo do orgão sexual larvar de uma *Mosca* parasita da *Liparis dispar*. O manto não é uniforme: engrossa a distancias regulares. *d*, porção estriada do tubo precedente. O manto cortou-se em discos separados das porções hyalinas (segundo Carnoy).

ás vezes accumula-se no centro deste; então o núcleo representa o que Carnoy chama — *nucléolo-núcleo*. É a disposição observada por Strasburger nas céllulas da *Spirogyra*, por Carnoy nas *Gregarinas*, nalguns *Rhizópodos* e no ôvo de um annelídeo, — o *Nephtis scolopendroides*. Nalguns casos Carnoy julga ter observado uma disposição espiraloide da nucleína, como no tubo de Malpighi da larva de um *hymenóptero*, mas não tem opinião assente a este

propósito: — pelo que respeita ao Caryoplasma CARNOY encontrou a disposição reticular nos espermatoblastas da *Toupeira*, nas céllulas nervosas do *Arion rufus*, nas da glándula filar dos *Nemóceros*, nas céllulas intestinaes do *Porquinho de Santo Antão*. Esse caryoplasma contém ás vezes granulações, que sam productos de secreção interna: já STRASBURGER, dentro do núcleo das céllulas da *Tradescantia*, FROMMANN, dentro das do *Cereus speciosus*, tinham encontrado grãos de amylo; CARNOY encontrou no de differentes céllulas crystaes e admitte que no caryoplasma podem existir os mesmos productos que apparecem no cytoplasma, — o glycogénio, a gordura, o tannino, os pigmentos, etc. Afóra porém estas granulações ha outras, com um papel estructural mais notavel: partes dilatadas do tubo formam os *nucléolos-nucleínicos;* mas ao lado destes podem apparecer outros, que a digestação artificial dissolve e que seriam os verdadeiros nucléolos da céllula; a estes chama — *nucléolos plasmáticos*.

As descripções de CARNOY sam, como se vê, muito minuciosas; no mesmo anno, em que começou a publicá-las. foram encontradas disposições análogas por JICKELI no núcleo dos *infusórios ciliados;* e posteriormente, em 1896, VAN BAMBEKE publicou outras effectuadas em vários arthrópodos, — o *Oniscus*, o *Asellus*, nalgumas larvas de *Dípteros* e de *Hymenópteros;* mas estas últimas descripções sam já algo differentes das de CARNOY e a respeito destas é necessario por emquanto reservar inteiramente o modo de vêr; deve esperar-se que novas investigações appareçam antes de comprometter opinião. E o exame destes trabalhos como dos anteriores mostra que a estructura do núcleo é muito complicada, que ella é múltipla e não uniforme; por outro lado muitos pontos ficam aínda envoltos numa obscuridade lamentavel, que só o tempo conseguirá illuminar.

III. — Os nucléolos

Uma revisão dos trabalhos relatados até aqui, tendentes a estabelecer a estructura do núcleo, mostra que assim como a propósito desta não foi possivel encontrar accôrdo, tambem a propósito dos nucléolos se não estabelece uma noção nítida; opiniões auctorizadas como as de HEITZMANN, FROMANN, KLEIN, RETZIUS, apresentam os nucléolos como porções dilatadas de uma rêde, ou pontos nodaes desta, ou engrossamento dos fios que a constituem; outras como as de FLEMMING, de BALBIANI e de STRASBURGER apresentam-os como formações nucleares independentes. Onde está a verdade? Vejamos se trabalhos de outros a determinam.

Em 1883 LEYDIG considera os nucléolos das céllulas testiculares do *Lithobius* como fazendo parte do retículo, e no *Chironomus* como sendo partes do filamento mais condensadas; filia-se portanto no primeiro grupo.

Em 1884 RABL apresenta-os nos seus trabalhos como orgãos independentes da rêde, nitidamente limitados e tendo adquirido independéncia; certo é que ha engrossamento da rêde onde se formam deposições de matéria chromática, que dam o aspecto de nucléolos, mas não o sam: os verdadeiros sam independentes; RABL filia-se, portanto, no segundo grupo e GUIGNARD no mesmo anno partilha a mesma opinião para as céllulas do *Lilium mortagon;* nos trabalhos de CARNOY apparece esta mesma noção e com ella se conforma VAN BAMBEKE. Em presença destes resultados parece dever admittir-se que realmente os *verdadeiros nucléolos* sam independentes do esqueleto estructural do núcleo, como é indiscutivel no *Chironomus;* mas que ha pontos engrossa-

dos do retículo, quando existe, que dam o mesmo aspecto dos verdadeiros nucléolos; a presença destes é que não é constante em todas as céllulas.

Existindo o verdadeiro nucléolo é susceptivel de apresentar uma estructura mais complicada do que á primeira vista se deduz desta descripção, e é até capaz de executar movimentos.

Balbiani, em 1864, verificou que alguns nucléolos podiam ter uma estructura vacuolar, que os seus vacúolos se contraíam rithmicamente e se abriam á peripheria do nucléolo, esvasiando-se; o nucléolo apparecia-lhe assim como uma espécie de orgão central da circulação da céllula, como um coração da céllula, que com o núcleo desempenharia um alto papel na nutrição cellular; essa disposição vacúolo-contráctil encontrou-a Balbiani na vesícula germinativa do ôvo do *Phalángium opílio,* análoga á da massa protoplásmica de alguns Rhizópodos, por exemplo do *Actinophrys;* encontrou-a na mancha germinativa dalgumas *Aranhas* e do *Geophilo;* Häcker em 1893 encontrou-a nos nucléolos dos ovos das *Estrellas do mar* e dos *Ursinos.*

Nos ovos homolecites das *Najadas* Lacaze-Duthiers, em 1854, Leydig em 1855, Hessling em 1859, Flemming em 1882, encontráram uma estructura particular para os nucléolos: estes apparecem formados de duas partes encostadas, deseguaes, a menor das quaes se córa vivamente emquanto a maior fica incolor, sob a acção das côres da anilina; no *Anodonte* as duas porções apparecem separadas; na *Dreissena* a parte córavel coifa a incolor e semelhantemente na *Tellina* e na *Asteracanthion;* Lönnberg, em 1892, encontrou uma disposição análoga á descripta por Flemming nas céllulas hepáticas de molluscos, como a *Polycera Ocellata,* a *Aeolídia papiloza* e a *Doris próxima.*

Pelo que respeita aos movimentos amiboides do nucléolo

encontraram-nos La Valette Saint-Georges em 1866 na mancha germinativa da *Libellula;* Metschnikoff em 1867 nas céllulas das glándulas salivares da *Formiga;* Brandt em 1873 na mancha germinativa da *Barata;* Auerbach em 1874 nas da *Solha;* Eimer em 1875 nas do *Silurus glanis;* Kidd no mesmo anno, nas céllulas epitheliaes da mucosa buccal da *Rã,* etc.

O volume dos nucléolos é muito variavel, chegando a ser consideravel quando contém vacúolos, os quaes podem ter granulações; o seu número é variavel tambem, já de céllula para céllula, já na mesma céllula conforme a edade desta: no ovo das *Cyclopidas* Häcker, em 1893, verificou que o nucléolo principal é a princípio único e ulteriormente múltiplo; Flemming por seu turno, nos ovos dos *Amphíbios,* chegou a contar duzentos e trezentos. Ao seu conjuncto alguns auctores chamam — *corpo nucleolar.* Quanto ao papel que os nucléolos desempenham, está por determinar; ignora-se para que servem; a maior parte dos cytologistas suppõe que elles sam destinados a dissolver-se no succo nuclear durante a caryocinese, em que na verdade desapparecem, e a fornecer assim matéria córante, que os chromosomas absorvem.

IV. — Composição chymica do núcleo

O estudo da composição chymica do núcleo tem sido objecto de trabalhos muito numerosos, e apesar disso as illações delles derivadas não teem rigor apreciavel; eu deixei exposto como para o protoplasma a determinação da composição era difficil e como eram obscuros os resultados a que se tinha chegado: pois para o núcleo a difficuldade é aínda maior, se é possivel, porque logo se bate de encon-