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,

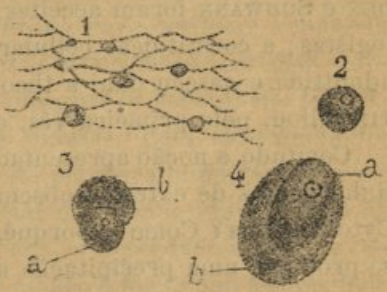

Fig. I. — Genése das céllulas por formação livre. 1, fragmento de cytoblastema do albumen da *Chamaedorea Schiedeana*, encerrando cytoblastas livres. 2, um cytoblasta livre com um augmento maior. 3 e 4, *a*, cytoblastas em torno das quaes se organiza uma céllula *b*. (Segundo SCHLEIDEN, 1838).

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

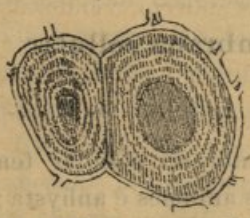

Fig. III. — Corte transversal de duas céllulas de membranas muito espessas, de duas fibras liberinas de *Dioon edule* (segundo Reinke).

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

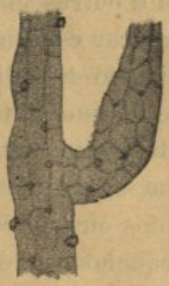

Fig. VIII. — Dois cordões protoplásmicos vivos de um pêlo de uma *Malva*. Augmento proximamente 3000 diámetros (seg. Bütschli).

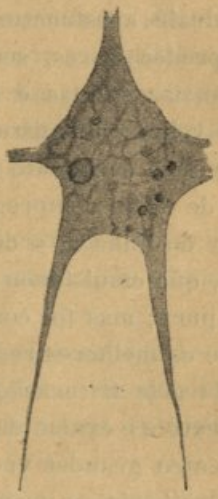

Fig. IX.—Expansão palmiforme, com estructura muito nitida, duma rêde pseudopódica duma *Miliolida*. Augmento proximamente 3000 diámetros (segundo Bütschli).

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

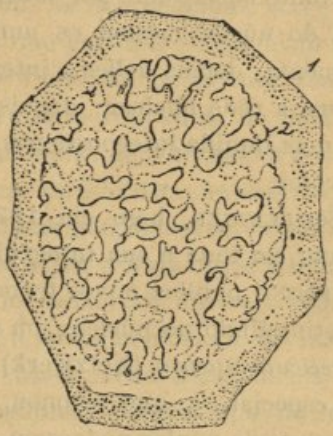

Fig. XI. — Célula epithelial da região buccal duma larva de *Salamandra*. 1, limite do corpo cellular; 2, núcleo volumoso formado de um novello filamentoso (segundo Flemming).

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:

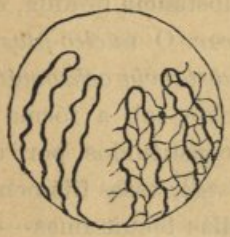

Fig. XII. — Estructura do núcleo, eschemática (segundo RABL).

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.

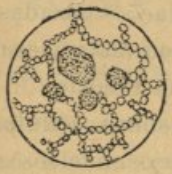

Fig. XIV. — Vesícula germinativa de um óvulo de *Coelha* (segundo BALBIANI)

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-

tro a este óbice insuperavel: — como isolar o núcleo em quantidade sufficiente para praticar uma anályse? depois, que complexidade inexcedivel apresentam as substáncias, que o compõem, para que o estabelecimento de reacções nítidas permitta fixar-lhes a composição? Entretanto a somma de trabalho gasto para chegar a uma solução é enorme, apesar dos resultados serem inteiramente problemáticos. Vejamo-los:

Os primeiros trabalhos de valor para o estudo chymico do núcleo, sam devidos a MIESCHER e datam de 1871. MIESCHER procurou luctar com as difficuldades de isolar o núcleo, analyzando o esperma do salmão; os espermatozoides quasi sam só constituídos pelo núcleo; a escolha do líquido espermático era portanto judiciosa; e conseguiu isolar uma substáncia particularmente rica em phósphoro, a que chamou — *nucleína,* e cuja anályse elementar é a seguinte:

Carbono	26,11
Hydrogénio	5,15
Azote	13,09
Oxygénio	36,06
Phósphoro	9,59

Daqui MIESCHER deduziu para a nucleína a fórmula unitária $C_{29}H_{49}O_{22}N_9P_3$.

Em 1876 R. HERTWIG admitte esta nucleína, mas designa por — *succo nuclear* outra substáncia, que existe no núcleo, e que se associa com aquella; a nucleína constituiria os nucléolos, accumular-se-hia mesmo muitas vezes á peripheria do núcleo numa camada parietal densa, mas como não existia só, a anályse do núcleo estava por completar; e a seu vêr do conjuncto das substáncias do núcleo sería até a nucleína aquella que nellas entra em menor quantidade.

Em 1878 O. HERTWIG concorda com este modo de vêr

e designa o conjuncto de substáncias nucleares que existem além da nucleína por — *Paranucleína.*

Em 1879 apparecem algumas observações de BALBIANI feitas no estudo da espermatogenese dos *Plasgióstomos* e dos *Mammíferos,* observações dirigidas num sentido, que mais tarde havia de ter grande desenvolvimento: BALBIANI admitte no núcleo duas substáncias claramente distinctas, tanto que alguns delles córam-se magnificamente pelo verde de methylo, emquanto que outros absorvem mais vivamente as côres do carmím.

Em 1881 BALBIANI publica novas observações confirmadas por HENNEGUY, que corroboram as anteriores, feitas na glándula hermaphrodita da *Helix:* a acção do verde de methylo e da eozina dá em resultado córarem-se de azul as cabeças dos espermatozoides e os núcleos das céllulas seminaes, emquanto que os óvulos novos e as suas vesículas germinativas tomam a côr de rosa; ficou assente a fraca affinidade das vesículas germinativas para o verde de methylo.

Em 1883 OGATA apresenta observações análogas, e ZACHARIAS publica uma série de trabalhos, que vinha realizando desde 1881, effectuados na *Tradescantia,* no *Ranunculus,* no *Phajus grandifólius,* etc., e descreve no núcleo as seguintes substáncias:

1) Uma nucleína soluvel nas soluções fracas de soda e no ácido chlorhydrico, que sería a nucleína de MIESCHER;

2) Outra nucleína difficilmente soluvel nestes reagentes mesmo que se concentrasse o ácido chlorhydrico, e que se chama — *Plastina;*

3) Uma mistura destas duas nucleínas constituindo — a *Chromatina;*

4) Uma substáncia albuminoide soluvel no álcool e no succo gástrico formando — o *succo nuclear.*

Como se vê os trabalhos de ZACHARIAS apresentam já para o núcleo uma composição muito mais complicada do que a que se deduz das analyses anteriores; e VAN BENEDEN a respeito da substância chromática mostra-se partidário de uma ideia que HENNEGUY apresentára annos antes estudando a segmentação dos *Peixes Osseos,* isto é, que a chromatina será um pigmento que imbebe ou os nucleofíos, ou os nucleomicrosomas, ou a membrana nuclear, modo de vêr que BRASS partilha na mesma épocha e em trabalhos do anno seguinte; mas ainda em 1883 PFITZNER dá tambem do núcleo uma descripção complicada:

1) Um retículo formado de *chromatina;*

2) Uma substância amorpha chamada —*parachromatina* susceptivel de affectar a fórma filamentosa no momento da caryocinese;

3) Nucléolos constituidos por outra substância differente — a *prochromatina.*

Em 1884 apparece um grande número de trabalhos muito importantes sob este ponto de vista: os primeiros sam os de FOL descobrindo a reacção ligeiramente alcalina da nucleína, a qual derivou da côr que tomam certos reagentes collocados em presença do núcleo. Essa côr é semelhante á que os mesmos reagentes apresentam quando se lhes junta uma pequena quantidade de substância básica; assim, o carmim aluminado toma uma côr lilás quando se lhe junta a soda, e dá tambem aos núcleos uma côr lilás; a hematoxylina dá nos dois casos uma côr azul; a ribesina uma côr azul-esverdeada, etc. Este resultado estava portanto colhido.

KOSSEL, por seu turno, repete a análise de MIESCHER do esperma do *salmão* e encontra números um pouco differentes, ao mesmo tempo que revela a existéncia ahi de uma pequena quantidade de enxofre, o que MIESCHER não tinha

feito; os números que encontrou foram os seguintes:

Carbono	40,81
Hydrogénio	5,38
Azote	15,98
Oxygénio	31,26
Phósphoro	6,19
Enxofre	0,38

MIESCHER por sua vês continúa as anályses e então modifica as ideias primitivas; para elle as nucleínas sam múltiplas, muito variadas e não uma só como a principio suppôs. Opéra então sobre glóbulos do pús, e lá encontra uma nucleína facilmente soluvel na soda, e uma nucleína difficilmente soluvel nesse álcali; entre as duas haveria aínda, a favor da primeira, uma certa differença na riqueza em phósphoro; por último nos glóbulos de pús e nos espermatozoides MIESCHER achou aínda uma terceira substáncia, que é digerida pela pepsina e contém phósphoro e enxofre; e comparando as reacções da nucleína dos espermatozoides do *Salmão* com a dos espermatozoides do *Touro* achou differenças sensiveis. MIESCHER emitte então o seu juizo: — no núcleo ha muitas nucleínas; donde ellas proveem é porém da combinação de uma mesma substáncia fundamental com outras substáncias particulares, que lhe imprimem caracteres tambem particulares.

Aqui é que MIESCHER encontra immediatamente uma forte opposição de HOPPE-SEYLER, de VORM-MÜLLER, de LUBAVIN; estes affirmam extraír das nucleínas de MIESCHER substáncias muito differentes pela acção demorada dos álcalis e dos ácidos diluidos; isolam assim o ácido phosphórico e obteem depois grande número de bases ricas em azote: — a *adenina* $C_5H_5N_5$, a *hypoxanthina* $C_5H_4N_4O$, a *guanina* $C_5H_5N_5O$, a *xanthina* $C_5H_4N_4O_2$. Neste mesmo anno em

que tanto se trabalhou, apparecem aínda, para serem completados no anno seguinte, observações de WIELOWIEJSK confirmando as de BALBIANI sobre a coloração diversa, que sob a acção dos mesmos córantes, apresentam os núcleos de algumas céllulas.

Em 1886 KOSSEL insiste novamente na multiplicidade das nucleínas: a nucleína extraída do ovo por MIESCHER e BUNGE é por elle comparada á dos núcleos e do leite, e encontra-lhes differenças nítidas; as nucleínas do ôvo e do leite decompõem-se pelos ácidos diluídos ferventes e não formam bases ricas em azote; a nucleína dos núcleos, pelo contrário, dá guanina e hypoxanthina. No mesmo anno, VAN BAMBEKE confirma ainda a differença de córação, que os núcleos differentes apresentam.

Chegamos assim a 1887 com a noção de que as nucleínas sam múltiplas, e este anno é, de todos, aquelle em que maior número de investigações chymicas apparecem, sobre tudo as de ZACHARIAS e de SCHWARZ.

Vejamos as principaes:

ZACHARIAS estuda os núcleos vegetaes primeiro, os animaes depois, e fundando-se nos resultados da digestão pelo succo gástrico e pelo ácido chlorhydrico, distingue no núcleo vegetal duas partes: — a *nucleína,* que fórma os elementos figurados, e a *plastina,* muito mais resistente que a primeira á dissolução naquelles agentes; o verde de methylo córaria tambem a primeira muito mais facilmente do que a segunda, e da primeira extraír-se-ía a guanina e a hypoxanthina. Nos núcleos ánimaes as coisas seriam semelhantes, mas ahi haveria uma terceira substáncia albuminoide: a nucleína formaria a rêde, a plastina o succo nuclear e uma mistura de plastina com um albuminoide indeterminado formaria os nucléolos; as investigações de ZACHARIAS incidiram sobre as céllulas de segmentação da *Rã,* do *Scyllium*

canícula e da *Gallinha;* comparando depois as céllulas reproductoras de differentes animaes, concluiu tambem que os elementos masculinos conteem muita mais nucleína que os femininos.

Como se vê a hypothese da composição muito complexa do núcleo ganha terreno e os trabalhos de FRANK SCHWARZ vam confirmá-lo amplamente.

SCHWARZ faz actuar os reagentes sobre a céllula no campo do microscópio, e no núcleo encontra cinco substáncias differentes, tal é a nitidez da differença com que se comportam a respeito das matérias chimicas. Essas substáncias sam:

1) a *Linina* [λινου, fio] correspondente ao nucleoplásma de STRASBURGER, á parachromatina de PFITZNER, que fórma os filamentos da rêde *(rêde de linina)* ou dos tubos nucleares;

2) a *Chromatina* formando granulações córadas nos filamentos de linina, correspondendo aos microsomas de STRASBURGER;

3) a *Paralinina*, substáncia homogénea intermediária, unindo os filamentos de linina;

4) a *Pyrenina* [πυρην, núcleo] formando os nucléolos verdadeiros de CARNOY;

5) a *Amphypyrenina* [αμφι, em volta πυρην núcleo], que fórma a membrana do núcleo.

Comparando as reacções destas substáncias com as dadas para a nucleína, vê-se que ha razão para as distinguir. Assim (1).

A nucleína tumefaz-se na agua distillada, bem como nas soluções alcalinas muito diluídas como o chlorêto de sódio, o sulfato de magnésio, o phosphato monopotássico e a agua de cal a 2 %; se as soluções empregadas destas substáncias

(1) HERTWIG, loc. cit., pag. 38.

forem mais concentradas, por exemplo a 10 %, a nucleína tumefaz-se primeiro e dissolve-se depois; a dissolução effectua-se aínda numa mistura de ferrocyanêto de potássio e ácido acético, nos saes ácidos concentrados, na digestão trypsica. O ácido acético em concentração de 1 a 50 % precipita-a e permitte distinguí-la num meio plásmico pelos seus grumos, dotados de um brilho particular e de uma refringéncia consideravel; estes córam-se bem pelas côres ácidas.

A pyrenina ou paranucleína, que SCHWARZ admitte como constante em todos os núcleos, formando os nucléolos, apresenta as seguintes reacções: não se dissolve em nenhum dos dissolventes da nucleína; adquire uma refringéncia notavel pela acção do ácido ósmico; córa-se bem pelas côres ammoniacaes.

A linina é insoluvel na solução saturada de sulfato de magnésio; a paralinina só se dissolve ahi em parte; a linina resiste á acção da pepsina, que dissolve a paralinina.

A amphipyrenina dissolve-se na solução de chlorêto de sódio a 10 % e mal na potassa diluída; não toma a côr de nenhum dos reagentes usuaes, nem ácidos, nem básicos.

A chromatina distingue-se da linina pela sua maior solubilidade no chlorêto de sódio a 20 %, no phosphato monopotássico, no ferro-cyanêto de potássio, onde a linina é insoluvel ou quási. Por fim o seu caracter mais saliente e notavel é a grande affinidade que manifesta para as matérias córantes.

Eis em resumo as conclusões de SCHWARZ, que HENNEGUY confirmou em parte por observações feitas em óvulos de *batráchios* e nas céllulas salivares do *Chironomus*. Como se vê ellas affectam um gráo de rigor até aqui inobtido, e acompanham-se de tal minúcia de reacções, que não póde contestar-se-lhes o alcance; a emissão de um juizo definitivo

a seu respeito só por uma verificação prática poderia fazer-se, mas na falta desta tem de concordar-se que os seus trabalhos sam de primeira ordem e que delles resulta incontestavelmente a complexidade da composição do núcleo.

Aínda neste anno de 1887 LUKJANOW confirmou as observações de BALBIANI sobre a coloração variavel dos núcleos, e portanto da existéncia nelles de substáncias chromatóphilas diversas, o que sob um certo ponto de vista condiz com as conclusões de SCHWARZ (1). Daqui por diante as observações dos cytologistas prendem-se mais especialmente á determinação do papel do phósphoro nas nucleínas.

Em 1888 e 1889 LIEBERMANN chegou a preparar artificialmente um corpo, tendo grande analogia com a nucleína de MIESCHER, combinando albumina com ácido metaphosphórico, mas reconheceu, com MALFATTI, que era extremamente variavel a quantidade de phósphoro que se fixava.

Depois ALTMANN, em 1889, levado por estas observações procurou analyzar a nucleína: precipitou-a pelo ácido acético, filtrou, e no líquido filtrado precipitou pelo ácido chlorhydrico e pelo álcool uma substáncia ácida; chamou-lhe — *ácido nucleínico,* e combinando este com a albumina reproduziu uma substáncia proteica com os caracteres da nucleína.

Ao mesmo tempo HERMANN e GUIGNARD confirmáram por novas investigações a differente córabilidade do núcleo, sendo as observações de GUIGNARD feitas na *Chara;* e KOSSEL, aínda no mesmo anno, extraiu tambem o ácido nucleínico da *levadura da cerveja,* e reconheceu que elle, tractado pelo ácido sulfúrico diluído, dá ácido phosphórico, guanina, adenina e um hydrato de carbono mal definido.

A seguir apparecem os trabalhos de AUERBACH em 1890,

---

(1) S. M. LUKJANOW: *Grundzüge einer Allgemeine Pathologie der Zelle.* Leipzig. Verlag von Veit u. Comp. 1891. Pag. 164 e segg.

que só se completam em 1891. AUERBACH procura sobretudo verificar as affirmações de BALBIANI já apontadas sobre a córação variável dos diversos núcleos que OGATA, WIELOWIEJSKI, VAN BAMBEKE, GUIGNARD, LUKJANOW e HERMANN tinham verificado já, e apurou que as observações de BALBIANI eram perfeitamente exactas. Effectivamente os núcleos não se comportam a respeito dos reagentes de fórma idéntica. AUERBACH admitte por isso no núcleo duas partes: — uma, *Cyanóphila,* possue grande affinidade para as matérias corantes azues, o verde de methylo, o azul de methylena e a hematoxylina; outra, *Erythróphila,* córa-se, pelo contrário, pelas matérias córantes vermelhas, a fuchsina, a eosina, a aurancia e o carmim. Na maior parte dos núcleos estas duas substáncias acham-se contidas em proporções quasi eguaes. Sam para elle núcleos hermaphroditas, porque a substáncia *cyanóphila* constituiria o elemento masculino, a *erythróphila* o elemento feminino. Examinando um grande número de glándulas sexuaes viu que nestes orgãos os espermatozoides reteem o azul: a cabeça dos espermatozoides toma uma côr azul intensa, o segmento médio e a cauda tomam uma côr mais ou menos vermelha. Os núcleos das céllulas femeas, pelo contrário, córam-se fortemente de vermelho, — os seus nucléolos sobre tudo. O phenómeno da fecundação resultaria portanto para AUERBACH duma mistura de substáncias *cyanóphilas* e *erythróphilas* (1). Vê-se, portanto, que a distincção no núcleo de muitas substáncias differentes é perfeitamente rigorosa.

Nesse anno de 1891, KOSSEL dá conta de novas anályses feitas no sentido de apurar a riqueza em phósphoro das nucleínas, e chega á conclusão seguinte: — é preciso distinguir dois grupos de nucleínas: 1.º as *Paranucleínas*, que sob

(1) HENNEGUY, loc. cit., pag. 94.

a acção dos ácidos diluídos se desdobram em ácido phosphórico e albumina; a este grupo pertencem a vitellina e a caseína; 2.º *Nucleínas propriamente ditas,* que nas mesmas condições se desdobram em albumina, ácido phosphórico e bases nucleínicas ou corpos xánthicos, — a xanthina, a hypoxanthina, a adenina e a guanina.

No mesmo anno SCHNEIDER e LÖWIT chegam a conclusões semelhantes pelo que respeita á complexidade do núcleo, e ALTMANN, admittindo a multiplicidade dos elementos descriptos por SCHWARTZ, teima comtudo em descobrir no núcleo grande número de granulações, que lhe constituiriam os elementos essenciaes.

No anno seguinte KOSSEL apresenta para a chromatina uma concepção análoga á descripta para a nucleína; a chromatina seria uma combinação de albumina com ácido nucleínico em proporções variadas, que seriam funcções do estado physiológico do núcleo. HEIDENHAIN apresenta a mesma opinião, mas julga que a paralinina provém de finas granulações existentes no succo nuclear e orientadas só no momento da multiplicação cellular para dar origem ás figuras achromáticas, unico momento em que se tornam revelaveis; designa-a por isso — *Lanthanina* (λανθανω estar escondido); KRASSER é da mesma opinião, depois de ter estudado o núcleo em repouso de muitas *monocotyledóneas* e *dicotyledóneas,* assim como o do *Pteris serratula* e das *Spirogyra.* Neste mesmo anno ainda ROSEN na *Scilla sibérica,* no *Hyacinthus orientalis* e na *Fritillaria foetida,* na *Marchantia polymorpha* e na *Gymnogramma chrysophila,* confirma de um modo geral as observações de BALBIANI e AUERBACH sobre a cyanophilia; STRASBURGER, porém, faz-lhe algumas restricções filiando sobretudo essas propriedades na nutrição; núcleos bem nutridos seriam — *erythróphilos;* núcleos de absorpção prejudicada seriam — *cyanóphilos.*

Por último, em 1893, REINKE volta a insistir nas granulações do succo nuclear, reiterando a opinião de que ellas formam as figuras achromáticas da caryocinese; chama á substância que as constituë — *Oedematina*. Hoje esta hypothese granular está totalmente abandonada; o proprio ALTMANN, num trabalho recente, confessa que as figuras achromáticas sam devidas aos filamentos da linina; a questão das granulações está portanto julgada. E com este resultado que até aqui colhemos assignalámos aínda outro; a diversidade de córação dos núcleos; logo sam complexos na sua composição. Ainda em 1893 ZOJA junta novas observações dos *infusórios ciliados;* a complexidade estará em harmonia com as descripções de SCHWARZ? É o que parece e é ao que se inclinam a maior parte dos cytologistas.

O assumpto hoje está nos termos seguintes: — A maior parte dos cytologistas pensam com ZIMERMANN e MALFATTI, que no núcleo ha um grande número de substáncias albuminoides; a lista dada por SCHWARZ póde muito bem ser aínda incompleta; no núcleo existe tambem uma substáncia rica em phósphoro, o ácido nucleínico, e entre as substáncias albuminoides isentas de phósphoro e este ácido, ha toda uma série de corpos nucleínicos contendo mais ou menos phósphoro. Estas substáncias do núcleo sam todavia sufficientemente especiaes para que apresentem caracteres differenciaes nítidos com todas as outras substáncias proteicas, mesmo as que contêem phósphoro: as substáncias do núcleo sam insoluveis no alcool a quente ou a frio, emquanto que a lecythina se dissolve nelle perfeitamente. O argumento mais poderoso que póde invocar-se em favor deste modo de vêr, e que não soffre em verdade contestação, é o que provém do facto das nucleínas serem separaveis em bases não phosphoradas e ácido nucleínico, separação que tem a sua prova flagrante na synthese que é possivel effe-

ctuar, como fez LIEBERMANN; de resto esta mesma anályse póde effectuar-se espontaneamente nas próprias céllulas; alguns elementos cellulares quando sam attingidos de necrobiose apresentam no logar do núcleo regiões, onde se reconhece, em vez da nucleína, as bases livres desta: xanthina ou hypoxanthina.

De harmonia com este modo de vêr estam observações de FRENKEL, aínda recentes, em 1894; e estam já as anteriores de LOEW, fazendo vegetar filamentos de *Spirogyra nitida* e *Spirogyra Weberi* em agua que contenha 0,1 % de phosphato de potássio. Os filamentos apresentam uma multiplicação cellular rápida, crescem velozmente; outros filamentos collocados como testemunhas na agua pura crescem com uma intensidade menor; ora a multiplicação dessas céllulas é, como em geral a de todas, uma funcção do seu núcleo; logo o fornecimento do phósphoro é util sobre tudo ás albuminas do núcleo, isto é, ás nucleínas.

Por outro lado as propriedades chymicas de diversas substáncias differenciadas por SCHWARZ mostra que, tanto mais ricas ellas sam em ácido nucleínico, tanto mais phosphoradas e tanto mais ácidas sam; a chromatina é muito rica em phósphoro e ella é francamente ácida; já a plastina, menos phosphorada, é menos ácida; a linina e a plastina sam-no aínda menos. A significação destes factos não póde ser outra senão a da conclusão formal: o núcleo é extremamente complexo sob o ponto de vista chymico; nelle ha substáncias muito variadas e de si mesmo já muito complicadas; provam-no as investigações da Cyanophilia e da Erytrophilia, provam-no as anályses delicadíssimas dos cytologistas; o que não é possivel é, no momento presente, assignar-lhe uma composição determinada ou acceitar sem restricções a anályse effectuada por qualquer dos biologistas, que della se teem occupado.

Para dar ideia da complicadísssima synonímia a que estes trabalhos deram origem resumo, no quadro seguinte, os termos principaes:

Nucleina [MIESCHER]

- *Nucleina soluvel* [MIESCHER, ZACHARIAS]
  - *Linina* [SCHWARZ]
  - *Nucleoplasma* [STRASBURGER]
  - *Parachromatina* [PFITZNER]
  - *Chromatina* [SCHWARZ, FLEMMING]
  - *Microsomas* [STRASBURGER]
  - *Paralinina* [SCHWARZ]
  - *Succo nuclear* [HERTWIG, ZACHARIAS]
  - *Enchylema* [HANSTEIN]
  - *Plastina* [ZACHARIAS]
  - *Lanthanina* [HEIDENHAIN]
  - *Oedematina* [F. REINKE]
- *Nucleina insoluvel* [MIESCHER, ZACHARIAS]
  - *Pyrenina* [SCHWARZ]
  - *Nucléolos verdadeiros* [CARNOY]
  - *Paranucleina* [HERTWIG, KOSSEL]
  - *Prochromatina* [PFITZNER]
  - *Amphipyrenina* [SCHWARZ]
  - *Membrana nuclear* (Todos os auctores)

V. — Novas granulações cellulares

Além das partes da céllula que até aqui tenho descripto, nestes últimos annos alguns cytologistas mencionam novas formações cellulares, que segundo uns seriam orgãos constantes da céllula, segundo outros seriam orgãos transitórios, accidentaes, apparecendo na céllula só em certos momentos da sua vitalidade. Esta divergéncia inicial mostra bem como serám differentes as interpretações que se dam a respeito do papel physiológico dessas granulações e portanto a confusão que ácerca dellas reina na cytologia. Vou vêr se comsigo descrevê-las por ordem chronológica:

Centrósomas: — Quando as céllulas se dividem por caryocinese nas extremidades oppostas da figura achromática chamada — *Fuso* apparece uma figura radiada, da qual irradiam, como dum centro, raios achromáticos, que semelham uma estrella, o que os cytologistas traduziram dando-lhe o nome de — *Aster;* e o exame do aster mostra que elle se compõe de duas partes distinctas: — um corpúsculo central e estrias finíssimas, que delle irradiam como os raios de luz irradiam de um astro luminoso.

Este corpúsculo central foi observado por VAN BENEDEN em 1874 nas espheras de segmentação dos ovos das *Dyciemidias* e por elle denominado *corpúsculo polar;* no anno seguinte FLEMMING encontrou-o no ovo das *Najades,* em 1875 e 1876 HERTWIG no da *Ursina,* em 1876 BÜTSCHLI nos da *Nephelis* e da *Limnea,* em 1879 FOL nos ovos de *Echinodermes* e de *Molluscos,* e em 1881 MARCK no *Limax agrestis;* nenhum destes auctores emittiu porém a respeito

delle juizo seguro e só em 1883, VAN BENEDEN, depois do estudo da *Ascaris megalocephala* apresentou do corpúsculo polar uma descripção rigorosa, a qual foi ampliada depois em 1887.

Para VAN BENEDEN o *Aster* compõe-se do corpúsculo polar e da figura radiada: ao primeiro chama *corpúsculo central* ou *centrosoma;* á segunda chama — *esphera attractiva.*

O centrosoma apresenta se ordinariamente como um gránulo refringente extremamente pequeno, que toca o limite das coisas visiveis, que muitas vezes não attinge o diámetro dos microorganismos mais insignificantes; córa-se vivamente por alguns reagentes, especialmente pelas côres ácidas da anilina, como a fuchsina ácida e a safranina; e nunca é possivel obter do centrosoma uma córação egual á que se obtem de qualquer das outras partes da céllula; por isso VAN BENEDEN apresentou o centrosoma como corpúsculo, que, pelas suas reacções histo-micro-chymicas, se differenceia, individualiza e separa de todas as outras formações cellulares. Fácil de perceber principalmente no momento da divisão cellular, o centrosoma é comtudo visivel tambem na céllula em repouso, já em plantas, já em tecidos animaes (Fig. XVI), muitas vezes alojado numa depressão da parede nuclear; a sua existéncia é portanto independente do *Fuso*, posto desempenhe na cytodiérese um papel notavel.

Quanto á esphera attractiva, ella é formada por uma pequena zona clara, mal limitada, apresentando uma refrangibilidade um pouco differente da do resto do protoplasma, na qual radiam pequenos filamentos incolores, que só nalguns casos fixam levemente algumas substáncias córantes; ás vezes a camada externa do protoplasma desta zona é mais fácilmente córavel do que a parte central; VAN BENEDEN chamou-lhe por isso — *camada cortical.*

Deste conjuncto descriptivo resulta que o *Aster* se compõe afinal de:— *centrosoma, esphera attractiva* (com ou sem camada cortical) e *raios incolores,* divergindo como os dum astro.

Fig. XVI — Leucócyto do peritoneu duma larva da *Salamandra.* A fim de tornar a figura mais nitida, cercou-se o corpúsculo central na esphera radiada dum halo claro, que na realidade não existe (segundo Flemming).

No mesmo anno em que van Beneden apresentou esta descripção, Boveri confirmou as suas descripções na *Ascaris,* e em 1887 e 1888 Vejdowski fez constatações notaveis no *Rhynchelmis limosella,* cujos ovos fecundados estudou. Para Vejdowski nesses ovos ha centrosomas mas derivados do espermatozoide; o óvulo não os conteria: a cabeça do espermatozoide depois de entrada no ôvo cercar-se-ia de uma camada de protoplasma especial, — o *periplasta,* que elle pensa provir da cauda do espermatozoide. Durante a conjugação do pronúcleo masculino com o feminino, o periplasta divide-se em dois periplastas-filhos, que se collocam nas extremidades do núcleo de segmentação e constituem as suas duas espheras attractivas; estas derivariam portanto do espermatozoide

Temos aqui já, como se vê, a confirmação da existéncia do centrosoma e uma tentativa para se lhe fixar a origem; Boveri acceita esta opinião de Vejdowski; para elle o espermatozoide introduz no ôvo um centrosoma, que se rodeia de uma massa especial de protoplasma, — o *archoplasma;* o centrosoma, como o archoplasma, dividem-se e dam as duas espheras attractivas do primeiro núcleo de segmentação.

Seja como fôr, nesse mesmo anno GARNAULT encontra o centrosoma nos ovos da *Helix* e VIALLETON nas céllulas de segmentação da *Siba;* chama-lhes — *manchas polares* e affirma tê-las visto dividir independentemente dos núcleos e tornarem-se os centros de formação dos *Asters.*

KOELLIKER em 1889 nos *Amphíbios*, observando-o aínda nos ovos, reconhece que o centrosoma existe ao lado do núcleo, mesmo quando a céllula está em repouso; no mesmo anno RABL encontra-o nos tecidos do *Tritão* e da *Salamandra,* mas no momento em que a divisão do núcleo vae iniciar-se. SCHULTZE em 1890 encontra-o nos blastómeros do *Axolotl;* HERMANN nos espermatócytos da *Salamandra;* daqui por diante a existéncia dos centrosomas vae encontrar-se noutros elementos cellulares differentes dos ovos.

Em 1891 SOLGER encontra as espheras attractivas nas céllulas pigmentares da pelle da *Solha* e do *Carapau.* No mesmo anno HERMANN dá novas descripções dos centrosomas das céllulas espermáticas em repouso da *Salamandra,* mostrando que elles se dividem; ambas as observações sam minuciosas. FLEMMING encontra-os nas céllulas dos tecidos da *Salamandra,* mesmo no estado quiescente: céllulas endotheliaes do peritoneu, endotheliaes do pulmão, céllulas conjunctivas do peritoneu e do mesentério; os centrosomas sam tam pequenos que apenas attingem o limite da visibilidade; ás vezes apparecem dois e esse facto deve ter-se como indício da próxima divisão do núcleo (Fig. XVII). GUIGNARD encontra o centrosoma nas céllulas vegetaes e dá ás espheras attractivas o nome de *espheras directrizes;* apparecem nas céllulas mães do pollen do *Lilium, Fritillaria, Najas, Listera,* esporanjios dos *Fetos* e dos *Isoetos,* sempre dois. HENNEGUY encontrou a mesma disposição nas céllulas embryonárias da *Truta.* GUIGNARD e FOL procuráram fixar a

origem dos centrosomas pelo estudo da fecundação das *Li-*

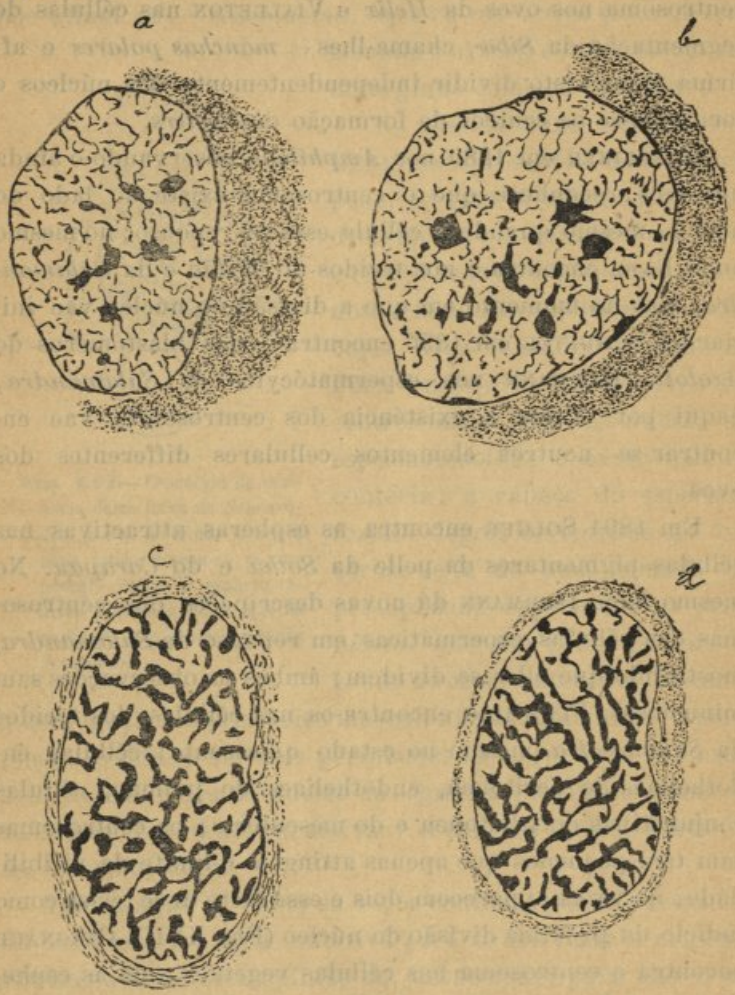

Fig. XVII — Núcleos de cellulas endotheliaes do peritoneu de larvas da *Salamandra*. Apenas uma parte do cytoplasma foi representada em negro diffuso. *a* e *b*): ao lado do núcleo vê-se um centrosoma no meio de uma pequena mancha clara; na figura *a* o controsoma desdobrou-se. *c* e *d*): núcleos no começo de divisão; os dois centrosomas estám em *d* reunidos por filamentos, os quaes serám a origem do fuso central (segundo Flemming).

liáceas e apresentam uma opinião differente da já emittida por VEDJOWSKI e BOVERI: para elles a cabeça do espermatozoide ou núcleo sexuado do grão do pollen, introduz no ovo um centrosoma masculino ou *Espermatocentro,* que se divide em dois. Cada um destes conjuga-se, funde-se com uma das metades do centrosoma feminino ou *Ovocentro.* Os productos fundidos sam os centrosomas do primeiro núcleo de segmentação; portanto, os centrosomas de todas as céllulas do organismo provêem simultaneamente do elemento masculino e feminino. BURGER aínda neste anno encontrou centrosomas em céllulas quiescentes, céllulas livres do *Amphiporus pulcher, latifloreus reticulatus;* mas BURGER, no anno seguinte, em 1892, considera os centrosomas effeitos ópticos e não formações reaes.

A opinião de BURGER não foi acceita; e logo nesse anno de 1892 apparece um grande número de trabalhos. FLEMMING encontrou centrosomas, durante a primavera, nas grandes céllulas de núcleos polymorphos ou *céllulas de* BELLONCI do testiculo da *Salamandra* e emitte a opinião de que talvez elles não tenham uma existéncia constante e sejam destinados a degenerar e desapparecer. HANSEMANN encontrou-os nas céllulas do mesentério do *Coelho* e do *Gato* recemnascidos, assim como nas céllulas embryonárias dos *tecidos cicatriciaes* e nas céllulas conjunctivas do *carcinoma do seio.* HEIDENHAIN achou-os nos leucócytos da parede intestinal da *Salamandra,* nas céllulas gigantes da *medulla dos ossos* e nos leucócytos da *expectoração* de um doente attingido de *Pneumonia.*

No anno seguinte, — 1893, — HEIDENHAIN estuda o problema com mais cuidado e junta alguma coisa de novo: admitte que a duplicidade dos centrosomas é a regra; ás vezes, porém, estám tão próximos que parece não formarem senão um único corpúsculo; mas na máxima parte das cél-

lulas ha dois e ás vezes é possivel ainda vêr, ao lado dos dois centrosomas, um corpúsculo accessório mais pequeno: um filamento tenuíssimo parece unir os três corpúsculos; constituë-se assim um systema triangular a que HEIDENHAIN chamou — *microcentro;* algumas vezes existe aínda uma quarta granulação e o *microcentro* toma a fórma de um tetraédro; ulteriormente, HEIDENHAIN descreveu nas céllulas gigantes da medulla óssea dos *mammíferos* microcentros constituídos por um número consideravel de centrosomas, — quarenta, sessenta e mesmo mais.

HENNEGUY no mesmo anno conseguiu verificar algumas destas descripções; nas céllulas conjunctivas de larvas do *Axolotl,* por exemplo, encontrou dois centrosomas unidos por filamentos, tomando o aspecto de um haltér; na camada lymphoide do fígado da *Salamandra* encontrou céllulas com um centrosoma único, outras com dois, mas então nas proximidades da divisão; outras aínda com um microcentro de três centrosomas semelhante ao descripto por HEIDENHAIN. HENNEGUY encontrou aínda o centrosoma nas céllulas emigradoras da cauda das larvas do *Axolotl* e nas céllulas quiescentes do testículo da *Salamandra* e do *Tritão.*

WATASÉ, neste mesmo anno, apparece aínda a considerar os centrosomas como uma varicosidade fibrillar, como um microsoma mais volumoso do que os outros, mas alguns observadores juntam novos factos positivos: LUSTIG e GALEOTTI encontram-os nas céllulas epitheliaes do *Carcinoma* e admittem a sua existéncia em todas as céllulas; BLOUE encontrou-os na *Truta,* e VOM RATH e HÄCKER na *Siba crystallina.* HÄCKER dá do centrosoma uma descripção minuciosíssima e descreve as variações notaveis porque elle passa durante a divisão caryocinética.

Durante a prophase a esphera attractiva apresenta-se com o seu aspecto mais habitual: — o centrosoma homogé-

neo é cercado por uma zona clara, fóra da qual se encontra uma zona granulosa, da qual partem as radiações do *Aster*. Quando começa a anaphase e os chromsomas se dirigem para os polos, a figura muda de aspecto. O centrosoma augmenta de volume; na sua parte central ha uma vesícula clara cercada de uma camada fortemente córavel; a zona medullar incolor desappareceu e é substituída por uma camada córavel exactamente applicada na peripheria do centrosoma. Fóra da camada córavel acha-se uma área incolor occupando o logar da camada granulosa córavel primitiva; emfim, fóra desta, ha aínda uma outra zona granulosa córavel.

Os centrosomas pequenos e a custo visiveis antes da divisão do núcleo, augmentam de volume durante esta divisão; tornam-se quatro vezes maiores; dividem-se ao mesmo tempo que a esphera attractiva, depois voltam ao estado primitivo. HENNEGUY, em investigações praticadas nas céllulas testiculares da *Helix aspersa*, da *Helix pomatia*, do *Pyrrhocoris apterus*, do *Caloptenus italicus*, da *Forficula* e da *Salamandra*, encontrou resultados harmónicos com os de HÄCKER e não rejeita por isso as ideias deste, que por outro lado quadram com o facto apontado por todos da visibilidade dos centrosomas no momento da caryocinese; acceita essas modificações do protoplasma em tôrno do centrosoma, as quaes dariam razão a STRASBURGER quando creou o cinoplasma.

BRAUER no mesmo anno encontrou centrosomas nas *Ascárides do cavallo*; na variedade *univalens* descreve-o dentro do núcleo; na variedade *bivalens* fóra; para BRAUER esta differença de localização é illusória: o centrosoma está sempre dentro do núcleo; no momento da multiplicação emigra para fóra delle; se duas multiplicações successivas sam próximas, é possivel observá-lo aínda fóra do núcleo; se sam

distantes, então a localização intranuclear é a regra; o que não offerece dúvida é que o centrosoma se divide com o núcleo. KARSTEN aínda no mesmo anno mostra-se partidário desta origem nuclear; JULIN é da mesma opinião, ISHIKAWA da contrária. As observações destes foram feitas nos *Noctilucos,* e outros protozoários; ISHIKAWA ao mesmo tempo que demonstrava a existéncia nestes de centrosomas, mostrava que eram independentes do núcleo. (Fig. XVIII).

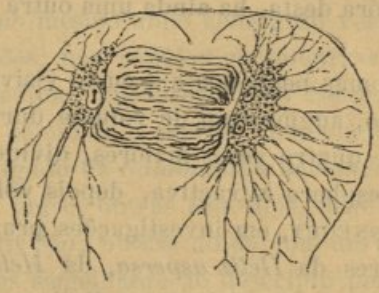

Fig. XVIII — Núcleo de um gommo de *Noctiluco* em via de divisão. Á direita um dos centrosomas está a dividir-se. Fixação pelos ácidos pícrico e acético; córação pelo azul de methylena (segundo ISHIKAWA).

Por último, aínda neste anno de 1893, HENNEGUY publíca os resultados das suas observações na parablasta da *Truta* e evidencía com elle o papel já attribuído aos centrosomas; estes seriam verdadeiros centros de attracção para os chromosomas.

Effectivamente, quando a divisão nuclear é tripolar ou quadripolar, observa-se uma disposição de chromosomas perfeitamente em harmonia com a força attractiva dos centrosomas; é o que, melhor que qualquer descripção, repre-

senta a Fig. XIX: os chromosomas do fuso — H são claramente influenciados pelo centrosoma — C. Estas observações vieram justificar asserções anteriores de DENYS (1886), HOWELL (1890), VAN DER STRICHT e VAN BAMBEKE (1892) sobre as figuras multipolares, que observáram nas céllulas gigantes da medulla óssea e que designáram por — *Polycaryocytos* e as de KOSTANEKI (1892), que encontrou figuras semelhantes nas céllulas gigantes do fígado embryonário

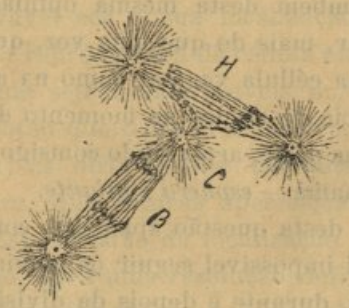

Fig. XIX — Núcleos parablásticos da *Truta*. O fuso *B* exerce uma acção perturbadora sobre a formação dos Dyasters do fuso H; a esphera attractiva *C* exerce uma acção sobre os chromosomas de *H* (segundo HENNEGUY).

dos *mammíferos*, as quaes designou por — *megacaryocytos*; essas figuras foram primeiro postas em dúvida; pois as descripções de HENNEGUY mostram que eram verdadeiras, ao mesmo tempo que evidencíam a acção directriz dos centrosomas.

Depois, em 1894, GUIGNARD apresenta novos resultados tendentes a mostrar que o centrosoma é extra-nuclear: nas céllulas quiescentes da *Sphacellária* elle existe fóra do nú-

cleo; nas da *Cerotoxamia* e da *Osmunda* é facil de ver durante a prophase, emquanto o núcleo está aínda intacto. No tratado de HERTWIG publicado neste anno de 1894, e que tanto tenho citado, mostra-se este auctor partidário da localização intranuclear (pag. 55 ; habitualmente o centrosoma fórma mesmo uma espécie de nucléolo mais notavel do que os outros, porque está differenciado para uma funcção importante; e só excepcionalmente elle apparece ao lado do núcleo a formar como que um núcleo accessório; isso só succede no momento da divisão cellular.

BRANDT é tambem desta mesma opinião e affirma ter podido constatar, mais do que uma vez, que o corpúsculo central, tanto na céllula vegetal como na animal, se transporta á superfície do núcleo no momento da divisão, e perfura a membrana deste, arrastando comsigo a esphera attractiva, que se chama — *esphera radiante.*

A resolução desta questão apparece, como se vê, muito difficil. É quasi impossivel seguir os movimentos dos centrosomas, antes, durante e depois da divisão do núcleo: — 1.º porque elles sam extraordináriamente pequenos; 2.º porque não foi possivel revelá-los sempre com o auxilio das matérias córantes; mesmo durante a divisão, a maneira principal porque nós os distinguimos é pelas radiações protoplásmicas que os cercam. Ora pela hypóthese da inclusão nuclear pleiteiam as seguintes razões, que HERTWIG apresenta: em primeiro logar, abstraíndo dum pequeno número de casos, o centrosoma não é visivel no seio do protoplasma; em segundo logar, no princípio da divisão o centrosoma apparece intimamente applicado contra a parede nuclear e só ulteriormente della se afasta para o seio do protoplasma; em terceiro logar, no momento da apparição do centrosoma, a membrana nuclear é frequentemente deprimida, como se houvesse uma expulsão de succo nuclear effectuada pelo

ponto em que o centrosoma se applicava contra ella; em quarto logar a apparição do centrosoma coincide em muitas céllulas com a desapparição dos nucléolos que sam corpos intranucleares.

Vê-se que se trata de uma argumentação rigorosa, e aínda ha pouco LEE, no estudo dos espermatozoides da *Helix*, constatou a falta de centrosomas (1); mas, se attendermos ao grande número de observações positivas, que apresentam a existéncia do centrosoma como verificada no estado quiescente dos núcleos, havemos de confessar que é possivel e provavel ser a sua localização extranuclear; ligados á funcção reproductora da céllula nada surprehende que os centrosomas sejam mais visiveis no momento della se effectuar; é então que o orgão se mostra, porque é então que elle é activo; as difficuldades téchnicas é que criam embaraços actuaes, que futuros aperfeiçoamentos decerto desvanecerám. Esta questão da localização do centrosoma transita, portanto, para uma resolução definitiva, a favor da localização extranuclear.

A questão da existéncia dos centrosomas é resolvida; os materiaes colhidos sam tam abundantes que a conclusão razoavel parece ser a de admittir que onde os centrosomas não foram aínda encontrados sê-lo-hão num futuro mais ou menos próximo. A questão da sua funcção parece tambem não dever deixar dúvidas: o centrosoma divide-se como o núcleo e exerce um papel attractivo sobre os chromosomas. A questão da sua origem essa é inteiramente obscura e, por emquanto, indeterminada.

---

(1) ARTHUR BOLLES LEE. *Sur le Nebenkern, et sur la formation du fuseau dans les spermatocytes des Helix. La cellule.* Tomo XI, pag. 226.

Para resumir a synonímia confusa dos auctores, affigura-se-me auxílio de valor o seguinte quadro de correspondéncias:

Corpúsculo polar . . .	[VAN BENEDEN]
Corpúsculo central . .	[VAN BENEDEN]
Centrosoma	[BOVERI]
Manchas polares	[VIALLETON]
Esphera attractiva . .	[VAN BENEDEN]
Archoplasma	[BOVERI]
Espheras directrizes . .	[GUIGNARD]
Espheras radiantes . .	[BRANDT]

*

Corpo vitellino de BALBIANI:—Nos óvulos de differentes animaes observou-se um corpúsculo especial, que apresenta caracteres distinctos de todas as outras partes do ôvo, não se confundindo nem com o núcleo ou vesícula germinativa, nem com o nucléolo ou mancha germinativa; esse corpúsculo foi primeiro observado por VON WITTICH em 1845, no ovo ovárico de certas *aranhas,* como a *Lycosa,* a *Tegenaria,* a *Thomisus,* etc. e foi descripto por elle como formado de camadas concentricas, periphéricas, cercando uma cavidade central bem distincta da vesícula germinativa, posto seja egualmente vesiculosa; em ovos postos VON WITTICH observou-o tambem.

Em 1848 SIEBOLD encontrou o mesmo corpo com disposição semelhante nos ovos da *Lycosa, Thomisus, Dolomedes, Salticus* e *Tegenaria* e considerou-o como um núcleo; cha-

mou-lhe por isso — *núcleo vitellino*. CRAMER observou-o nos ovos da *Rana temporaria*. Em 1850 CARUS encontra-o nos mesmos ovos e chama-lhe — *Dotterkern*. COSTE em 1850 encontra o *Dotterken* nos ovos ováricos da *Gallinha;* LEUCKART em 1858 observa-o novamente na *Rana temporária*.

A seguir, em 1864, BALBIANI estuda-o num grande número de ovos; designa este corpúsculo singular por — *núcleo vitellino,* como o havia feito SIEBOLD, e reconhece nelle uma vesícula mais pequena do que a germinativa mas cheia duma substáncia clara e límpida, na qual estam immersas diversas granulações, ás vezes uma só, central; em volta dessa vesícula ha protoplasma condensado, que ás vezes está cheio, tambem, de granulações. As suas observações sam numerosas e incidiram sobre um grande número de ovos: do *Geophilus longicornis,* da *Tegenária doméstica;* em muitas *aranhas* como a *Clubiona,* a *Attus,* a *Argus,* a *Lycosa,* etc.; num crustáceo, — o *Oniscus,* e num mollusco, — a *Helix*. Em 1867 MILNE EDWARDS encontra-o tambem e confirma a descripção de BALBIANI; para prestar homenagem a este, MILNE EDWARDS designa o núcleo por — *vesícula de* BALBIANI ou *vesícula embryogénica*.

A observação é tão geral, a vesícula de BALBIANI tam permanente, que já em 1871 RANVIER, na primeira edição francêsa do *Tratado de histologia* de FREY, se exprime a respeito della deste modo: — «resulta das investigações de BALBIANI, que na série animal, desde os *Insectos* até ao *Homem,* ao lado da vesícula germinativa se encontra constantemente um segundo núcleo, *céllula embryogénica* ou de BALBIANI». Effectivamente, a partir desta data as observações accumulam-se mostrando a presença da vesícula de BALBIANI em todos os ovos. Em 1872 BALBIANI e VAN BAMBEKE descrevem-na nos ovos ováricos dos *Peixes ósseos;* em 1879 BALBIANI publíca o conjuncto das suas observações e

mostra a existéncia da vesícula embryogénica nos *Cicádidos*, nos *Aleurados*, nas *Coccídeas* de alguns *Ichneumónios* — a *Pimpla*, o *Tryphon*, o *Ophion*, etc., nos peixes cartilagíneos *Raia*, *Squatina angellus*, nos óvulos do orgão de BIDDER do *Sapo*, nos óvulos da *Gallinha*, do *Pardal*, do *Pavoncino*, nos da *Cadella*, do *Gato*, do *Esquilo*, da *Vacca* e da *Mulher*; nos annos seguintes a lista accrescenta-se notavelmente e a vesícula de BALBIANI é encontrada: — em 1880 por SCHÄFER no *Coelho* e por VAN BENEDEN no *Vespertílio mystacinus*; em 1881 por GASPARIS na *Comatula*; em 1882 por EMERY no *Fierasfer*, por GÖTTE no *Asteracanthion glacial*, por HEUKING no *Trombidium fuliginosum*, por IIJIMA nos *Nephelis*, por IWAKAWA no *Tritão pyrrhogaster*; em 1887 por VALAORITIS na *Salamandra maculata* e REIN no *Coelho*, etc. A lista alastra-se quasi para toda a série animal e a vesícula de BALBIANI é descripta e figurada com todo o rigor (Fig. XX); dahi por diante os factos novos não teem senão confirmado a descripção de BALBIANI; taes sam os de RANVIER no *Rato*, os de HENNEGUY nos *Ratos*, *Cavias*, e outros vertebrados. A existéncia da vesícula de BALBIANI é admittida por todos, e para evitar confusões como no ôvo o núcleo se chama já — *vesícula germinativa*, é conveniente usar para esta formação novamente descripta um termo differente: serve o de *corpo vitellino* de BALBIANI, proposto por HENNEGUY.

Fig. XX — Corpo vitellino de *Lithobius forficatus* (segundo BALBIANI).

Das descripções de BALBIANI, que um grande número de observadores acceita, resultou a determinação da origem do corpo vitellino. A princípio BALBIANI considerou-o como uma verdadeira céllula, proveniente do epithélio follicular, que emigraria para o ôvo e ahi desempenharia as funcções de elemento masculino onde a fecundação faltava; seria o

corpo de BALBIANI que effectuaria esta; depois a sua influência far-se-hia sobretudo sentir na constituíção dos elementos plásticos do ôvo; esta hypóthese foi acceita por SIEBOLD, por CARUS, aínda por SABATIER, mas este ajuntou que o corpo vitellino se unía com o espermatozoide no momento da fecundação, para o exercício desta; MILNE EDWARDS acceitou este modo de vêr e exprimiu-o na sua designação de — *vesícula embryogénica.*

Muitos auctores porém repudiaram estas ideias e alguns, vendo-se na impossibilidade de assignar ao corpo vitellino um papel definido, limitáram-se a designá-lo por — *corpo enigmático;* outros suppozeram-no um producto da secreção interna do protoplasma; uma substáncia de reserva análoga a tantas outras, ao amylo, á aleurona; esse juizo emittiram ALLEN THOMSON primeiro, LUBBOCK, VON IHRING, SCHÜTZ, SCHIMKEWITSCH e MONTICELLI depois.

Afinal BALBIANI resolveu a questão. Nem as suas ideias primitivas eram verdadeiras, nem as emittidas depois o eram tambem; o corpo vitellino é de origem nuclear, provém da vesicula germinativa e ou desapparece pouco depois, sendo reabsorvido, como acontece na maior parte dos vertebrados, ou permanece excepcionalmente a ponto de se encontrar aínda nos ovos de alguns vertebrados, já em estado adiantado de desenvolvimento. Assim o encontráram já RANVIER no *Rato,* VAN BENEDEN no *Morcêgo,* REIN no *Coelho:* nos invertebrados a persisténcia é a regra; na *Tegenária,* por exemplo, elle é observavel no ôvo posto e depois aínda no embryão, e na nova aranha, onde se encontra na parte posterior e dorsal da região abdominal. Foi nos ovos desta mesma aranha que BALBIANI viu separar-se da vesicula germinativa um pequeno gommo esphérico de conteúdo granuloso; um pouco mais tarde este pequeno gommo nuclear afasta-se da vesícula germinativa e cerca-se inteiramente

de substáncia vitellina transparente; pouco depois esta substáncia condensa-se e fórma uma zona refringente e homogénea, no seio da qual apparecem estrias ou granulações concéntricas. Aínda recentemente HENNEGUY num Teleósteo, — o *Syngnathus acus*, — confirmou esta origem nuclear do corpo vitellino, a qual ficou resolvida.

Outro tanto não succede ao papel physiológico, que desempenha. A este respeito não ha factos apurados e os cytologistas perdem-se aínda na emissão de hypótheses gratuitas. BALBIANI considera o corpo vitellino como o centrosoma do ôvo, cuja esphera attractiva sería representada pela zona granulosa que o cerca; apenas este centrosoma sería destinado a desapparecer, porque a sua funcção é desnecessária; tanto que na maioria dos vertebrados tem uma existéncia fugaz; naquelles em que permanece, assim como nos invertebrados, toma um notavel augmento de volume, mas isso não representa senão uma fórma de desapparição por degenerescéncia hypertróphica. HENNEGUY considera-o como um micro-núcleo do ôvo; os restantes reservam-se a este respeito; esse ponto deve portanto considerar-se como totalmente por elucidar.

A synonímia que diz respeito ao corpo de BALBIANI é complexa, mas resume-se assim:

Núcleo vitellino ..... [SIEBOLD]
Dotterkern ..... [CARUS]
Vesícula de BALBIANI..... [MILNE EDWARDS]
Vesícula embryogénica ..... [MILNE EDWARDS]
Corpo enigmático..... [Vários auctores]
Corpo vitellino de BALBIANI .. [HENNEGUY]

*

Corpos fusiformes de Oscar Hertwig: — Em 1884, Hertwig encontrou nos óvos ováricos de vários amphíbios differentes producções vitellinas, fusiformes, hyalinas, que ora occupam uma posição próxima da vesícula germinativa, ora próxima da camada cortical, e cujo número, fórma e dimensões sam variadas; sam todavia, em geral, alongadas e fusiformes e, faltando nos ovos muito novos, sam entretante abundantes nos ovos adeantados, particularmente nos da *Rana temporaria,* que é onde se observam melhor; Hertwig encontrou-as tambem na *Rana esculenta,* mas nunca póde vê-las no *Bombinator,* nem no *Sapo,* nem na *Rella.* Jatta tinha já encontrado formações análogas em 1882 no *Asteracanthion* e Scharff em 1888 e van Bambecke em 1893 encontráram-nas nos *Peixes ósseos;* mas nenhum delles, como faz Hertwig, se pronuncía sobre a formação ou a significação destas producções. Ellas constituëm portanto um ponto de estudo a affectuar.

*

Reifungsballen de Stuhlmann:—Em 1884, Blochmann na oogénese de alguns hymenópteros como o *Campanotus ligniperda,* a *Formiga,* a *Myrmica, a Vespa,* notou que a vesícula germinativa produz por gemmação um grande nú-

mero de pequenas vesículas encerrando uma parte da rêde chromática do núcleo; estas vesículas transformam-se em núcleos volumosos, que se espalham no protoplasma e por fim degeneram. Em 1886 STUHLMANN verificou estas observações e constatou a veracidade dellas nos ovos de differentes insectos *Aphrophora, Musca, Periplaneta, Gryllotalpa, Locusta, Pieris, Sphinx* e ainda em muitas espécies de *Coleópteros* e *Hymenópteros;* vio perfeitamente a origem vesicular dessas formações e a sua degenerescéncia ulterior; considerou-as por isso como substituindo os glóbulos polares nos insectos e denominou-as — *Reifungsballen.* Em 1890, KORSCHELT na *Mosca,* LAMEERE no *Campanotus,* e ulteriormente ainda HENNEGUY na *Abelha* confirmáram as observações de BLOCHMANN e de STUHLMAN; mas ninguem se arrisca a suppôr verdadeira a interpretação deste, assim como ninguem se atreve a negá-la. Esperemos novas investigações e depois emittiremos juizo.

*

Os **Nebenkerne:** — Num certo número de céllulas apparecem ao lado do núcleo granulações, que os cytologistas teem apontado como núcleos accessórios; é preciso porém não comprehender nesta designação o micronúcleo dos infusórios. Sabe-se em verdade que os infusórios se distinguem dos outros animaes inferiores por um caracter muito curioso, o qual consiste em ser o seu apparelho nuclear differenciado em dois núcleos de valor physiológico desegual. Um dos núcleos é volumoso: chama-se — *macronúcleo* ou *núcleo propriamente dito;* outro é pequeno, insignificante e tem

sido chamado impropriamente — *nucléolo;* alguns cytologistas chamáram-lhe — *Micronúcleo* ou *Endoplástula* ou ainda *Núcleo sexual* (**Geschlechtskern de** Bütschli). Quando os infusórios estam bem alimentados, multiplicam-se por divisão transversal e, nesse momento, *macronúcleo* e *micronúcleo* alongam-se e dividem-se simultaneamente em dois; o *macronúcleo* é em seguida reabsorvido, desapparecendo totalmente como um orgão que terminou o seu papel, emquanto que o *micronúcleo* se conserva e se transforma em macronúcleo; o micronúcleo é portanto um verdadeiro núcleo, latente sim, mas de funcções innegaveis; e não deve por isso julgar-se incluído no capitulo que vou relatando. Aqui vou descrever um certo número de granulações encontradas muito recentemente nas céllulas e que os cytologistas teem chamado—*nucleos accessórios* ou *Nebenkerne;* granulações estas cujo papel é extremamente obscuro, o que aquella designação parece contradictar; tambem, por isso, eu implicitamente a rejeito quando subordino esta descripção ao titulo geral de *Nebenkerne.*

Em 1867 La Valette Saint-George descobriu nos espermatides das *cavias* e de alguns *molluscos,* na visinhança do núcleo, um corpúsculo refringente, de fórma globosa, arredondada ou oval, especial e constante. Chamou-lhe — *corpusculo brilhante* ou *refringente* e suppô-lo destinado a formar o capuz cephalico (Kopfkappe) do espermatozoide; mais tarde julgou que elle formaria a propria cabeça do espermatozoide.

Em 1868 Metchnikoff encontrou a mesma formação em vários molluscos e Balbiani no anno seguinte, ao estudar a espermatogénese do *Pulgão* acceita a segunda opinião de La Valette e chama ao corpúsculo brilhante — *Corpusculo cephálico* ou *vesícula espermatogénica.* Em 1871, Bütschli encontra-o nas céllulas testiculares de diversos *Coleópteros*

e *Orthópteros* e designa-o por — *Nebenkern;* depois um grande número de observadores encontram o mesmo corpo. MERKEL em 1874 observou-o nas céllulas testiculares de muitos vertebrados; julga-o destinado a formar a cauda do espermatozoide (Spitzenkopf) mas a sua opinião não é acceita: logo em 1878 GROBHEN encontra-o nos *Crustáceos,* em 1879 MATHIAS DUVAL na *Paludina vivípara* e outros *Molluscos,* filiando-se na opinião de BALBIANI.

Em 1881 e 1882 apparecem os trabalhos de NUSSBAUM sobre o assumpto, e este mostra que os *Nebenkerne* existem em muitas céllulas differentes das sexuaes; encontrou-os nas céllulas de diversas glándulas da *Rana esculenta, do Camarão,* da *Salamandra,* do *Tritão,* do *Argulus* e da *Anguinha;* e GAULE, no mesmo anno, annuncia ter descoberto nestes corpos uma verdadeira rêde nuclear.

Em 1883 OGATA estuda-os nas céllulas pancreáticas; quando o pancreas está em actividade, nas suas céllulas apparecem *Nebenkerne,* dos quaes uns se córam como o cytoplasma, outros como o núcleo. OGATA deduz deste facto uma interpretação nova: — os *Nebenkerne* seriam corpos análogos aos micronúcleos dos infusórios destinados a transformar-se em núcleos, quando o núcleo das céllulas degenere; tanto assim, que elles não apparecem nas céllulas pancreáticas em repouso, e de resto elles occupam quasi sempre a peripheria das céllulas; effectivamente LEYDIG aínda em 1883 os observou na peripheria das céllulas da glándula salivar da *Nepa cineria,* e em 1884 FLEMMING achou-os tambam nas glándulas lympháticas do *Boi* e do *Coelho* **(tingible Korper);** entretanto ninguem se pronuncia sobre a opinião de OGATA apesar de em 1884 DREW encontrar os corpos córaveis de FLEMMING nas amygdalas da *Cavia,* do *Bode,* do *Gato, e do Coelho,* MOEBIUS no páncreas do *Coelho* e da *Cavia,* SCHEDEL no thymo da *Vitella,* do *Bode,* do *Gato* e do *Coelho.*

Em 1885 PLATNER encontra os *Nebenkerne* nas céllulas do páncreas da *Salamandra,* mas não acceita a opinião de OGATA; suppõe por seu lado que elles provêem por gemmação do núcleo cellular e que sam destinados a desapparecer; no anno seguinte descreve os *Nebenkerne* nos espermatócytos dos *Lepidópteros* e *Gasterópodos pulmonados,* e ao mesmo tempo indica que nestas céllulas parece vêr-se a existéncia de pequenos filamentos unindo entre si as céllulas, como que lançadas do seio do protoplasma de umas através do protoplasma das outras.

Em 1887 LUKJANOW encontrou formações idénticas nas céllulas do epithélio e das glándulas do estomago da *Salamandra,* nas céllulas musculares da mesma e chamou-lhes — *formações nucleoides.* Em 1888 STEINHAUS encontra os *Nebenkerne* nas céllulas endotheliaes do intestino da *Salamandra* e inclina-se sensivelmente para as opiniões de OGATA sobre o seu destino; PRENANT no mesmo anno descreve, nas céllulas seminaes dos *Gasterópodos pulmonados,* os filamentos unidores das céllulas entre si, que PLATNER tinha indiciado; e HERMANN admitte a origem nuclear dos *Nebenkerne* depois de os estudar nos espermatozoides da *Salamandra.* Em 1890 NICOLAIDES e MELLISSINOS fizeram o estudo dos *Nebenkerne* nas céllulas do páncreas do *cão,* e admittem a origem nuclear delles, mas de modo nenhum a transformação ulterior em núcleos, que OGATA admittiu; depois, em 1891, ZIMMERMANN descreve os *Nebenkerne* nas céllulas da *Helix* e ao mesmo tempo encontra nestas os filamentos lançados de céllula a céllula, que PLATNER tinha apontado; chama-lhes laço cellular *(Zellkoppel).*

Em 1892 EBERTH e KARL MÜLLER estudam novamente os *Nebenkerne* no páncreas da *Salamandra,* da *Rã* e da *Solha,* encontram-nos, mas não se pronunciam nem sobre a sua origem, nem sobre o seu destino; limitam-se a affirmar que

não acceitam a opinião de OGATA sobre a sua pretendida transformação tardia em núcleos; a esta altura já ninguem duvida da existéncia dos *Nebenkerne* e realmente vê-se que assim deve ser; daqui por diante tambem póde dizer-se que toda a gente os encontra; em 1893 WER ECKE descreveu-os aínda no páncreas da *Rã* e do *Cão;* RANVIER nas céllulas do nódulo sesamoide do tendão de Achilles da *Rã;* HENNEGUY nas céllulas do páncreas e do intestino da *Salamandra* e nas céllulas hepáticas do *Camarão.* Aqui os *Nebenkerne* apparecem como um vacúolo pequeníssimo contendo no seu interior um corpo homogénio ou muitos corpúsculos em fórma de bastonetes, em volta do qual o protoplasma fórma tenuíssimas fibrillas, tendendo todas para se disporem em camadas concéntricas.

Estudando o *Nebenkern* nos espermatócytos do *Caloptenus italicus,* HENNEGUY encontrou esta mesma disposição; mas ahi observou mais o laço cellular de ZIMMERMANN, laço que ulteriormente desappareceu e que ficára algum tempo como vestígio da figura achromática; num estado avançado de divisão, ou melhor, quando esta está inteiramente terminada, o laço cellular desapparece e na parte central de cada céllula não fica senão uma pequena massa granulosa, que é o *Nebenkern;* este não é portanto mais do que um resto da figura achromática e HENNEGUY chama-lhe — *Parasoma* ou *corpo accessório.* HENKING apresenta uma descripção semelhante para a origem dos *Nebenkerne.* HENKING admitte na figura achromática duas ordens de filamentos: — o filamento do fuso *(Spindelfasern)* e filamentos unidores *(Verbindungsfasern);* restos destes filamentos é que constituïríam o laço cellular, e fascículos periphéricos destes ultimos com participação de alguns filamentos do fuso é que formariam o *Nebenkern.* Vê-se, portanto, que a reticulação descripta por GAULE em 1882 era verdadeira.

Hoje a descripção mais exacta que ha do papel dos *Nebenkerne,* e que muito os approxima dos centrosomas, é a dada por ZIMMERMANN (1).

No estado de repouso o *Nebenkern* apresenta-se como uma massa angulosa, córando-se com a mesma intensidade do cytoplasma, na qual se podem reconhecer algumas linhas mais escuras.

Na approximação de uma divisão cellular, o contôrno do *Nebenkern* torna-se indeciso e a sua substáncia mais homogénea; ao mesmo tempo veem-se sahir desta finos raios (feine, radiäre Strahlen). Á medida que estes raios se desenvolvem o *Nebenkern* diminuë, de sorte que se está bem auctorizado a concluír que elle se transforma numa figura radiada. O centro da radiação está intimamente applicado contra a membrana nuclear. Em seguida este systema radiar divide-se em dois. Os systemas radiares-filhos afastam-se um do outro, sempre ao longo da membrana nuclear mas sem nunca attingirem pontos diametralmente oppostos do núcleo; os seus raios cruzam-se mas não sam contínuos do centro duma figura radiar á outra.

Mais tarde, na successão dos phenómenos caryocinéticos, a membrana nuclear desapparece e forma-se o fuso. Então os *Nebenkerne*, já no estado de figuras radiadas, vam occupar os pólos do fuso; nenhumas das suas fibrillas porém se liga aos chromosomas.

Entrará o *Nebenkern* na formação do Aster? Algumas das fibrillas contribuirám para a formação do fuso, ou central ou periphérico? Servirám ellas para formar o laço

---

(1) Cit. por ARTHUR BOLLES LEE: *La céllule.* Tomo XI, 2.º fasciculo: *sur le Nebenkern e sur la formation du Fuseau dans les Spermatocytes des Helix,* pag. 226.

cellular? — É o que não é possivel decidir. Por emquanto, a respeito dos *Nebenkerne,* temos de nos limitar a admittir a sua existéncia, a confessar a indeterminação da sua origem e a suspeitar da sua participação na constituição das figuras de divisão cellular. É possivel, e é de crêr, que num futuro mais ou menos próximo, a sua estructura e a sua physiologia sejam determinadas completamente; se assim succeder para os *Nebenkerne* e para outras granulações figuradas, talvez se resolvam algumas das questões de biologia, que mais inexplicaveis teem permanecido até hoje.

A synonímia dos *Nebenkerne* é complicada, mas póde esclarecer-se com o quadro seguinte:

Corpúsculo brilhante ou refringente	[La Valette Saint-George]
Corpúsculo cephálico ..	[Balbiani]
Vesícula espermatogénica	[Balbiani]
Nebenkern	[Bütschli]
Formações nucléoides ..	[Lukjanow]
Parasoma	Henneguy]
Corpo accessório	Henneguy]

VI. — Constáncia do núcleo

Em 1868 Haeckel, depois do estudo dos organismos inferiores, annunciou que em grande número destes não existia núcleo. Dos organismos mono-cellulares Haeckel affirmou poder fazer duas grandes classes: — os *Cytodos* ou *Monéras* e as *Céllulas;* os primeiros seriam constituídos

apenas por um grumo de protoplnsma mais ou menos homogeneizado, em que se não havia effectuado aínda a differenciação nuclear; nos segundos esta estava realizada e as céllulas eram por isso organismos muito mais elevados do que os cytodos. Entre as monéras poderiam por exemplo collocar-se o chamado *Bathybius* ou *Protamoebae*, o *Protogenes*, o *Protomonas*, o *Myxodiction*, a *Protomyxa*, a *Vampyrella*. Approximando estes micro-organismos dos elementos anatómicos dos tecidos animaes, HAECKEL julgou-se no dever de dividir estes egualmente em Cytodos e Céllulas, creando todavia mais uma nova secção — *Fibras*. E como dos cytodos dos tecidos uns sam nús, outros sam providos de uma membrana, dividiu-os em *Gymnocytodos* e *Lepocytodos*. Fazendo o mesmo ás céllulas dividio-as em *Gymnocéllulas* e *Lepocéllulas*. Exemplos de cytodos seriam alguns elementos epitheliaes ou os glóbulos vermelhos do sangue dos *Mammíferos*. HAECKEL de resto acceitava tambem as ideias de VAN BENEDEN sobre as Bacteriáceas e, como elle, considerou-as pequenas monéras formadas de um protoplasma pouco differenciado, mistura íntima do núcleo e do protoplasma numa massa homogénea, como que formando a passagem dos corpos inorganicos aos corpos organizados; era essa mistura que VAN BENEDEN chamava *Plasson*. Ora ulteriormente num grande número de monéras encontrou-se o núcleo: nos *Myxastrum* e no *Actinophrys Sol.* encontrou-o GRUBER; nas *Vampyrella* encontrou-o ZOPF, etc. de modo que veiu a concluír-se que a descripção de HAECKEL e a sua divisão consequente não era mais do que o resultado de defeitos téchnicos e observações viciosas correlativas.

Pelo que respeita aos glóbulos vermelhos dos *Mammíferos* apurou-se depois que, á maneira do que succede num grande número de céllulas vegetaes, o núcleo desapparece

por effeito da evolução physiológica d'essas céllulas; sam céllulas chegadas ao ultimo termo das suas transformações normaes em que o núcleo, por degenerescéncia, desapparece, quando nenhum papel tem já de executar; é um orgão inutil, portanto inerte e portanto degenerado. Esta interpretação das coisas prejudicou tambem a descripção de HAECKEL. Certo é que alguns *infusórios* normalmente nucleados podem num dado momento apparecer privados de núcleo; observados neste instante seriam tomados como monéras; mas BALBIANI demonstrou bem que a falta do núcleo é perfeitamente accidental e que ella não significa senão um estado pathológico, uma mutilação destes organismos.

Hoje as primitivas ideias de HAECKEL estam abandonadas, e nos organismos que elle descreveu como carecendo de núcleo este tem sido descripto, mas a questão da constáncia do núcleo em todas as céllulas não foi ainda resolvida completamente e ha quem a conteste sobre tudo nas *Bacteriáceas*, nas *Cyanophyceas*, e nos *Saccharomycetos*.

Bacteriáceas: — Em 1871 VAN BENEDEN estudou a multiplicação da *Gregarina* da *Lagosta* e viu que as gregarinas novas eram como pequenas amibas, ás quaes VAN BENEDEN chamou — *Cytodos geradores*. Estes cytodos emittem prolongamentos, alongam-se e, depois de alongados, tornam-se independentes, constituindo o que VAN BENEDEN designou por — *Pseudofilárias*. Só depois de formadas as pseudofilárias é que se vê apparecer no seio da sua massa pequenas granulações, que pouco a pouco se associam e dispõem por uma fórma tal que ficam constituindo um núcleo, num processo que dá ideia de uma crystallização do protoplasma. Nestas gregarinas portanto haveria primitivamente um estado, em que o organismo cresce e se desloca sem que o

núcleo exista; só tardiamente é que elle appareceria. Em 1872 RAY LANKESTER confirmou toda a descripção de VAN BENEDEN; apenas se distanciou delle pelo que respeita a esse núcleo ulterior; RAY LANKESTER nunca o conseguiu vêr. Estes factos imperáram grandemente no espírito de muitos cytologistas e leváram-nos a admittir a falta do núcleo; dentre todos advogou essa ideia sobretudo FRENTZEL, depois de ter inutilmente procurado o núcleo em grande número de bactérias; FRENTZEL propôs por isso a generalização das ideias de RAY LANKESTER a todas as bacteriáceas.

Ora isto não é assim e um grande número de observadores tem encontrado, depois dos trabalhos de FRENTZEL, núcleos em bacterias em que elle os não conseguiu ver. Assim em 1885 KÜNSTLER num parasita da cávia, — o *Bacterioidiomonas sporifera,* descobre um núcleo. Em 1888 SCHOTTELIUS, em micróbios diversos, sobretudo nos de grande estatura, chega a revelar tres zonas concéntricas, — uma periphérica, uma média e uma central, que para elle é o núcleo e que é representada por uma linha mais escura; BABÈS encontra algumas granulações córaveis no bacillo do *Cholera,* em certa altura do seu desenvolvimento; ERNST encontra tambem estas granulações em muitas bactérias e julga-as destinadas a transformarem-se ulteriormente em esporos: chama-lhes, por isso, — *Corpos esporogénicos;* nesse mesmo anno aínda HENNEGUY demonstra, para as próprias gregarinas, que quando o espóro se fórma, ou o seu cytodo gerador, encerra uma parte do núcleo primitivo. Vê-se portanto que até aqui estão já notavelmente contestadas as ideias de VAN BENEDEN e a de FRENTZEL; já pela falsidade dos factos em que assentavam, já porque nas bactérias alguma coisa ha, corpos esporogénicos ou o quer que é, que contradicta inteiramente a homogeneidade do cytodo a principio proclamada.

Em 1889 STEINHAUS mostra que as granulações sam muito frequentes nos micróbios, mas não lhes attribuë um papel nuclear; suppõe que representam granulações quaesquer análogas ás que se encontram no corpo cellular e chama-lhes simplezmente — *Granula.*

Em 1890 BÜTSCHLI estuda as grandes fórmas das *Sulfobacteriáceas,* como a *Chromatium,* a *Ophidomonas,* e descreve nellas duas porções; uma periphérica alveolar, e outra central, reticulada, com numerosas granulações, algumas das quaes se córam vivamente. Como acontece em todas as céllulas, nestas bactérias ha um corpo cellular e ha um núcleo com a sua rêde, que affirma ser de linina, e com os seus nucléolos, que sam as granulações córadas. A questão deu portanto um grande passo, porque as descripções de BÜTSCHLI sam rigorosíssimas. Infelizmente BÜTSCHLI não poude encontrar esta mesma estructura nas pequenas fórmas de bactérias; mas levado pela nitidez das primeiras observações emitte a hypothese dellas serem formadas por núcleos quasi nús, comparaveis ás cabeças dos espermatozoides; o núcleo seria uma formação primitiva de cuja actividade proviria o protoplasma, que o cerca. VAHRLICH, em 1891, acceita esta interpretação e considera as bactérias como núcleos cercados de uma membrana de invólucro, sem protoplasma.

Em 1892 LÉGER volta ao estudo das gregarinas da *Lagosta* e confirma as conclusões de HENNEGUY; cada esporo contem realmente um fragmento do núcleo e LÉGER determinou-lhes até a forma, que é a de um corpusculo falciforme; nenhuma gregarina deixa portanto, em qualquer momento da sua evolução, de ser provida de um núcleo.

NILS-SJÖBRING, em 1892 tambem, estuda o *Bacillus anthracis* e encontra neste duas espécies de granulações; umas externas que fixam a côr vermelha; outras internas

que fixam a côr azul e que se dispõem por fórma tão nítida, que não ha possibilidade de duvidar que ellas constituëm um núcleo. Por fim, aínda em 1892, TRAMBUSTI e GALEOTTI encontram granulações num grande número de bactérias; e notam que nalgumas dellas, quando um segmento vai a separar-se, as granulações do que lhe dá origem dirijem-se para as suas extremidades e uma dellas acompanha o segmento novo. Seduzidos por esta observação TRAMBUSTI e GALLEOTTI chegáram a admittir que as bactérias se multiplicam por caryodiérese.

Em 1893 apparecem os trabalhos notaveis de SCHEWIAKOFF e MITROPHANOW. SCHEWIAKOFF estudou o *Achromatium oxaliferum* e vio que elle se mostra constituído por uma camada periphérica alveolar e uma parte interna reticulada, onde ha grande número de granulações córadas; estas granulações augmentam de número quando a bactéria se divide, e multiplicam-se ellas mesmas directamente por estrangulamento; claramente o auctor admitte aqui a existéncia de um núcleo com nucléolos, como havia feito BÜTSCHLI.

MITROPHANOW estudou as grandes fórmas de bactérias nas *Chromatium*, *Rabdochromatium*, *Beggiatoa*, *Cladothrix*, *Crenothrix*, *Ophidomonas*, e nalguns *Espirillos*. No *Rabdochromatium* encontrou uma parte axial, ora com a fórma de um filamento em espiral, ora com granulações isoladas centraes fixando bem a safranina, ora com a fórma de um rosário, lembrando então a fórma do núcleo de certos *Infusórios*, os *Estentores*, por exemplo. Afóra estas ha ás vezes granulações periphéricas, que fixam bem o azul de methylene a $^1/_{100.000}$.

MITROPHANOW deduz das reacções, que apresentam essas granulações, que ellas sam formadas de chromatina e como as achou em todas as espécies concluë que nas bacteriáceas ha núcleo, ou antes, elementos nucleares diffusos; as ba-

ctérias sam céllulas, em que os elementos protoplásmicos e nucleares apresentam gráos differentes de differenciação, que estám em relação com o estado physiológico em que a céllula se encontra; o núcleo é por isso sempre mais ou menos diffuso, mas está morphologicamente separado de uma maneira completa, e por consequéncia VAN BENEDEN fez bem em crear o *Plasson;* o que MITROPHANOW não acceita é a opinião de BÜTSCHLI sobre a prioridade de formação do núcleo e apparição ulterior do protoplasma; o contrário é que tem logar e essa é tambem a opinião de VAN TIEGHEM. HENNEGUY confirmou ulteriormente por uma fórma conveniente os trabalhos de MITROPHANOW, mas aínda em 1894 PÉREZ teima pela veracidade da hypóthese de BÜTSCHLI. Seja como fôr, o que não offerece dúvida é que, appareça o núcleo antes ou depois, seja primitivo ou secundário, as bactérias sam, como todas as céllulas, providas de núcleo e onde elle não tem sido revelado sê-lo-ha com o progressivo aperfeiçoamento dos processos téchnicos.

*

Cyanophyceas: — A demonstração de um núcleo nestas algas tem sido objecto de uma série consideravel de trabalhos, mas não se tem chegado com elles a um resultado tam suggestivo e conveniente como para as bactérias. As cyanophyceas sam algas inferiores comprehendendo um grande número de familias, formadas de filamentos ligados topo a topo ora immediatamente, ora por intermédio de corpos particulares chamados — *heterocystos,* os quaes sam céllulas cujo corpo cellular desappareceu deixando em seu logar a

membrana cellular vazia; ás vezes os segmentos destas algas sam envolvidas por uma massa commum. Muitos dos auctores que teem estudado as cyanophyceas nunca puderam encontrar nellas um núcleo; sam inteiramente negativas as observações de BORNET, FLAHAUT, TAUGL, LAGERHEIM e GOMONT. Entretanto em 1879 SCHMITZ descreveu na *Gleocaspa polydesmática* um núcleo excentrico córavel, que se limitava a uma símplez granulação; em nenhuma outra alga encontrou nada de semelhante, a não ser nas *Oscilláreas* uma ou outra granulação insignificante, retendo um tanto energicamente as côres; SCHMITZ concluio daqui, que se algumas vezes um núcleo póde existir nas algas cyanophyceas, em geral ellas sam desprovidas desse orgão.

Em 1883 WILLE na *Tolypothrix lanata* descreveu tambem um núcleo, que a certa altura julgou surprehender em divisão caryocinética, e REINHARDT, nalgumas *Oscilláreas,* encontrou granulações que suppôs núcleos e numa *Glaucomena* descreveu mesmo um nucléolo.

Em 1885 HAUSGÚRG descreveu tambem um núcleo nalgumas *Oscilláreas,* mas em muitas outras famílias não o encontrou.

Em 1887 SCOTT encontrou egualmente o núcleo nas *Oscilláreas* e no *Talypothrix,* e descreveu nelles uma estructura fibrillar; nos mesmos exemplares o encontráram STRASBURGER e ERNST em 1888.

Por fim, em 1890, apparece um trabalho notavel de ZACHARIAS effectuado na *Oscillárea,* nas *Nostocaceas, Cylindrospermum, Tolypothrix* e *Scytonema.* Na parte periphérica de todas estas algas ha granulações córadas, mas sem apresentarem as reacções das albuminas; na parte central ha tambem uma ou duas pequenas massas, tendo as reacções dos nucléolos; estas massas centraes estám ás vezes cercadas por uma rêde, que apresenta as reacções da nucleína; esta

nucleína ás vezes perde-se, desapparece com dadas condições do estado physiológico da céllula; é portanto muito difficil emittir um juizo acêrca do valor destas formações e não póde affirmar-se de uma maneira satisfatória a existéncia do núcleo nestas algas; ella constituë aínda um ponto obscuro destinado a provocar investigações futuras.

*

Saccharomycetos:—Nos saccharomycetos a existéncia do núcleo é mais geralmente admittida e deduz-se de trabalhos mais positivos e claros; toda a gente como NAEGELI, SCHLEIDEN, SCHMITZ, STRASBURGER, ZALEUSKI, ZACHARIAS, ZIMMERMANN, admitte a existéncia do núcleo nestes organismos, levado sobretudo pela demonstração indirecta fornecida pela anályse de KOSSEL que, como sabemos, achou uma forte proporção de nucleína na *Levadura*. Comtudo BRÜCKE e KRASSER, em 1885, negáram a existéncia do núcleo no *Saccharomyces cerevisiae*. É certo que a nucleína é dahi extrahida, mas KRASSER acceita de boamente as ideias de DELAGE sobre o assumpto: todos os organismos se constituëm gradualmente, lentamente, insensivelmente; todos passam por transições quasi insensiveis de um certo gráu de estructura actual, para um gráu de estructura seguinte; nas céllulas esta lei geral deve ter applicação e parece por isso pouco provavel, a DELAGE, que a céllula se constitua *d'emblée* em todas as suas partes; será mais razoavel admittir, que a nucleína existe na céllula num estado diffuso antes de se condensar num orgão differenciado; é ideia harmonizada com a apresentada por VAN BENEDEN, acceita por HAECKEL

e justificativa da creação do *Plasson;* é ideia porém exclusivamente theórica e que tem contra si um grande número de factos positivos, posto que seja, como é realmente, lúcida e rasoavel. Factos ha, porém, numerosos a contradictá-la, e esses é que sam innegaveis e pedra angular de todas as conclusões. Vejamo-los:

Em 1891 RAUM estudou a *Levadura* e encontrou ahi pequenas granulações córaveis, a que chamou — granulações esporogénicas, porque suppôs que ellas tomavam parte na formação dos esporos.

Em 1892 MÖLLER affirma ter encontrado sempre um núcleo na *Levadura,* de composição e grandeza variada, sem membrana nem nucléolo, formado de uma massa viscosa mal limitada e dotada de movimentos amiboides. Os gommos emittidos pelas céllulas não seriam senão gottas exsudadas do protoplasma.

KRASSER combate energicamente esta descripção: no protoplasma ha realmente um grande número de granulações córaveis e formadas de nucleína; mas ellas estam distribuídas irregularmente em toda a massa do protoplasma; o que MÖLLER descreve como núcleo não apresenta as reacções da nucleína. KRASSER admitte por isso que os elementos nucleares estam diffundidos no protoplasma e por isso designa este pelo nome de — *Archiplasma,* o qual é, como se vê, sensivelmente egual ao *Plasson.*

HIERONYMUS logo a seguir descreve granulações córaveis no seio da massa da *Levadura,* collocadas em série no meio de uma rêde fibrillar e dispondo-se numa formação esphérica ou espiral; é, portanto, um partidário de MÖLLER, mas a descripção deste é por outro lado combatida por outro cytologista, HANSEN, o qual, em 1893, admitte a formação de esporos na levadura e a existéncia nestes duma membrana. Estamos, portanto, num período contradictório, em que não

é possivel tomar um partido definido, posto seja legitima a desconfiança de que o núcleo realmente existe.

Neste mesmo anno de 1893, porém, a questão esclarece-se com os trabalhos de DANGEARD e JANSSENS.

DANGEARD mostrou, que na *Levadura* cada céllula apresenta uma membrana sob a qual ha uma camada de protoplasma, espessa, munida de um vacúolo central; o núcleo está encerrado na massa do protoplasma e é possivel distinguir nelle, quando quiescente, uma membrana nuclear nítida e no seu centro um nucléolo fortemente corado e esphérico. Durante a gemmação da céllula, depois da formação de uma protuberáncia á sua superfície, o núcleo divide-se por estrangulamento: o nucléolo parte-se egualmente em duas porções cada uma cercada por uma zona clara. Uma das fracções do núcleo encosta-se ao pedículo que liga as fracções do núcleo á cellula-mãe; prolonga-se dentro em pouco num delgado filete chromático, que attinje a céllula filha, distende-se nella, adquire uma membrana nuclear e retoma a sua estructura ordinária.

JANSSENS admitte no protoplasma das céllulas da *Levadura* granulações córadas contidas num retículo protoplásmico, acceitando portanto a descripção de RAUM, mas essas granulações sam independentes do núcleo, porque este existe e é constatavel, bem differenciado, em grande número de *saccharomycetos;* encontrou-o sempre e as suas observações sam numerosas, porque elle estudou muitas fórmas de *saccharomyces*, — o *S. Ludwigii*, o *cerevisiae*, o *pastorianus*. HENNEGUY numa levadura ainda não classificada, semelhante ao *Cryptococcus glutinis* de FRESENIUS, confirmou ulteriormente estas observações, porque nessa levadura encontrou sempre um núcleo nítido com uma membrana e um nucléolo bem observaveis.

Deste modo julgo dever concluír que no *Saccharomyceto*

a questão da constância do núcleo é resolvida num sentido affirmativo e que, approximando estes factos dos relatados para as bactérias e para as cyanophyceas, a significação geral do seu conjuncto leva a admittir que o núcleo seja um orgão constante; é de crer que, com novas investigações, se venha a apurar esse resultado final isempto de hesitações.

VII. — Importância tróphica do núcleo

Nós vimos no capitulo II da secção protoplasma, que este fornece productos variadíssimos como um resultado da sua nutrição; por outro lado, no seio da céllula ha formações diversas de funcções, de origem variada. Na céllula encontramos tambem um orgão sobretudo differenciado cuja organisação é melindrosa e cujas funcções sam objecto de um estudo afincado dos cytologistas; esse orgão é o núcleo; e convem determinar se por ventura elle estará encarregado de algum papel especial a respeito da nutrição do organismo inteiro de que faz parte, a céllula, porque essa determinação permittirá travar com elle um conhecimento mais fundo, permittirá alcançar a seu respeito uma noção mais intima.

Nós vemos as céllulas dotadas de propriedades muito differentes, manifestadas em phenómenos variadíssimos, e todas ellas teem de filiar-se na nutrição do protoplasma, a qual lhes fórma *substratum* indispensavel, a qual é para ellas condição *sine qua non;* protoplasma que se não nutre não é protoplasma vivo, e protoplasma morto não é protoplasma. Naturalíssimo é portanto investigar se no exercício

dessa nutrição plasmática o núcleo deve ser tomado como factor sensivel, se a sua energia intervem para permittir ou para orientar o phenómeno essencialíssimo da nutrição, do qual derivam todas as propriedades da céllula, as quaes sam por si só um objecto de estudo complexo e vasto.

O protoplasma apparece-nos, a nós, como uma substância irritavel, eminentemente sensivel á acção dos differentes agentes; é essa *irritabilidade*, que SACHS define bem — «a maneira exclusivamente própria aos organismos vivos de reagir de tal ou tal modo sob as influéncias mais diversas do mundo exterior», que revela o protoplasma, que faz delle uma substância viva; é a excitabilidade da céllula, a sua irritabilidade, que faz que ella appareça como um organismo vivo capaz de reagir num dado momento sob uma influéncia excitadora, o que prova que ella é capaz de armazenar uma certa quantidade de energía, de força viva, que liberta pelas acções que pratíca, movendo-se; e essa força viva não póde provir senão das acções chymicas, que se passam no seu interior; o que é o mesmo que dizer, da sua nutrição; é esta aínda que faz com que a céllula cresça e consequentemente se divida, quando attinge um certo desenvolvimento. Todas estas propriedadas cessam, tudo isto desapparece se a nutrição cessar e desapparecer, se terminar esse movimento metabólico contínuo, cuja esséncia mesma constituë por ventura a vida. Eu vou ver se determino que papel o núcleo desempenha, para o exercício de tam alta funcção.

Primeiro devemos verificar a irritabilidade do protoplasma com a notificação de algumas experiéncias símplez; depois descrever os seus movimentos; e, mostrando como aquella é melindrosissima e como estes sam variados, teremos demonstrado todo o alcance da nutrição, que gera uma e permitte os outros.

Os phenómenos de excitabilidade e motilidade estam intimamente ligados; a fórma mais vulgar e mais saliente por que a irritabilidado se manifesta é por movimentos, os quaes sam claramente uma funcção daquella propriedade, como ella mesma a é da nutrição. Sob a influéncia dos agentes mais diversos o protoplasma reage e a reacção é quasi sempre um deslocamento; os agentes mechánicos como o contacto e o choque, os physicos como o peso, a luz, o calor, a electricidade, as substáncias chymicas de qualquer ordem, todas influenciam o protoplasma e o fazem reagir de modos muito distinctos. Em todos os movimentos de reacção porém se dá um dos dois phenomenos seguintes: ou a deslocação *in toto* de toda a céllula, de todo o protoplasma, ou a deslocação parcial de uma certa extensão da sua massa, ás vezes traduzida só na apparição de correntes que se produzem no seu interior; no primeiro caso ha por definição acções de *Taxismo* ou *Tactismo,* no segundo acções de *Tropismo;* taxismo e tropismo podem ser positivos ou negativos conforme o corpo cellular se approxima ou afasta da origem da excitação. As acções de tropismo e tactismo sam innúmeras e teem designações appropriadas: — *Geotropismo* ou *geotaxismo* e, semelhantemente, — *Hydrotropismo*, *Heliotropismo, Thigmotropismo* (contacto), *Thermotropismo, Galvanotropismo*, etc.

*

Um exemplo de geotropismo nítido é o apresentado pela incurvação das raizes collocadas horizontalmente na terra, e que tendem sempre a mergulhar collocando-se verticalmente. É facto de observação banal para todos os botánicos.

*

Se uma plasmódia de *Aethalium septicum* for collocada sobre um papel húmido, que se vá fazendo seccar nalguns pontos, deixando a humidade noutros, ella vae-se deslocando para estes últimos, abandonando os primeiros, o que constituë um hydrotropismo positivo; a mesma plasmódia collocada numa corrente d'agua muito pouco enérgica, desloca-se no sentido inverso desta corrente *(Rheotropismo)*.

*

A *Pelomyxa palustris* é um organismo amiboide, que executa na sombra movimentos pseudopódicos enérgicos; projectando sobre esta amiba um raio luminoso de média intensidade ella retrae todos os seus pseudópodos e toma uma fórma esphérica; os seus movimentos só reapparecem quando o collocamos novamente na obscuridade. *(Heliotropismo* ou *Phototropismo negativos)*.

A *Euglena viridis* é particularmente sensivel á luz. Se illuminarmos só uma pequena parte de uma gotta d'agua contendo euglenas, todas ellas acodem á região illuminada; a parte obscura da gotta não contem uma única *(Heliotropismo* ou *Phototropismo positivos)*.

*

Quando um grupo de céllulas da *Tradescantia*, da *Chara*, ou uma plasmódia de *Aethalium* sam collocados na platina do microscópio e submettidas a um estremecimento enérgico ou a uma compressão, vê-se que os movimentos do seu protoplasma se deteem muito tempo; se a acção se fizer sentir só sobre certos pontos do protoplasma e for fraca ou de pouca duração, ella fica limitada a esses pontos; se for demorada ou enérgica, propaga-se a uma grande distáncia da massa protoplásmica mais ou menos rapidamente; então ella póde não se limitar só á determinação desta paralysia, pode mesmo produzir alterações somáticas, fazendo apparecer nos filamentos protoplásmicos varicosidades semelhantes ás que determina uma corrente galvánica.

*

Quando uma plasmódia de *Myxomycetos* se teem estendido em rêde verifica-se, que resfriando-se só uma parte desta, todo o protoplasma emigra a pouco e pouco para a região mais quente. A experiencia póde fazer-se deste modo: — collocam-se, ao lado uma da outra, duas cápsulas de vidro, uma cheia de agua a 7°c outra de agua a 30°c; sobre os bordos em contacto das cápsulas colloca-se uma tira de papel húmido cujas extremidades mergulhem cada uma na sua cápsula; sobre a tira de papel installa-se uma plasmó-

dia e mantem-se constante a temperatura das duas cápsulas. Passado algum tempo a plasmódia, por meio de movimentos pseudopódicos, teem emigrado completamente para a cápsula, que contem a agua a 30°.

O calor é por consequéncia um agente provocante do protoplasma, que excita a sua sensibilidade; elle póde tambem determinar alterações somáticas no protoplásma, as quaes podem chegar a ser mortaes; ha por isso para cada céllula ou grupo de céllulas uma *temperatura supportavel*, que não deve ser excedida, sem que a vitalidade do protoplasma seja posta em risco; nesse caso a temperatura que produz a morte, chama-se — *temperatura máxima*. De uma maneira geral, para as céllulas animaes e vegetaes, a temperatura máxima é habitualmente de 40°c; *amibas* collocadas em agua a 40°c morrem logo: os seus pseudópodos retráem-se e «o organismo transforma-se numa vesícula esphérica, nitidamente limitada por um duplo contorno, envolvendo uma massa turva e d'aspecto escuro quando a examinamos por transparéncia [Kühne]». A mesma temperatura determina no *Aethalium septicum* uma congulação mortal.

Entretanto alguns organismos resistem a temperaturas mais elevadas, algumas mesmo consideraveis. No *Actinophrys* a temperatura máxima, determinando a morte instantánea, é de 45°c; para as céllulas da *Tradescantia* e da *Vallisneria* é de 47°c a 48°c [Max-Schultz]; Cohn achou na fonte termal de Carlsbad *Leptothrix* e *Oscilláreas* vivendo a 53°c; os esporos endogénicos dos *Bacillos*, que possuem involucros muito resistentes, ficam capazes de germinar aínda que se mantenham por alguns instantes num liquido a 100°c; outros supportam mesmo temperaturas de 105°c, 120°c, 130°c e 140°c [De Bary].

O frío exerce tambem acção manifesta sobre a vitalidade do protoplasma, mas a temperatura mínima é muito difficil

de determinar, porque muitos organismos resistem a temperaturas negativas inverosimeis. A influência das temperaturas baixas póde vêr-se por exemplo na seguinte experiência de KÜHNE: — Este cytologista deixou congelar céllulas da *Tradescantia* por mais de cinco minutos numa mistura frigorífica de —14°°; estudando em seguida estes elementos na agua, verificou que a rêde protoplásmica era substituida por um grande número de gottas arredondadas, e que no protoplasma se havia formado um grande número de massas grumosas. Passados alguns segundos estas pequenas massas começaram a mostrar movimentos lentos; e depois de alguns minutos reuniram-se, para se retransformarem depressa numa rêde, em que apparecia de novo uma circulação activa.

A resisténcia ao frio póde deduzir-se das seguintes observações: FRISCH constatou que o poder de desenvolvimento do *Bacillus anthracis,* tanto pelo que respeita aos esporos, como ao bacillo mesmo, não é de modo algum attingido se este organismo, depois de ter sido congelado a — 11°°, fôr submettido a um degêlo. RAOUL PICTET, de Genebra, submettendo seis tubos semeados, durante 36 horas, a uma temperatura decrescendo lentamente de 10°° a — 100°° verificou que a esterilização se não obtinha. A observação faz parte de uma série de experiéncias relatadas por MIQUEL e FREUDENREICH; a respeito desta experiéncia de PICTET exprimem-se textualmente assim: «Aqui, como nas experiéncias precedentes, muitas espécies de bactérias, incapazes de resistir duas horas á temperatura de 70°°, supportaram perfeitamente este violento gráu de frio. Uma única coisa se notou; é que algumas das espécies resfriadas tinham envelhecido» (1).

---

(1) DR. PAUL REGNARD: *La Cure d'Altitude.* Paris, Masson & C.e 1897, pag. 35.

Estas últimas palavras provam a sensibilidade do protoplasma para o frio; esta manifesta-se de resto em phenómenos salientes: em 1891 GERAMISSOFF submettendo a temperaturas baixas uma *Spirogyra* prestes a dividir-se por mitose, viu esta deter-se e a divisão recomeçar depois mas fazer-se por via directa.

*

A acção da electricidade é tambem fácil de comprovar. Se uma gotta de agua contendo muitas *Paramœcium aurelia* fôr submettida á acção de uma corrente, verfica-se que no momento de fechar o circuito todas ellas acodem ao pólo negativo; segundos depois da corrente estabelecida toda a gotta está despovoada, menos em tôrno do polo negativo, onde um verdadeiro formigueiro se mantém emquanto a corrente estiver fechada; abrindo-a, toda a massa de infusórios deixa o pólo em que está e transfere-se para o outro. VERWORN estudou estas acções eléctricas em muitos micro-organismos, como a *Opalina ranarum,* algumas bactérias e alguns *Flagellados, Chryptomonas* e *Chilomonas* e descreve a seguinte curiosa experiéncia: — se numa gotta de agua existirem simultaneamente *Ciliados* e *Flagellados,* estes organismos separam-se pela acção de uma corrente eléctrica constante, quando esta se fecha; os *Flagellados* accumulam-se no ánodo e os ciliados no cáthodo; invertendo então a corrente estes organismos lançam-se uns sobre os outros, como inimigos, até se accumularem de novo nos pólos oppostos.

É no conhecimento destes effeitos que se baseia o estudo do amortecimento da viruléncia dos bacillos pela acção das

correntes de alta frequéncia; e foi este estudo que mostrou como a conservação da vitalidade do protoplasma é indispensavel para que elle reaja; das experiéncias de LORTET resulta effectivamente que os bacillos vivos se orientam no sentido da corrente, mas que a acção da corrente sôbre elles é nulla desde que um líquido antiséptico os mate (1).

*

A acção chymica é tambem fácil de revelar: eu descrevi já os effeitos das principaes substáncias chymicas sobre o protoplasma, ao estudar as reacções deste; mas outras observações devem conhecer-se para se vêr bem como elle é sensivel a esta excitação.

Se quizermos observar os movimentos do protoplasma nas céllulas vegetaes, conseguimo-lo montando-as em agua; se porém as montarmos em azeite ou num óleo qualquer, — o que impede o contacto do ar, — esses movimentos cessam rapidamente; substituindo novamente os oleos pela agua vêm-se os movimentos do protoplasma reconstituírem-se *lentamente*.

Collocando céllulas vegetaes numa atmosphera de anhydrido carbónico, depois de uma demora variando entre 45 minutos e uma hora, todo o movimento do protoplasma cessa; se em vez do anhydrido carbónico se empregar o hydrogénio, esse resultado é um pouco mais tardio; mas a

(1) VELLADO DA FONSECA, *Oscillações electricas*, 2.º vol. Coimbra, 1897, pag. 97.

paralysia do protoplasma póde sempre annullar-se, se qualquer daquelles fôr substituido pelo oxygénio, antes da sua acção ter sido muito demorada.

Duas experiencias de VERWORN sam a este respeito muito instructivas:

Num tubo de ensaio cheio de agua pobre em oxygénio e invertido sobre mercúrio, colloca-se uma grande quantidade de *Paramecias;* bem depressa, em consequencia da falta de oxygénio, os movimentos dos cílios começam a retardar-se. Fazendo então entrar pela base do tubo uma bolha de oxygénio puro, toda ella se vê cercada nalguns segundos por uma camada espessa, branca, de *Paramecias* «que, impellidas por uma verdadeira sêde de oxygénio, se precipitam com impetuosidade sobre a bolha».

VERWORN observou uma *Diatomácea* rodeada de *Espirocetes* immoveis, que só existiam num ponto da preparação; de repente a *Diatomácea* moveu-se e desenvencilhou-se do montão de bactérias. Os *Espirocetes,* assim privados da sua fonte de oxygénio, ficaram por alguns instantes immoveis, em seguida precipitaram-se sobre a *Diatomácea* em batalhões cerrados, e um ou dois minutos depois estavam todos amontoados em torno della, immobilisados.

Se enchermos um tubo capilar com uma solução de ácido málico a 0,01 % e o mergulharmos cautelosamente numa gotta de agua contendo *antherozoides do feto* em grande número, veem-se todos elles dirigir-se para o tubo capillar, cujo ácido málico começa a diffundir na agua; passado algum tempo, — 5 a 10 minutos, — muitas centenas de *antherozoides* estam dentro do tubo capillar e apenas alguns ficam na gotta de agua.

Como temos visto, o protoplasma é sensivel á acção dos agentes chymicos; essa sensibilidade póde ir até ao ponto de levar á abolição dos movimentos; mas ha agentes que

sam capazes de diminuir apenas, em vez de abolir, a irritabilidade das céllulas, de lhes paresiar o protoplasma em vez de o paralysar; taes sam o chloroformio, a morphina, o hydrato de chloral; como que se produz sob a sua acção uma narcose visinha da anesthesia; o protoplasma move-se. mas lentamente, pesadamente; reage aos differentes excitantes, mas tardamente, preguiçosamente. Á anesthesia geral não é, com toda a probabilidade, extranha esta propriedade.

*

Temos portanto como innegavel a excitabilidade do protoplasma; e como ella se revela sôbre tudo por movimentos, estudemos estes, que sam divisiveis, naturalmente, em duas classes: — movimentos totaes de deslocação em massa, e movimentos parciaes, dos quaes fazem parte os movimentos internos do protoplasma ou os movimentos das granulações intraplásmicas.

Os movimentos de deslocação sam effectuados com ou sem auxilio dos orgãos para isso destinados. Movimentos de observação vulgar sam os amiboides produzidos por expansões accidentaes do protoplasma, pseudópodos, que determinam a progressão da céllula para o ponto onde fixam a sua extremidade; tam frequentes sam elles nas *amibas* que dellas se derivou a designação; uma amiba póde realmente, pela simples emissão de pseudópodos, percorrer meio milímetro num minuto; mas os movimentos amiboides pertencem a um grande número de elementos cellulares, como os glóbulos brancos do sangue, as céllulas lympháticas e algu-

mas céllulas conjunctivas; é da sua existéncia que deriva o notavel phenomeno descripto por CONHEIM, — a *diapedese,* que consiste na emigração dos leucócytos para fóra dos vasos sanguíneos.

ENGELMANN descreveu sob o nome de — *movimento de escorregamento* um modo especial de locomoção, que se observa particularmente nas *Diatomáceas* e nas *Oscillárias.* Nas *Diatomáceas* o corpo protoplásmico está encerrado numa carapaça siliciosa; nas *Oscilláreas* numa membrana de cellulosa. Fóra destes involucros acha-se ainda uma delgada camada de protoplasma mui finamente granuloso, que não é visivel no organismo vivo, mas que se póde fazer apparecer pela acção dos reagentes. Deslocando-se numa direcção determinada á superficie da carapaça siliciosa ou da membrana cellulósica, esta camada protoplásmica impelle o organismo «a mover-se, escorregando ou rastejando, sôbre uma superficie fixa» [ENGELMANN].

Outros organismos inferiores deslocam-se por meio de orgãos vibrateis, que possuem e que representam um primeiro gráo de differenciação; todo um grupo de infusórios — os *Flagellados,* tira a sua designação da existencia de orgãos locomotores análogos á cauda dos espermatozoides; sam longas expansões, ou únicas ou múltiplas, segundo as espécies, que pelos seus movimentos permittem ao individuo monocellular deslocar-se no meio ambiente; outro grupo de infusórios, — os *Ciliados,* possuem um corpo cellular coberto de um manto ciliar mais ou menos completo, inteiramente comparavel ao que guarnece o prato das céllulas vibrateis. Estes prolongamentos piliformes, ou não existem senão em pequeno número, — de 1 a 4, — numa extremidade da céllula, ou recobrem em número ás vezes extraordinário toda a superfície da céllula; no primeiro caso, mais longos e fortes, constituem os *flagellos* ou *chicótes vibráteis;*

no segundo constituem os *cílios vibráteis.* Ás vezes aínda existem *cirros,* mais espessos e mais longos do que os cílios, tendo uma base alongada e terminando em ponta afilada; sam especialmente frequentes nos infusórios *Hypotriches,* onde existem no contôrno do orifício buccal e parecem derivar da coalescéncia dos cílios vibráteis. Dessa mesma coalescéncia derivam as *membranellas* ou *membranas* ou *láminas ondulantes,* que se observam em tôrno do orificio buccal de muitos infusórios, como o *Stentor ceruleus* estudado por SCHUBERG em 1890, as quaes, como os cílios, os flagellos e os cirros, estam sempre em connexão com o protoplasma.

Mercê do auxílio destes orgãos, céllulas ha que podem deslocar-se num sentido ou noutro, segundo a excitação que nellas se exerce ou a determinação que a impelle. Não deve suppor-se esse movimento diffícil porque o número de cílios é, ás vezes, extraordinário: na *Paramoecium-aurelia* calcula-se em 2500; BÜTSCHLI num parasita da rã, — o *Balantidium elongatum,* que attinge por vezes $0^{mm},3$, e cujos cílios sam muito apertados, calcula o número destes em 10.000. Apesar deste número ser elevado não deve suppor-se tambem o movimento dos cílios inteiramente arbitrário: mesmo que existam aos milhares executam movimentos perfeitamente coordenados: «batem não só com a mesma frequéncia de vibrações oscillatórias (rythmo) e com a mesma amplitude de oscillação, mas batem ainda junctamente na mesma direcção e sempre na mesma ordem de successão» (1). Parece dever deduzir-se daqui que no protoplasma alguma coisa ha presidindo a esta orientação motriz; e por maior que seja a estranheza que esse facto possa causar,

(1) VERWORN, citado por HERTWIG, loc. cit., pag. 78.

nem por isso ella deve surprehender-nos excessivamente, porque a observação que vou relatar mostra que elle não é uma phantasia.

As *Arcellas* sam plastídulas provídas de uma concha concavo-convexa; no meio da face concava existe uma abertura, que dá passagem a prolongamentos pseudopódicos, os quaes, no bôrdo da abertura, apparecem como protuberáncias hyalinas. Se na lámina do microscópio collocarmos uma gotta de agua contendo arcellas, succede que algumas destas cahem por assim dizer de costas, de modo que os pseudópodos não encontrando ponto de apoio fixo na lámina não conseguem collocar as arcellas na única attitude, em que ellas poderiam rastejar.

Vê-se então, que num dos bordos do protoplasma começa a produzir-se um desenvolvimento de bôlhas gazosas, de modo que tornando-se mais leve esse bôrdo, a arcella levanta-se até estar assente apenas pelo bôrdo opposto. Os pseudópodos encontram então ponto em que se fixem, e voltam a plastídula, a qual começa a rastejar, depois de desapparecerem as bolhas, que se tínham formado.

Se a gotta d'agua é posta na parte inferior da lámina, pelo seu peso as arcellas cahem no fundo da gotta. Não havendo ahi ponto sólido em que os pseudópodos possam fixar-se, verifica-se a formação de bolhas gazosas, que elevam a plastídula até á parte superior adherente do vidro. Se a posição a impede de fixar-se na lámina, para o que basta a face convexa ficar em contacto com esta, veem-se as bolhas de gaz diminuir de um lado ou augmentar do outro, até que o animal possa fixar-se; as bolhas desapparecem então e a arcella põe-se a rastejar sobre o vidro. Pode-se fazer quanto se queira para dar á arcella uma posição incómmoda; sempre ella saberá, por meio das bolhas de gaz, achar a situação conveniente á locomoção «Não se póde negar, —

diz ENGELMANN, — que taes factos indicam processos psychicos no protoplasma» (1).

*

Vejamos agora os movimentos intraplásmicos da céllula. — Esses movimentos observam-se muito bem nas céllulas vegetaes; mas no reino animal ha tambem magníficos exemplares para os estudar, como os *Noctilucos* e as céllulas vesiculares do eixo dos tentáculos dos *Coelenterados*. Nas céllulas vegetaes é possivel encontrar um grande número de movimentos. O movimento de rotação estuda-se bem nas *Charáceas* [BONAVENTURA CORTI, TREVIRANUS]; nas céllulas alongadas destas o protoplasma granuloso sóbe como uma corrente ao longo duma das paredes longitudinaes; depois passa contra a parede transversal superior, ganha a outra parede longitudinal, ao longo da qual desce para percorrer por fim a parede inferior, voltando ao ponto de partida a recomeçar um novo cyclo.

O movimento de circulação do protoplasma estuda-se nos pêlos estaminaes das diversas espécies de *Tradescantia*, nos pêllos novos das *Ortigas* e em todas as céllulas cujo protoplasma esteja disposto ao mesmo tempo numa delgada camada subjacente á membrana cellular, e numa rêde de filamentos mais ou menos delicados percorrendo o espaço cellular. Na camada parietal, assim como nos cordões mais largos, circulam muitas vezes umas ao lado das outras

(1) BUNGE, citado por MIGUEL BOMBARDA: *A consciencia e o livre arbitrio*. Lisboa, Antonio Maria Pereira, Ed. 1898, pag. 85.

muitas correntes distinctas, já no mesmo sentido, já em sentido inverso.

Este movimento observa-se bem ainda na rêde da plasmódia do *Aethalium septicum*. Esta é constituida por filamentos, que sam formados por uma camada muito delgada de hyaloplasma envolvendo protoplasma granuloso. Neste último ha um movimento circulatório rápido das granulações, que é comparavel á circulação do sangue nos vasos de animaes vivos.

Entre o protoplasma granuloso em circulação e o ectoplasma em repouso, não se observa limite nítido; neste a corrente de granulações effectua-se mais lentamente e por vezes mesmo torna-se completamente nulla. Nos filamentos muito delicados não ha senão uma corrente longitudinal, emquanto que nos ramos mais espessos se observam muitas vezes duas correntes em sentido inverso.

Nas céllulas novas do endosperma do *Ceratophyllum*, nos novos vasos lenhosos do pecíolo do *Ricinus*, póde observar-se o movimento chamado por KLEBS — de rotação em jacto d'agua. Aqui o protoplasma reveste de uma camada espessa a face interna da membrana de cellulosa e atravessa além disso o succo cellular sob a fórma dum grosso cordão central e longitudinal.

Este cordão é percorrido por uma corrente que attinge a parede transversal superior e que se quebra ahi para cahir em todos os sentidos, como se fôra um jacto de agua, no utrículo primordial; ganha assim a membrana transversal opposta e della passa de novo ao cordão axial.

De toda esta exposição se deduz que os movimentos do protoplasma sam variadíssimos, e aínda eu não entrei em linha de conta com os exercitados no momento da divisão cellular, e que hei de considerar em separado; deduz-se egualmente a enorme sensibilidade do protoplasma, a res-

peito dos agentes excitadores; e como uma e outra coisa resultam da nutrição do protoplasma, nós vamos ver rapidamente se esta é influenciada pelo núcleo.

A determinação deste assumpto foi singularmente facilitada pelas experiéncias de *merotomía,* espécie de vivisecção praticada sobre a céllula, que permitte separar nella uma parte contendo o núcleo d'outra que o não contenha.

Este méthodo de investigação foi largamente exercitado por Balbiani posto antes delle o tivessem praticado muitos outros, desde Bonnet e Freinbley, que o inventaram, até Nussbaum, Gruber, Bruno Hofer, Werworn, etc.

Balbiani escolheu de preferéncia infusórios de grande estatura, medindo de $0^{mm},3$ a 1^{mm}, taes como os *Stentor, Bursaria, Cyrtostomum, Climacostomum, Trachelius,* etc.

Operando sôbre o *Stentor,* por exemplo, imaginemos este cortado transversalmente em tres fragmentos; chamemos a cada um destes — *merozoïto*. O segmento médio não encerra nenhum dos orgãos do infusório primitivo, salvo uma porção variavel do rosário nuclear; esta porção do núcleo póde, por exemplo, não ser composta senão de um único segmento.

Cada merozoïto torna-se um *Stentor* completo e o merozoïto médio não gasta mais tempo que os outros em regenerar-se: posto que privado das suas duas extremidades, fica constantemente orientado nos seus movimentos e na regeneração dos seus orgãos, como quando fazia parte do animal inteiro. Quando o merozoïto tem reproduzido todos os seus outros orgãos, o segmento ou segmentos nucleares, que encerrava, multiplicam-se por divisão para regenerar um núcleo completo.

Supponhamos agora que um outro *Stentor* é seccionado por fórma que um dos seus segmentos é inteiramente privado de núcleo, o qual ficou inteiramente no outro mero-

zoïto. Então este último regenera-se como na experiéncia anterior; o merozoïto privado de núcleo fecha mal a sua ferida, cujos bordos não fazem senão approximar-se; continúa a mover-se e a ingerir alimentos; mas em breve o seu plasma se desorganiza: torna-se esponjoso, formam-se-lhe vacúolos na sua massa; depois o merozoïto perde a sua fórma, no fim de 15 minutos deixa de mover-se e morre 24 a 48 depois da merotomía.

Estas experiéncias feitas no *Stentor* foram repetidas noutras espécies de *Stentores* e em muitos outros infusórios; foram variadas de mil maneiras e conduziram sempre aos mesmos resultados geraes no *Stentor polymorphus,* no *Stentor igneus,* no *Cyrtostomum leucas,* no *Trachelius ovum,* no *Prorodon niveus* no *Dileptus anser,* no *Loxodesrostrum,* na *Fabrea salina.*

Estes resultados parecem magnificamente concludentes e mostram, que o núcleo desempenha na manutenção da vitalidade das céllulas e portanto da sua nutrição um papel culminante e único; de resto nós encontrâmos nas céllulas dos grandes animaes phenómenos semelhantes aos que se passam no *Stentor:* uma céllula nervosa é formada por um núcleo em tôrno do qual se agglomera um protoplasma, que lhe é proprio e que dá origem a uma ou muitas ramificações; se se córta uma destas, toda a parte periphérica separada do seu núcleo morre rapidamente e é reabsorvida; pelo contrário a parte central da ramificação, que ficou em connexão com o núcleo, conserva a vida, continúa a crescer e regenera-se completamente até ás suas últimas expansões terminaes. Com estes resultados, estamos quasi a admittir as expressões de Gautier, affirmando que é o núcleo quem na céllula «organiza os actos, dirige as manifestações para o mesmo fim, a saber — a manutenção do typo e da reproducção, numa palavra: a vida da céllula».

Mas sem dúvida á significação d'estas experiéncias poder-se-hia objectar, que sendo feitas sôbre organismos monocellulares, cuja constituição é muito complexa, visto que nellas ha já bastantes orgãos differenciados, não teriam applicação rasoavel aos elementos cellulares dos tecidos. Para esclarecer este ponto diversos trabalhos foram instituidos.

Klebs em 1887 submetteu á acção de uma solução d'agua assucarada a 16 % filamentos de *Zygnema*. Por plasmólyse o protoplasma das céllulas destaca-se do invólucro da cellulosa e reune-se numa esphera no interior de cada segmento da *Zygnema*. Dentro em pouco, em tôrno da massa protoplásmica, separada da sua membrana, seggrega-se uma nova membrana de cellulosa. Algumas vezes o protoplasma separa-se em duas massas das quaes uma só encerra o núcleo. Neste caso só a massa nucleada se rodeia duma membrana. Emfim, se as duas massas ficam reunidas por uma pequena parte de protoplasma, ambas ellas seggregam um invólucro commum de cellulosa.

Por outro lado Haberlandt, no mesmo anno, demonstrou que nas céllulas vegetaes, onde quer que a membrana de cellulosa soffra um accrescimo local, o núcleo vem ahi applicar-se.

Tal é o caso das céllulas epidérmicas de *Cypripedium insigne* e de *Luzula maxima*, por exemplo, das quaes uma das paredes apresenta um engrossamento, que faz saliéncia no interior da céllula.

Em 1889 Korschelt corroborou para as céllulas animaes as observações de Haberlandt. Nas baínhas ováricas do *Dytiscus marginalis*, que sam formados de cámaras germinativas, alternando com os ovos em diversos estados de desenvolvimento, este auctor viu que quando as céllulas nutritivas duma cámara germinativa elaboram matéria vi-

tellina, que passa para o óvulo através do seu pedículo, o núcleo do ôvo, quer dizer, a sua vesícula germinativa, colloca-se na visinhança da massa vitellina e emitte para ella prolongamentos para se collocar melhor em contacto com os seus elementos; o núcleo neste caso parece desempenhar um papel na assimilação dos materiaes nutritivos.

Destas observações devem approximar-se as de HEIDENHAIN, confirmadas por HERMANN e SCHIEFERDECKER, sôbre as modificações apresentadas pelo núcleo das glândulas salivares durante a secreção. Estes auctores constataram com effeito, que no período de actividade da céllula, o núcleo é estrellado e envia prolongamentos no corpo protoplásmico, emquanto que quando a céllula cessa de segregar, o núcleo torna-se arredondado (1).

Vemos, portanto, que os factos observados no *Stentor* se approximam dos observados nos elementos cellulares; e que nestes o núcleo apparece como presidindo á actividade nutritiva; quando ella é activa elle modifica-se, distendendo-se e ramificando-se; onde ella é mais energica elle accode com a sua presença; nos fragmentos em que permanece, a nutrição mantém-se e continúa; nos fragmentos, em que falta, a nutrição amortece-se e cessa.

Entretanto nós vimos que o merozoïto, privado de núcleo, aínda algum tempo se nutre, absorve e assimila; e vemos que onde ha uma nutrição activa o núcleo se aloja; essa nutrição existe tambem, posto que menos activa, nos pontos afastados do núcleo; não podemos portanto concluír que é da influéncia exclusiva do núcleo, que a nutrição deriva; mas mais razoavel será acceitar, que a energia do núcleo se combina com a do protoplasma para o exercício

(1) HENNEGUY, loc. cit., pag. 461.

da nutrição. O senhor professor BOMBARDA aproveita as experiéncias de merotomía para mostrar a inanidade da hypóthese da força vital (1) residindo no nucleo, visto que a parte do *Stentor*, privada delle, ainda por algum tempo se nutre; eu julgo dever aproveitá-las para admittir antes, que o que ellas significam é que protoplasma e núcleo têem actividade nutritiva própria, e que essas actividades se congregam, se completam, se integram para o effeito da nutrição cellular, protoplasma e núcleo formando uma entidade, um indivíduo, que com razão se pode chamar com SACHS — *Energide*, designando por este termo o conjuncto do núcleo e da massa protoplásmica, que aquelle tem sob a sua dependéncia. Por estas razões eu sou levado a crêr, que são verdadeiras as seguintes affirmações de VERWORN, que acceito:

Protistas providos de orgãos especiaes de locomoção, taes como cílios, chicotes vibráteis, cirros, etc. quando se merotomizam, mostram que estes orgãos sam completamente autónomos e de nenhum modo submettidos á influéncia do núcleo.

Assim como os cílios e os cirros, tambem os vacúolos contrácteis dos protistas não estam submettidos á influéncia do núcleo. Póde, com effeito, ver-se nos fragmentos sem núcleo os vacúolos contrahir-se rythmicamente durante um dia inteiro.

Pelo que respeita á digestão existe uma differença importante entre os fragmentos sem núcleo e os fragmentos nucleados; emquanto que os pequenos organismos comidos pelos fragmentos com núcleo sam digeridos normalmente, nos fragmentos sem núcleo a digestão é mais lenta e menos

(1) Loc. cit., pag. 223 e 224.

intensa. Poder-se-hia dahi concluir que o protoplasma não é capaz de formar os succos digestivos senão com a cooperação do núcleo. HOFER acceita tambem esta opinião de VERWORN.

VIII. — Importáncia cellulígena do núcleo

O único processo, por que as céllulas se multiplicam, é por divisão cellular, e nesta o núcleo desempenha um papel notavel e executa movimentos variados, que eu prometti considerar em separado.

A divisão cellular effectua-se directa ou indirectamente e constituë uma das fórmas da *reproducção cellular*.

*

A) **Divisão directa:** — A divisão directa é caracterizada pela bipartição do núcleo por símplez estrangulamento; quasi todas as céllulas, em que ella se effectua, tẽem um núcleo em alforge; este alonga-se, estira-se, depois contráe-se na parte média e separa-se em dois; o corpo cellular por seu turno faz outro tanto e a céllula acha-se assim dividida em duas.

VAN BENEDEN em 1876 chamou a este processo de divisão — *Segmentação;* FLEMMING chamou-lhe em 1879 — *Divisão directa,* e, mais tarde em 1882, — *Amitóse* ou *divisão amitótica;* ARNOLDT em 1883 deu-lhe o nome de—*Segmentação indirecta;* HERTWIG em 1884 o de—*Divisão nuclear por estrangulamento;* e CARNOY em 1885 o de —*Divisão acinética.*

A sua representação póde ver-se nas figuras XXI e XXII,

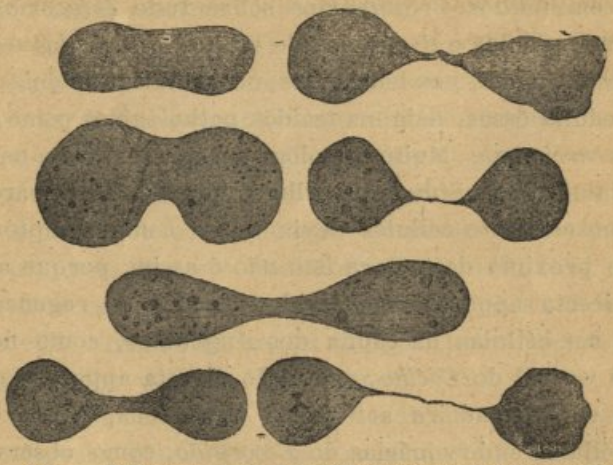

Fig. XXI. — Differentes estados da divisão directa dos núcleos nas céllulas da serosa do embrião do *Escorpião* (segundo Johnson).

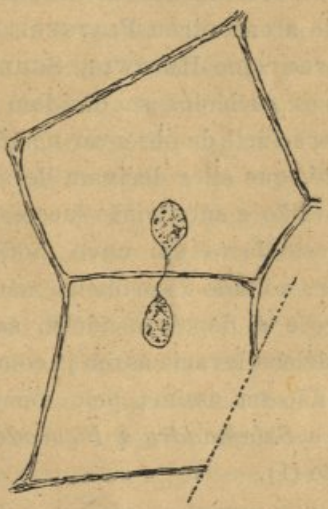

Fig. XXII. — Céllula em via adeantada de divisão directa da serosa dum embrião de *Escorpião*. Os dois núcleos-filhos estam ainda reunidos por um longo pedículo; as duas céllulas-filhas estam separadas por uma placa cellular (segundo Johnson).

e deve assignalar-se que a divisão directa tem sido observada em muitos Protozoários sôbre tudo *Infusórios,* nas espermatogónias e ovogónias de muitos *Batráchios* e diversos *Arthrópodes,* nos leucócytos, nas céllulas esplénicas, nas da medulla óssea, nalguns tecidos pathológicos como *sarcômas* e *carcinômas.* Muitos cytologistas apresentaram-na como um signal de senilidade da céllula; quando ella apparecesse nalgum elemento cellular devia ter-se como symptoma de morte proxima deste; ora isto não é assim, porque a divisão directa apparece em tecidos em via de regeneração, como nas céllulas da cauda dos *Amphíbios,* como no epithélio vesical do *Coêlho;* a divisão directa apparece em tecidos em verdadeira actividade formadora, por exemplo nas céllulas embryonárias do *Escorpião,* como observaram JOHNSON e BLOCHMANN, e apparece em tecidos perfeitamente normaes como no revestimento dos tubos de MALPIGHI do *Hydróphilo,* onde a encontrou PLATNER.

Alguns auctores como HERTWIG, SCHULTZE, ZORAKAWA, etc. querem que os nucléolos se dividam por este mesmo processo, como era fácil de observar nos *Batráchios;* AUERBACH sustenta até, que elles derivam de um unico nucléolo primitivo por divisão e subdivisão successiva e FRENZEL em 1891 creou por este facto um novo modo de divisão — a *Divisão nucleolar:* ao lado do primeiro nucléolo formar-se-ia um nucléolo novo e só depois o núcleo se dividiria; cada um dos novos núcleos levaria assim já comsigo um nucléolo. Ora isto parece não ser assim; pelo menos para o *Tritão* [JORDAN] e para a *Salamandra* e *Pleurodeles* a divisão nucleolar não existe (1).

---

(1) *La Céllule,* Tomo XII, 1897. J. B. CARNOY e H. LEBRUN: *La vésicule germinative et les globules polaires chez les Batraciens,* pag. 281.

A maneira como os nucléolos se comportam na divisão directa é muito obscura e disso é exemplo esta discordância; egualmente obscura é a determinação da acção que na divisão directa desempenham os centrosômas e as espheras attractivas. Nalguns casos, como nos leucócytos da *Salamandra,* a divisão directa effectua-se sem que o centrosôma se veja dividir; elle faltará portanto numa das céllulas-filhas e esta, por consequéncia, tornar-se-hia incapaz da de divisão pelo menos por amitóse [FLEMMING, 1891].

Noutros casos como nalguns leucócytos plurinucleados, tem-se visto alguns rudimentos de figura achromática, como que um esbôço de fuso [HEIDENHAIN, 1892]. Estes factos levam á suspeição de que talvez na divisão directa se produzam figuras intermédias, não reveladas aínda, análogas ou semelhantes ás da divisão indirecta, como que rudimentos desta; talvez na estructura das formações nucleares no momento da divisão se possa vir um dia a construir uma série completa de termos transitórios, indo insensivelmente das formas mais símplez e banaes da divisão, para as mais complexas e problemáticas; este capitulo está completamente por fazer e as suspeitas nascem no espírito apenas provocadas pela existéncia de alguns factos, que sam realmente suggestivos, donde parece derivar-se que o centrosôma exerce em verdade algum papel na divisão directa.

Tal o facto de MEVES vendo nas espermatogónias da *Salamandra,* no momento da divisão directa, o centrosôma estender-se numa fita, cruzar o núcleo no ponto em que este vae scindir-se e abraçá-lo, cingí-lo por meio de um annel, em que se transfórma, parece que para auxiliar com a sua constricção a divisão da massa nuclear [1891].

Tal o facto de FLEMMING, observado em muitos leucócytos, em que o centrosôma se colloca sempre em frente do ponto em que se faz a divisão, como que para a dirigir, ordenar e orientar [1891].

Tal o facto descripto por ARNOLD [1889] nas céllulas da medulla dos ossos, do baço, dos sarcômas, dos carcinômas e nos leucócytos, onde encontrou um modo singular de divisão nuclear; o núcleo fragmenta-se num grande número de partículas construindo figuras extravagantes, em que os elementos chromáticos apresentam uma disposição mais ou menos filamentosa, figuras que ARNOLD considera como intermediárias entre as de divisão directa e as de divisão indirecta. CARNOY encontra esta mesma disposição nos *Arthrópodos* e perfilha a mesma opinião, a qual mais recentemente GÖPPERT confirmou em 1891 nos leucócytos da camada lymphoide do fígado da *Salamandra,* verificando a mesma disposição mas notando que, em geral, os núcleos das céllulas, em que se pratíca a *Fragmentação nuclear de* ARNOLD, sam núcleos annullares. Ora trabalhos recentes de VON KCSTANECKI em 1892 e de MEVES em 1893, mostram que os núcleos annulares podem provir da divisão caryocinética.

Vê-se por consequencia que a divisão directa, quer na determinação do papel a attribuír aos centrosômas e á esphera attractiva, quer na determinação das suas relações com a divisão indirecta, offerece aínda muitos problemas a estudar.

A synonímia da divisão directa é esta:

Divisão nuclear por estrangulamento	[HERTWIG]
Divisão directa	[FLEMMING]
Divisão amitótica	[FLEMMING]
Amitose	[FLEMMING]
Holoschisis	[FLEMMING]
Divisão acinética	[CARNOY]
Stenose	[CARNOY]
Segmentação indirecta	[ARNOLD]
Simplez estrangulamento do núcleo ou	[CARNOY].
Caryostenose	[CARNOY].

*

B) **Esporulação:** — Um outro modo especial de multiplicação cellular consiste no seguinte: o corpo cellular divide-se num grande número de porções; o núcleo faz outro tanto e cada uma das porções deste aloja-se numa divisão do corpo celllular; ulteriormente estas divisões separam-se e cada uma constituë uma céllula nova *(Protozoários, Cryptogámicas)*. A divisão póde iniciar-se pelo núcleo e ser seguida ulteriormente da do protoplasma *(Gregarinas)*. A este modo de divisão deu-se o nome de — *Esporulação*.

*

C) **Conjugação:** — Um modo especial de reproducção cellular consiste na união de dois elementos cellulares para a producção de uma céllula nova, que se torna o ponto de partida de um novo indivíduo. A *fecundação* constituë um modo particular da *conjugação*. Esta póde ser *egual*, — os elementos que se unem têem o mesmo volume (algas, como a *Pandorina morum*, flagellados como o *Polytoma uvella*), ou *desegual* — os elementos que se unem teem volumes differentes (algas e flagellados como o *Phacotus certicularis*). A conjugação póde aínda effectuar-se por dois processos differentes: — fusão completa dos dois corpos protoplásmicos e respectivos núcleos — *confusão (confusio) de* Rolph; ou fusão incompleta dos dois núcleos, que préviamente soffrem mu-

tações notaveis — *interfusão (interfusio) de* ROLPH. Exemplo de confusão offerecem-no por exemplo as *Vorticellas;* da interfusão offerecem-no os *Infusórios ciliados.*

*

D) **Divisão indirecta:** — O processo de multiplicação cellular mais complicado é o conhecido pela designação de — *divisão indirecta.* É extraordinàriamente complexo, já pelos phenómenos que se passam no núcleo, já pelos que decorrem no protoplasma. O núcleo intervém por uma fórma inexcedivelmente activa, não porque desappareça, mas porque se metamorphoseia de fórma singularíssima; essa metamorphose fez com que AUERBACH chamasse á divisão indirecta — *caryólyse.*

Effectivamente a essência deste processo consiste em que as diversas substáncias chymicas, que existem no núcleo em repouso, se separam nitidamente umas das outras, adquirem disposições typicas e entram em relação mais directa com o corpo protoplásmico em seguida á desapparição da membrana nuclear. O que sôbretudo impressiona na divisão indirecta é a disposição regular, que toma a nucleina; é ella por isso a que até agora tem sido melhor estudada nas suas minúcias, emquanto que pelo que respeita ao destino das outras substáncias do núcleo ha aínda muitos problemas extremamente obscuros.

Na divisão indirecta, que SCHLEICHER em 1878 designou por — *cariocinése* (κάρυον «núcleo» κινησις «movimento») o núcleo e o corpo cellular dividem-se ambos, mas fazem-no em tempos differentes, sendo a divisão nuclear a que tem

logar primeiro. Porque a designação de SCHLEICHER parece attribuír ao núcleo um papel exclusivo na execução do phenómeno, HENNEGUY propoz-se substituíla, e com razão, por — *Cytodiérese* (κύτος «céllula» διαιρεσις «divisão»), afim de mostrar que nelle intervem toda a céllula. E como o phenómeno é extremamente complicado e constituído pela successão de muitas operações parciaes, a fim de systematisar a descripção STRASBURGER em 1884 fez delle uma divisão em tres grandes phases que, consideradas em separado, permittem analysá-lo com a maior simplicidade. Caracterisou-as assim: — á phase que se inicia nas primeiras mutações do núcleo-mãe, que começa a desaggregar-se, formando um novêllo e que concluë quando está terminado o desdobramento longitudinal dos filamentos chromáticos chamou STRASBURGER — *Prophase;* aos phenómenos, que presidem á formação da placa equatorial e sua separação em duas meias placas, chamou — *Metaphase;* ao conjuncto dos differentes estados de reconstituição dos núcleos-filhos chamou — *Anaphase.* Estudêmo-los separadamente:

a) **Prophase:** — O primeiro phenómeno da prophase consiste na apparição no núcleo de um filamento único contornado sôbre si mesmo um grande número de vezes como para formar um novêllo apertado. Como o filamento se contorce num grande número de espiras, FLEMMING chamou a este primeiro phenómeno — *Espirema* (σπειρεμα «prega»). Provém este filamento da ruptura das malhas da rêde de linina? Provém do arranjo mais regularisado do filamento com numerosas ansas, descripto por CARNOY? Neste caso o filamento não seria contínuo, — seria formado de segmentos dispostos topo a topo, e então o enrolamento de cada segmento continuaria o enrolamento do anterior sem nunca se ramificar nem soldar aos seus vizinhos. Provirá este fi-

lamento da ruptura das trabéculas, que unem entre si as ansas de RABL? A nenhuma d'estas interrogações é permittido responder por emquanto; é possivel que todas as fórmas tenham logar (Fig. XXIII).

O segundo phenómeno é caracterisado pelo encurtamento deste filamento, que se torna mais homogéneo e mais

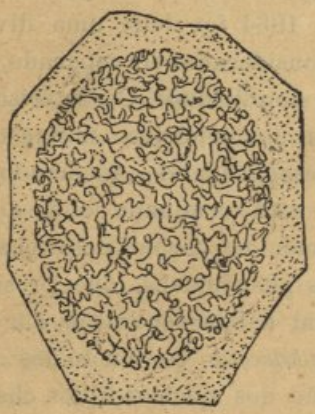

Fig. XXIII. — Núcleo no principio da divisão duma cellula epithelial do apparelho branchial duma larva de *Salamandra*. Persistem ainda dois restos de nucléolos (segundo FLEMMING).

Fig. XXIV. — Núcleo dum espermatómetro da *Salamandra maculata*; eschemático (segundo FLEMMING).

grosso, donde resulta que as ansas do novello anterior se distanceiam e separam: existe aínda um espirema mas formado por um novêllo solto, pouco apertado, laxo (Fig. XXIV).

O terceiro phenómeno póde chamar-se — *de novèllo segmentado,* porque o filamento se divide *transversalmente* num certo número de segmentos chamados — *Chromosômas* [WALDEYER] ou *Cariomitômas* [FLEMMING) ou *Segmentos nucleares* [HERTWIG]; se a hypóthese de RABL para a constituição do núcleo é verdadeira, esta divisão é desnecessária, porque cada ansa constituë já um chromosôma; nas

outras hypótheses a segmentação é necessária e ella póde effectuar-se em número variavel; os chromosômas contam-se por dezenas e centenas nos vegetaes; nos animaes o seu número habitual é de doze a vinte e quatro, nalguns mesmo menos, como na *Ascaris megalocephala* em que é apenas de quatro ou dois, e que é por isso preciosa para o seu estudo (Fig. XXV).

O quarto phenómeno é designado por — *Segmentação longitudinal.* Desde que os chromosômas estam separados,

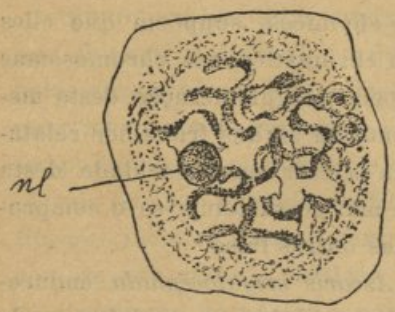

Fig. XXV. — Célula-mãe pollínica do *Lilium Martagon.* Os segmentos chromáticos, em numero de 12, estam livres na cavidade nuclear; as duas metades que constituem cada um delles tornaram-se nitidamente visiveis. *nl*, — nucléolo (segundo Guignard).

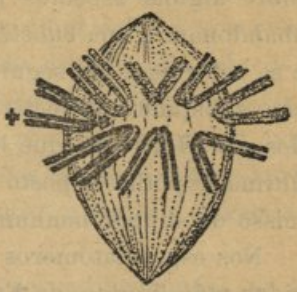

Fig. XXVI. — Representação eschemática da segmentação nuclear (segundo Flemming).

reconhece-se que elles não sam símplez mas formados de dois filamentos parallelos estreitamente approximados; esses dois filamentos sam unidos por uma fina linha clara, ao longo da qual elles se separam (Fig. XXVI). O momento, em que esta separação começa, está por determinar, mas ella é de primeira importância porque reparte de uma maneira rigorosamente egual a chromatina do núcleo-mãe entre os dois núcleos-filhos. A esta altura os nucléolos têem-se atrophiado e têem desapparecido. Nunca mais torna a haver

notícias d'elles senão quando os núcleos-filhos estam formados; ahi reapparecem com os mesmos caracteres, que possuíam na céllula-mãe.

O que se passou neste intervallo? Alguns histologistas pensam que os nucléolos vam formar os centrosômas e que por estes sam reconstituídos de novo; outros como ZIMMERMANN [1893] asseguram que, nas plantas, elles se dissociam, se espalham sob a fórma de pequenos gránulos chromáticos no cytoplasma e se agglomeram de novo para formar os nucléolos das novas céllulas; outros aínda, fundando-se sôbre alguns aspectos histo-chymicos, suppõem que elles abandonam a sua substáncia chromática aos chromosômas e se reformam em seguida pela reagglomeração desta mesma substáncia; effectivamente ha alguns trabalhos relatados por HERTWIG, que levam a crêr na veracidade desta última hypóthese, posto que não possa tomar-se o compromisso de suppôr nenhuma das outras falsa.

Nos espermatómeros da *Ascaris megalocéphala* endurecidos pelo líquido de FLEMMING diluído, a nucleína perde a sua colorabilidade, emquanto que os nucléolos se córam de vermelho escuro pela fuchsina ácida. HERTWIG verificou, que nos estádios preparatórios da divisão, o nucléolo se fragmenta em muitas peças, de que as mais pequenas se resolvem, ao mesmo tempo que fragmentos semilhantes córados de vermelho escuro se acham applicados sôbre os filamentos nucleares. Quando mais tarde os chromosômas estam completamente formados e o núcleo tem inteiramente desapparecido, então apparecem os corpúsculos polares á superfície do núcleo, e ao mesmo tempo cada chromosôma encerra um corpúsculo vermelho-escuro, que se comporta a respeito das matérias córantes como a substáncia do nucléolo.

Algumas outras reacções interessantes das matérias córantes pleiteiam aínda a favor da incorporação da substán-

cia nucleolar nos chromosômas, mas provavelmente no estado de fragmentos muito mais reduzidos. Como WENDT observou nos vegetaes, o esqueleto nucleínico dos núcleos do sacco embryonário de diversas *Liliáceas* córa-se de azul esverdeado pela mistura de fuchsina e verde iode, emquanto que os nucléolos tomam uma coloração vermelha. Pelo contrário, durante os estados de divisão em que os nucléolos não existem, os chromosômas córam-se de violeta. Quando, mais tarde, os nucléolos reapparecem nos núcleos-filhos, os filamentos nucleares retomam a coloração azul esverdeada.

WENDT explica estas mudanças de coloração admittindo que, durante a divisão, a substáncia nucleolar é absorvida pelos chromosômas e que depois da divisão ella sáe dalli para formar os novos nucléolos. Seja como fôr, ao mesmo tempo que estes phenómenos decorrem no núcleo, no cytoplasma têem-se iniciado modificações curiosas. Essas modificações incidem sobre o centrosôma e a esphera attractiva, com ou sem camada cortical.

Emquanto no núcleo o novello se vae formando, na esphera attractiva, irradiando do centrosôma, vam-se tornando nítidos os raios plásmicos, dispostos como os raios emanados dum ponto luminoso. Como a esphera primitivamente está encostado ao núcleo, só do lado opposto a este se vêem no comêço esses raios; mas, dentro em pouco, a esphera afasta-se do núcleo e entam os raios plásmicos vêem-se em todo o contôrno do centrosôma: o *aster* está desde então visível, com os nomes de — *Radiação protoplásmica, Figura radiada, Estrella* e *Sol*.

Logo depois o centrosôma divide-se: a granulação única primitiva é substituída por duas granulações. A esphera, primeiro única, depressa acompanha essa divisão do centrosôma; dá-se a sua divisão e ficamos assim com dois centrosômas e duas espheras, formações eguaes, nas quaes se con-

stata disposição egual á inicial, isto é, ficamos com dois asters. Estes afastam-se; cada um tende para um polo opposto do núcleo; e, ao mesmo tempo que se realiza esse afastamento, a membrana nuclear váe desapparecendo, fundindo, a ponto de que, daqui por diante, não ha distincção possivel entre phenómenos intra e extra-nucleares (Fig. XXVII). Alguns auctores, como SCHWARTZ e SCHNEIDER, negam esta desapparição da membrana; mas FLEMMING viu nitidamente, com effeito, nos glóbulos vermelhos do *Tritão*, a hemoglobina chegar ao contacto dos chromosômas.

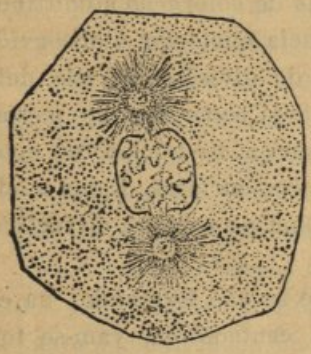

Fig. XXVII. — Céllula do germen da *Truta*. A membrana do núcleo desappareceu nos dois polos. Os raios dos Asters penetram no interior do núcleo (segundo HENNEGUY).

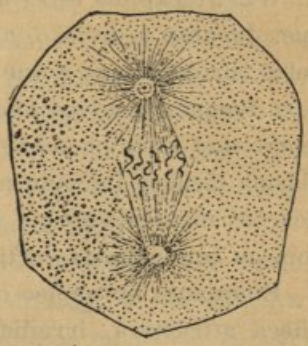

Fig. XXVIII. — Céllula do germen da *Truta*. A membrana nuclear desappareceu inteiramente. O fuso achromático está quasi constituido e os chromosômas começam a dispôr-se no equador do fuso (segundo HENNEGUY).

Os dois asters não sam independentes; longe disso: trabéculas finissimas, duma extrema tenuídez, lançam-se entre elles, distinctas umas das outras, afastadas, sendo o seu maior afastamento correspondente ao meio do seu trajecto; dessa disposição deriva um novo phenómeno, — a formação de um *Fuso*, cuja assimilhação geométrica póde fazer-se, dizendo que elle desenha dois cónes, que se unem pelas suas bases e em cujos vértices estam os asters (Fig. XXVIII).

Sam os raios do Aster idénticos aos filamentos do fuso? Alguns histologistas votam pela affirmativa, como RABL e HERMANN; outros admittem differenças nas duas formações, suppondo que os raios do aster sam constituídos por granulações (microsômas) orientados de maneira especial; FLEMMING até, em 1892, para accentuar esta ideia, propôs para o aster o termo — *Astroide,* e o de — *Diastroide* para o momento em que ha dois asters.

A successão destes phenómenos dá ao corpo cellular, neste momento, um aspecto original e notavel produzido pelo conjuncto destas formações e pela sua posição recíproca; effectivamente, neste momento, ha no corpo cellular:

1) Os *polos,* comprehendendo cada um o seu centrosôma e uma esphera attractiva, ou um aster, que irradia no cytoplasma em volta do polo, salvo na região occupada pelo fuso; a figura constituida por este aster duplo, por estes dois asters, como eu tenho dito, chama-se — *Amphyaster* (Fol.), e onde ella póde estudar-se melhor é nos ovos dos *Echinodermas.* Em cada um dos asters do amphyaster, o grupo de raios oppostos ao núcleo é de ordinário mais accentuado que o dos raios visínhos do núcleo; é diametralmente opposto ao grupo correspondente do outro aster e fórma com elle uma figura symétrica, a que BOVERI chamou — os *Cónes antípodas.* Por este motivo, a superficie do núcleo, situada em frente do campo polar, é chamada — *Antípoda polar.*

2) O *fuso,* formado de filamentos que vam de um polo a outro, passando pelos chromosômas.

3) Os *chromosômas,* dispostos em círculo regularmente em volta do equador do fuso, e fóra d'elle; têem nesta altura tomado uma fórma em ansa regular e sam orientados, sem excepção, por fórma que o vértice da ansa olha o eixo do fuso e os ramos divergentes voltam-se para fóra, para

o cytoplasma, formando, neste estado, uma placa chamada — *Placa equatorial* ou *Placa nuclear* (Fig. XXIX). Desde que esta está constituida, entramos na metaphase.

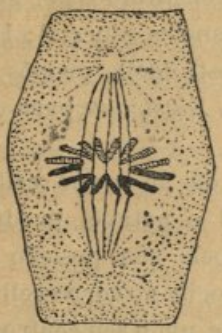

Fig. XXIX. — Phase da placa ou coróa equatorial, eschemática. (segundo MATTHIAS DUVAL).

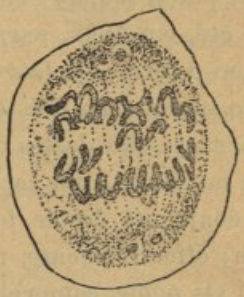

Fig. XXX. — *Lilium mortagon.* Transporte dos segmentos secundários para os polos. Fios connectivos estam lançados entre os dois grupos chromáticos (segundo GUIGNARD).

b) **Metaphase** [Metacynése de FLEMMING (1882)]: — Imaginêmos que os filamentos constitutivos do fuso, estendendo-se dos polos aos chromosômas, se contráem encurtecendo, supposição que de facto parece effectuar-se; cada chromosôma scindir-se-ha ao longo da fita longitudinal hyalina, que encerra, e dividir-se-ha assim em duas ansas chamadas — *Ansas gemeas* por VAN BENEDEN. O encurtecimento de cada fibra dá em resultado uma deformação de cada ansa, que cada vez se afasta mais da sua congénere, começando o afastamento das duas pelo meio, de modo a constituírem primeiro uma ellipse alongada transversalmente, depois um círculo, depois uma ellipse cujo primeiro eixo será dirigido como o do fuso; as duas ansas mantêem-se unidas só pelas extremidades, mas, afinal, mesmo estas se separam (Fig. XXX); a placa equatorial é então substituída por duas meias placas. Daqui por diante começa a anaphase.

c) **Anaphase**: — Cada uma das ansas é arrastada para cada um dos polos. Uma e outra se approximam muito do polo respectivo, mas nunca o attingem; entre os vértices dos chromosômas, que não chegam ao contacto, e a esphera attractiva, que elles não attingem, fica um pequeno espaço chamado — *Campo polar,* que, se fosse verdadeira a hypothese de RABL, representaria o seu *campo polar de repouso.* Ora, emquanto dura esta deslocação dos chromosômas, as ansas gémeas ficam sempre unidas por fibras finíssimas, lançadas entre ellas, e chamadas — *Filamentos connectivos,* os quaes seram tanto mais longos, quanto mais vizinhas as ansas forem dos polos. A existéncia destas fibras confunde singularmente os histologistas, e levanta, a respeito da constituição do fuso, problemas que estam insoluveis aínda agora.

Quem primeiro descreveu estas *fibras reunidoras* ou *filamentos connectivos* foi VAN BENEDEN. Para elle as coisas passam-se assim: — Se os filamentos, que vam dos polos aos chromosômas, constituíndo o fuso, se interrompem ao nivel destes, então estes filamentos connectivos sam de nova formação com toda a probabilidade derivados da fita de substáncia hyalina, que divide longitudinalmente o chromosôma, ao longo da qual se faz a separação deste em duas ansas gemeas e que se estiraria em fios quando estas se separam; a emigração dos chromosômas da placa equatorial para os polos effectuar-se-ha então por contracção dos filamentos constitutivos do fuso.

VAN BENEDEN e BOVERI attribuem-lhes um papel activo na execução deste phenómeno, e formam por isso do fuso uma concepção original. Em sua opinião o fuso, como póde vêr-se por exemplo na *Ascaris,* compõe-se de dois meios fusos independentes um do outro; cada um delles compõe-se de numerosas fibras protoplásmicas, que convergem para

o corpúsculo polar e se fixam ahi por uma das suas extremidades, emquanto que as suas extremidades oppostas divergem approximando-se das ansas nucleares e fixando-se em differentes pontos aos chromosômas-filhos, dirigidos do seu lado. Como na *Ascaris* só ha quatro chromosômas, os quatro segmentos filhos afastam-se do plano equatorial, e sam attraídos para o corpúsculo polar, graças ao encurtamento destas fibras determinado por uma contracção. LUSTIG e GALEOTI (1893) estam de accordo com este modo de vêr de VAN BENEDEN e BOVERI (Fig. XXXI).

Fig. XXXI. — Composição do fuso em dois meios fusos cujas fibras se fixam sobre os segmentos nucleares-filhos; eschemática (segundo VAN BENEDEN e NEYT).

Mas, supponhamos que esses filamentos connectivos não sam senão a parte média de filamentos contínuos lançados de um polo a outro; nesse caso a emigração dos chromosômas será devida não a uma contracção das fibras do fuso, como eu figurei na metaphase, mas a um escorregamento destes sobre as fibrillas do fuso; e o que vemos como fibras connectivas é, não o resultado da extensão da fita longitudinal hyalina, mas a porção média dessas fibras do fuso, Esta hypóthese, apresentada por STRASBURGER, comprehende-se bem; e então que força faria emigrar os chromosômas? provavelmente uma attracção chymiotatica procedente das espheras attractivas.

As coisas podem porém conceber-se aínda doutro modo. Depois da emigração dos chromosômas as fibras lançadas entre os asters continuam a vêr-se; supponhamos que as fibras do fuso não mantêem a sua continuidade ao nivel dos chromosômas; supponhamos que a fita longitudinal hyalina se não estira em fio; aínda assim os filamentos connectivos podem vêr-se. Mas então é preciso admittir que elles não

sam lançados entre os chromosômas, mas sim que sam a parte média de filamentos lançados de polo a polo e independentes dos chromosômas.

HERMANN apresenta esta hypóthese, suppondo que, na anaphase, existem dois fusos: — um, *periphérico*, constituído como quer VAN BENEDEN; outro, *Fuso central*, constituído por fibras directamente lançadas de um polo a outro. Depois da progressão dos chromosômas e encurtamento, por contracção, das fibras do fuso periphérico, ficar-se-hia aínda a ver esta parte média das fibras do fuso central. Nos *Echinodermes*, por exemplo, é facil ver os dois asters reunidos

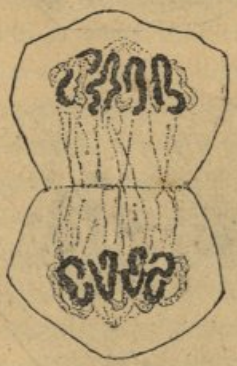

Fig. XXXII. — Representação eschemática da divisão nuclear para a formação dos núcleos-filhos (segundo FLEMMING).

por fibrillas verticaes constituindo um halter, que outra coisa não é senão um fuso central. Tal seria, por exemplo, a disposição representada na figura XXXII.

Acceitar ou repudiar qualquer destas opiniões não é coisa para mim possivel. Para se fazer ideia da difficuldade que estes factos representam, basta notar o que succede na

figura XXXIII: — *a* e *b* são duas céllulas irmãs (1) e na mesma phase; *b* é porém vista de perfil e já então mostra elementos fusoriaes, que na posição *a* não apparecem.

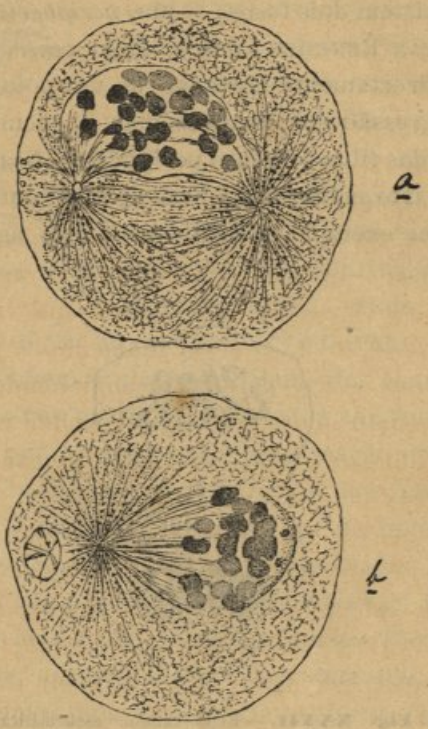

Fig. XXXIII. — Espermatócytos da *Helix pomatia* (segundo Bolles Lee).

Outro tanto succede para a questão, egualmente duvidosa, de saber se os elementos do fuso sam de origem nuclear ou extranuclear. Nós temos até aqui descripto a apparição do fuso, a progressão dos chromosômas para os

(1) Bolles Lee, loc. cit., estampas 10 e 10 bis.

polos e portanto a desapparição dos elementos do fuso, se aquella se não faz por símplez escorregamento das ansas gemeas; ora muitas vezes a formação do fuso é observada da maneira seguinte:

O centrosôma com a sua esphera attractiva divide-se; as suas duas porções afastam-se e dirigem-se para as duas extremidades de um mesmo diámetro do núcleo, girando sobre a membrana intacta deste; depois os centrosômas afastam-se um pouco do núcleo, e, entre este e elles, apparece um espaço claro; em volta de todo o núcleo, ao mesmo tempo, fórma-se tambem um espaço claro, emquanto que a membrana nuclear se engêlha e enruga um pouco, como que para expremer de si o succo que vae formar esse espaço claro; só então se vêem filamentos a partir dos polos, a dirigirem-se para o núcleo, englobando-o, formando um fuso completo, phenómeno que coincide com a desapparição da membrana nuclear e com a connexão dos chromosômas com os filamentos do fuso.

Esta opinião, que admitte a origem extra-nuclear dos elementos do fuso, é partilhada por STRASBURGER, GUIGNARD e quasi todos os botánicos, e aínda por alguns zoólogos, como FOL, BOBRETSKY, BOVERI (1888), HENNEGUY (1891). Outros, como BÜTSCHLI, PFITZNER, CARNOY, RABL, HERTWIG, GRÜBER, ZACHARIAS, SCHEWIAKOF, VAN DER STRICHT, suppõem que os filamentos do fuso provêem sempre exclusivamente da rêde de linina, porque, em certos casos, o fuso inteiro póde achar-se no interior do núcleo, quando a membrana nuclear está ainda intacta: é facto observado por O. HERTWIG (1875, 1877, 1878) e H. FOL (1877) nos ovos de certos *Gasterópodos* inferiores como a *Pterotrachea,* a *Phyllirhoe,* etc., por SCHEWIAKOFF na *Euglypha* e R. HERTWIG em diversos infusórios.

Entretanto HENNEGUY (1891) fez notar que estes factos

não sam tam demonstrativos, como parecem, porque as espheras attractivas estam exteriormente encostadas á membrana nuclear nos pontos em que terminam os polos do fuso; a membrana é, portanto, atravessada, furada, nestes pontos, e por estes orifícios os elementos do fuso tanto podem entrar como saír. A figura XXVII (pag. 212) parece dar-lhe uma certa razão. VAN DER STRICHT (1894) admitte que das fibrillas, que partem dos centrosômas, umas se vam ligar aos chromosômas e formam os — *cones principaes* ou *cones de attracção de* VAN BENEDEN, outras ficam independentes dos chromosômas e formam os — *cones accessórios,* mas que uns e outros sam extra-nucleares.

Outros histologistas têem uma opinião intermédia; VAN BENEDEN (1883), FLEMMING (1891) PLATNER, HERMANN (1891), MITROPHANOW (1894) attribuem ao fuso uma origem dupla: o que nós chamamos — *fuso central,* — e, no caso dum fuso único, a porção polar deste fuso, — parece provir indubitavelmente da substáncia mesma das espheras attractivas ou do cytoplasma ambiente, como os raios do aster; mas a porção equatorial do fuso periphérico, — ou do fuso único se não ha senão um, — proviria dos filamentos de linina, convenientemente dispostos.

Tenham as coisas logar como tiverem, o que é certo é que, depois da progressão dos chromosômas se ter realizado, o estado de repouso vae reconstituir-se; uma nova phase, que póde chamar-se — *Dispirema,* evoluciona por fórma que os mesmos phenómenos quasi que se praticáram no princípio, vam produzir-se, mas por ordem inversa.

Em cada um dos polos os chromosômas perdem a sua fórma e a sua disposição regulares; os seus ramos contornam-se, as suas ansas abrem-se, alongam-se e finalmente arranjam-se num conjuncto irregular, que lembra o estado de novello segmentado; depois approximam-se, tornam-se

menos distinctos uns dos outros, formam mais ou menos nitidamente o novello apertado: está attingido o *dispirema*. Por último a fórma do ou dos cordões torna-se irregular, engelhada, como se filamentos muito finos crescessem aos seus lados e, sem se saber como, o estado de rêde em repouso está attingido.

O fuso central, depois que os chromosômas alcançaram os polos, torna-se menos distincto, e, á medida que o estado do dispirema se approxima do seu fim, vae elle desapparecendo gradualmente, até se eliminar de todo. O aster, ao mesmo tempo, amortece de intensidade nos polos; a esphera attractiva com o seu centrosôma torna-se menos distincta e aloja se numa depressão da membrana nuclear, sem, todavia, mudar de logar; o estado de repouso está então attingido (Fig. XXXIV).

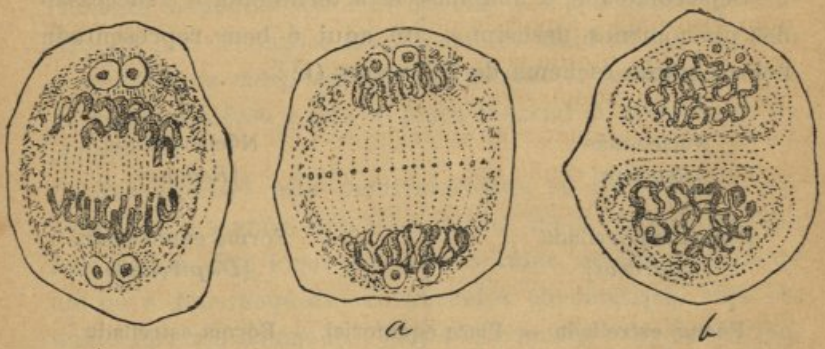

Fig. XXXIV. — *Lilium mortagon.* Estados successivos da reconstituição dos núcleos-filhos. Em *a* a placa nuclear apparece sob a fórma duma linha granulosa; em *b* os núcleos estam formados e as espheras occupam a sua face externa, ficando extra-nucleares (segundo Guignard).

Parece derivar-se daqui que a rêde de linina provém dos chromosômas; os chromosômas da futura divisão serám provenientes desta mesma rêde; logo os chromosômas subsistem indefinidamente mas ninguem sabe até agora se as

coisas se passarám, em toda a parte e sempre, com esta simplicidade; dahi vêem novas discordias: — Para uns, os chromosômas sam constantes em número mas não em substância, e o filamento nuclear recorta-se, no momento da divisão, não importa como (O. HERTWIG); para outros a permanéncia da substância existe, ou porque o filamento se recorta sempre nos mesmos pontos em cada divisão (STRASBURGER, BOVERI), ou porque os chromosômas nunca perdem a sua individualidade (RABL) na constituição dos núcleos-filhos; articulam-se sempre, mas nunca se fundem.

Pelo que respeita ao número a questão é mais facil; os zoologistas affirmam todos que o número de chromosômas é sempre o mesmo; ainda VOM RATH, em 1894, por investigações no *Cão, Salamandra, Ascaris,* etc., o confirmou; para os vegetaes fazem-se algumas reservas.

Seja como fôr, a anaphase está terminada e a successão dos phenómenos descriptos até aqui é bem representada pelo seguinte eschema de FLEMMING (1):

Núcleo-mãe		Núcleos-filhos
[*Repouso*]		[*Repouso*]
↓		↑
Fórma ennovellada		Fórma ennovellada
[*Espirema*]		[*Dispirema*]
↓		↑
Fórma estrellada →	Placa equatorial →	Fórma estrellada
[*Aster*]	[*Metacinése*]	[*Diaster*]

d) **Telophase**: — HEIDENHAIN em 1884 reconheceu, que a divisão indirecta da céllula não está completamente termi-

(1) LUCIEN COURCHET: *Du noyau dans les céllules végétales et animales. Structure et fonctions.* Paris. Oct. Doin. Ed. 1884, pag. 107.

nada no fim da anaphase, quando os núcleos-filhos estam reconstituidos, e propôs designar com o nome de —*Telophase* a série dos phenómenos seguintes, que se observam no cytoplasma depois da anaphase, bem como a regressão dos restos das figuras achromáticas. Effectivamente, reformado, duplicado o núcleo, a céllula não está aínda dividida; alguns phenómenos novos decorrem mesmo durante a divisão.

Nas plantas, antes do fuso central desapparecer, vê-se surgir sobre cada um dos filamentos unidores, exactamente no plano equatorial, uma pequena nodosidade; todos estes pequenos gránulos fórmam, pela sua união, uma placa chamada — *Placa cellular* por FLEMMING ou *Phragmoplasta* por ERRERA, que é destinada a formar a membrana de separação entre as duas céllulas (Fig. XXXIV *a*). CARNOY distingue aínda na placa cellular duas partes, que encontra inteiramente distinctas nos *Arthrópodos:* — a *placa fusorial* constituída por dilatações dos filamentos unidores, e a *placa completiva* ou *marginal* ou *cytoplásmica*, que apparece fóra da região do fuso e une a placa fusorial á membrana da céllula.

Nos animaes esta particularidade só se encontra por excepção, e sempre sob uma fórma mais rudimentar que nas plantas. Em logar da placa cellular, acham-se sómente um ou muitos pequenos corpúsculos chromáticos, cuja reunião fórma o chamado—*Corpo intermediário de* FLEMMING, os quaes desapparecem depois da divisão. O corpo intermediário foi encontrado nas céllulas cartilagíneas por FLEMMING (1882), nas céllulas da córnea do *Tritão* por GEBERG (1891), na *Ascaris megalocéphala* por VAN BENEDEN (1891) e por PRENANT (1892) etc.

e) **Divisão do corpo cellular:** — Á producção destes phenómenos segue-se a divisão do corpo cellular, que é tão

simplez quanto a divisão nuclear é complicada; essa divisão começa já durante a anaphase, quando as ansas gemeas attingem os polos: na peripheria da céllula, exactamente no plano equatorial, fórma-se um sulco; esse sulco accentua-se gradualmente, de maneira que, quando os asters se amortecem, é completo o circulo por elle formado em tôrno da céllula; nos momentos seguintes de cada vez se aprofunda mais, de modo que, dentro em pouco, acaba por cortar a cellula-mãe em duas céllulas-filhas, cada uma das quaes contém um núcleo dos novi-formados. A figura XXXIV *b*, dá idêa do facto. Esta descripção applica-se evidentemente ao caso geral, porque a divisão do núcleo póde ter logar um grande número de vezes sem ser seguida da divisão do protoplasma; e essa disposição tanto póde ser transitória como permanente, por exemplo na *Vaucheria*.

*

E) **Divisões indirectas anormaes:** — Em 1887 FLEMMING descreveu uma variedade de divisão indirecta na qual a divisão longitudinal dos chromosômas não tem logar pela fórma descripta aqui, antes por est'outra: os chromosômas dividem-se em dois grupos eguaes; cada um desses grupos dirige-se para um dos polos, onde os chromosômas existem portanto em número metade menor do número total dos chromosômas da céllula; só ahi nos polos é que elles soffrem uma divisão longitudinal, que reconduz o seu número ao número normal. HACKER, em 1892, constatou que este modo de divisão se encontra só nas céllulas-mães dos elementos sexuaes, e FLEMMING designa este processo por — *divisão nuclear heterotypica*.

Ha outras divisões nucleares, — *divisão polypolar,* — em que o número de polos póde ser superior a 2, apparecendo 3, 4, etc., até 12. Ás figuras produzidas então dá-se o nome de *Triaster, Tetraster,* etc. É um modo de divisão observavel

Fig. XXXV. — Figura nuclear duma célula gigante do figado de um embrião de *Mammifero.* Os chromosômas filhos formam numerosos grupos affastados uns dos outros para os numerosos polos da figura (segundo KOSTANECKI).

na *fecundação polyspérmica* e em tecidos pathológicos como o *Carcinôma* (Fig. XXXV).

A synonímia da divisão indirecta é extremamente complicada; eu vou vêr se a resumo:

Caryocinese ..... [SCHLEICHER]
Cytodiérese ..... [HENNEGUY]
Segmentação nuclear ..... [HERTWIG]
Divisão cinética < *Divisão do núcleo — Caryodiérese* ..... / *Divisão do protoplasma — Plasmodiérese* } [CARNOY]
Divisão indirecta ou *mitótica* ou *mitose* ou *mitoschisis* (de μιτος «fio»; e σχισις «divisão» ..... } [FLEMMING]
Caryòlyse ..... [AUERBACH]

Prophase [STRASBURGER] {
Fórma em novêllo, novêllo-mãe *(mutterknäuel)* (1) espirema [FLEMMING]
Fórma em estrella, estrella-mãe *(mutterstern),* monaster [KLEIN]
Aster [FLEMMING], astroide [FLEMMING], corôa equatorial [CARNOY]

(1) A impossibilidade de traduzir litteralmente os termos empregados pelos auctores allemães, pela falta de correspondência com os termos portuguêses, pelo que respeita ao género, fórça-me a empregar neste quadro designações apparentemente incorrectas, mas que o não sam.

Metaphase [STRASBURGER]	Disposição em círculo da figura chromática, placa equatorial *(equatorial platte)*. [FLEMMING] Metacinese [FLEMMING] Ascensão polar [CARNOY]
Anaphase [STRASBURGER]	Fórma em estrella dos núcleos-filhos, estrella-filha *(Tochterstern)* [FLEMMING] Diaster [KLEIN, FLEMMING], diastroide [FLEMMING] Corôa polar [CARNOY], amphiaster [FOL] Fórma em novêllo dos núcleos-filhos, novêllo-filho *(Tochterknaüel)* [FLEMMING] Dispirema, figura pectiniforme [FLEMMING]
Telophase [HEIDENHAIN]	Reabsorpção dos filamentos unidores, amortecimento dos asters, [FLEMMING] Apparição da placa cellular [FLEMMING] Corpo intermediário [FLEMMING], Phragmoplasta [ERRERA] Placa fusioral e completiva ou marginal ou cytoplásmica [CARNOY].

*

F) **Gemmação:** Se entre dois núcleos se effectuar a divisão por fórma tal, que um dos productos seja tão pequeno em relação ao outro, que mal lhe diminúa o volume, diz-se que ha — *gemmação.* Esta fórma especial de divisão observa-se frequentemente em certos grupos de organismos monocellulares, por exemplo — a *Podophyra gemnipora,* a *Acineta maritima,* etc.; o núcleo desta como o de uma multidão de infusórios tem a fórma de ferradura. Mas onde a gemmação é mais notavel é na formação dos glóbulos polares do óvulo; aqui é sôbremodo facil de estudar na *Asteria glacialis.* Os glóbulos polares foram pela primeira vez observados por CARUS em 1824, no ôvo da *Limnea;* em 1841 foram descriptos por FR. MÜLLER, que lhes deu o nome de — *Vesículas*

directrizes (Richtungsbläschen). ROBIN em 1862 chamou-lhes — *glóbulos polares,* por apparecerem no polo do ôvo e FLEMMING em 1874 — *Corpos directores (Richtungkörper).*

Normalmente sam dois; geralmente sam lançados fóra do ôvo antes da penetração do espermatozoide, como, por exemplo, nos *Mammíferos* e *Echinodermes;* nalguns animaes como a *Rã* e a *Lampreia,* o primeiro glóbulo polar é expulso antes, o segundo depois da penetração do espermatozoide; na *Ascaris megalocephala,* ambos os glóbulos polares

Fig. XXXVI. — Formação das céllulas polares na *Asterias glacialis.* (segundo O. HERTWIG).

sam expulsos depois da fecundação; na maior parte dos *Insectos* os glóbulos polares ficam permanentemente no interior do vitello. O mechanismo da sua formação é bem representado na figura XXXVI.

ÍNDICE

SEGUNDA SECÇÃO

Protoplasma

CAPÍTULO I

Estructura do protoplasma

CAPÍTULO II

Composição chymica do protoplasma

TERCEIRA SECÇÃO

O Núcleo

CAPÍTULO I

Membrana nuclear

CAPÍTULO II

Estructura do núcleo

CAPÍTULO III

Os nucléolos

CAPÍTULO IV

Composição chymica do núcleo

CAPÍTULO V

Novas granulações cellulares

CAPÍTULO VI

Constância do núcleo

CAPÍTULO VII

Importância tróphica do núcleo

CAPÍTULO VIII

Importância cellulígena do núcleo

PÁDUA

ESTRUCTURA
E
COMPOSIÇÃO
DA CELLULA