

FOLIA ANATOMICA UNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

RÉDACTORES

PROF. GERALDINO BRITES PROF. MAXIMINO CORREIA

INDEX

| | |
|--|-----|
| AMÂNDIO TAVARES: <i>O epitelioma mumificado ou calcificado da pele (Epitelioma de «Malherbe»)</i> | N 5 |
| ANTÓNIO E. MENDES FERREIRA: <i>Étude morphologique des nucléoles et rapports nucléo-nucléolaires des cellules hépatiques au cours de la régénération suivant l'extirpation partielle du foie</i> | N 6 |
| GERALDINO BRITES: <i>Ainda a propósito da técnica de exame do apêndice cecal</i> | N 7 |

VOL. XV



N N 5-7

«COIMBRA EDITORA»
MCMXL

FOLIA ANATOMICA UNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

Vol. XV

N 5

O EPITELIOMA MUMIFICADO OU CALCIFICADO DA PELE

(EPITELIOMA DE *MALHERBE*)

POR

AMÂNDIO TAVARES

Prof. de Anatomia patológica na Faculdade de Medicina do Porto

(Recebido pela Redacção em 6 de Abril de 1940)

Em duas notas anteriores tive ocasião de me ocupar da variedade de tumor cutâneo conhecida pelo nome de «epitelioma de Malherbe», a qual tem despertado, e continua a despertar, a curiosidade dos patologistas, por se tratar dum epitelioma cujos caracteres anátomo-clínicos se afastam consideravelmente das outras formas de observação corrente.

Independentes do revestimento epidérmico, derivados provavelmente das glândulas sebáceas e perfeitamente isoláveis dos tecidos vizinhos, tais tumores são, via de regra, duros, em consequência da calcificação ou da ossificação a que estão sujeitos. Os elementos epiteliais, que formam os lóbulos ou cordões do parênquima neoplástico, manifestam acentuada tendência para a necrose mumificante, em que êles,



ainda que mortificados, conservam a forma e relações recíprocas, sem sofrerem a desintegração citolítica, apresentando-se nos cortes como sombras celulares. Quanto ao estroma, também tem a particularizá-lo a reacção macrofágica plasmodial organizada à roda dos elementos epiteliaes mumificados, que assim se comportam como verdadeiros corpos estranhos incluídos nos tecidos e expostos à reabsorção.

Nos dois casos relatados nessas notas tratava-se de tumores localizados no membro superior, localização esta mais rara do que a cérvico-facial. Ambos foram observados em adultos; mas, enquanto o primeiro datava apenas de meses e, certamente por isso, era muito discreta a impregnação calcárea e não havia fenómenos de ossificação, o segundo exemplar, abandonado à sua evolução durante mais de trinta anos, apresentava-se calcificado e largamente ossificado.

Desde então pude estudar quatro novos casos, o que eleva a seis o número dos arquivados, em pouco mais de seis anos, no Laboratório de Anatomia patológica. Não se trata, pois, de tumores excepcionais. O seu conhecimento por parte dos clínicos facilitará o diagnóstico e de-certo veremos aumentar a sua frequência se se proceder à análise sistemática das peças operatórias, como é já corrente no nosso meio.

Sendo assim, julgo útil apresentar, ainda que sucintamente, os novos casos que observei, confrontando-os com os dois já publicados. As respectivas observações vão a seguir, dispostas pela ordem cronológica.

Obs. III. — Em Dezembro de 1935 o colega Dr. J. Macedo Pinto pediu-me a análise histológica duns pequenos fragmentos colhidos em tumor ulce-

rado da região supraciliar direita de Manuel V. V., de 69 anos. Aparecido um ano antes, o tumor desenvolveu-se lentamente e tinha então o tamanho de uma avelã, com todo o aspecto de «quisto sebáceo ulcerado». Curandeiros, a cujos serviços o doente recorrera, haviam-lhe aplicado vários cáusticos e pomadas.

Ao exame histológico reconheço a estrutura peculiar ao epiteloma de Malherbe, e o Dr. Macedo Pinto procede à extirpação total da lesão. A pequena peça operatória, que chega ao Laboratório já fixada em Bouin, tem 18^{mm} de extensão no sentido do maior comprimento e 13^{mm} de largura máxima. O nódulo, consistente, não tem a dureza doutros exemplares, e a pele que o reveste apresenta uma ulceração superficial de bordos irregulares.

As massas epiteliomatosas, que parecem independentes do revestimento epidérmico, estendem-se em superfície sem invadir os feixes dos músculos cuticulares, de que estão isoladas por tecido fibroso denso infiltrado de células inflamatórias, principalmente linfócitos, que se tornam mais abundantes à medida que nos aproximamos da zona ulcerada, onde o estroma, em transformação esclero-hialina na profundidade, forma espessos septos que separam e fragmentam os cordões epiteliais. A superfície acumulam-se abundantes polinucleares.

Numerosos macrófagos multinucleados cercam, como de costume, os maciços epiteliomatosos, que mostram a habitual necrose mumificante: os elementos mortificados conservam a forma e relações recíprocas, mas perdem completamente a afinidade para os corantes, podendo-se reconhecer ainda a arquitectura geral do tumor e os contornos celulares. Na parte protegida pela pele notam-se, contudo, alguns cordões e lóbulos de células bem vivas, fortemente cromófilas, e muitas delas em divisão

cariocinética (fig. 1); noutros, só em parte, geralmente à periferia, se mantém a vitalidade (fig. 2).

Obs. iv. — Margarida M. G., de 48 anos, internada na Enf. 13 do Hospital de Santo António (Dr. Alberto Ribeiro) em Julho de 1936, refere que aos 14 anos teve na nádega direita um furúnculo (?). Mais tarde, junto da cicatriz que dêle ficara, apareceram dois pequenos nódulos, como caroços de azeitona, um pouco dolorosos à palpação e que lentamente se foram desenvolvendo. Entrando para o Hospital por motivo de um padecimento uterino, chamou a atenção do médico assistente para os nódulos, a cuja extracção se procede.

Ambos tinham o mesmo aspecto, e só um, o maior, se mandou analisar. Guarda-se no Museu de Anatomia patológica. Aderente à face profunda dum retalho de pele, tem o tamanho duma noz pequena ($25^{\text{mm}} \times 22^{\text{mm}}$), a superfície é bosselada, a consistência dura, pétreo.

Com o auxílio duma serra corta-se um fragmento para exame histológico. Êste mostra-o constituído por grandes maciços de células mumificadas e calcificadas, no meio das quais se notam numerosas imagens de glóbulos epidérmicos. À periferia há uma fina cápsula, mal diferenciada nalguns pontos, e camadas sobrepostas de células queratinizadas e impregnadas de sais calcáreos dispõem-se como as escamas duma cebola. Em parte alguma do fragmento examinado, que abrange tôda a espessura da peça, se vêem células vivas. Também não há reacção macrofágica plasmodial do estroma, muitíssimo reduzido.

Obs. v. — Em Maio do ano passado, o colega Dr. Abel Pacheco mandou-me um «quisto» que extirpara da parte média do braço duma menina

(Arminda D. C.) de 9 anos. Dera-se conta da sua existência um ano antes, aproximadamente, e relacionara-se o aparecimento com um traumatismo sofrido por essa altura. O crescimento, lento, acentuara-se há seis meses, o que motivou a exérese.

Coberto de pele aparentemente sã, deslocava-se bem sôbre o plano aponevrótico, era bastante duro e um pouco sensível à pressão. Depois de extirpado verifica-se que tem o tamanho de uma azeitona de Elvas e é limitado por cápsula bem individualizada, fina nuns pontos, mais espêssa noutros, a separá-lo do tecido adiposo que o envolve. A impregnação calcárea não impede a obtenção dos cortes histológicos sem prévia descalcificação.

Ao exame observa-se a estrutura típica do epiteloma calcificado de Malherbe, com seus lóbulos epiteliais totalmente mumificados, em parte calcificados, e o estroma constituído por tecido de granulação rico de plasmódios (fig. 3).

Obs. VI. — Corina A. N., de 66 anos, examinada na Consulta T do Hospital de Santo António, em 25 de Janeiro último, pelos Drs. José Braga e Jaime Andrade.

Apresentava, na parte inferior da região posterior do antebraço direito, um nódulo subcutâneo do tamanho duma cereja, duro, levemente doloroso à palpação e móvel sôbre os planos profundos. Aparecera cêrca de 4 meses antes e não adería à pele que o cobria, embora esta apresentasse uma côr vermelho-acastanhada.

Sob anestesia local, o Dr. Jaime Andrade extirpa-o facilmente. Fere-lhe a atenção, a par da moleza, a existência de fino depósito pulverulento, puriforme (?), na superfície de corte. O diagnóstico parece impor-se: «quisto sebáceo supurado». Contudo, prudentemente, requiere o exame histológico

dá peça. Esta chega ao Laboratório já fixada em Bouin. Reconhece-se ainda a moleza do tecido do nódulo, que vem cortado ao meio, superfície um pouco bosselada, cápsula fibrosa bem distinta a envolvê-lo. Dimensões $18^{\text{mm}} \times 12^{\text{mm}}$.

O exame das preparações mostra a estrutura do epiteloma pavimentoso mumificado, mas sem impregnação calcárea. Acentuada reacção inflamatória do estroma, onde, além da habitual infiltração celu-

RESUMO DAS OBSERVAÇÕES PESSOAIS

| Obs. | Sexo | Idade | Localização | Tempo de evolução | Caracteres histológicos |
|------|------|---------|--------------------|-------------------|--------------------------------------|
| I | ♂ | 59 anos | Antebraço direito | 10 meses | Mumificação. Calcificação incipiente |
| II | ♀ | 38 » | Braço direito | 32 anos | Calcificação intensa. Ossificação |
| III | ♂ | 69 » | Supracílio direito | 1 ano | Mumificação |
| IV | ♀ | 48 » | Nádega direita | ? | Mumificação. Calcificação intensa |
| V | ♀ | 9 » | Braço direito | 1 ano | Mumificação. Calcificação |
| VI | ♀ | 66 » | Antebraço direito | 4 meses | Mumificação |

lar linfocitária e macrofágica plasmodial, se destacam focos de polinucleares.

Impressiona-me também a presença de cordões e lóbulos tumorais com células ainda vivas, em geral pouco volumosas, fortemente coradas e em actividade mitótica, oferecendo o aspecto dum epiteloma pavimentoso baso-celular com enrolamentos bulbiformes de onde a onde (fig. 4); noutros é apenas a orla dos cordões que se mantém viva, a parte central sendo já tomada pela necrose, brusca ou progressivamente.

Para melhor confronto resumem-se no Quadro junto as seis observações pessoais.

Como se vê, quatro dizem respeito a indivíduos do sexo feminino e, com excepção de uma (Obs. v), tôdas se referem a adultos; nalgumas trata-se até de pessoas idosas.

Note-se, todavia, que na Obs. II se deu conta do nódulo quando a possuidora tinha apenas seis anos. No caso da Obs. IV não se pode precisar a data do aparecimento, que parece remontar aos quatorze anos, idade em que a paciente acusa a existência de um furúnculo (?), que bem poderia ter constituído já manifestação do tumor, visto não ser raro encontrar um surto inflamatório a marcar determinado período evolutivo desta curiosa neoplasia. A ser assim, a evolução ter-se-ia arrastado durante 34 anos.

Recordarei, a-propósito, que em cêrca de metade das observações publicadas marca-se o comêço do desenvolvimento dêstes tumores na infância ou na adolescência, épocas pouco propícias à epiteliomatose. É esta uma das razões aduzidas em favor da sua origem disembrioplástica. A esta idea não se opõe, como à primeira vista poderia parecer, o aparecimento em idades avançadas (v. g. nalguns dos meus casos) porque há, todos sabem, «tumores disembrioplásticos» que só tardiamente se manifestam.

Quanto à localização — contrariando a sensível preferência pela zona cérvico-facial, predilecta das disembrioplasias, acusada pelas estatísticas do meu conhecimento — só num dos casos (Obs. III) o tumor se desenvolvera na face. Dos cinco restantes, quatro localizavam-se no membro superior e um sòmente no membro inferior. Por curiosa coincidência, todos ficavam do lado direito.

Trata-se, em todos estes casos, de tumores solitários; apenas no da Obs. IV havia dois nódulos, mas muito juntos um do outro, como se fôsem lobos separados na mesma neoformação.

A multiplicidade não é freqüente. Aos casos que citei no meu primeiro trabalho sôbre o assunto posso acrescentar os mais recentes de Bellanger e de Huguenin & Parrot. O primeiro refere-se a uma criança que em quatro anos apresenta surtos sucessivos de tumores de Malherbe no pescoço, na face e no braço direito. No segundo, também muito curioso, trata-se de uma criança de três anos e meio, que aos dezóito meses tem o primeiro tumor subcutâneo na face e, pouco depois, outro na pálpebra inferior direita; ao cabo de um ano, novos nódulos aparecem na região infraorbitária (êste espontaneamente reabsorvido) e no antebraço direito.

Consideremos agora os aspectos morfológicos dos vários tumores que observei.

Em todos se pôde reconhecer a estrutura dum epiteloma pavimentoso cujos elementos constituintes sofreram, no todo ou em parte, aquela espécie de necrose mumificante que pormenorizadamente descrevi no primeiro trabalho e que deixa os contornos celulares muitas vezes nítidos, mas sem conteúdo ou de conteúdo homogeneizado, ficando do núcleo apenas uma imagem negativa.

Em dois casos tratava-se de tumores simplesmente mumificados na quási totalidade e sem vestígios de calcificação. Esta existia em quatro, discreta, incipiente, no primeiro, mais acentuada nas Obs. II, IV e V, nas quais affectava grande parte ou a totalidade dos nódulos, que constituíam verdadeiras «pedras da pele», cuja estrutura epitelial só se podia apreciar após a descalfificação.

No caso da Obs. IV tive, a princípio, dúvidas sôbre a natureza do nódulo: tratar-se-ia de um epiteloma de Malherbe ou do que os alemães chamam «ateroma calcificado da pele»? A sua constituição, um tanto singular, afastando-se da dos outros exemplares, poderia fazer pensar num «ateroma»

subcutâneo epidermóide devido à proliferação de gomos epidérmicos incluídos no tecido conjuntivo ao dar-se a cicatrização do furúnculo (?) que a doente diz ter tido na região afectada. Lembrava-me da opinião dos autores que vêem no enxêrto traumático a causa de todos os ateromas cutâneos, mas também tinha presente o que Fink escrevera acêrca dos epiteliomas calcificados.

Como já tive ocasião de dizer num dos meus trabalhos anteriores, Fink entende que sob aquela designação se incluem duas espécies de lesões: 1) os epiteliomas de células basais, de estrutura alveolar, com alterações degenerativas dos seus elementos, que sofrem consecutivamente a calcificação; 2) os ateromas organizados.

Os epiteliomas calcificados caracterizam-se habitualmente pela disposição em escamas de cebola das massas queratinizadas, ao passo que nos «ateromas» calcificados elas possuem, a maior parte das vezes, estrutura homogénea. Todavia, acrescenta, nem microscòpicamente se pode fazer sempre a destriça das duas lesões em questão. O único carácter histológico seguro que autorizaria a concluir pela natureza neoplástica da lesão examinada é a presença de células basais não queratinizadas.

No caso presente, nem faltam estas, nem as massas queratinizadas possuem a homogeneidade atribuída aos «ateromas» calcificados, antes se apresentam, como vimos, dispostas à periferia em escamas de cebola.

Julgo pois que se trata, na verdade, de um epitelioma mumificado e calcificado, a que a queratinização acentuada dos elementos neoplásticos dá feição especial. A queratinização conta-se como uma das modalidades evolutivas do tecido dêstes tumores. Aliás, como para a conservar não foi tôda a peça estudada histològicamente, não se pode asse-

gurar que nas zonas que escaparam ao exame não existisse a estrutura típica.

Na Obs. II, à forte impregnação calcárea associavam-se fenómenos de ossificação tam intensa que ao exame histológico se tinha, à primeira vista, a idea de um osteoma.

A ossificação constitui carácter freqüente desta variedade de neoplasia cutânea e parece estar em relação, sobretudo, com a antiguidade do tumor. Com efeito, foi apenas no nódulo de evolução mais demorada (32 anos) que eu a notei. Consiste, em regra, em fenómenos de metaplasia óssea do tecido de granulação do estroma, mas também se podem desenvolver, como na aludida peça pude verificar, pequenos blocos ósseos no meio dos maciços epiteliaes, segundo a modalidade descrita por Moulon-guet & Pavie, e Fèvre & Garling Palmer.

O facto dominante em muitas observações, mas existente em tôdas, é pois a necrose particular, espécie de mumificação dos elementos epiteliomatosos; a calcificação é mero fenómeno acessório, a que estão sujeitos todos os elementos degenerados (calcificação secundária, distrófica).

Já Ceresole, Dubreuil e Cazenave tinham frizado êste ponto e para êle também eu chamara a atenção na minha primeira nota. Mais recentemente, Fèvre, Huguenin & Paiz voltam a sublinhar que são os fenómenos de mumificação que imprimem a estes tumores a sua evolução e aspecto característicos, a calcificação constituindo fenómeno contingente, não necessário, nem fatal. Por isso preferem o attributo de «mumificado» ao de «calcificado» para designar a neoplasia em questão.

A intensidade de impregnação calcárea, muito variável, depende em grande parte, como a ossificação, da idade do nódulo. A forte deposição compete, principalmente, aos epiteliomas antigos.

Os tumores da nossa série, operados a poucos meses ou a muitos anos do seu aparecimento, permitem-nos seguir tôda a evolução, desde a constituição dos cordões e lóbulos com a estrutura do epitelioma pavimentoso baso-celular ao tumor largamente ossificado, passando pelas fases de necrose de mumificação e de calcificação mais ou menos intensa.

Este esquema evolutivo (necrose de mumificação → calcificação → ossificação) pode-se encontrar reproduzido no mesmo indivíduo em casos de tumores múltiplos, como, no acima citado, de Huguenin & Parrot: dêsses tumores, uns podem já estar calcificados e ossificados, outros simplesmente mumificados.

Nos dois dos meus casos em que se registara ausência completa de calcificação, e que correspondiam a tumores de curta duração, notavam-se ainda cordões de células vivas, no todo ou em parte, o que, aliado à sua topografia, demonstra que na verdade se trata, histològicamente, de epiteliomas. Nesses cordões observavam-se até mitoses, cuja presença, assinalada nalguns casos (Bellanger, Huguenin) parece ser rara.

São talvez os tumores como estes, em que se mantém a validade e actividade de muitos dos seus elementos, os que mais sujeitos estão à recidiva, que num ou noutro caso se tem apontado.

Dos nossos nenhum recidivou, e isto é a regra, bem demonstrativa, como a possibilidade de reabsorção e cura espontânea, da benignidade do epitelioma de Malherbe. A par da notável tendência dos elementos para a necrose mumificante seguida de infiltração calcárea ou de ossificação, a benignidade forma um dos seus traços mais característicos, e bem pouco se harmoniza com a natureza epiteliomatosa — em todo o caso indiscutível — da lesão.

Pode-se então definir como epitelioma encapsulado, secundariamente calcificado, espécie de «forma abortiva de cancro», no dizer de Huguenin e seus colaboradores.

Na opinião destes autores, a razão dessa evolução tam especial dever-se-ia procurar, não apenas nas condições particulares do organismo affectado, mas talvez ainda na origem embrionária do tumor, em favor da qual depõem, como se disse, ao lado da feição clínica e predilecção para a zona cérvico-facial (preferida pelas disembríoplasias), o aparecimento freqüente na infância e a multiplicidade em certos casos verificada.

Por sua vez — acrescentam — a natureza disembríoplástica explicaria o tumor limitado, precariamente evolutivo, encapsulado pelo tecido conjuntivo e, por isso, mal irrigado — de onde dependem suas características (situação, enucleação fácil, necrose mumificante causada pelas perturbações vasculares, impregnação calcárea secundária) que tão bem o individualizam no quadro das neoplasias epiteliaes da pele. Esta apresenta-se intacta, ou apenas avermelhada se a aderência é íntima. Dos meus casos, só no da Obs. III ella se encontrava ulcerada, mas em virtude da applicação de tópicos cáusticos.

Importa ao clínico o conhecimento destas neoplasias quando se trata de estabelecer o diagnóstico diferencial dos tumores subcutâneos duros. Lembremos que dos seis casos aqui rapidamente apreciados, só num se pôs o diagnóstico clínico provável de epitelioma de Malherbe: foi no da Obs. II, em que o Prof. Teixeira Bastos, por analogia com o primeiro caso que operara e eu descrevi, pensou nesta espécie neoplástica. Em todos os outros a natureza do tumor não ocorreu aos observadores e apenas se reconheceu ao exame histológico das peças operatórias.

Já depois de elaborado este trabalho, tive ocasião de ler um artigo recente de J. Campos em que são estudados seis casos arquivados no «Instituto Português de Oncologia». São todos relativos a indivíduos do sexo feminino, e quatro dêles respeitam ao membro superior. Ficam assim registadas 12 observações portuguesas deste tumor.

J. Campos aceita a derivação a partir das glândulas sebáceas, ou seus germes, e bem assim a natureza disembrioplástica da lesão, que poderia ser incluída entre os nevos cutâneos.

(Laboratório de Anatomia patológica da Faculdade de Medicina do Porto).

RÉSUMÉ

L'A., qui avait déjà décrit deux cas d'épithélioma de Malherbe, en présente dans cette note quatre nouvelles observations.

Dans 5 cas, il s'agissait de tumeurs localisées aux membres (4 au membre supérieur), dans un seul l'épithélioma s'était développé à la face (région sourcilière).

Deux étaient simplement momifiées dans la presque totalité et sans traces de calcification, celle-ci existant dans les restants, discrète ou très accusée suivant les cas. Dans l'un d'eux (nodule à 32 ans d'évolution), outre la forte imprégnation calcique, il y avait des phénomènes d'ossification.

Les nodules de sa série, opérés à quelques mois ou à beaucoup d'années depuis leur apparition, ont permis à l'A. de suivre toute l'évolution de cette

curieuse forme d'épithélioma cutané à partir de la constitution des cordons et des lobules d'un épithélioma pavimenteux baso-cellulaire aux éléments vivants et en grande activité mitotique, jusqu'à la tumeur largement ossifiée, en passant par les stades de nécrose à momification et de calcification plus ou moins intense.

Le fait constant et caractéristique dans ces tumeurs est, comme l'on récemment souligné Huguenin et ses collaborateurs, cette forme particulière de nécrose momifiante, la calcification et l'ossification étant des phénomènes accessoires. L'intensité de ces modifications secondaires paraît surtout être en rapport avec l'âge de ces néoplasies, dont l'origine dysembryoplasique est très vraisemblable.

BIBLIOGRAFIA

- Bellanger (H): *Épithélioma calcifié de la peau. Poussées évolutives chez le même sujet.* «Bull. Assoc. franç. du Cancer», 24, 1935, p. 467.—
 Fèvre (Marcel), René Huguenin e Velez Paiz: *Les épithéliomas momifiés ou calcifiés de la peau.* «Idem», 27, 1938, p. 355.—
 Huguenin (René) e Maurice Parrot: *Épithéliomas momifiés multiples chez un enfant.* «Idem», 28, 1939, p. 267.—
 Oliveira Campos (J. de): *Sobre seis casos de tumor calcificado de Malherbe.* «Imprensa Médica», n.º 3, 1940.—
 Tavares (Amândio): *Epitelioma calcificado da pele.* «Lisboa Médica» n.º 12, 1933, p. 768: *Sobre a ossificação dum epitelioma calcificado da pele.* «Imprensa Médica», n.º 22, 1936.

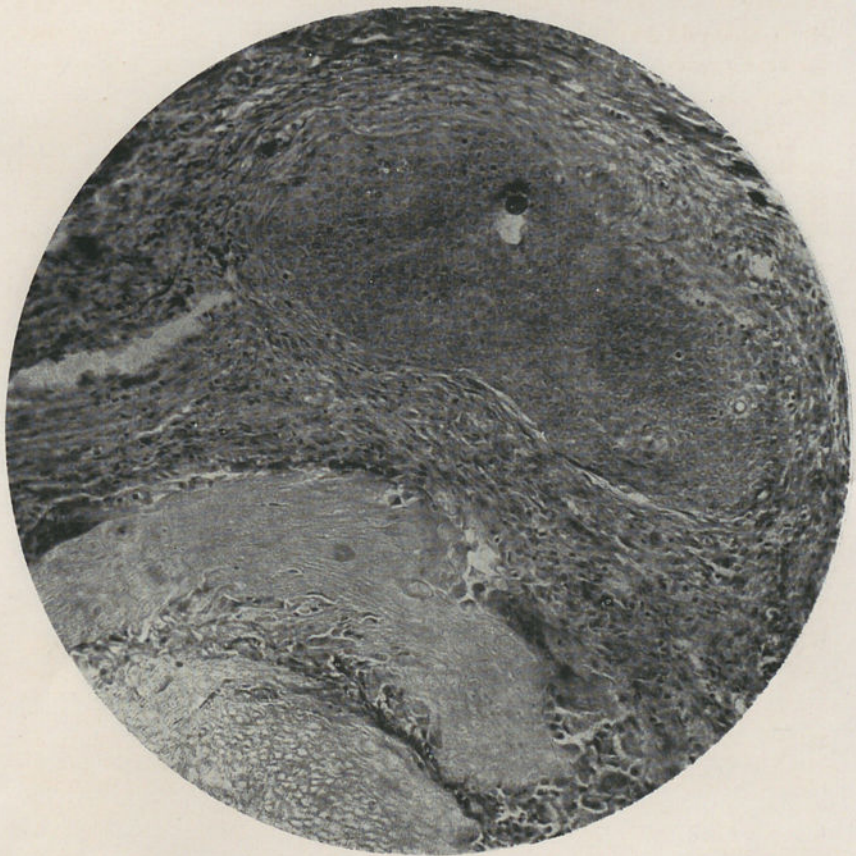


Fig. 1

Ao lado de um lóbulo epiteliomatoso mumificado e com discreta impregnação calcárea, vê-se outro com a estrutura dum epitelioma baso-celular; elementos vivos, em activa divisão cariocinética; raros enrolamentos bulbiformes (Obs. III). Ampl. 150 x

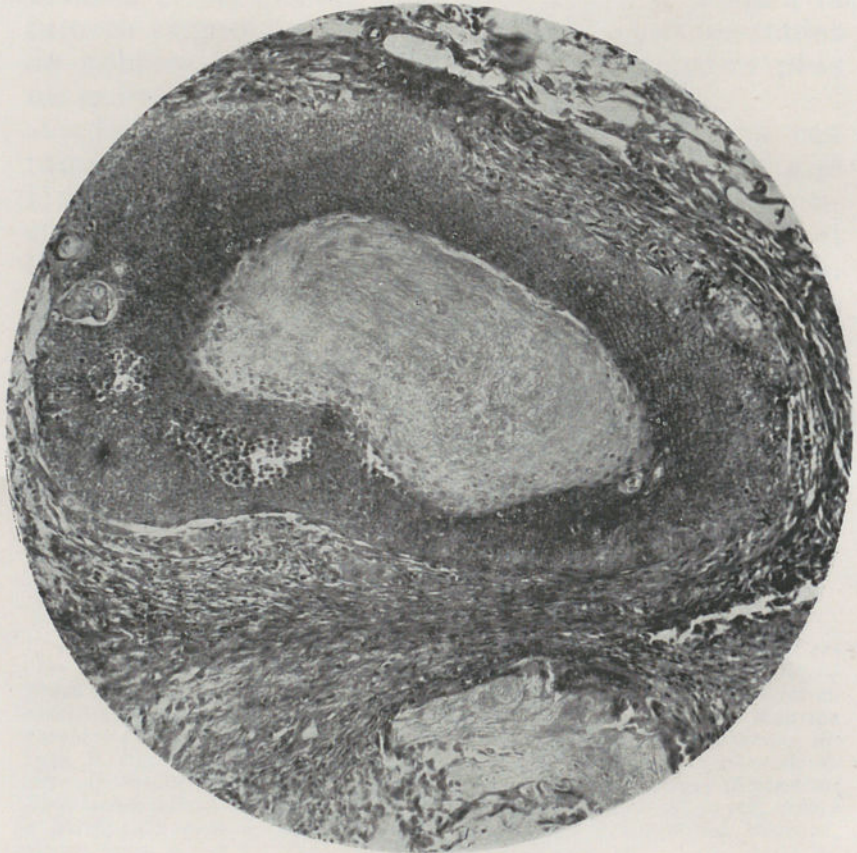


Fig. 2

Lóbulo epiteliosomatoso de centro necrosado (Obs. III). Ampl. 150 x

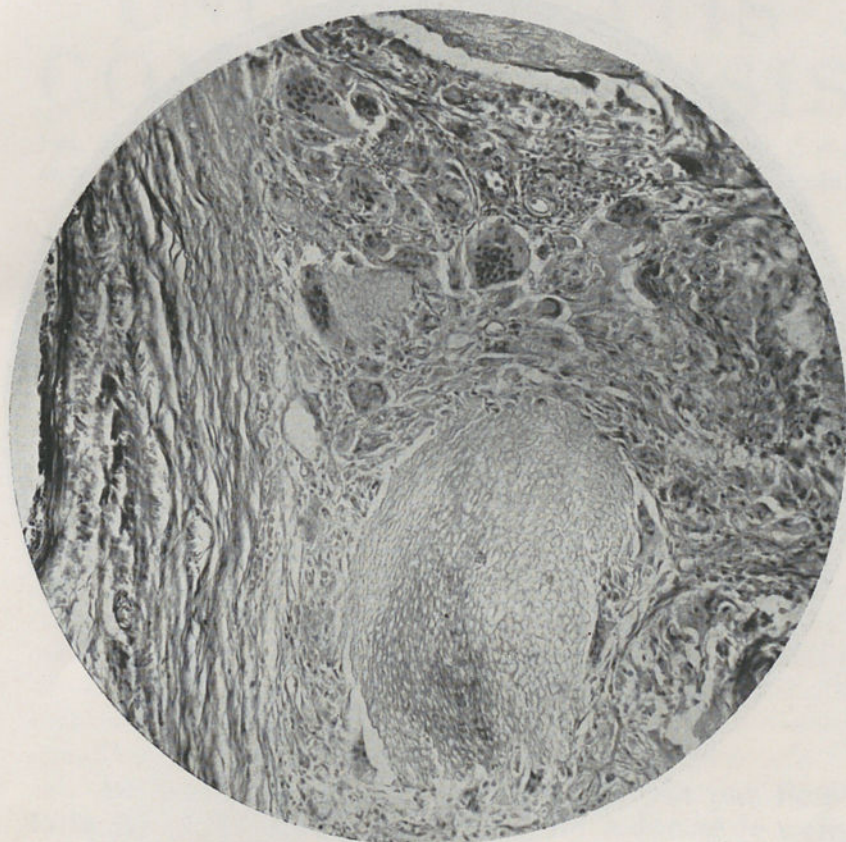


Fig. 3

Estrutura típica do epiteloma de Malherbe: cápsula envolvente, células epiteliais mumificadas e parcialmente calcificadas, reacção macrofágica plasmodial do estroma (Obs. v). Ampl. 150 x



Fig. 4

Cordões de células vivas e em actividade mitótica. Notar as alterações que conduzem progressivamente à necrose mumificante. Ausência, neste campo, de células gigantes; infiltração de polinucleares (Obs. vi). Ampl. 150 x

FOLIA ANATOMICA UNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

Vol. XV

N 6

ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DES NUCLÉOLES ET RAPPORTS NUCLÉO-NUCLÉOLAIRES DES CELLULES HÉPATIQUES AU COURS DE LA RÉGÉNÉRATION SUIVANT L'EXTIRPATION PARTIELLE DU FOIE

PAR

ANTÓNIO E. MENDES FERREIRA

Assistant de la 2^{ème} Clinique Chirurgicale de la Faculté de Médecine de Lisbonne
(Directeur Prof. Dr. Augusto Monjardino)

(Reçu par la Rédaction le 29 Mai 1940)

Le nucléole a été découvert en 1781 par Fontana (4) et en 1836 Valentin (22) lui a donné le nom par lequel il est encore désigné aujourd'hui. Depuis, de nombreuses études ont été faites sur sa structure, sa composition chimique et ses fonctions; cependant, les conclusions définitives auxquelles ces travaux sont arrivés sont très limitées, surtout en ce qui regarde ses fonctions.

On connaît deux variétés de nucléoles: les vrais et les faux nucléoles, leur distinction n'étant possible qu'au moyen de procédés chimiques. En effet

les vrais nucléoles ont un comportement semblable au cytoplasme, tandis que les faux ou pseudo-nucléoles réagissent comme la chromatine. La composition chimique du nucléole est compliquée, dans sa constitution prédominant la nucléïne; il est aussi très riche en phosphore.

Au début on croyait que le nucléole était homogène, mais les recherches de plusieurs auteurs ont démontré qu'il n'en est pas ainsi. Lebert (11) parlait déjà de molécules intra-nucléolaires et Cajal (17) a trouvé des corpuscules argentophiles intra-nucléolaires dans les cellules pyramidales du cerveau.

Dernièrement Regan, Page et Mac Carty (18) ont attiré l'attention sur la présence de corps intra-nucléolaires dans les cellules de nombreux tissus normaux et pathologiques. D'autres auteurs, tels que Montgomery (14), Carleton (3) et Saguchi (19) ont rencontré des formations semblables dans les nucléoles de cellule de plantes et d'animaux.

De nombreuses théories ont été présentées pour expliquer les fonctions du nucléole. Wace Carlier (23) et d'autres ont pensé que le noyau était simplement un produit de la désassimilation cellulaire. Ludford (12), après un travail épuisant sur la morphologie et la physiologie du nucléole, a conclu que «loin d'être une simple accumulation de produits de déchet du noyau, le nucléole joue un rôle des plus importants dans la nutrition de la cellule». Gardiner croit également que le nucléole joue un rôle important dans la nutrition de la cellule. Certains auteurs, tels que Haecker (6), considèrent le nucléole un «*germ cell determinant*». En 1927 Gardiner a démontré que le nucléole joue un rôle important dans la formation du jaune (Yolk) du *Limulus Polyphemus*, ce qui est venu confirmer le travail de Munson (15) en 1898. Bien d'autres théories ont été exposées, mais la plupart des auteurs (13-16-20-2-23)

considèrent le nucléole comme un produit de sécrétion et on en a souvent observé l'expulsion d'une partie ou de tout le nucléole dans le cytoplasme.

La présence d'un ou de plusieurs grands nucléoles dans les cellules des tissus embryonnaires et des tissus régénératifs, ainsi que dans n'importe quel tissu normal, métaboliquement très actif, mène à penser que l'augmentation de volume du nucléole est une conséquence directe de l'activité cellulaire. La division cellulaire étant une des expressions maxima de l'activité cellulaire, il est à admettre que toutes les conditions normales ou pathologiques activant la division cellulaire, se prêteraient à étudier les variations de dimensions des nucléoles. Higgins et Anderson (10) ont étudié la régénération du foie des rats après l'hépatectomie partielle et ont affirmé que les rats auxquels on extirpait environ 75 % du foie, régénéraient cet organe entièrement dans 25 à 28 jours, le processus étant plus actif pendant les 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} jours et du 6^{ème} au 10^{ème} jours. Cette étude a été d'un grand intérêt pour l'exécution du présent travail, puisque, si la régénération avait lieu rapidement, l'activité métabolique et surtout la division cellulaire dans ces foies devraient certainement être très augmentées et par conséquent il en résulterait une opportunité pour nous de prouver le rapport existant entre les dimensions du nucléole et l'activité de la division cellulaire. C'est en partant de cette idée que nous avons fait ces recherches.

Pour cette étude nous avons employé deux séries de rats blancs adultes, en parfaite santé, dont le poids individuel variait entre 125 et 225 grs.

Ayant fait une légère anesthésie générale au moyen de l'éther et avec les soins nécessaires d'asepsie, on a fait dans chaque rat, à partir de l'appendice xiphoïdien, une incision abdominale moyenne

de 3 à 4 centimètres de longueur. À travers cette incision, l'extériorisation du foie dans cet animal étant facile, le foie, a été mis en dehors; les pédicules du grand lobe et du lobe latéral gauche ont été liés avec du gros fil et ces deux lobes hépatiques ont été extirpés. D'après Higgins et Andersen (10), le poids de ces deux portions de foie varie entre 65 à 75 % du poids total de l'organe. Le lobe latéral droit et le petit lobe à queue ou lobe Spiegel ont été laissés à place dans la cavité abdominale et la paroi a été renfermée en deux plans avec du fil. Les rats ont continué à avoir la même nourriture, mais pendant les premières 48 heures on leur a donné à boire une solution de dextrose à 20 % au lieu de l'eau, à fin de réduire au minimum les cas de mort post-opératoire immédiate. Les animaux ont résisté bien à l'opération; trois seulement sont morts par suite du choc pendant les premières 48 heures. Tous les rats de chaque série ont été numérotés pour comparer les résultats pré et post-opératoires sur chaque animal. Immédiatement après l'opération on a pris un fragment du bord de l'un des lobes du foie de chaque rat et on a fait la fixation dans une solution de formaline à 10 %. Après vingt quatre heures on a fait des coupes par congélation, épaisses de 5 à 10 micra et on les a colorées au moyen d'hématoxyline-éosine.

Des rats de chaque série ont été tués par hémorragie avec les intervalles post-opératoires suivants: vingt-quatre heures, quarante-huit heures, soixante-douze heures, cinq jours, sept jours et quatorze jours. Par suite on n'a tué qu'un animal vingt et un jours, vingt huit jours et trente cinq jours après l'opération. Immédiatement après la mort, on a ouvert l'abdomen et coupé un fragment du bord du foie de chaque animal; la fixation a été faite par une solution de formaline à 10 % pendant vingt quatre heures;

après lesquelles on a fait des coupes par congélation qui ont été colorées comme avant l'opération. Les coupes du foie pré-opératoire et celles du foie en régénération post-opératoire de chaque rat ont été comparées.

Pour l'étude cytologique nous avons employé l'objectif d'immersion d'un microscope binoculaire de Spencer (objectif 1,8 mm. N. A. 1,25: longueur du tube 150 mm.; oculaire 10 x). Les études biométriques ont été faites à l'aide d'une chambre claire et les contours des images des noyaux et des nucléoles projetés sur du papier quadrillé ont été soigneusement dessinés avec un crayon très aiguisé. On a dessiné, vingt cellules de chaque coupe, en choisissant les quatre cellules ayant une plus abondante substance nucléolaire de cinq champs différents du microscope. Les dessins des noyaux ont été mesurés directement au moyen d'un planimètre pour d'obtenir leurs surfaces, mais les dessins des nucléoles ont dû être amplifiés et dessinés de nouveau au moyen d'une chambre claire montée sur un microscope de Spencer (Objectif 48 mm., longueur du tube 250 mm., oculaire ix), parce que beaucoup des nucléoles étaient trop petits et ne pouvaient être mesurés directement. Les nouveaux dessins ainsi obtenus ont été mesurés au moyen du même planimètre qui avait été employé pour les noyaux et les surfaces des uns et des autres ont été enregistrées. Comme le grossissement du second microscope et chambre claire respective était de 42 diamètres, il a fallu diviser par 42 les surfaces des nucléoles données par le planimètre, de façon que le grossissement des nucléoles corresponde à celui employé pour le mesurage des noyaux.

Pour connaître les surfaces réelles des noyaux et des nucléoles il faut rectifier les résultats fournis par le planimètre; pour cela il a fallu déterminer le grossissement du microscope et de la chambre

claire respective et la constante du planimètre. Pour cet effet, on a projeté sur du papier quadrillé, dans les mêmes conditions auxquelles les cellules ont été dessinées, un espace donné d'un micromètre objectif, en marquant et mesurant l'échelle projectée. Nous avons ainsi constaté que le grossissement de notre microscope et chambre claire était de 1800 diamètres. Le planimètre était réglé de façon qu'une surface circulaire de 100 cm.² y était représentée par 2500 unités. Chaque surface donnée par le planimètre a été multipliée par une constante qui a été trouvée en développant la formule suivante:

$$\frac{\text{Valeur d'une unité du planimètre}}{\text{grossissement du microscope} \times 2} = K$$

Une fois les surfaces réelles obtenues, il n'était plus question que de diviser les surfaces des noyaux par celles des nucléoles pour trouver les rapports nucléo-nucléolaires respectifs.

RÉSULTATS DE L'ÉTUDE

Au cours de l'examen microscopique des coupes du foie normal nous avons constaté que les cellules hépatiques étaient grandes et que chaque cellule contenait un noyau rond, bien délimité, à petites granulations, dans lequel il y avait toujours un grand nucléole, rond et de contours nets. Parfois il y avait deux, trois ou quatre nucléoles dans le même noyau.

Après l'hépatectomie partielle, l'aspect histologique du foie régénéré, l'éctasie et la congestion des vaisseaux sanguins et lymphatiques exceptées, était le même que celui du foie normal à peu près. On ne peut pas dire le même au point de vue cytologique;

il y a des différences remarquables, surtout pendant les premiers dix jours après l'hépatectomie partielle. Les dimensions des noyaux et des nucléoles ont augmenté considérablement et les nucléoles paraissent très grands par rapport aux noyaux. Ceux-ci sont toujours arrondis, mais présentent un aspect granulaire plus grossier; les nucléoles sont aussi ronds et réguliers, mais fréquemment on en trouve deux, trois, quatre ou même cinq dans le même noyau.

Vingt-quatre heures après l'hépatectomie partielle on voit quelques figures de mitose dans toutes leurs phases, près du bord du foie. Quarante-huit heures après l'opération les figures de mitose sont encore plus nombreuses (Fig. 1, Pl. I); on est arrivé à en compter cinq dans un champ avec un grossissement moyen. Soixante-douze heures après l'opération on observe encore beaucoup de figures de mitose (Fig. 2, Pl. I).

A partir de ce moment le nombre de figures de mitose baisse rapidement de telle sorte que l'on n'en trouve plus dans les foies de régénération de sept jours.

Les résultats des études biométriques présentent le plus grand intérêt et ont été résumés dans les tableaux 1 (a et b) et 2 (a et b). Le tableau 1-a contient les résultats pré-opératoires et post-opératoires d'une série de rats, dans laquelle l'étude a été poursuivie jusqu'au trente cinquième jour après l'hépatectomie partielle. Chaque chiffre de la première colonne correspond à un rat et les nombres sont disposés de façon à permettre de comparer facilement les résultats pré et post-opératoires d'un même animal. On trouve dans ce tableau divers facteurs intéressants et qui méritent d'être rappelés: Dans les rats normaux on trouve, dans chaque exemple, une variation remarquable des valeurs extrê-

mes des surfaces des noyaux et des nucléoles, mais, pour la plupart, les uns et les autres sont grands. Les nucléoles sont très grands en proportion des noyaux et, par conséquent, les rapports nucléo-nucléolaires sont bas. Les valeurs de la moyenne des surfaces des noyaux et des nucléoles et des rapports nucléo-nucléolaires sont très semblables dans presque tous les foies normaux étudiés. Dans toute la série, la surface la plus petite des noyaux mesurés était de 29,0 micra carrés, la plus grande moyenne de 117,2 micra carrés, et la moyenne des surfaces de tous les noyaux était de 53,0 micra carrés. Les surfaces des nucléoles varient de 1,5 à 7,8 micra carrés, la moyenne de toutes les surfaces étant de 3,1 micra carrés. Des rapports nucléo-nucléolaires la plus basse en était de 8,4:1, la plus haute de 44,1:1, et la moyenne de toutes en était de 16,7:1. Dans le numéro 1 de la série on observe que vingt-quatre heures après l'hépatectomie partielle les variations de la surface des noyaux et des nucléoles persistent. La moyenne des surfaces des noyaux augmente d'huit unités par rapport à la moyenne correspondante du foie normal du même rat et la moyenne des surfaces des nucléoles a une valeur presque double de celle de la moyenne correspondante avant l'opération. La moyenne des rapports nucléo-nucléolaires dans le même animal tombe de 17,4:1 à 11,0:1 (Fig. 3 et 4, Pl. I). Quarante huit heures après l'opération (numéro 2 de la série) les résultats sont encore plus remarquables (Fig. 1 et 2, Pl. II). La variation des surfaces des noyaux et des nucléoles est encore plus remarquable que vingt-quatre heures après l'opération. La moyenne des surfaces des noyaux augmente sensiblement (de 51,1 à 86,5 micra carrés) et la moyenne des surfaces des nucléoles est d'environ trois fois plus élevée que la moyenne correspondante du même

foie quarante-huit heures auparavant (de 3,1 à 9,5 micra carrés). D'accord avec ces valeurs, la moyenne des rapports nucléo-nucléolaires est très inférieure à celle d'avant l'opération (elle tombe de 16,1:1 à 9,4:1). Les résultats présentés dans le numéro 3 (soixante-douze heures après l'opération) sont semblables à ceux du numéro 1, mais la baisse de la moyenne des rapports nucléo-nucléolaires (de 16,8:1 à 12,6:1) n'est pas si nette que dans le numéro 1 (Fig. 3 et 4, Pl. II). Les modifications observées cinq jours après l'opération (N.° 4 de la série) sont semblables à celles l'animal précédent (Fig. 1 et 2, Pl. III), et dans le numéro 5 (sept jours après l'opération) les modifications sont également semblables (Fig. 3 et 4, Pl. III). Dix jours après l'hépatectomie partielle (numéro 6 de la série) les modifications sont moins remarquables que précédemment: quoiqu'il y ait encore une augmentation considérable des moyennes des surfaces des noyaux et des nucléoles et une baisse de trois unités dans la moyenne des rapports nucléo-nucléolaires (de 16,1:1 à 13,1:1) — (Fig. 1 et 2, Pl. IV). Dans le quatorzième jour post-opératoire, qui semble être la fin de la période de régénération active du foie (numéro 7 de la série), la moyenne des surfaces de nucléoles a augmenté encore davantage que chez les animaux numéros 6, 5 et 4, mais la moyenne des surfaces des noyaux a augmenté proportionnellement encore davantage, de sorte que la moyenne des rapports nucléo-nucléolaires est un peu plus élevée qu'avant l'opération (elle a augmenté de 13,4:1 à 14,5:1) — (Fig. 3 et 4, Pl. IV). On observe encore, dans le foie régénéré de vingt-et-un jours (numéro 8 de la série) une certaine augmentation de la moyenne des surfaces des noyaux et des nucléoles, mais à un degré beaucoup moins élevé que dans les premiers dix jours. Dans ce rat, la moyenne des rapports

nucléo-nucléolaires a baissé de 16,6:1 à 14,2:1. Dans le numéro, 9 (vingt-huitième jour post-opératoire) la moyenne des surfaces des noyaux n'a pas pratiquement augmenté, mais la moyenne des surfaces des nucléoles a est devenue de 3,4 à 4,2 micra carrés, et la moyenne des rapports nucléolaires a baissé de 20,1:1 à 16,4:1. Au trente-cinquième jour (numéro 10 de la série), au moment de terminer cette recherche, il y avait encore une certaine augmentation des moyennes des surfaces des noyaux et des nucléoles, mais il s'agissait d'une légère augmentation et la baisse de la valeur de la moyenne des rapports nucléo-nucléolaires était aussi légère (19,3:1 à 17,7:1).

Dans le tableau 1-b sont présentées les moyennes des surfaces des noyaux et des nucléoles et la moyenne des rapports nucléo-nucléolaires des sept premiers rats du tableau 1-a. Ce tableau nous montre que pendant la période de régénération active du foie surtout la moyenne des surfaces des noyaux et nucléoles augmente et la moyenne des rapports nucléo-nucléolaires diminue.

Tandis que dans les cellules du foie normal pré-opératoire les moyennes des surfaces des noyaux et des nucléoles et la moyenne des rapports nucléo-nucléolaires sont respectivement de 52,9 micra carrés, 3,2 et 15,8:1, dans les cellules du foie de régénération post-opératoire ces moyennes sont respectivement de 71,9 micra carrés, 6,1 et 12,1:1. Les résultats des tableaux 2 (a et b) sont d'une façon générale très semblables à ceux que nous venons de décrire dans les tableaux 1 (a et b). Les études sur cette série de rats ont été faites seulement pendant la période active de régénération hépatique, c'est-à-dire, pendant les premiers quatorze jours et n'ont eu d'autre but que de confirmer les résultats obtenus dans la série précédente.

DISCUSSION

Les résultats de cet travail, présentés dans les tableaux 1 (a et b) et 2 (a et b) semblent confirmer définitivement le rapport entre les dimensions du nucléole et l'activité métabolique, la croissance et la division des cellules. En effet, on a vérifié que les moyennes des surfaces des noyaux et, surtout, celles des nucléoles, étaient plus élevées pendant la période active de régénération hépatique, ce qui amenait à un niveau plus bas les moyennes des rapports nucléo-nucléolaires. Les plus grandes surfaces des nucléoles et les moindres rapports nucléo-nucléolaires ont été observés justement pendant la période la plus active de régénération, c'est-à-dire pendant les sept premiers jours et surtout à la fin de quarante-huit et de soixante-douze heures. Le plus grand nombre de figures de mitose a été observé précisément pendant ces deux dernières périodes.

Cette observation confirme celle de Higgins et Anderson (10), qui ont dit le suivant au sujet de la régénération du foie des rats: «Les mitoses commencent à apparaître pendant la dernière partie de la première journée, mais la division des cellules n'était active qu'au deuxième et troisième jours quand avait lieu la plus grande augmentation du foie par chaque 100 grs. de poids du corps». Les résultats du présent travail confirment aussi les opinions de Herzig (9), Heiberg (8), Aichel (1), Hartmann (7) et Sokoloff (21), qui ont dit que les grands noyaux étaient le résultat d'une croissance et division cellulaires rapides.

CONCLUSION

Les surfaces des nucléoles et les rapports nucléo-nucléolaires dans le foie de régénération des rats varient d'accord avec l'activité métabolique, la croissance et la division cellulaires. Les surfaces des nucléoles sont plus grandes et les rapports nucléo-nucléolaires sont moindres quand la régénération et le métabolisme cellulaires sont plus actifs.

Recherches faits à l'Institut de Médecine Expérimentale de la «Clinique Mayo», Rochester, Minnesota, U. S. A. (Directeur, Professeur Docteur F. C. Mann).

TABEAU I-a

Surface des noyaux et des nucléoles et rapports nucléo-nucléolaires dans le foie normal et de régénération de rats blancs adultes

| Numéro des cas | CELLULES HEPATIQUES DE | NOYAUX MICRA CARRÉS | | | NUCLÉOLES MICRA CARRÉS | | | RAPPORTS NUCLEO-NUCLÉOLAIRES | | |
|----------------|--|---------------------|----------|----------|------------------------|----------|----------|------------------------------|----------|----------|
| | | mini-mum | maxi-mum | moy-enne | mini-mum | maxi-mum | moy-enne | mini-mum | maxi-mum | moy-enne |
| 1 | Foie normal pré-opératoire | 44,4 | 74,0 | 58,1 | 2,3 | 4,7 | 3,3 | 13,1:1 | 30,5:1 | 17,4:1 |
| | | 55,5 | 86,3 | 66,1 | 4,1 | 7,5 | 5,9 | 8,0:1 | 17,9:1 | 11,0:1 |
| 2 | Foie normal pré-opératoire | 37,0 | 83,9 | 51,1 | 1,8 | 5,8 | 3,1 | 11,5:1 | 44,1:1 | 16,1:1 |
| | | 51,8 | 122,1 | 86,5 | 3,2 | 15,7 | 9,5 | 6,9:1 | 16,1:1 | 9,4:1 |
| 3 | Foie régénéré post-opératoire, 48 heures | 37,0 | 67,8 | 57,4 | 2,5 | 4,5 | 3,4 | 13,7:1 | 22,5:1 | 16,8:1 |
| | | 53,0 | 128,3 | 78,9 | 3,2 | 14,2 | 6,7 | 7,2:1 | 17,9:1 | 12,6:1 |
| 4 | Foie normal pré-opératoire | 41,9 | 62,9 | 54,6 | 1,5 | 4,6 | 3,3 | 12,9:1 | 27,9:1 | 16,0:1 |
| | | 43,1 | 124,6 | 65,7 | 3,7 | 9,7 | 5,2 | 8,9:1 | 16,8:1 | 12,3:1 |
| 5 | Foie normal pré-opératoire | 40,7 | 70,3 | 54,5 | 2,5 | 5,0 | 3,4 | 10,4:1 | 24,2:1 | 16,0:1 |
| | | 45,6 | 96,2 | 62,7 | 3,1 | 8,1 | 5,2 | 7,7:1 | 19,9:1 | 12,0:1 |
| 6 | Foie régénéré post-opératoire, 7 jours | 34,5 | 56,7 | 48,4 | 2,0 | 5,2 | 3,4 | 8,4:1 | 22,9:1 | 16,1:1 |
| | | 39,4 | 102,4 | 63,2 | 2,5 | 10,3 | 4,8 | 9,2:1 | 22,0:1 | 13,1:1 |
| 7 | Foie normal pré-opératoire | 30,8 | 61,7 | 46,2 | 2,4 | 4,5 | 3,3 | 10,4:1 | 22,3:1 | 13,4:1 |
| | | 41,9 | 191,2 | 80,2 | 3,1 | 14,9 | 5,6 | 10,2:1 | 19,3:1 | 14,5:1 |
| 8 | Foie normal pré-opératoire | 29,0 | 56,7 | 43,2 | 1,8 | 4,0 | 2,6 | 11,1:1 | 25,9:1 | 16,6:1 |
| | | 43,1 | 85,1 | 55,3 | 1,6 | 6,3 | 3,9 | 9,0:1 | 27,5:1 | 14,2:1 |
| 9 | Foie normal pré-opératoire | 44,4 | 117,2 | 68,5 | 1,5 | 7,8 | 3,4 | 11,4:1 | 31,2:1 | 20,1:1 |
| | | 45,6 | 228,2 | 68,7 | 2,0 | 14,6 | 4,2 | 7,3:1 | 22,5:1 | 16,4:1 |
| 10 | Foie normal pré opératoire | 58,2 | 55,5 | 48,2 | 2,1 | 3,1 | 2,5 | 13,6:1 | 24,1:1 | 19,3:1 |
| | | 41,9 | 71,5 | 53,1 | 2,1 | 4,5 | 3,0 | 15,9:1 | 24,0:1 | 17,7:1 |

T A B E L E A U 1 - b

Moyennes des surfaces des noyaux et des nucléoles et des rapports nucléo-nucléolaires dans les cellules hépatiques normales des rats blancs adultes et dans les cellules hépatiques de régénération des mêmes rats au cours la période active de régénération (deux premières semaines).

| Nombre des rats | Cellules hépatiques de: | Moyenne des surfaces en micra-carrés | | Rapports nucléo-nucléolaires |
|-----------------|-------------------------------|--------------------------------------|-----------|------------------------------|
| | | Noyaux | Nucléoles | |
| 7 | Foie normal pré-opératoire | 52,9 | 3,2 | 15,8:1 |
| 7 | Foie régénéré post-opératoire | 71,9 | 6,1 | 12,1:1 |

TABLEAU 2-a

Surface des noyaux et des nucléoles et rapports nucléo-nucléolaires dans le foie normal et de régénération de rats blancs adultes

| N ^o des cas | CELLULES HÉPATIQUES DE : | NOYAUX MICRA CARRÉS | | | NUCLÉOLES MICRA CARRÉS | | | RAPPORTS NUCLÉOLAIRES | | |
|---------------------------|--|---------------------|--------------|--------------|------------------------|--------------|--------------|-----------------------|--------------|--------------|
| | | mini- mum | maxi- mum | moy- enne | mini- mum | maxi- mum | moy- enne | mini- mum | maxi- mum | moy- enne |
| 1 | Foie normal pré-opératoire | 28,3 | 69,1 | 52,2 | 1,1 | 3,4 | 2,5 | 10,7:1 | 29,1:1 | 20,2:1 |
| | Foie régénéré post-opératoire, 24 heures | 34,5 | 95,0 | 75,1 | 4,0 | 8,3 | 6,2 | 7,8:1 | 15,2:1 | 11,7:1 |
| 2 | Foie normal pré-opératoire | 32,1 | 78,4 | 49,0 | 2,0 | 4,6 | 2,8 | 11,3:1 | 32,2:1 | 17,2:1 |
| | Foie régénéré post-opératoire, 48 heures | 47,2 | 101,8 | 78,1 | 3,7 | 9,1 | 7,6 | 9,2:1 | 21,0:1 | 10,0:1 |
| 3 | Foie normal pré-opératoire | 34,5 | 67,8 | 52,9 | 1,2 | 3,1 | 2,1 | 13,6:1 | 51,4:1 | 24,0:1 |
| | Foie régénéré post-opératoire, 72 heures | 57,9 | 88,8 | 73,0 | 3,6 | 7,7 | 6,0 | 9,1:1 | 19,1:1 | 12,2:1 |
| 4 | Foie normal pré-opératoire | 41,9 | 62,9 | 54,6 | 1,5 | 4,6 | 3,3 | 12,9:1 | 27,9:1 | 15,8:1 |
| | Foie régénéré post-opératoire, 5 jours | 43,1 | 124,6 | 65,7 | 3,7 | 9,7 | 5,2 | 8,9:1 | 16,8:1 | 12,5:1 |
| 5 | Foie normal pré-opératoire | 37,2 | 66,4 | 51,3 | 2,0 | 4,1 | 3,0 | 11,1:1 | 28,2:1 | 17,0:1 |
| | Foie régénéré post-opératoire, 7 jours | 41,1 | 90,0 | 63,4 | 2,9 | 7,2 | 4,8 | 8,3:1 | 17,1:1 | 13,0:1 |
| 6 | Foie normal pré-opératoire | 32,8 | 70,5 | 50,3 | 1,9 | 3,9 | 2,9 | 12,4:1 | 29,3:1 | 17,2:1 |
| | Foie régénéré post-opératoire, 10 jours | 40,2 | 90,6 | 56,1 | 2,4 | 8,7 | 3,7 | 11,3:1 | 24,3:1 | 15,0:1 |
| 7 | Foie normal pré-opératoire | 34,1 | 81,7 | 54,4 | 1,7 | 4,3 | 3,4 | 11,9:1 | 36,1:1 | 18,0:1 |
| | Foie régénéré post-opératoire, 14 jours | 36,7 | 97,9 | 60,1 | 2,1 | 7,5 | 3,9 | 13,0:1 | 22,3:1 | 17,6:1 |

TABLEAU 2-b

Moyennes des surfaces du noyau et des nucléoles et des rapports nucléo-nucléolaires dans les cellules hépatiques normales de rats blancs adultes et dans les cellules hépatiques de régénération des mêmes rats pendant la période active de régénération (deux premières semaines).

| Nombre de rats | Cellules hépatiques de: | Moyenne des surfaces en micra-carrés | | Rapports nucléo-nucléolaires |
|----------------|-------------------------------|--------------------------------------|-----------|------------------------------|
| | | Noyaux | Nucléolos | |
| 7 | Foie normal pre-opératoire | 52,1 | 2,8 | 18,5:1 |
| 7 | Foie régénéré post-opératoire | 67,3 | 5,3 | 13,1:1 |

BIBLIOGRAPHIE EXPÉRIMENTALE

1. Aichel. (O.): Ueber Zellverschmelzung mit qualitativ abnormer Chromosomen verteilung als Ursache der Geschwulstbildung. Vorträge u. Aufsätze ueber Entwick. der Org. 13,1-115, 1911. — 2. Beams (H. W.) and Wu (G. F.): Cytological studies on the spinning glands of *Platyphylar Designatus Walker* (Trichoptera): Respective roles, played by the nucleus and the Golgi apparatus during secretion. Journal of Morphology, 47,261—281, 1929. — 3. Carleton (H. M.): Observations on an intra-nucleolar body in columnar epithelium cells of the intestine. Quart. Jour. Micr. Sc. 64,329-343, 1920. — 4. Fontana: Cit. Mac Carty, 22. — 5. Gardiner (Marry): Oogenesis in *Limulus Polyphemus*, with special reference to the behavior of the nucleolus. Journ. of Morphology, 4,217-256, 1927. — 6. Heacker (V.): Cit. Ludford, 12. — 7. Hartmann (Otto): Ueber das Verhalten der Zell: Kern und nucleolar Grösse und ihrer gegenseitigen Beziehungen bei Cladoceren während des Wachstums, des Generationscyclus und unter dem Einfluss äusserer Faktoren. Arch. f. Zellforsch, 15,1-94, 1921. — 8. Heiberg (K. A.): Studien ueber Haut-Epithel-Atypie beim Krebs und Granulations gewebe und diagnostische Verwendung der Kerngrösse. Arch. f. Path. u. Physiol. 234,469-480, 1921. — 9. Hertwig (R.): Ueber Korrelation von Zell und Kerngrösse und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Centralbl. 23,49-108, 1903. — 10. Higgins (George M.) and Anderson (Reuben M.): Experimental pathology of the liver. I—Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. Arch. of Pathology. 12,186-202, 1931. — 11. Lebert (H.): Traité pratique des maladies cancéreuses et des affections curables confondues avec le cancer. 1851. Paris, J. B. Baillière. — 12. Ludford (R. J.): The morphology and physiology of the nucleolus. Part. I. The nucleolus in the germ-cell cycle of molusc *Limnoea Stagnalis*. Journ. Royal Microscopical Society. 3,113-150, 1922. — 13. Maziariski (S.): Recherches cytologiques sur les phénomènes sécrétoires dans les glands filières des larves des Lépidopteres. Arch. f. Zellforsch. T. 6, 1911. — 14. Montgomery (T. H. Jr.): Comparative cytological studies with special regard to the morphology of the nucleolus. Journ. Morphology 15,266-582, 1898. — 15. Munson (J. P.): The ovarian egg of *Limulus*: A contribution to the problem of the centrosome and yolk nucleus. Journ. of Morphology 15,111-220, 1898. — 16. Nakahara (W.): Physiology of nucleoli as seen in silk gland cells of certain insects. Journ. of Morphology 29,55-73, 1917. — 17. Ramon-Cajal (Santiago): Histology. William Wood & Company. Baltimore, 1933, pp. 738. — 18. Regan (J. F.), Page (R. C. and) Mac Carty W. G.): Observations on intranucleolar bodies in normal and neoplastic human tissues. Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic 12,257-259, 1937. — 19. Saguchi (S.): Studies on the glandular cells of the frog's pancreas. Am. Journ. Anat. 26,347-421, 1920. — 20. Schreiner (K. E.): Cit. Gardiner, 5. — 21. Sokoloff (Boris): The nucleo-cytoplasmic ratio and cancer. Am. Journ. of Cancer, 7,395-415, 1922. — 22. Valentin: Cit. Mac Carty in the discussion of Mc. Cormack, J. C., paper: Biometric studies of endometrial cells. Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic 10:24-29, 1935. — 23. Wace Carlier E.: Note on some changes observed in nuclei during varying physiological conditions. Scott. Micr. Soc. 5. Cit. Ludford, 12.

EXPLICATION DES PLANCHES

- Pl. I — Fig. 1: Figures de mitose de cellules du foie en régénération d'un rat, 48 heures après l'hépatectomie partielle (grossissement 1000 diamètres).
 Fig. 2: Figure de mitose dans une cellule du foie en régénération d'un rat, 27 heures après l'hépatectomie partielle (gros. 1000 diamètres).
 Fig. 3: Cellules hépatiques normales du rat n.° 1 (gros. 1000 diamètres).
 Fig. 4: Cellules hépatiques du foie en régénération du rat n.° 1 — 24 heures après l'hépatectomie partielle (gros. 1000 diamètres).
- Pl. II — Fig. 1: Cellules hépatiques normales du rat n.° 2 (gros. 1000 diamètres).
 Fig. 2: Cellules hépatiques du foie en régénération du rat n.° 2 — 48 heures après l'hépatectomie partielle (gros. 1000 diamètres).
 Fig. 3: Cellules hépatiques normales du rat n.° 3 (gros. 1000 diamètres).
 Fig. 4: Cellules hépatiques du foie en régénération du rat n.° 3 — 72 heures après l'hépatectomie partielle (gros. 1000 diamètres).
- Pl. III — Fig. 1: Cellules hépatiques normales du rat n.° 4 (gros. 1000 diamètres).
 Fig. 2: Cellules hépatiques du foie de régénération du rat n.° 4 — 5 jours après l'hépatectomie partielle (gros. 1000 diamètres).
 Fig. 3: Cellules hépatiques normales du rat n.° 5 (gros. 1000 diamètres).
 Fig. 4: Cellules hépatiques du foie de régénération du rat n.° 5 — 7 jours après l'hépatectomie partielle (gros. 1000 diamètres).
- Pl. IV — Fig. 1: Cellules hépatiques normales du rat n.° 6 (gros. 1000 diamètres).
 Fig. 2: Cellules hépatiques du foie de régénération du rat n.° 6 — 10 jours après l'hépatectomie partielle (gros. 1000 diamètres).
 Fig. 3: Cellules hépatiques normales du rat n.° 7 (gros. 1000 diamètres).
 Fig. 4: Cellules hépatiques du foie en régénération du rat n.° 7 — 14 jour après l'hépatectomie partielle (gros. 1000 diamètres).

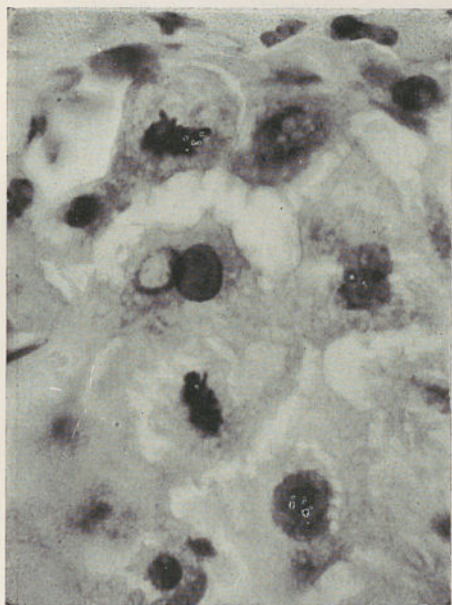


Fig. 1

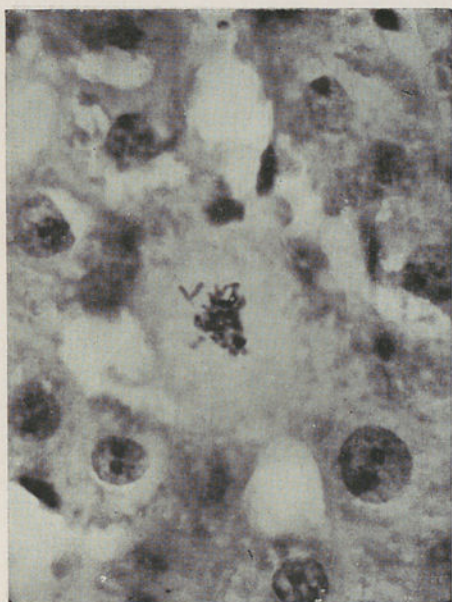


Fig. 2

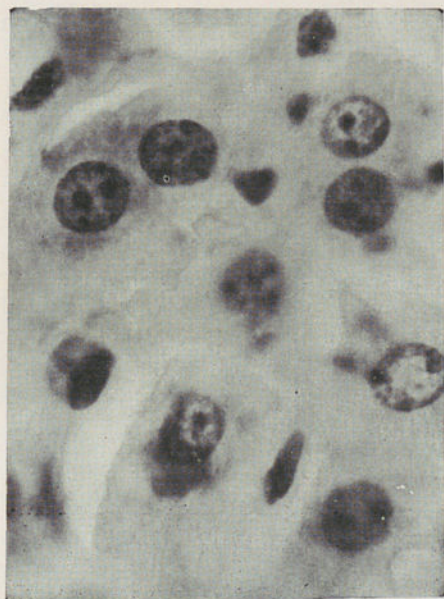


Fig. 3

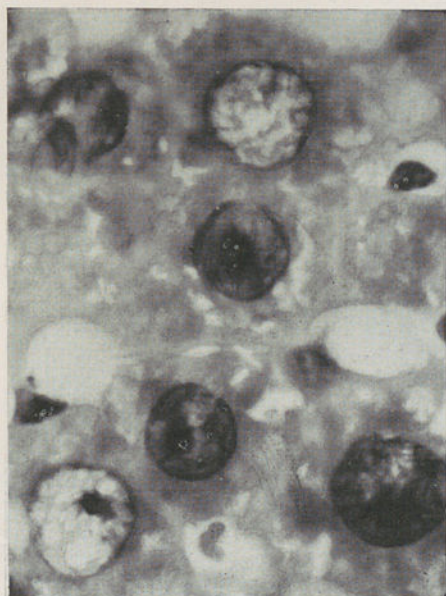


Fig. 4

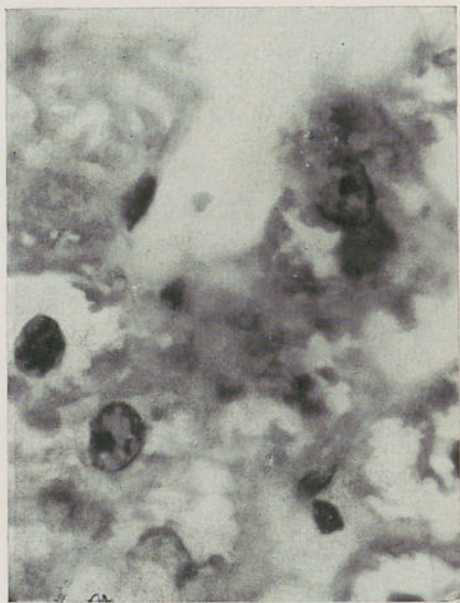


Fig. 1

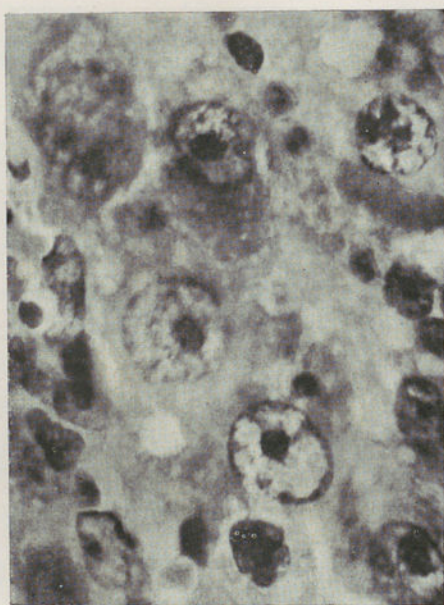


Fig. 2

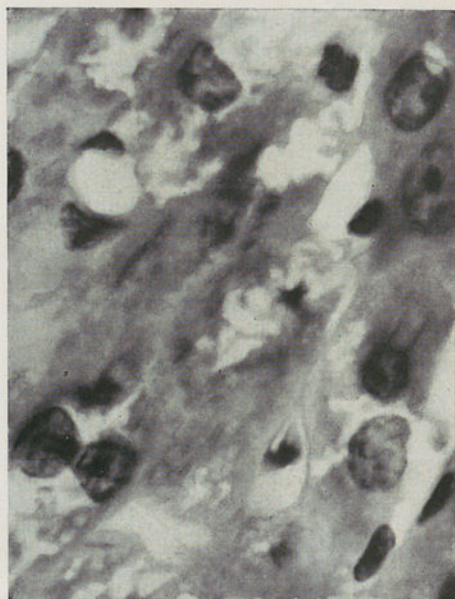


Fig. 3

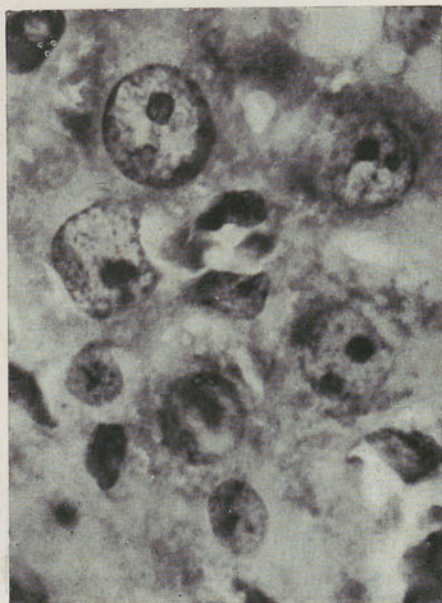


Fig. 4

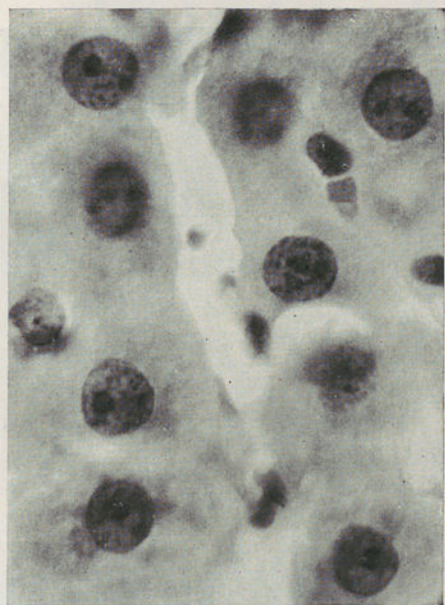


Fig. 1

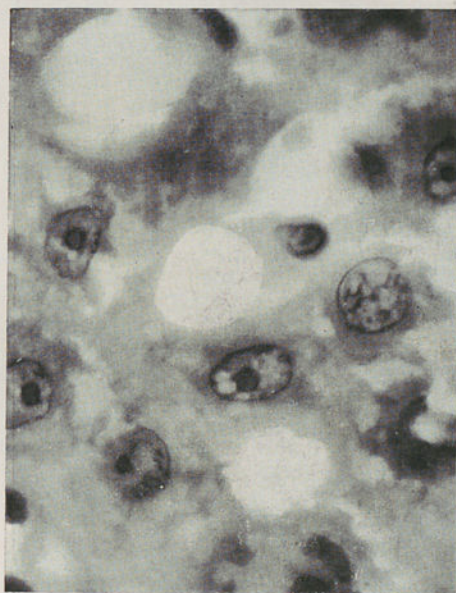


Fig. 2

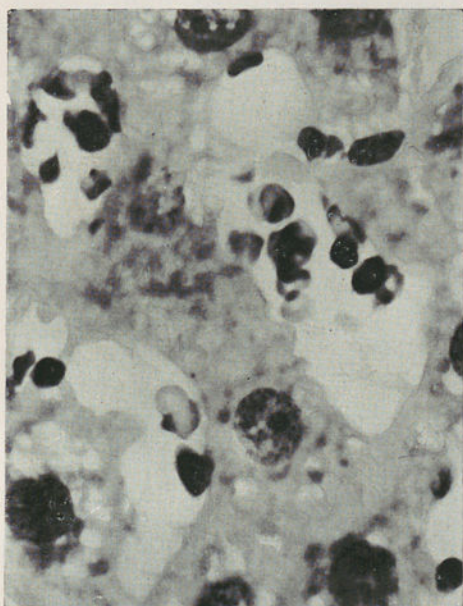


Fig. 3

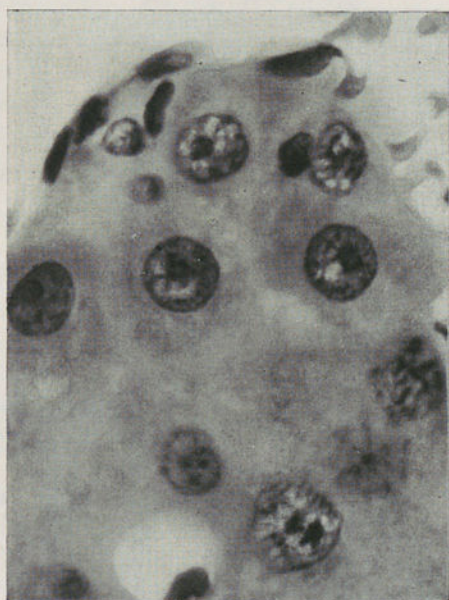


Fig. 4



Fig. 1

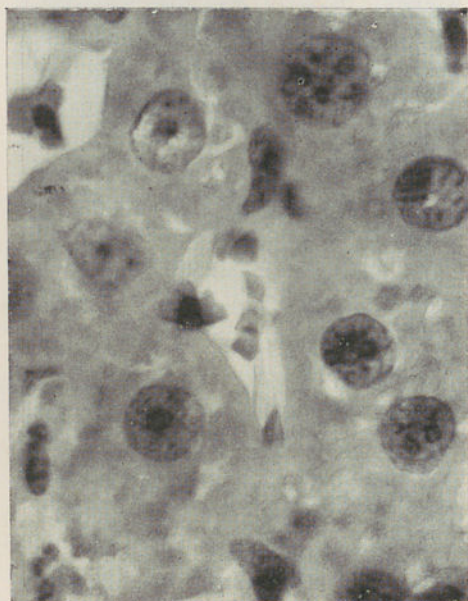


Fig. 2

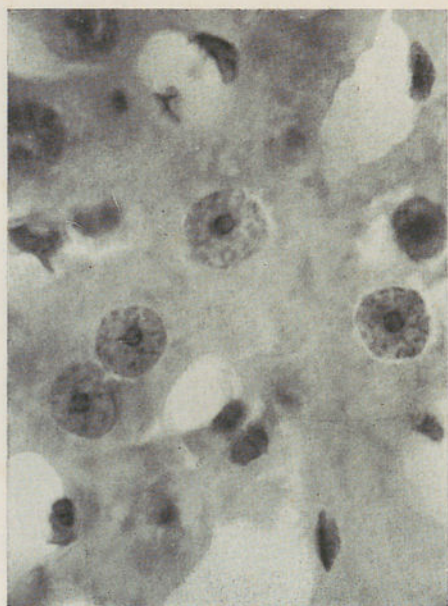


Fig. 3

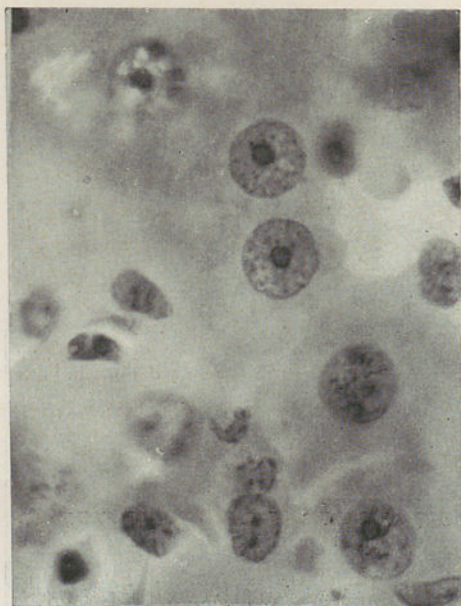


Fig. 4

FOLIA ANATOMICA UNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

VOL. XV

N.º 7

AINDA A PROPÓSITO DA TÉCNICA DE EXAME DO APÊNDICE CECAL¹

POR
GERALDINO BRITES

(Recebido pela Redacção em 15 de Junho de 1940)

«EM DEFEZA DA VERDADE»!

No decurso destes últimos cinco anos, 1934-1939 inclusivé, tivemos ocasião de estudar 391 apêndices íleo-cecais;... (M. Santos, linhas 1 e 2, p 53, *Arg.*)²

Todos foram incluídos em parafina e **estudados em cortes seriados**;... (M. Santos, linha 13, p 53, *Arg.*)

Não escrevemos nem afirmamos cortes longitudinais totais seriados em todos os apêndices, mas sim *longitudinais totais naqueles em que fôr possível*. (M. Santos, linhas 31-53, p 2, *Supl.*)³.

Uma coisa são cortes seriados, outra são apêndices cortados de alto a

¹ Veja-se: Geraldino Brites, *Folia Anatomica*, N.º 4, vol. xv.

² Marques dos Santos, «Sobre o estado actual da histo-patologia apendicular». *Arquivos de Patologia Geral e de Anatomia Patológica*. Vol. xxviii (1939) pp 45-60.

³ Marques dos Santos, «Em defeza da verdade». *Suplemento ao vol. xviii* (1939). Abril de 1940.

Os cortes seriados foram a princípio, como de costume, feitos em segmentos perpendiculares ao eixo apendicular; em certa época, porém, resolvemos **cortá-los no sentido longitudinal** (M. Santos, linhas 18 a 21, p 53, *Arq.*)

Os cortes seriados foram a princípio, **como de costume**, feitos em segmentos perpendiculares ao eixo apendicular;... (M. Santos, linhas 18 e 19, p 53, *Arq.*)

... em certa época, porém, resolvemos **cortá-los no sentido longitudinal** (M. Santos, linhas 20 e 21, p 53, *Arq.*)

Esta técnica **que ainda não vimos descrita...** (M. Santos, linha 26, p 53, *Arq.*)

baixo num único bloco (M. Santos, linhas 1 e 2, p 3, *Supl.*)

Esta técnica... destroe a tão apregoada opinião de **alguns** investigadores que cortam o apêndice em segmentos transversais... (M. Santos, linhas 26 a 29, p 53, *Arq.*)

Em parte alguma do que escrevemos se lê que tivéssemos abandonado os cortes seriados transversais; o que está escrito é que «em certa altura resolvemos cortar **certos apêndices** no sentido longitudinal»; (M. Santos, linhas 8 a 12, p 7, *Supl.*)

...ora o que está escrito nos *Arquivos* é «esta técnica que ainda não vimos descrita» o que é bem diferente de nos termos considerado *autores de*

qualquer processo original... (M. Santos, linhas 1 a 4, p 2, *Supl.*)

Esta técnica... destroe a tão apregoada opinião de alguns investigadores que cortam o apêndice em fragmentos transversais de centimetro para depois subirem ao milhão. (M. Santos, linhas 27 a 30, p 53, *Arg.*)

As investigações foram dirigidas no sentido de salientar ou verificar as relações que a presença ou ausência das fibras elásticas, a sua disposição e localização e o seu número podiam ter com os processos apendiculares, agudos ou crônicos...

Procuramos vêr também a acção de defesa que as inflamações agudas ou crônicas solicitam de parte da musculatura apendicular, do lado da vascularização e ainda do lado do epitélio. (M.

Sendo assim, não se podia considerar visado nas palavras que escrevemos... G. Brites divide o apêndice cecal em fragmentos de poucos milímetros de espessura e não da forma por nós mencionada. (M. Santos, linhas 7, 8, 11 a 14, p 1, *Supl.*)

...se os córtes tivessem intuitos histológicos ou citológicos;... os cortes não chegam a bifes, são antes *meios bifes* patológicos... Com efeito os cortes feitos ao longo **servem-nos para macroscopicamente orientar os alunos**; passam-se de mão em mão; as côres diferentes das tintas, num mesmo cóрте, deixam ver regularmente os destaques que se prestam a constatação e mesmo a espessura das diversas camadas. (M. Santos, linhas 21 e 22, 25, 26, 29 a 34, p 5, *Supl.*)

Santos, linhas 3 a 13, p 54, *Arg.*)

A interpretação histológica baseou-se nos detalhes relativos a cada uma das tunicas, mucosa, submucosa, muscular e serosa; na espessura duma em relação às outras, na presença ou ausência de elementos elásticos. (M. Santos, linhas 33 e 34, p 53, linhas 1 e 2, p 54, *Arg.*)

Há actualmente um meio de evitar o desperdício de tempo e o gasto de material, sem prejuízo do rigor e empregando os cortes transversais: Trata-se do emprêgo do ultropak ou aparelho similar que permita em-

E' evidente *que se não prestam* para a investigação citológica celular minuciosa; **nem para isso são destinados**, por isso se escreveu «em certa época resolvemos cortá-los, os apêndices, no seu tido longitudinal»; época e motivo **não pertencem à investigação histológica**, é fácil de vêr, pertencem ao desejo conseguido de os pôr em condições de fácil percepção pelos alunos, sempre que a isso se prestem. (M. Santos, linhas 17 a 23, p 6, *Supl.*)

... cortes que montámos para **demonstração de curso... a que não ligamos importância de maior.** (M. Santos, linhas 5, 6, 7, p 7, *Supl.*)

Irritado, descreve e festeja a seguir o emprêgo do *Ultropak* para diagnóstico post-operatório das lesões apendiculares *indicação original* e com a qual, **se os cirurgiões não lucram para decidir a intervenção a**

pregar a epimicroscopia em substituição da diamicoscopia com transiluminação... Um apêndice pode ser minudentemente percorrido em tempo relativamente curto. A minha experiência sôbre êste processo é pequena para poder formular um juízo seguro. (G. Brites, linhas 16 a 33, p 10, N 4, *Folia*)¹

3.º Cortes em série de todo o apêndice.

É o processo que **preconizamos**, o articulista dos *Arquivos* e eu. As divergências dizem respeito às variantes, e em extensão que não é possível avaliar... (G. Brites, linhas 20 a 22, p 8, *Folia*).

O articulista não nos diz como faz a fixação: Se não faz quaisquer incisões, quando o apêndice é pequeno, e se não

fazer ao recém-ependectomisado, lucrarão os citologistas e os fabricantes do aparelho. (M. Santos, linhas 16 a 21, p 2, *Supl.*)

Os apêndices estudados... **todos** foram incluídos em parafina e estudados em cortes seriados (M. Santos, linhas 9, 12 e 13, p 53, *Arq.*)

...depois da exposição de livros, cai a página 8 da crítica em dizer «cortes em série de todo o apêndice. É o processo que preconizamos o articulista dos «Arquivos» e eu. As divergências dizem respeito às variantes, a maior diferença, (p. 10,

¹ Geraldino Brites, «A técnica de exame do apêndice cecal». *Folia Anatomica Universitatis Conimbrigensis*. Vol. xv, N 4, 1940.

divide o apêndice grande em troços em fresco, tem uma fixação muitíssimo pior que a minha; nada utiliza da observação macroscópica ou à lupa, para a escôlha da técnica subsequente, nem daquela resultante do exame das numerosas secções que tenho de fazer. A maior diferença, porém, está na **orientação dos cortes no sentido longitudinal**, por meio da qual pretende fugir da *ascensão ao milhão*. (G. Brites, linhas 5 a 15, p 10, *Folia*).

Tôdas estas técnicas dão resultados úteis, muitos e valiosos os de uma e de minguido valor, os doutra. É questão de boa aparelhagem e, sobretudo, de habilidade manual, de experiência técnica, de tempo a gastar sem contar e de pertinácia. (G. Brites, linhas 23 a 27, p. 12, *Folia*).

linha 13) *porém, está na orientação dos cortes no sentido longitudinal, por meio da qual pretende fugir da ascensão ao milhão*. (M. Santos, linhas 9 a 15 p 2, *Supl.*).

«quando as preparações são bem feitas, pode estudar-se o apêndice desde a porção distal à inserção cecal»; *não sendo bem feitas, claro, não se pode estudar, tem de se estudar por outra forma, por exemplo, nos «numerosíssimos» cortes histológicos que sem chalaça, podem ir em número até muito alto...* (M. Santos, linhas 30 a 34, p 6 e 1, p 7, *Supl.*)

Refere-se depois à facilidade que atribuímos à técnica apregoada; o crítico acha que é difícil, mas escreve, **contradizendo-se**, (p 12, linha 26) *«é questão de habilidade manual, experiência técnica tempo a gastar sem contar e pertinácia»*. (M. Santos, linhas 3 a 8, *Supl.*)

Eu tive de mandar fazer lâminas especiais, com a largura das habituais (26 milímetros), mas mais compridas (100 milímetros). (G. Brites, linhas 17-19, p 12, *Folia*).

Original foi G. Brites quando mandou fazer, como diz, lâminas de 100 milímetros, **com destinos citológicos e quando pôz de parte o seu insucesso, mostrando a falha da sua idealização e o «mal fundado da sua técnica»**, mal fundado que «**atira agora para cima de outrem**» **confessando-se**. (M. Santos, linhas 13 a 18, p 7, *Supl.*)

Etc.

RÉSUMÉ

GERALDINO BRITES

(p 13, Vol xv, N 4, *Folia*)

L'auteur expose les méthodes d'examen de l'appendice cœcal, mises habituellement en pratique:

Cet exposé a été provoqué par une affirmation faite au cours de la première partie d'un rapport sur l'état actuel de l'histo-pathologie appendiculaire. Son auteur,

PARTE FINAL

SR. DR. MARQUES DOS SANTOS

(p 7, *Supl.*, Vol. xxviii, *Arquivos*)

Quando se faz correr mundo (como é seu costume velho e repetido) para direcções de que se é único possuidor, uma critica malévola, beliscante, sem deixar que o visado possa levar a essas mesmas direcções a defesa contra as apreciações feitas; quando a critica assenta nas bases de verdade em que assenta a de

F O L I A A N A T O M I C A
U N I V E R S I T A T I S
C O N I M B R I G E N S I S

(Propriété de l'Institut d'Histologie et d'Embryologie et du Laboratoire d'Anatomie)

EDITEUR: PROF. GERALDINO BRITES

Les FOLIA ANATOMICA UNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS publient des mémoires originaux et des études d'Anatomie descriptive et topographique, d'Anatomie pathologique, d'Histologie et d'Embryologie.

Les FOLIA rédigées en portugais sont suivies d'un résumé en français, en anglais ou en allemand, au choix de l'auteur. Les fascicules contenant une ou plusieurs FOLIA, paraissent au fur et à mesure que les articles sont imprimés, d'après l'ordre de réception des manuscrits.

Les manuscrits adressés à la rédaction ne sont pas rendus à leurs auteurs même quand ils ne sont pas publiés.

Les communications concernant la rédaction et l'administration des FOLIA ANATOMICA doivent être adressées à M. le Prof. Geraldino Brites, Institut d'Histologie et d'Embryologie, Coïmbre, Portugal.