

Alterações histopathologicas da medulla ossea na immunisação para obtenção de agglutininas.

por

C. MAGARINOS TORRES

I—Introdução e historico

II—Material e methodos de pesquisa.

III—Estudo histopathologico da medulla ossea.

IV—Conclusões.

(Com as estampas 17—22).

Resulta de trabalhos realizados nestes ultimos annos, que a séde de produção dos anticorpos deve ser localisada nos órgãos hematopoéticos, medulla ossea, baço e ganglios lymphaticos.

Assim a curva de produção de varios anticorpos é alterada quando, no animal em via de immunisação, são provocadas lesões desses órgãos, pela applicação dos raios X, do benzol, do thorio X, etc. Por outro lado, substancias que estimulam os órgãos hematopoéticos, como a arsacetina, o salvarsan, determinam um augmento notavel da concentração de anticorpos no sôro, sem introdução de nova quantidade de antigeno. Tambem fragmentos de baço e medulla ossea, cultivados fóra do organismo, mostraram-se capazes de elaborar anticorpos.

Parece que, cada anticorpo em especial, é produzido por um determinado órgão hematopoético; assim, as agglutininas são produzidas principalmente pela medulla ossea, a qual, porém, não é o órgão destinado á elaboração das hemolysinas.

E' impossivel decidir, por emquanto, qual o papel que outros órgãos, particularmente o figado e as glandulas de secreção interna, desempenham na elaboração dos anticorpos, tão contraditorios os resultados das pesquisas a respeito. E' provavel que as glandulas de secreção interna (em especial as glandulas thyreoide e parathyreoide) não sejam órgãos propriamente productores de anticorpos, mas que exerçam apenas uma influencia indirecta ou reguladora sobre a concentração dos anticorpos no sôro.

Quasi todos os trabalhos são muito pobres de informações sobre as alterações histopathologicas dos órgãos hematopoéticos, preocupando-se exclusivamente com o lado physiologico, por assim dizer, da questão. A actividade da medulla ossea, expressa na capacidade de produzir anticorpos, é a parte estudada.

A natureza complexa da questão da origem dos anticorpos só pôde justificar o interesse de pesquisas histopathologicas, as quaes poderão constituir uma base solida para argumentação.

São poucos os trabalhos que na rica literatura sobre immunidade, encontramos tratando directamente da questão.

GUERRINI (1903). immunisando ratos com culturas em caldo de *B. murisepticus*, verificou que as alterações histologicas vistas nos pulmões, coração, rins e systema nervoso algumas horas após as injeções da substancia immunisante, nada apresentam de caracteristico, sendo identicas ás observadas em todas as intoxicações; as lesões das capsulas suprarenaes, figado, baço e medulla ossea, porém, mostram, além disso, outras alterações, a saber: nas capsulas suprarenaes e no figado, turgescencia dos nucleos e desagregação da chromatina, no baço e na medulla ossea, numerosas cellulas grandes, de nucleo polymorpho.

GAY e RUSK (1913) immunisaram coelhos por meio de repetidas injeções intravenosas de globulos de cobyava lavados, os quaes, após um repouso de duas ou mais semanas, eram novamente injectados com globulos lavados recentes. Fizeram um estudo histologico cuidadoso dos órgãos dos animaes sacrificados successivamente após 1, 4 e 24 horas e 4 e 6 dias de inoculação, procurando demonstrar uma evidencia de actividade funcional em determinadas cellulas que seriam as encarregadas da formação de anticorpos. A unica alteração que constatarem, sobre cuja significação, aliás, permanecem em duvida, foi um augmento notavel de glycogenio no figado do animal de 24 horas.

METALNIKOW e GASCHEN (1922) estudaram os phenomenos de immunidade nos invertebrados (larvas de *Galleria*) e principalmente as modificações do sangue; existe, a principio, uma reacção dos differentes leucocytes e phagocytes, em seguida, uma reacção phagocytaria; vem em terceiro lugar, uma leucolyse e phagolyse que põe em liberdade fermentos intracellulares e anticorpos; um pouco mais tarde, ha uma reacção das cellulas espherulosas que parecem desempenhar papel importante na immunidade; finalmente observa-se a formação de cellulas gigantes e de capsulas. Pensam que a immunidade e o resultado de uma reacção muito complicada de differentes cellulas do organismo, reacções especificas para cada microbio injectado.

SESTINI (1922) notou uma hyperfunção da glandula thyreoide nas cobayas immunisadas (*B. typhico*), a qual morphologicamente se traduz não só por um augmento de lipoid s, de granulos fuchsinophilos e modificações da substancia colloide, como tambem por modificações das cellulas do epithelio thyreoideo vesicular e intervesicular: um verdadeiro estado de struma hyperplastico teleangectoides.

Informações indirectas, porém, sobre as alterações histopathologicas dos órgãos hematopoéticos na immunidade nos fornecem os trabalhos de FOÁ (1889), DOMINICI (1900), LENGEMANN (1901), MUIR (1901), LONGCOPE (1915), EVANS (1916), etc., que se occupam com as alterações daquelles órgãos nas diversas infecções e com a producção de leucocytes na leucocytose.

Historico.

As hypotheses sobre a origem dos anticorpos podem ser resumidas nas seguintes proposições que encerram as ideias dominantes dos diversos pesquisadores:

1º) Todas as cellulas do organismo tomam parte na formação dos anticorpos; o protoplasma cellular é a séde de producção dos anticorpos. Como corollario, temos a opinião segundo a qual muitos tecidos podem produzir, localmente, anticorpos.

E' por demais conhecida a hypothese fundamental de EHRLICH, segundo a qual todas as cellulas do organismo tomariam parte na formação dos anticorpos. A producção local de anticorpos constitue uma questão que os primeiros pesquisadores (ROMER, v. DUNGERN, WASSERMANN e CITRON) resolveram pela affirmativa, mas que trabalhos posteriores vieram abalar fortemente e indicar uma solução justamente opposta. Assim HEKTOEN (1911) effectuou experiencias cujos resultados não fallam a favor de uma producção local de anticorpos especificos em cães injectados com hematias de rato e cabra, pelo menos no que diz respeito aos seguintes tecidos: camara anterior do olho, tecido pleural e tecido cellular subcutaneo. A injeção de globulos vermelhos de rato ou cabra na camara anterior do olho de cães é seguida pelo apparecimento de anticorpos especificos no sangue e commumente no humor aquoso. A concentraçao de anticorpos é maior no humor aquoso do olho injectado, mas, em ambos os olhos, muito menor que no sangue; os anticorpos não apparecem primeiramente no humor aquoso e sim no sangue. A injeção de hematias de rato ou cabra na cavidade pleural de cães é seguida

pelo apparecimento de anticorpos especificos no sangue e no exsudato pleural provocado pela injeção de aleuronato; a concentração no exsudato pleural não é maior que no sangue, e, muitas vezes é menor, sendo a concentração no sangue um pouco menor aqui do que após a injeção intravenosa da mesma quantidade de antígeno; não ha diferença na relação entre o conteúdo de anticorpos do sangue e do exsudato pleural em cães recebendo o antígeno na cavidade pleural e em cães recebendo o antígeno por via intravenosa. Cães inoculados por via subcutanea ao nível da perna anterior com hematias de rato e cabra, cujo membro inoculado foi amputado nas primeiras phases de produção de anticorpos, não mostram um conteúdo do sangue em anticorpos inferior ao de outros cães nos quaes esses tecidos não foram retirados. Também se os anticorpos fossem produzidos localmente no sitio da injeção do antígeno no tecido celular subcutaneo, seria razoavel esperar que injeções subcutaneas do antígeno em muitos lugares augmentassem a produção de anticorpos, o que não foi verificado por experiencias dirigidas nesse sentido.

ZINSSER (1918) parece inclinado a admitir que a formação de anticorpos não é função de órgãos especiaes, muitas células do corpo podendo tomar parte no processo; essa opinião é, sobretudo, baseada nas experiencias de immunidade local de WASSERMANN, CITRON e RÖMER, as quaes, como vimos, foram posteriormente contestadas.

Recentemente OSHIKAWA (1921) conseguiu pela transplantação da pelle de coelhos activamente immunizados para coelhos normaes, verificar nestes ultimos, a formação de anticorpos. Os protocollos de suas experiencias mostram que essa formação de anticorpos é muito pouco pronunciada; assim, em duas experiencias, o titulo do soro agglutinante nos coelhos onde fez a implantação da pelle, não foi além de 1/10, ao passo que, em uma dellas, o titulo do soro do coelho que forneceu os fragmentos de pelle era igual a 1:640 (immunizado com *B. Paratyphico B*); em outras experiencias, o soro do coelho que recebeu os fragmentos de pelle apresentou o titulo de 1:160 no fim de 9 dias (immunização com o *Proteus*). Ahamos que a concentração de agglutininas obtida no soro dos coelhos em que fez a transplantação da pelle é muito fraca para permittir affirmações categoricas; é preciso não esquecer que os órgãos hematopoéticos, particularmente a medulla ossea do coelho, são muito sensiveis a alterações pathologicas, sendo muito plausivel que a operação de transplantação da pelle tenha influido, só por si, sobre o conteúdo de anticorpos do sangue; a operação teria exercido uma acção semelhante á da injeção de peptona ou de uma substancia irritante da medulla ossea.

2º) Os anticorpos são produzidos especialmente por algumas células do organismo, particularmente pelos leucocytos do sangue.

METCHNIKOFF (1887) emittio a ideia de que as substancias bactericidas do soro poderiam ser de origem leucocytaria.

BORDET (1895), seguindo essa orientação, verificou que o soro possui um valor preventivo maior que o plasma (o qual é pobre de leucocytos), concluindo que os leucocytos desempenham parte importante na produção das substancias protectoras.

GRUBER (1897) suggeriu que os polymorphonucleares formam as agglutininas, o que é demonstrado falso pelas experiencias de ACHARD e BENSUAUDE e WIDAL e SICARD, PASTCH e KRAUS e SCHIFFMANN.

No caso das antitoxinas, pensou-se que as células particularmente atacadas pela toxina eram justamente as productoras do anticorpo; exemplo disso, as ideias de WASSERMANN e TAKAKI sobre a formação da antitoxina tetanica pelas células nervosas, logo reconhecidas falsas por METCHNIKOFF e MARIE.

v. DUNGERN (1902) achou que as células do sangue tomam parte na formação das precipitinas.

KRAUS e LEVADITI (1904) dosando as precipitinas nos órgãos de animaes immunizados, verificaram que, em todos os órgãos estudados, só o epiploon fornece extractos capazes de precipitar de modo intenso, o soro de cavallo, isso em um momento em que o soro do animal preparado não é absolutamente precipitante; como o epiploon é a sede de um accumulo notavel de globulos brancos, concluem que estas células são a principal fonte de origem desses anticorpos.

KRAUS e SCHIFFMANN (1906) constataram que coelhos que soffreram a splenectomia produzem tão bem soros precipitantes como os animaes normaes; acham que as precipitinas não se formam nos órgãos, mas no systema vascular, sendo que, além do epiploon, nenhum outro órgão nos animaes immunizados, contem, antes do soro, substancias precipitantes.

Os mesmos auctores (1906) verificaram que as agglutininas podem apparecer em proporção apreciavel no soro sem existirem simultaneamente nos extractos de órgãos; quando nelles existem, tem concentração sensivelmente inferior á do sangue; a medulla ossea encerra quantidade maior de agglutininas que o baço e ganglios lymphaticos.

STENSTRÖM (1911) inoculando leucocytos polymorphonucleares juntamente com o antígeno (*B. typhico*) observou uma baixa na formação de agglutininas; baseado nesse facto conclue que os leucocytos podem ser considerados ou como formadores de agglutininas ou como favorecendo o processo de modo indirecto.

FONSECA (1912) acha que aos lymphocytos cabe o papel principal na reacção geradora dos anticorpos, fundamentando a sua hypothese no facto de que "os organismos atacados por infecções que conferem um grau mais ou menos elevado de immunidade, manifestam, geralmente, na contagem especifica uma porcentagem accentuada de lymphocytos."

BACHMANN (1918—1919) mostrou que os leucocytos dos animaes immunizados adquirem uma propriedade especifica importante que permite proteger a cobaya quando inoculados no peritoneo juntamente com *B. typhico*, conseguindo o auctor isolar dos leucocytos os productos que lhes conferem essa propriedade.

Os resultados das experiencias de LEVADITI e BANU (1920) são contrarios á formação local de agglu-

tininas no tecido celular subcutâneo; assim o processo inflamatório e edematoso que constitui a lesão local quando se injecta uma emulsão de *B. typhico* com gelatina e mercurio colloidal não influencia de modo favorável mas sim prejudica a formação de anticorpos agglutinantes.

TISCORNIA (1921) verificou que extractos de leucocytos de cobayas immunisadas contra o *B. typhico* inoculados no peritoneo de cobayas juntamente com uma dose mortal minima de cultura de *B. typhico*, tinham uma acção protectora nitida. Conclue de suas experiencias que durante uma phase da immunisação os leucocytos, e, especialmente os neutrophilos, intervem na producção ou na modificação de substancias cellulares especiaes com propriedades immunisantes especificas. Essas substancias são bem demonstradas quando libertadas dos leucocytos de um modo brusco e violento, mas provavelmente no sangue circulante, são secretadas em uma certa quantidade. Deduz-se que durante uma reacção immunitaria, uma leucocytose significa augmento de producção dessas substancias leucocytarias especiaes immunisantes, e, a sua appareição é mais rapida e intensa na circulação devido á leucolyse consequente a toda leucocytose.

METALNIKOW e GASCHEN (1922) attribuem papel importante na formação dos anticorpos nos invertebrados (larvas de *Callera*) a diversas cellulas do sangue do insecto.

ROBERTSON e ROUS (1922) asseveram a existencia de agglutininas intracellulares nos globulos vermelhos do coelho, sendo ellas facilmente demonstraveis nos extractos aquosos de globulos seccos.

4º) Os anticorpos são formados pelos órgãos hematopoéticos.

PFEIFER e MARX (1898), dosando simultaneamente os anticorpos bactericidas no soro e em extractos de leucocytos, demonstraram que nenhum excesso de anticorpos encerravam os extractos de leucocytos comparados com o soro, e verificaram, ao mesmo tempo, um notavel accumulo de anticorpos em determinados órgãos do coelho (baço, medulla ossea, ganglios lymphaticos, e, em menor escala, o pulmão) durante os primeiros dias de immunisação. O baço encerrava, já no decurso do 2º dia de immunisação, uma quantidade apreciavel de substancias protectoras contra o cholera, embora o sangue não mostrasse indicio algum de uma alteração especifica. Acharam que os órgãos hematopoéticos constituem o ponto de origem dos anticorpos, representando o excesso de anticorpos concentrado naquelles órgãos, simplesmente um excesso de producção, o qual não é acompanhado de uma eliminação igualmente rapida para o sangue.

DEUTSCH (1899) verificou que a splenectomia precedendo a injectão immunisante, não impede a formação de agglutininas; feita 3-5 dias após a injectão, impede nitidamente a formação dos anticorpos.

v. EMDEN (1899). immunisando coelhos com *B. aerogenes* e pesquisando agglutininas no soro e em extra-

ctos de diversos órgãos, verificou que os extractos de baço possuem, ás vezes, um titulo agglutinante maior que o do sangue; a producção de agglutininas é prejudicada pela splenectomia, mas, apesar disso, se effectua; assim sendo, admite que, além do baço, outros órgãos, particularmente os órgãos lymphoides, são capazes de elaborar agglutininas.

WASSERMANN (1899) estudou a acção do soro e de extractos de diversos órgãos de coelhos immunisados com pneumococcus virulentos sobre a marcha da infecção pneumococcica experimental. Os extractos de medulla ossea apresentaram um conteúdo de anticorpos maior que o de qualquer outro órgão, e, nos estadios iniciais de immunisação, o poder protector dos extractos de medulla ossea e dos órgãos hematopoéticos excedia o do soro. Acha que a medulla ossea representa o sitio de producção dos anticorpos e que, os ganglios lymphaticos, o thymo e o baço, são apenas rerervatorios dos mesmos.

JATTA (1900) verificou que o titulo agglutinante (*B. typhico*) dos extractos de baço, entre o 2º e o 4º dia de immunisação, é notavelmente maior que o do sangue, sendo igual a este no fim do 4º dia, e consideravelmente inferior no fim de 8 dias.

HEKTOEN (1909-10) assignala que a assymetria das curvas de producção dos diversos anticorpos no mesmo animal, sugere que se trate de substancias distinctas, cuja producção depende de um mecanismo semelhante, mas não identico.

LIPPMANN (1911), após immunisar coelhos por meio de inoculações repetidas de culturas mortas de *B. typhico*, deixou-os em repouso pelo espaço de 4 meses, durante os quaes o titulo agglutinante do soro baixou progressivamente até um titulo médio constante; injectou-os então, por via subcutanea, com 0gr.1 de arsacetina, substancia cuja influencia estimulante sobre os órgãos hemapoéticos é bem conhecida e aproveitada no tratamento da anemia. Verificou uma elevação rapida do titulo de agglutininas após essa injectão, a qual attingio o seu maximo no fim de 6-9 dias.

HEKTOEN (1916) verificou uma redução da formação de anticorpos nos animaes intoxicados pelo benzol associada a graves lesões da medulla ossea, a leucopenia e outras alterações caracteristicas da intoxicação pelo benzol, havendo tambem redução do poder phagocytario dos leucocytos. No cão, pequenas doses de benzol, as quaes produzem leucocytose, augmentam a producção de lysinas para os globulos vermelhos da cabra.

O benzol actua sobre os elementos que elaboram os anticorpos e os centros leucocytogenicos participam desta elaboração. Isso é demonstrado, no coelho, pela redução da quantidade dos anticorpos e do numero dos leucocytos, a qual não ocorre quando o benzol é administrado no momento em que a producção de anticorpos está proximo do seu maximo; no cão, pelo augmento da formação de lysinas, o qual é acompanhado de uma leucocytose.

CARREL e INGEBRIGTSEN (1912) verificaram que fragmentos de medulla ossea e ganglios lymphaticos cultivados fóra do organismo, são capazes de produzir anticorpos (hemolysinas).

LÜDKE (1912) verificou a produção de agglutininas e hemolysinas na medulla ossea e fragmentos de baço retirados de coelhos e cobayas 24, 48 e 60 horas após a injeção intravenosa de culturas mortas de *B. typhico* e *dysenterico*, e conservados asepticamente em agua physiologica, solução de Ringer e sôro normal de coelho e cobaya, a 37°—40°. No 5o dia de cultura, a emulsão de baço agglutina até 1:160 e a de medulla ossea até 1:320. Inoculando directamente a medulla ossea, sacrificando o animal no fim de 36—48 horas, amputando o femur e cultivando-o nos meios mencionados, constatou, igualmente, a existencia de anticorpos bactericidas e agglutininas na emulsão de medulla ossea.

TSURUMI e KOHDA (1913) chegaram á conclusão de que o baço constitue o lugar mais importante de produção dos anticorpos que demandam complemento encerrando-os já no fim da 20ª hora de immunisação; a produção na medulla ossea e ganglios lymphaticos não é tão pronunciada como no baço, e, mais tarde, a quantidade produzida permanece inferior á encontrada neste órgão.

LIPPMANN (1914) estudou a influencia do thorio X e de compostos arsenicaes sobre a curva de produção dos anticorpos. Verificou, em animaes previamente immunisados e deixados em repouso durante um mez, uma elevação das agglutininas (*B. typhico*) no sôro, ultrapassando o maximo anteriormente atingido, após applicação de uma dose de thorio X (cerca de 1 1/2 unidade elektrostatica por kilogrammo de peso, elevação que attribue a uma influencia estimulante do thorio sobre a medulla ossea. Pesquisas inteiramente analogas, feitas com anticorpos da natureza dos amboceptores (hemolysinas) deram resultado negativo; quer pelo emprego do thorio X em doses diversas, quer pelo emprego do salvarsan, que possui, igualmente, uma acção estimulante bem verificada sobre a medulla ossea, não obteve alteração da curva de produção das hemolysinas. Animaes (camondongos) injectados com substancias que estimulam a medulla ossea (salvarsan e thorio X) resistem a uma infecção (culturas de pneumococco) mortal para as testemunhas.

SIMONDS e JONES (1915) pesquisaram a influencia do benzol sobre a produção dos anticorpos; essa substancia exerce uma influencia nociva accentuada sobre os órgãos hematopoéticos, particularmente sobre a medulla ossea. Tornou-se evidente uma depressão nas curvas de produção de hemolysinas, agglutininas e opsoninas comparadas a testemunhas; a depressão foi mais accentuada no caso das hemolysinas e menos no das opsoninas.

SIMONDS e JONES (1915) estudaram as alterações da produção dos anticorpos, de um lado, em coelhos sujeitos á acção dos raios X, que exerce uma acção destruidora especifica sobre o tecido lymphadenoide, e, de outro lado, em animaes inoculados com benzol, que exerce uma acção destruidora especifica sobre a medulla ossea. A acção dos raios X não é tão especifica como se pensava, pois HEINEKE mostrou que lesa igualmente a medulla ossea, devendo-se levar esse facto em consideração ao ler os resultados das experiencias de SIMONDS e JONES, que são os seguintes: a) a formação

de agglutininas nos animaes expostos aos raios X é diminuida de modo apreciavel embora não tanto como nos coelhos inoculados com benzol; b) parece que a produção de bacteriolysinas não é muito prejudicada pela exposição aos raios X; c) não ha alteração apreciavel do conteúdo do sôro em opsoninas e o poder de fixação do complemento, nos coelhos expostos aos raios X.

HEKTOEN (1918), que defende a ideia de que os anticorpos são produzidos pelos órgãos hematopoéticos, verificou que a exposição dos animaes aos raios X prejudicava de modo notavel, e, ás vezes, completamente, a produção de anticorpos, quando era feita na occasião em que recebiam o antigeno, não tendo, ao contrario, influencia alguma quando feita na occasião em que a produção de anticorpos havia atingido ao seu maximo; uma resistencia analoga mostraram os animaes inoculados com benzol no periodo de activa produção de anticorpos.

Experiencias de HEKTOEN (1920) parecem indicar claramente que, depois que o processo de produção de anticorpos se acha em andamento, a splenectomia tem pouca ou nenhuma influencia sobre o conteúdo do sôro em anticorpos, se bem que, ás vezes, o seu effeito seja variavel e incerto; assim, no coelho, após a injeção de uma dose grande de sangue de carneiro, a splenectomia tem pouco ou nenhum effeito sobre a produção de anticorpos; ao contrario disso, feita no mesmo animal, embora com muitas semanas de antecedencia, intervem na formação de precipitinas.

MORESCHI, MORESCHI e VOTKY e HOWELL (1920), verificaram a ausência de formação de agglutininas e opsoninas (HOWELL) em doentes de leucemia, onde são intensas as alterações da medulla ossea.

Um argumento a favor da formação de agglutininas pelos órgãos hematopoéticos e particularmente pela medulla ossea, consiste em que a regeneração do sangue provocada em animaes immunisados, por sangrias repetidas, é acompanhada de uma produção augmentada de anticorpos. Este phenomeno foi estabelecido por HAHN e LANGER; os auctores que repetiram sua technica, não o confirmaram. Parece, porém, que o resultado depende da oportunidade da sangria, pois JÖTTEN (1920), que nada conseguiu usando da technica de HAHN e LANGER, obteve até um augmento de 40 ou de 100 vezes (conforme a leitura do resultado era feita no fim de 2 ou de 24 horas) do titulo do sôro em agglutininas (*B. typhico*), effectuando nos coelhos, a partir do segundo dia de inoculação, sangrias de 5 ou de 20 c. c.

Injecções endovenosas de chlorureto de manganez, de nickel, de cobalto e de zinco provocam um augmento consideravel e rapido da concentração de agglutininas e antitoxina diphtherica (WALBUM, 1921).

5o) Outros órgãos que não os hematopoéticos, exercem igualmente influencia sobre a produção dos anticorpos.

M' GOWAN (1909), estudando as alterações histologicas das visceras de coelhos inoculados com globulos vermelhos de gallinha, notou um accumulo desses glo-

bulos injectados, nos sinusoides do figado, o qual era muito maior do que em qualquer outra viscera e persistia por maior prazo de tempo; achou que esse accumulamento no figado, juntamente com a conhecida actividade phagocytaria das cellulas hepaticas, a sua acção reconhecida sobre os productos de digestão, dão força á ideia de que o figado é a séde de formação dos anticorpos. São factos bem frageis, como vimos, para supportar uma tal asserção.

NOLF e MÜLLER (1911) são de opinião que as cytolytinas naturaes (alexinas e amboceptores normaes) se originam ao nivel do figado. As suas experiencias principaes procuram demonstrar o desaparecimento prompto do complemento e dos amboceptôres naturaes após a supressão da circulação hepatica, a sua persistencia após os traumatismos os mais formidaveis, como a extirpação de todos os órgãos abdominaes com excepção do figado, contanto que este permaneça physiologicamente intacto, a possibilidade de augmentar o poder alexico e sensibilizador do sangue fazendo-o circular em figados isolados e vivos.

HOUSSAY e SORDELLI (1921) constataram que coelhos, cães e cavallos cuja glandula thyreoide foi retirada, forneciam maior quantidade de hemolysinas, agglutininas e antitoxinas que os testemunhas.

ECKER e GOLDBLATT (1921) mostraram a necessidade de um conhecimento anatomico exacto nas experiencias de ablação das glandulas thyreoide e parathyreoide, e verificaram que a thyreoidectomia com parathyreoidectomia parcial não inibe a producção de anticorpos (hemolysinas), ao passo que nos poucos animaes que sobrevivem a uma thyro-parathyreoidectomia completa, a producção de hemolysinas é reduzida a um quinto do normal.

SESTINI (1922) affirma que a glandula thyreoide da cobaya soffre, durante a immunisação contra o *B. typhica*, um processo de hyperplasia, e mostra phenomenos morphologicos intensos de hypersecreção cellular.

As experiencias de CUTLER (1922) mostram que a hypophyse não exerce directa ou indirectamente, influencia importante sobre a producção e a persistencia no sangue, de agglutininas e hemolysinas, a menos que a porção de hypophyse que é imprescindivel deixar no animal para manter-lhe a vida, não exerça a mesma influencia que toda a glandula.

6º) Os anticorpos são preexistentes no sangue e tecidos liquidos do organismo.

Ideias novas são defendidas recentemente por SAHLI (1920).

SAHLI discorda de EHRLICH, no pensar que o protoplasma cellular não é a séde de producção dos anticorpos. A origem dessas substancias é o proprio sangue (que, segundo SAHLI, é uma secreção) e tecidos liquidos; as cellulas produzem os anticorpos physiologicamente, em resposta a excitações do sangue e tecidos liquidos.

Os diversos anticorpos são preexistentes no sangue; pela introducção do antigeno (immunisação) obtem-se

um enriquecimento artificial o qual depende da lei bem conhecida segundo a qual a secreção é augmentada afim de cobrir um déficit, e vae além do limite necessario.

A producção de anticorpos seria apenas uma modalidade de regeneração do sangue, regeneração levada ao excesso. Essa regeneração effectua-se em virtude do seguinte: O antigeno e o anticorpo unem-se em uma combinação colloidal, em virtude da qual cessa a funcção que o anticorpo desempenhava no sangue. O organismo reage a essa perda de anticorpo, que funcionava, por meio de uma secreção augmentada, afim de produzir nova e maior quantidade de anticorpos.

II—Material e methodos de pesquisa.

Examinamos a medulla ossea de 54 coelhos, alguns em condições normaes, a maioria (40) em diversos estadios de immunisação para a obtenção de agglutininas.

Os animaes, sacrificados opportunamente, foram necropsiados logo após; aquelles que morreram no decurso das experiencias só foram aproveitados quando a necropsia poude ser feita sem demora.

Em todos os animaes examinamos systematicamente a medulla ossea do femur de ambos os lados.

Libertado o femur das partes molles que o recobrem, era seccionado por meio de um costotomo o mais perto possivel das epiphyses. Em uma das extremidades do canal osseo davamos, com uma tesoura afiada, dois golpes, e, por meio de tracções cuidadosas, esses cortes eram prolongados por fractura longitudinal do tubo osseo, até a extremidade opposta.

Quasi sempre obtinhamos então, em uma das metades do corpo do femur, um cylindro perfeito que comprehendia a medulla ossea. Nos casos em que havia diminuição de consistencia da medulla ossea, essa operação dava resultados menos satisfatorios.

O fragmento do femur ao qual adheria a medulla ossea era collocado no fixador ou então, tocando de leve com a pinça, destacavamos o cylindro que constituia a medulla ossea e deixavamos cahir pequenos fragmentos cortados com

tesoura, successivamente em sublimado-alcool e em ZENKER-formol (sem acido acetico), que foram os fixadores usados

A inclusão foi feita em parafina e os córtes foram corados pelo methodo de GIEMSA a humido (fixação em sublimado-alcool) e pela hematoxilina-eosina (fixação em ZENKER-formol).

Em alguns casos o material foi fixado unicamente em ZENKER-formol, sendo que, então, as preparações pelo GIEMSA a humido não eram tão favoraveis ao estudo quanto as coradas pela hematoxilina-eosina. Noutros casos, o fixador exclusivo foi o sublimado-alcool; aqui, a par de bellas preparações pelo GIEMSA a humido, obtivemos bons preparados pela hematoxilina-eosina; o tempo de coloração na hematoxilina de HANSEN não diluida, não deve então, exceder de um minuto.

Notamos que a retracção dos tecidos é mais pronunciada no material fixado em sublimado-alcool que no fixado em ZENKER-formol.

E' portanto muito vantajoso o emprego conjuncto dos 2 fixadores e processos de coloração, sendo dos mais instructivos o estudo comparativo das preparações assim obtidas.

Empregamos tambem, em determinadas condições (pesquisa de fibrina, identificação das cellulas do reticulo) varios methodos geraes (methodos de MALLORY pelo azul de anilina e hematoxilina — acido phosphotungstico, V. GIESON etc).

A maioria dos animaes foi immunisada por via endovenosa; um pequeno numero por via intraperitoneal e subcutanea.

Em um grupo, os animaes foram inoculados em um mesmo dia, com uma mesma emulsão de uma mesma cultura de 24 horas de B. paratyphico A.

A emulsão foi assim feita:

Emulsão A. — Preparamos 10 tubos de ensaio, cada um contendo 2 cc. de

agua physiologica; em cada tubo emulsio-
namos uma alça calibrada de 0.002 grs.
de uma cultura de 24 horas de B. Paratyphico A; o conteúdo dos 10 tubos foi reunido em 1 balão e este collocado no banho-Maria a 60° durante 1 hora; agitada a mistura, foi distribuida na proporção de 2 cc. para cada tubo de ensaio; foram inoculados na veia marginal da orelha na mesma occasião, 10 coelhos, cada um delles com o conteúdo de um tubo.

Em um outro grupo mais numeroso, inoculamos isoladamente cada coelho do peso de 950—1500 grs. por via endovenosa, subcutanea e intraperitoneal com uma emulsão em agua physiologica de uma cultura em agar de 24 horas, de B. Paratyphico A (1 alça de 0,002 grs. + 2 c. c. de agua physiologica, morta pelo aquecimento durante 1 hora no banho-Maria a 65°).

A contagem dos globulos brancos foi feita no hematimetro com camara de LEVY (American Standard Haemocytometer With LEVY Counting Chamber).

Fizemos habitualmente nesse apparelho, 4 contagens simultaneas dos globulos brancos, occasionalmente 3 ou 2, aproveitando as médias das determinações.

A cifra normal de globulos brancos no coelho é avaliada em 5—14.000 (GRUBER), cerca de 9.000 (HEINEKE), 9—12.000 (PROSCHER), 8—13.000 (TALLQVIST). Recentemente PENTIMALLI, examinando 10 coelhos normaes, verificou variações individuaes do numero de globulos brancos indo de 4.520 a 10.300 por mm.³ razão pela qual acha que deve haver muita prudencia no attribuir uma significação a oscillações leves; o numero 6.876 representa a média das suas determinações.

As nossas pesquisas, que foram controladas pelo exame histologico da medulla ossea, deram o seguinte resultado:

Quadro I

No do animal	Peso	No de gl. brancos por mm ³ .
Coelho 268.....	1.500 grs.....	16.000
376.....	970 grs.....	10.697 (média de 4 dias)
300.....	1.060 grs.....	10.600
269.....	1.500 grs.....	7.400
		11.174 (média).

Quadro II.

Animal	Peso	Numero de globulos brancos em 1 mm ³ de sangue.	Sacrificado a	Observações	Estudo microscopico da medulla ossea.
Coelho 127	—	5.400	Congestão e ligeiro edema do reticulo.
Coelho 128	—	34.400	A medulla ossea apresenta aspecto normal.
Coelho 130	—	12.200	Ligeiro edema do reticulo; diminuição do numero de cellulas do parenchyma.
Coelho 271	800 grs.	(14 hs. 55' de 3/6/920)-16.000	15 hs. 10' de 3/6/920	Morto por anesthesia violenta (chloroformio).	A medulla ossea mostra pronunciado edema do reticulo, atrophia das cellulas gordurosas e focos de multiplicação de myeloblastos.
Coelho 268	1.500 grs.	(14 hs. 45' de 17/7/920)-16.000	15 hs. 30' de 17/7/920	Id. id.	A medulla ossea apresenta aspecto normal.
Coelho 269	1.500 grs.	(15 hs. 20' de 17/7/920)-7.400	15 hs. 35' de 17/7/920	Id. id.	A medulla ossea apresenta aspecto normal.
Coelho 275	—	-----	7/8/920, agonisante.	Id. id. Permaneceu durante alguns dias no laboraforio, tendo emmagrecido rapidamente.	Nota-se pronunciado edema do reticulo, congestão, atrophia das cellulas gordurosas, alterações regressivas das cellulas do parenchyma, abundancia de cellulas pigmentadas (hemossidesina).
Coelho 300	1.060 grs.	(14 hs. de 3/9/920)-10.600	3/9/920	Morto por anesthesia violenta (chloroformio).	A medulla ossea apresenta aspecto normal.

Após algum tempo de trabalho apreciamos devidamente a importancia da recommendação de SELLING, de observar durante o praso de 3 dias consecutivos a cifra de globulos brancos do coelho, só empregando aquelles em que, durante esse tempo, se tenha observado uma cifra normal, e despresando os que

apresentarem variações diarias (1) consideraveis ou uma cifra anormal.

(1) Essas variações excedem raramente um limite de 3—4000 globulos brancos em 1 mm³ de sangue. O seguinte animal pôde sêr considerado como exemplificando bem as variações diarias em um coelho normal:

Coelho 376.

Dia 16/2/921—gl. brancos=9.733 por mm.³ (média de 3 contagens).

Dia 17/2,921—gl brancos=11.533 (média) Dia 18/2^o 921—12.266 (média) Dia 19/2/921 9.256 (média).

Quadro III.

Animal	Peso	Data	Hora	Numero de gl. em 1 mm ³ de sangue.	Morte	Estudo microscopico da medulla ossea.
Coelho 375	1.180 gs.	16.2.921	13 hs.	16.400 (média de 2 contagens)	Anesthesia violenta pelo chloroformio. ás 13 hs. 15' de 19.2.921.	Discreto edema do reticulo e leve congestão. Afóra a isso, o aspecto da medulla ossea é normal.
		17.2.921	16 hs. 10'	14.933 (« « 3 «)		
		18.2.921	16 hs. 15'	7.133 (« « « «)		
		19.2.921	11 hs. 30'	20.600 (« « 2 «)		
Coelho 376	970 gs.	16.2.921	13 hs. 15'	9.733 (média de 3 contagens)	Anesthesia violenta pelo chloroformio, ás 13 hs. 55' de 19.2.921	A medulla ossea apresenta estrutura perfeitamente normal.
		17.2.921	15 hs. 35'	11.533 (« « « «)		
		18.2.921	16 hs.	12.266 (« « « «)		
		19.2.921	11 hs. 25'	9.256 (« « 4 «)		
Coelho 377	950 gs.	16.2.921	13 hs. 25'	21.700 (média de 2 contagens)	Anesthesia violenta pelo chloroformio, (morte em 2') ás 14 hs. 10' de 19.2.9.1.	Pronunciado edema do reticulo, atrophia das cellulas gordurosas, empodrecimento de cellulas do parenchyma (aplasia), congestão discreta.
		17.2.921	16 hs.	17.250 (« « 4 «)		
		18.2.921	15 hs. 55'	11.750 (« « « «)		
		19.2.921	11 hs. 10'	20.666 (« « « «)		
Coelho 381	1.260 gs.	8.3.921	13 hs. 10'	10.150 (média de 4 contagens)	Anesthesia violenta pelo chloroformio, (morte em 1'45'') ás 16 hs. 10' de 16.2.921.	Hyperplasia das cellulas do parenchyma (myelocytos amphophilos e eosinophilos com figuras de karyocinese, e leucocytos polymorphonucleares).
		9.3.921	12 hs. 50'	9.800 (« « « «)		
		14.3.921	15 hs. 10'	14.500 (« « « «)		
		15.3.921	13 hs. 55'	13.000 (« « « «)		
		16.3.921	13 hs. 55'	17.800 (« « « «)		
Coelho 382	1.110 gs.	8.3.921	13 hs. 20'	10.900 (média de 4 contagens)	Anesthesia violenta pelo chloroformio, (morte em 1'30'') ás 16 hs. 25' de 16.3.921.	Hyperplasia das cellulas do parenchyma (myelocytos amphophilos e eosinophilos e leucocytos polymorphonucleares amphophilos e eosinophilos).
		9.3.921	13 hs.	26.100 (« « « «)		
		14.3.921	15 hs, 25'	13.600 (« « « «)		
		15.3.921	14 hs. 5'	19.050 (« « « «)		
		16.3.921	14 hs. 5'	15.700 (« « « «)		
Coelho 383	1.200 gs.	8.3.921	13 hs. 30'	13.200 (média de 4 contagens)	Anesthesia violenta pelo chloroformio, (morte em 1'32'') ás 16 hs. 33' de 16.3.921	A medulla ossea apresenta aspecto normal.
		9.3.921	13 hs. 10'	8.800 (« « « «)		
		14.3.921	15 hs. 40'	10.500 (« « « «)		
		15.3.951	14 hs. 20'	12.350 (« « « «)		
		16.3.921	14 hs. 25'	12.900 (« « « «)		

Com effeito, as seguintes observações, que fizemos, nos mostraram quão sensível é a medulla ossea a condições pathologicas, apresentando então alterações morphologicas notaveis que viriam falsear totalmente a interpretação das experiencias tentadas naquellas condições.

Procedemos do seguinte modo.

De um lado estudamos a morphologia da medulla ossea em coelhos vindos directamente do bioterio do Instituto para o nosso laboratorio e sacrificados in-continente, sendo apenas annotado o numero de globulos brancos momentos antes de sacrificar-o.

No quadro II acha-se consignado o resultado a que chegamos.

Vê-se pelo quadro junto que, 50 % dos coelhos examinados nas condições referidas apresentam alterações morphologicas ás vezes importantes da medulla ossea, sendo absolutamente improprios para uma experiencia criteriosa.

De outro lado estudamos a morphologia da medulla ossea em coelhos que foram mantidos em observação no nosso laboratorio durante 3 dias consecutivos; examinando o Quadro III verifica-se que os animaes que apresentaram alterações da medulla ossea são justamente os que, no periodo de observação, mostraram uma cifra anormal de leucocytos.

Como sómente após algum tempo de trabalho começamos a submeter rigorosamente os animaes á observação du-

rante o praso referido, tivemos de separar o nosso material em grupos diversos de valor demonstrativo desigual.

Temos assim um grupo *I* de animaes com numero de globulos brancos normal durante o tempo de observação e que foram sacrificados sem soffrem inoculação; um grupo *II*, o mais importante, que comprehende animaes nas condições do grupo *I* e sacrificados ou mortos em diversos periodos de immunição.

Um grupo *III* é constituido por animaes que apresentaram numero anormal de globulos brancos durante o periodo de observação.

Em um grupo *IV* incluimos, finalmente, todos os animaes que não foram submettidos á observação durante 3 dias antes de usados em experiencias.

Desse modo cada grupo serve de testemunha de outros, constituindo precioso material de comparação.

Este ponto tem muita importancia tratando-se de animaes muito sensiveis a más condições de alojamento e alimentação e sujeitos a varias doenças, e, ainda mais, quando se tem por objectivo observar a morphologia de um tecido como a medulla ossea, que verificamos apresentar alterações importantes em animaes considerados normaes a um exame superficial.

Animas immunisados contra o *B. paratyphico* A.

Coelho	N. do animal	Via de inoculação	Morte	Periodo de immunisação	Observações
1	131 A	intracardiaca	Sacrificado (anesthesia brusca pelo chloroformio).	1 hora	Abandonado; cifra anormal de leucocytos nos dias que precederam a inoculação.
2	364	endovenosa	« « «	1 hora	Na medulla ossea, o phenomeno mais evidente é o edema do reticulo e atrophia das cellulas gordurosas, havendo ligeira diminuição do numero de cellulas. Congestão pouco intensa; existem leucocytos polymorphonucleares e megakaryocytos bem conservados. Acreditamos que se trate de um animal anormal; a unica numeração de globulos brancos foi feita minutos antes da inoculação.
3	365	«	« « «	1 hora	A medulla ossea mostra, de modo geral, o mesmo aspecto da do 364 O que sabemos dos antecedentes deste coelho (gl. brancos=64.600) antes da inoculação, nos autoriza a pensar que se trate de um animal anormal. A aplasia é mais accentuada que no 364.
4	223	«	« « «	2 hs. 20'	Cifra anormal de leucocytos.
5	391	«	« « «	2 hs. 38'	Cifra anormal de leucocytos nos dias que precederam á inoculação; o estudo histologico da medulla ossea confirma que não se trata de 1 animal anormal.
6	392	«	« « «	2 hs. 59'	Cifra anormal de leucocytos nos dias que precederam á inoculação; o estudo histologico de medulla ossea confirma que não se trate de 1 animal normal.
7	368	«	« « «	3 hs. 34'	Aproveitado nas descrições histologicas.
8	369	«	« « «	3 hs. 57'	« « « «
9	393	«	Morto	15* hs.	O baço mostra intensa splenite aguda. Abandonado por não ter sido autopsiado recentemente e apresentar alterações cadavericas.
10	397	«	«	15 hs.	Abandonado; alterações cadavericas presentes.
11	394	«	«	17 hs.	
12	210	«	«	17 hs.	Aproveitado nas descrições histologicas.
13	211	«	«	17 hs.	
14	372	«	«	19 hs.	O estudo histologico da medulla ossea confirma os antecedentes (numeração de globulos brancos) que indicavam 1 coelho anormal.
15	398	«	«	23 hs. 30'	Abandonado; a autopsia foi feita horas após a morte.
16	151	«	«	24 hs.	
17	152	«	«	24 hs.	
18	212	«	«	24 hs.	Aproveitado nas descrições histologicas.

Animas immunisados contra o B. paratyphico A.

Coelho	N. do animal	Via de inoculação	Morte	Periodo de immunisação	Observações
19	118 C	endovenosa	Morto	24 hs.	
20	131 B	«	«	24 hs.	Cifra anormal de leucocytes nos dias que precederam a inoculação; 24 hs. após a inoculação, mostrou notavel leucocytose (gl. brancos=231.200 por mm ³).
21	410	subcutanea	«	24 hs.	
22	213	endovenosa	«	36 hs.	Aproveitado nas descripções histologicas.
23	153	intraperitoneal	Sacrificado (anesthesia brusca pelo chloroformio).	2º dia	Notavel leucocytose (gl. brancos=96.000 por mm ³ .) 24 hs. após a inoculação.
24	214	endovenosa	« « «	2º dia	Aproveitado nas descripções histologicas.
25	403	intraperitoneal	Morto	2º dia	
26	150	endovenosa	«	3º dia	
27	215	«	«	3º dia	
28	216	«	Sacrificado (anesthesia violenta pelo chloroformio).	3º dia	Aproveitado nas descripções histologicas.
29	217	«	Morto	5º dia	Pronunciadas alterações cadavericas das cellulas do parenchyma.
30	367	intraperitoneal	Sacrificado (anesthesia violenta pelo chloroformio),	5º dia	Abandonado: cifra anormal de leucocytes.
31	407	subcutanea	« « «	6º dia	Aproveitado nas descripções histologicas.
32	218	endovenosa	Morto	7º dia	« « « «
33	373	«	«	7º dia	
34	221	«	«	8º dia	Aproveitado nas descripções histologicas.
35	222	«	«	8º dia	« « « «
36	154	«	Sacrificado (anesthesia violenta pelo chloroformio).	9º dia	
37	405	intraperitoneal	« « «	10º dia	Cifra anormal de leucocytes; as lesões, contudo, concordam com as de coelhos normaes no mesmo periodo de immunisação.
38	408	subcutanea	« « «	10º dia	Aproveitado nas descripções histologicas.
39	409	«	« « «	10º dia	« « « «
40	133 A	intraperitoneal	« « «	14º dia	« « « «

III—Estudo histopathologico.

4 horas de immunisação.

Coelho 368—Peso 1.050 grs.

Inoculado a 28-1-921 ás 12 hs. 55' na veia marginal da orelha com 1 c. c. de agua physiologica tendo em suspensão uma alça calibrada (2 milligrs.) de uma cultura em agar de 24 hs. de *B. Paratyphico A* morta pelo aquecimento durante uma hora no banho-maria a 65°.

Globulos brancos (sangue retirado ás 13 hs. 5'—8.800 (média) por mm³

Globulos brancos (sangue retirado ás 13 hs. 42')—15.800 (média) por mm³.

Foi sacrificado (anesthesia brusca pelo chloroformio) ás 16 hs. e 44'.

Autopsia—Medulla ossea de côr vermelha, com areas mais esbranquiçadas; aspecto brilhante. Consistencia firme, um pouco diminuida. Veia central moderadamente turgida.

Estudo histologico—A disposição das cellulas do parenchyma em grupos que occupam os intersticios das cellulas gordurosas é modificada; as cellulas são desordenadas e menos numerosas que no estado normal. As cellulas mais numerosas são os leucocytos polymorphonucleares; estes, ás vezes, dispõe-se em torno de uma cellula gordurosa á maneira de uma coroa (Fig. 1, Est. 17). Vê-se ainda grupos de leucocytos polymorphonucleares occupando a area de uma cellula gordurosa (Fig. 2, Est. 17), figuras que fazem suppor um chimiotactismo pronunciado da cellula gordurosa para os leucocytos polymorphonucleares.

Os espaços sanguineos são um pouco dilatados, existindo tambem discreto edema do reticulo.

As cellulas gordurosas conservam o seu volume normal.

Coelho 369—Peso 1.200 grs.

Inoculado ás 13 hs. de 28/1/921 na veia marginal da orelha com 1 c. c. de agua physiologica tendo em suspensão uma alça calibrada (2 milligrs.) de uma cultura em agar inclinado, de 24 hs., de *B. Paratyphico A* morta pelo aquecimento durante uma hora no banho-maria regulado a 65°.

Numero de globulos brancos (exame feito ás 13 hs. 13')—5.000 (média) por mm³.

Morto pela anesthesia brusca (chloroformio) ás 16 hs. 57' (3 hs. 57' após o inicio da immunisação).

Autopsia—A medulla ossea apresenta aproximadamente o mesmo aspecto assignalado para o coelho 368: talvez a sua consistencia seja um pouco mais firme.

Exame microscopico—O aspecto é sensivelmente o mesmo que foi descrito para o coelho 368: leve congestão, discreto edema de reticulo, cellulas gordurosas de volume normal, desarranjo dos elementos do parenchyma e abundancia de leucocytos polymorphonucleares, disposição em coroa desses elementos em torno das cellulas gordurosas; estas apresentam o nucleo bem conservado e algumas são inteiramente recobertas por leucocytos polymorphonucleares os quaes parecem adherentes á sua superficie (chimiotactismo) (Fig. 2, Est. 17).

Os elementos da serie que encerra hemoglobina são mais abundantes aqui que no coelho 368.

Ao cabo das quatro primeiras horas de immunisação, observa-se na medulla ossea dos Coelhos 368 e 369 congestão pouco intensa, edema discreto do reticulo e uma alteração (desordem) do arranjo normal das cellulas do parenchyma as quaes são menos numerosas que no estado normal, e sobretudo uma transformação intensa dos myelocytos em leucocytos polymorphonucleares. Estas ultimas cellulas dispõe-se á maneira de uma coroa em torno de algumas cellulas gordurosas: outras vezes, mais numerosas, constituem um pequeno foco ao nivel da cellula gordurosa. Os aspectos observados suggerem um chimiotactismo pronunciado das cellulas gordurosas para os leucocytos polymorphonucleares nesta phase inicial.

17 horas de immunisação.

Coelho 210—Peso 1.300 grs.

Inoculado ás 13 hs. 30' de 7/4/920 na veia marginal da orelha com 1 c. c. de uma emulsão de *B Paratyphico A* morta (Emulsão A).

Morreu durante a noite, antes de 9 hs. de 8/4/920.

Autopsia—A medulla ossea (femur) tem coloração geral vermelha-clara, aspecto brilhante e consistencia normal.

Estudo histologico.

Com fraco augmento o córte mostra um fundo corado de modo mais ou menos uniforme. em roseo pela eosina (edema do reticulo) no qual apparecem pequenas areas circulares claras, que correspondem ás cellulas gordurosas; as cellulas do parenchyma são consideravelmente diminuidas de numero (aplasia). Os capillares são enormemente dilatados e cheios de hematias, mas de modo discontinuo.

Com forte augmento torna-se logo apparente a raridade, quasi desaparecimento completo dos leucocytos polymorphonucleares.

Os myelocytos, que são notavelmente menos numerosos que na medulla ossea normal, apresentam alterações regressivas pronunciadas; o nucleo de muitos acha-se em pycnose.

Alguns myelocytos formam grupos isolados, constituídos por 3—4 myelocytos amphophilos; são pequenos focos de multiplicação desses elementos. Estes grupos são vistos raramente. As alterações regressivas dos myelocytos são as predominantes.

E' notada abundancia relativa de elementos cellulares pequenos com a morphologia de lymphocytos.

Algumas cellulas gordurosas tem dimensões normaes; quasi todas, porém, são diminuidas de volume; o nucleo é tumefacto e sua fina estrutura mais apparente que de ordinario, corando-se bem pela hematoxilina. No protoplasma é notado o apparecimento de uma zona onde a estrutura é nitidamente reti-

culada. Esta zona acha-se situada immediatamente em torno do nucleo, o qual occupa nestas cellulas uma posição muito mais central que nas cellulas gordurosas da medulla ossea normal.

Os megakaryocytos encontrados são séde de pronunciadas alterações regressivas (plasma corado em roseo mais ou menos intenso pela eosina, nucleo em karyolyse).

Em torno dos megakaryocytos alterados são vistas, ás vezes, cellulas com a morphologia dos lymphocytos, não abundantes; no plasma dos megakaryocytos, restos de cellulas phagocytadas.

Na medulla ossea do coelho 210, que morreu 17 horas incompletas após o começo da immunisação, as alterações encontradas são, em resumo:

Alterações dos vasos: *congestão pronunciada dos espaços sanguineos.*

Alterações do reticulo: *edema accentuado.*

Alterações das cellulas do parenchyma:

1) *diminuição notavel do numero de cellulas da medulla ossea (aplasia).*

2) *desapparecimento, quasi completo, de leucocytos polymorphonucleares.*

3) *alterações regressivas pronunciadas dos myelocytos e megakaryocytos.*

4) *multiplicação de myelocytos amphophilos que constituem pequenos focos de 3—4 elementos; os focos são esparsos e vistos com relativa raridade.*

5) *diminuição de volume das cellulas gordurosas, as quaes mostram um nucleo com os finos detalhes de estrutura mais apparentes que em condições normaes. Este nucleo é deslocado para o centro da cellula e o protoplasma, em torno, tem uma estrutura reticular muito apparente.*

6) *abundancia relativa de cellulas morphologicamente identicas aos lymphocytos do sangue circulante (infiltração lymphocytaria diffusa.)*

24 horas de immunisação.

Coelho 212—Peso 1.300 grs.

Inoculado às 15 hs 30' de 7/4/920 na veia marginal da orelha com 1 c. c. de uma emulsão de *B. Paratyphico A* morta (Emulsão A). Morreu depois das 9 horas de 8/4/920. Autopsiado às 13 hs. desse mesmo dia.

Autopsia—A medulla ossea tem côr vermelha escura, sendo vistos em sua espessura, pequenos pontos de côr vermelha mais escura.

A consistencia acha-se um pouco diminuida. O aspecto é brilhante.

A veia central é volumosa, turgida, apparecendo como um cordão de côr vermelha, separavel facilmente do parenchyma medullar.

Estudo histologico.

Os córtes da medulla ossea examinados com fraco augmento, mostram desde logo, uma redução evidente do numero de cellulas do parenchyma (Fig. 3, Est. 19).

O reticulo é sede de um edema accentuado, generalizado (Fig. 4, Est. 19).

Os vasos capillares acham-se dilatados e cheios de hematias (Fig. 3, Est. 19) entre as quaes são ainda visto normoblastos e raros myelocytos e leucocytos.

O estudo das cellulas do parenchyma feito com forte augmento, revelou as alterações seguintes:

E' notada grande escassez, quasi de sapparecimento completo dos leucocytos polymorphonucleares.

Cellulas com a morphologia typica de lymphocytos são particularmente abundantes (Fig. 4, Est. 19); estes elementos apparecem isolados, nunca formando aglomerados de mais de 2—3 cellulas.

Além dos lymphocytos que, em certos campos, são o elemento celular predominante, são vistos myelocytos.

Uns myelocytos mostram um nucleo bem corado pela hematoxilina, o qual muitas vezes tem a forma bilobada.

Alguns myelocytos possuem 2 nucleos

esphericos de tamanho desigual; não são raros agglomerados de 4 e mais elementos; cada elemento mostra, então, um nucleo bilobado, ou possui 2 nucleos esphericos, quasi sempre de tamanho desigual (formas de divisão dos myelocytos).

Ao lado dos myelocytos acima descritos são vistos outros, não raros, que mostram alterações diversas. Em alguns, o nucleo apparece fracamente corado, de modo diffuso (como um sombreado do nucleo normal, karyolyse); noutros o nucleo acha-se reduzido a uma massa condensada corada em negro, ou a pequenas massas esphericas (3 a 5) de tamanhos desiguaes, fortemente coradas (*karyorrhexis* e *pynose*).

O volume de quasi todas as cellulas gordurosas é menor que o de um elemento da medulla ossea normal (Fig. 3, Est. 19).

O nucleo occupa uma posição muito mais visinha do centro da cellula que o de uma cellula gordurosa normal (Fig. 4, Est. 68); nunca é perfectamente central sendo sempre levemente excentrico; é mais volumoso que o de uma cellula gordurosa normal, tem forma ovoide, é pobre de chromatina. Occupa uma zona de plasma, a qual tem estrutura nitidamente reticulada. Nas malhas do reticulo, em torno do nucleo, são vistos pequenos vacuolos. Na porção peripherica do plasma os vacuolos são maiores, separados por finos septos do reticulo.

Na circumvisinhança immediata da cellula gordurosa, é vista uma substancia uniformemente corada em roseo nos preparados pe'a hemato i ina-eosina (transudacto-liquido do lema).

Não é possivel encontrar um megakaryocyto com aspecto normal; e sas cellulas são diminuidas de numero e offerecem diversos aspectos.

Em um delles, o volume é mais ou menos o de um megakaryocyto normal. O nucleo mostra a configuração característica. Córa-se porem, muito mal pela

hematoxilina, apparecendo como um sombreado de côr azul-escuro, mais volumoso que o nucleo normal e nelle não são vistos detalhes finos de estrutura; a massa tem, ao contrario, um aspecto homogeneo e uniforme.

O plasma é constituido por granações muito pequenas, densamente agrupadas, de tamanho uniforme, fracamente coradas em roseo nos preparados pela hematoxilina-eosina e em azul claro nos preparados pelo GIEMSA a humido.

Em outro aspecto, o volume da cellula é enormemente reduzido, ás vezes a mais de metade do volume normal. O megakaryocyto tem então, as dimensões de um myelocyto (Fig. 5, Est. 19).

O nucleo apresenta-se como uma massa condensada, fortemente corada em azul muito escuro; não mostra detalhes finos de estrutura.

O plasma granuloso forma em torno do nucleo assim condensado uma orla mais ou menos estreita; mostra o mesmo aspecto granuloso atraz assignalado.

As alterações da medulla ossea 24 horas após o inicio da immunisação são portanto:

Alterações vasculares: *congestão pronunciada dos espaços sanguineos.*

Alterações do reticulo: *edema pronunciado.*

Alterações das cellulas do parenchyma:

1) *aplasia (diminuição do numero de cellulas).*

2) *abundancia relativa de cellulas com a morphologia de lymphocytos as quaes se acham ora accumuladas no interior dos espaços sanguineos, ora no reticulo onde apparecem como elementos isolados.*

3) *diminuição, quasi auzencia de leucocytos polymorphonucleares.*

4) *alterações regressivas nos myelocytos, megakaryocytos e cellulas gordurosas.*

5) *proliferação dos myelocytos não*

sendo raros focos esparsos, constituidos por 4 ou mais desses elementos.

Interpretações provaveis.

As alterações vistas na medulla ossea dos coelhos 210 e 212, mortos no fim de 17 e 24 horas de immunisação, são da mesma natureza.

Notamos apenas, pequenas variações na intensidade das lesões.

Assim, no coelho 210, o edema do reticulo é mais accentuado que em 212. No coelho 212 as cellulas com a morphologia de lymphocytos são ainda mais numerosas e diffusamente distribuidas que no coelho 210.

As lesões reconhecem, provavelmente, a seguinte pathogenia.

O notavel empobrecimento em leucocytos é explicavel, naturalmente, pela leucocytose observada nesta phase da immunisação.

Dessa mesma leucocytose depende a multiplicação ou regeneração dos myelocytos.

A congestão dos capillares e edema do reticulo dependem directamente da introdução na circulação do antigeno (bacterias mortas, seguramente acarretando toxinas (endotoxinas). A congestão deve preceder o edema, o qual é apenas a consequencia de uma congestão intensa e duradoura. Tivemos, aliás, occasião de observar a facilidade com que se produz o edema do reticulo da medulla ossea em varias condições pathologicas, o que é explicado pela estrutura especial dos capillares da medulla ossea.

Quanto ás alterações regressivas vistas nos myelocytos, megakaryocytos e cellulas gordurosas, achamos que as lesões vasculares (edema e congestão), acarretando alterações do metabolismo cellular, são sufficientes para as explicar; não é possivel, porém, excluir tambem, aqui, uma acção do antigeno.

Offerece difficuldade a explicação da

abundancia de cellulas com a morphologia de lymphocytos; já o mesmo phenomeno foi observado por SELLING na phase de regeneração da medulla ossea em coelhos intoxicados pelo benzol; o mais provavel é que se trate de uma immigração dessas cellulas dos capillares da medulla ossea, em cujo interior podem ser vistos tambem nos córtes (Fig. 4, Est. 19).

36 horas de immunisação.

Coelho 213—Peso 1.300 grs.

Inoculado na veia marginal da orelha com 1 c. c. de uma emulsão de *B. Paratyphico A* morta (Emulsão A), ás 15 hs. 30' de 7/4/920.

Morreu depois das 9 horas de 8/4/920. Autopsiado ás 13 horas desse mesmo dia.

Autopsia—A medulla ossea tem côr vermelha clara. A consistencia é diminuída, o órgão facilmente dilaceravel deixando fragmentos adherentes ao osso na occasião de ser retirado. Os vasos centraes não são muito apparentes.

Estudo histologico—As lesões da medulla ossea no coelho 213, morto na 36ª hora de immunisação, são da mesma natureza das vistas no coelho 212.

As differenças são:

- 1º) A congestão é menos accentuada.
- 2º) A proliferação de myelocytos é mais pronunciada, sendo frequentes figuras de divisão indirecta.
- 3º) Cellulas com pigmento são encontradas em maior numero.

2º dia de immunisação.

Coelho 214—Peso 1.300 grs.

Inoculado na veia marginal da orelha com 1 c. c. de uma emulsão de *B. Paratyphico A* morta (Emulsão A), ás 15 hs. 30' de 7/4/920.

Foi sacrificado ás 12 hs. de 9/4/920 (46 horas e 30' após a inoculação).

A autopsia foi feita immediatamente.

Autopsia.—A medulla ossea (femur) tem coloração geral vermelha. O aspecto é brilhante. A consistencia é normal.

Estudo microscopico—Córtes de ma-

terial fixado em Z. F., corados pela H. E. e GIEMSA a humido.

Com fraco augmento nota-se pronunciada congestão dos pequenos vasos (capillares), edema do reticulo e diminuição do volume e numero das cellulas gordurosas.

O parenchyma medullar parece mais pobre de cellulas que o normal; este empobrecimento, contudo, não é accentuado.

Não são vistas areas de necrose.

Com forte augmento nota-se que as cellulas mais abundantes são myelocytos amphophilos e leucocytos polymorpho-nucleares, existindo ainda entre ellas, á maneira de uma infiltração diffusa, cellulas pequenas, de nucleo muito rico de chromatina, com a morphologia semelhante á dos lymphocytos do sangue.

Os megakaryocytos não são diminuidos de numero, o seu nucleo mostra-se bem corado e com estrutura normal.

Muitos dos megakaryocytos encontrados encerram em seu plasma, um ou mais leucocytos.

As cellulas gordurosas acham-se reduzidas de volume; o vacuolo que corresponde ao material gorduroso armazenado no protoplasma da cellula é, em todas as cellulas, sempre menor que o de um elemento da medulla ossea normal; essa diminuição corresponde, em muitas cellulas, á metade ou a um terço do volume normal, e, em outras, não raras, a um decimo do volume normal.

Nas cellulas cujo vacuolo é reduzido á metade ou a um terço, o nucleo se conserva á peripheria da cellula, tendo o aspecto que normalmente apresenta. Nas cellulas reduzidas a um decimo do seu volume, o nucleo é mais apparente, tornando-se tumido e vesiculoso; não se vê pycnose ou outro aspecto que indique um processo regressivo nesta especie celular.

Só raramente, na medulla ossea d'este coelho, verificamos o aspecto da cellula gordurosa descripto para os coelhos 212 e 210 (nucleo volumoso, com ten-

dencia a deixar a sua posição excentrica, cercado de uma zona de protoplasma de estrutura nitidamente reticulada).

As alterações encontradas na medulla ossea do coelho 214, sacrificado 46 hs. 30' após o inicio da immunisação, são, em resumo, ás seguintes:

1º) *congestão e edema do reticulo.*

2º) *diminuição ligeira do numero de cellulas do parenchyma medullar, havendo predominancia de myelocytos amphophilos e leucocytos polymorphonucleares; o numero destes ultimos é sensivelmente o mesmo que no parenchyma medullar normal. dando, comtudo, aqui, em virtude do empobrecimento celular, a impressão de um accrésimo.*

3º) *infiltração difusa do parenchyma por cellulas com morphologia de lymphocytos do sangue.*

4º) *megakaryocytos com aspecto normal, não diminuidos de numero, muitos com um ou mais leucocytos polymorphonucleares em seu plasma.*

5º) *cellulas gordurosas menos numerosas e menores que as da medulla ossea normal. o seu nucleo tendo porém, aspecto identico; outras muito menores (um decimo e menos do volume primitivo).*

O aspecto das cellulas gordurosas interpretamos como phase de recomposição ou reconstituição da cellula gordurosa. Após a perda do conteúdo de gordura visto nas primeiras 24 horas de immunisação, a qual se traduz morphologicamente por um aspecto especial da cellula (v. descripção coelho 212), este elemento vae recuperando aos poucos o conteúdo gorduroso.

3º dia de immunisação.

Coelho 150—Peso 1.150 grs.

Morto com 60 horas de inoculação.

Dia 25/2/920—Globulos brancos (12 hs. 15') =8.000 por mm³.

Foi inoculado ás 16 hs. na veia marginal da orelha com 1 c. c. de agua physiologica tendo em suspensão uma alça (2 milligrs.) de 1 cultura em agar de 24 horas de *Bacillo Paratyphico A.* A suspensão foi morta pelo aquecimento no banho-maria a 60º durante 1 h. e 30'.

Dia 26/2/920—Globulos brancos (11 hs.)=33 400 por mm.³.

Dia 27/2/920—Globulos brancos (15 hs. 30')=34.800 por mm³.

Dia 28/2/920.

Amanheceu morto.

Autopsiado em boas condições de conservação.

Autopsia—Medulla ossea de consistencia molle, diffluente, de côr vermelha escura; em sua parte central, correspondendo ao seu maior diametro longitudinal, é distinguido um cordão, de côr vermelha-negra, resistente, que se dissocia do parenchyma da medulla. (vasos centraes da medulla).

Estudo microscopico.—Córtes do material fixado em Z. F. corados pela H. E. e GLEMSA a humido.

A medulla ossea mos'tra um conteúdo celular visinho do normal.

Persiste a congestão capillar, que é muito accentuada (Fig. 9, Est. 21).

Ha resorpção do edema, o qual é visto apenas aqui e alli, de modo discreto.

As cellulas mais abundantes são myelocytos amphophilos e leucocytos polymorphonucleares (Fig. 11, Est. 21); alguns myelocytos mostram figuras de mitose e affectam a disposição ou agrupamento em focos.

Tornam-se conspicuos focos de multiplicação de erythroblastos (normoblastos); uns focos são vistos não só em pleno parenchyma, mas sobretudo em torno dos vasos de médio calibre e precapillares (Fig. 10, Est. 21).

A infiltração difusa do parenchyma por cellulas com a morphologia de lymphocytos é apparente (Fig 9, Est. 21).

As cellulas gordurosas apresentam o mesmo aspecto descripto para o coelho 214.

Quasi todos os megakaryocytos encerram em seu plasma alguns leucocytos polymorphonucleares; alguns megakaryocytos apresentam alterações regressiva.

As diferenças e relações entre as alterações vistas aqui (3º dia de immuni-

sação) e as precedentemente assignaladas, são as seguintes.

Inicia-se a resorção do edema do reticulo.

Persiste a congestão capillar.

A medulla ossea é quasi tão rica de cellulas quanto no estado normal; essas cellulas são sobretudo, myelocytos e leucocytos polymorphonucleares.

Começam a apparecer focos de regeneração dos elementos encerrando hemoglobina (focos perivasculares de erythroblastos (normoblastos).

Prosegue a reconstituição ou regeneração do conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas.

Os lymphocytos tornam-se mais raros, desaparecendo o caracter de infiltração diffusa que apresentavam.

Os megakaryocytos apresentam pronunciada actividade phagocytaria e sofrem phenomenos de desintegração.

3º dia de immunisação.

Coelho 216.

Peso 1.300 grs.

Inoculado na veia marginal da orelha com 1 c. c. de uma emulsão de *B. Paratyphus A* morta (Emulsão A) ás 15 hs. 30' de 7/4/920.

Foi sacrificado ás 12 hs. 50' de 10/4/920 (72 horas e vinte minutos após a inoculação).

A autopsia foi feita immediatamente.

Autopsia.—A medulla ossea (femur) tem consistencia molle e côr vermelha intensa. São vistas, esparsos, pontos de coloração esbranquiçada.

Estudo microscopico.—Córtes de material fixado em Z. F. corados pela H. E. e GIEMSA a humido.

Com fraco augmento nota-se congestão dos capillares, edema do reticulo, empobrecimento do parenchyma em cellulas, focos cellulares esparsos, desaparecimento das cellulas gordurosas e augmento do numero de cellulas fixas do tecido conjunctivo (Fig. 10, Est. 20), esta ultima alteração sendo discreta.

Com forte augmento, nota-se que as cellulas dominantes são myelocytos e leu-

cocytos, havendo ainda uma infiltração diffusa, mas pouco intensa, por cellulas com a morphologia de lymphocytos.

Os myelocytos apresentam-se frequentemente sob a forma de pequenos agglomerados de 2, 3, 4 ou 6 elementos sendo raros os de maior numero; os grupos de 4 são os mais frequentes (Fig. 8, Est. 20).

A medulla mostra um conteúdo celular visivelmente abaixo do normal.

As cellulas existentes procuram a vizinhança immediata dos capillares.

Essa *distribuição perivascular* das cellulas medullares (aqui leucocytos polymorphonucleares e myelocytos) é bem exemplificada neste coelho.

As cellulas gordurosas são pouco apparentes; em seu plasma, nenhum vácuolo correspondente a um conteúdo gorduroso, é visivel; os limites do protoplasma são indistinctos e confundem-se com o liquido do edema do reticulo. Estas cellulas só podem sêr identificadas pela estrutura de seu nucleo e por comparação com o aspecto visto em outros coelhos, onde fórmãs de transição eram presentes entre este aspecto e cellulas gordurosas typicas. Devemos assignalar a semelhança do nucleo da cellula gordurosa assim atrophiada e do de uma cellula fixa do tecido conjunctivo.

O nucleo da cellula gordurosa conserva uma estrutura typica apesar das mais notaveis modificações de aspecto de seu protoplasma: assim, após a perda total do conteúdo gorduroso do plasma, o nucleo é apenas um pouco mais tumido e arredondado e deixando a sua posição peripherica, vêm occupar o centro da cellula. O arranjo e disposição da chromalina nuclear é muito semelhante ao da cellula gordurosa na medulla ossea normal. Dir-se-hia que as modificações importantes do conteúdo gorduroso são alterações physiologicas e não pathologicas.

Na medulla ossea deste coelho é ob-

servado o augmento do numero de cellulas fixas do tecido conjunctivo; em certos pontos (Fig. 10, Est. 20) o parenchyma medullar é constituído por 10—15 cellulas collocadas lado a lado e em seguimento umas ás outras. A estrutura do nucleo destas cellulas é a do fibroblasto; as fibrillas conjunctivas podem sêr distinguidas claramente.

Estes pontos, porém, onde muitos fibroblastos se collocam lado a lado, não são abundantes; quasi sempre os fibroblastos, com as suas características morphologicas bem accentuadas, são vistas de mistura com outros elementos cellulares da medulla. Aos que tiveram occasião de estudar a medulla ossea, não precisamos assignalar aqui a difficuldade que offerece, em condições normaes, o reconhecimento das cellulas fixas do tecido conjunctivo.

Alem dos pequenos focos cellulares que são focos de multiplicação dos myelocytos e dos elementos encerrando hemoglobina (megaloblastos e normoblastos), esta medulla nos mostra outros focos mais extensos e que são constituídos por elementos numerosos e densamente agrupados e fazem um contraste notavel com o parenchyma medullar circunvisinho (Fig. 9, Est. 20).

Com forte augmento vê-se que as cellulas que constituem o agrupamento denso são numerosos leucocytos polymorphonucleares; muitos destes em um mesmo ponto, sobrepostos uns aos outros, mostram um nucleo pycnotico e outros acham-se em completa desintegração. Este ponto dá a impressão de um pequeno infarcto (Fig. 9, Est. 20).

Entre as cellulas densamente agrupadas que acima assignalamos, podem sêr reconhecidos os elementos proprios do parenchyma medullar.

Resumindo, a medulla ossea deste animal, sacrificado 72 horas e 20 minutos após o inicio da immunisação, offerece os seguintes pontos interessantes:

1º) *A regeneração de polymorfo-*

nucleares (multiplicação intensa de myelocytos) constitue o phenomeno dominante.

2º)—*E' observado desaparecimento completo do conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas.*

3º)—*A infiltração lymphocytaria, tão notavel nos coelhos 212 e 214 offerece aqui pequena intensidade.*

4º)—*E' notada, pela primeira vez em nossa serie, a hyperplasia das cellulas fixas do tecido conjunctivo.*

5º)—*São vistos focos cellulares diferentes dos focos de regeneração dos elementos encerrando hemoglobina (focos perivasculares de megaloblastos e normoblastos).*

6º)—*O processo acha-se em evidente atrazo se o compararmos com o visto no coelho 150, morto 60 horas após o inicio da immunisação.*

6º dia de immunisação.

Coelho 407—Peso 1030 grammas.

Dia 28/4/921—13 hs. 35'—globulos brancos=16.750 (média.)

Dia 29/4/921—13 hs. 30'—globulos brancos=10.250 por mm³. (média) de 4 contagens.

Dia 4/5/921—14 hs.—globulos brancos=15.800 por mm³ (média de 4 contagens).

Dia 5/5/921—13 hs. 40'—globulos brancos=14.250 por mm³. (média de 4 contagens).

Dia 6/5/921—12 hs. 55'—globulos brancos=14.350 por mm³ (média de 4 contagens).

A 6/5/921 recebeu por via subcutanea (13 hs. 45') 1 alça calibrada de 2 milligrammas de uma cultura em agar (24 hs.) de *B. Paratyphico A* em suspensão em agua physiologica, morta no banho-maria a 65º durante 1 hora.

Dia 12/5/921—O coelho foi sacrificado ás 14 hs. 20' pela anesthesia brusca pelo chloroformio (a morte occorreu em 1'20").

Estudo histologico—Com fraco augmento vê-se que a medulla ossea é rica de cellulas, um pouco menos, porém, que em condições normaes; nota-se que os vácuolos regularmente espaçados que na medulla ossea normal correspondem ao corpo das cellulas gordurosas, parecem faltar aqui inteiramente.

Com forte augmento verifica-se que

as cellulas gordurosas são diminuidas de volume e em parte desaparecidas; aqui e alli vê-se uma cellula gordurosa de volume notavelmente reduzido e o nucleo emigrado para o centro; quasi sempre a porção do reticulo que a circumda toma fortemente a coloração pela eosina.

Não existe congestão.

O edema do reticulo é menos accentuado que nos coelhos precedentes; achase limitado a certas porções do reticulo, as quaes se coram intensamente pela eosina.

Das cellulas do parenchyma, as mais abundantes são os leucocytos polymorphonucleares que mascaram os outros elementos do parenchyma.

São apparentes grupos erythrogeneticos.

Megakaryocytos com disposição e aspecto normaes.

Examinando diversos blocos, notamos leves modificações do aspecto acima descripto; em alguns pontos o edema era mais accentuado e o parenchyma menos rico de cellulas.

7º dia de immunisação.

Coelho 218—Peso 1.300 grs.

Inoculado na veia marginal da orelha com 1 c. c. de uma suspensão de *B. Paratyphico A* (liquido A) ás 15 hs. e 30' de 7/4/920.

Amanheceu morto a 14/4/920. Necropsiado em bom estado de conservação.

Autopsia.—A medulla ossea (femur de ambos os lados) mostra consistencia firme e aspecto brilhante; a coloração é vermelha côr de tijolo, distinguindo-se em sua massa finas granulações brancas, refringentes.

Estudo histologico.—Com fraco augmento o aspecto da medulla ossea é inteiramente diverso do normal.

Os capillares são dilatados e cheios de hematias (Fig. 13, Est. 22).

As cellulas do parenchyma, abundantes, tem grande tendencia a se agruparem ao longo das paredes dos capillares (Fig. 13, Est. 22).

Com forte augmento verifica-se uma predominancia accentuada de myelocytos sobre as demais cellulas. Não só a maioria das cellulas com disposição perivascular são myelocytos amphophilos, como estes formam grupos de 4, 6 elementos os quaes occupam a espessura do parenchyma, entre os capillares, sobrepondo-se ás cellulas gordurosas que são assim, em parte, mascaradas (vide *a*, Fig. 3, Est. 17); o aspecto é, então, o de um grupo de cellulas (myelocytos) cercado por um halo claro (corpo da cellula gordurosa.).

Outras cellulas gordurosas tem dimensões quasi normaes (*b*, Fig. 3, Est. 17).

São raros os leucocytos polymorphonucleares. Os lymphocytos não são numerosos, existindo sobretudo em torno das arteriolas.

Os elementos da série que encerra hemoglobina affectam a disposição em grupos; as cellulas que os formam não são numerosas, os grupos erythrogeneticos sendo muito menos conspicuos que os elementos da série myeloide; não é difficil encontrar erythroblastos com *karyorrhesis*.

Myelocytos são tão numerosos como no orgão normal, muitos encerrando granulocytos phagocytados.

Com frequencia vê-se nos córtes, focos constituídos por grandes cellulas de nucleo alongado, ás vezes estreitado na parte média (em forma de 8 de cifra), pobre de chromalina, as quaes identificamos as cellulas do tecido conjuntivo; esses focos só occasionalmente encerram outros elementos cellulares alem das cellulas conjunctivas, ora um granulocyto, ora cellulas mononucleares não granulocytos.

Coelho 373—Peso 1.400 grs.

Dia 4/2/921—Globulos brancos (13 hs. 25')=16.550 por mm.3 (média).

Inoculado ás 14 hs. 20' do mesmo dia com 1 c. c. de agua physiologica tendo em suspensão uma alça calibrada (2 milligrs.) de uma cultura em agar, de 24 hs. de *B.*

Paratyphico A, morta. A injeção correu sem incidentes. Dia 11/2/921—Às 14 hs. o coelho morreu. Foi autopsiado logo após.

Autopsia.—Animal muito emmagrecido. Os órgãos internos—pulmões, fígado, baço, coração e rins, têm aspecto normal. Não ha pneumonia, lesões de coxidão, nem myxoma.

Medulla ossea de consistencia mais ou menos firme; a sua coloração é palida em territorios mal limitados, vermelha-pardacenta em outros; o aspecto é antes opaco.

Estudo histologico—As alterações da medulla ossea são da mesma natureza das do Coelho 218, havendo pequenas diferenças que correm por conta de variações individuaes.

As cellulas do parenchyma são menos abundantes que no Coelho 218, havendo activa hyperplasia dos elementos da série myeloide que affectam disposição perivascular e constituem focos na espessura do parenchyma.

Os leucocytos polymorphonucleares, ao contrario do que vimos na outra medulla ossea, são muito abundantes, tão numerosos como os myelocytos.

As cellulas gordurosas têm dimensões sensivelmente inferiores ás do elemento normal. Os grupos erythrogeneticos não são conspicuos.

As alterações na medulla ossea no 7º dia de immunisação são principalmente uma hyperplasia ou proliferação intensa de myelocytos, os quaes assumem uma disposição perivascular bem nitida; a evolução de myelocytos para leucocytos polymorphonucleares effectua-se de modo activo, apresentando variações individuaes a proporção reciproca dos 2 elementos cellulares.

Persiste a congestão capillar, sendo discreto o edema do reticulo.

As cellulas gordurosas são diminuidas de volume; algumas, porém, já reaquiriram as suas dimensões; outras são mascaradas pelos myelocytos em hyperplasia.

Elementos da série que encerra hemoglobina são encontrados, mas muito menos conspicuos que os da série myeloide.

Pequenos focos de fibrose (proliferação de cellulas conjunctivas) são numerosos, representando, provavelmente, a organização de pequenos focos hemorrhagicos.

10º dia de immunisação.

Coelho 405 (v. nota)—Peso 950 grs.

Dia 11/4/921—Globulos brancos=14.400 por mm.3 (média)

Dia 13/4/921—(16 hs. 20') Globulos brancos=16.500 por mm.3 (média).

Dia 14/4/921—(16 hs. 10') Globulos brancos=18.450 por mm.3 (média).

Dia 15/4/921—(12 hs. 40') Globulos brancos=19.550 por mm.3 (média).

Dia 16/5/921—(12 hs. 35') Globulos brancos=15.333 por mm.3 (média).

Foi inoculado por via intraperitoneal, ás 12 hs. 52' de 16/4/921 com 1 alça de 2 milligrs. de 1 cultura de 24 hs. em agar inclinado, de *B. Paratyphico A* morta no banho-maria a 65º durante 1 hora.

Dia 26/4/921—Morto pela anesthesia brusca pelo chloroformio ás 14 hs. 15'.

A morte occorreu em 1' e 15'.

Autopsia—A medulla ossea não apresenta alterações macroscopicas.

Coelho 408—Peso 1.140 grs.

Dia 28/4/921—(13 hs. 40')—Globulos brancos=10.950 por mm.3 (12.800—11.600—10.600—8.800).

Dia 4/5/921—(15 hs. 30')—Globulos brancos=15.950 por mm.3 (16.800—14.800—14.600—13.600).

Dia 5/5/921—(14 hs. 5')—Globulos brancos=19.400 por mm.3.

Dia 6/5/921—(13 hs.)—Globulos brancos=12.850—(13.000—12.400—11.600—10.400)

Foi inoculado por via subcutanea, ás 14 hs. 45' de 6/5/921 com 1 alça de 2 milligrs. de 1 cultura em agar (24 hs.) de *B. Paratyphico A* em suspensão em agua physiologica, morta no banho-maria a 65º durante 1 hora.

Dia 16/5/921—O coelho foi sacrificado pela anesthesia brusca pelo chloroformio (15 hs.).

Nota—Este coelho (405), que apresentou uma cifra anormal de leucocytos nos dias que precederam á immunisação, foi aproveitado no nosso estudo porque as alterações que apresentava a medulla ossea eram perfeitamente analogas ás que verificamos nos coelhos abaixo assignalados que apresentaram cifra normal de globulos brancos.

Coelho 400—Peso 1.130 grs.

Dia 5/5/921—(14 hs.) Globulos brancos=10,550 por mm.3 (11.600—11.200—10.000—9.400).

Dia 6/5/921—(13 hs. 15') Globulos brancos=12.800 por mm.3. (14.800—13.400—11.800—11.200).

Dia 6/5/921—A's 13 hs. 45' foi inoculado por via subcutanea com 1 alça de 2 milligrs de 1 cultura em agar de *B. Paratyphico A* em suspensão em agua physiologica, morta no banho-maria a 65° durante 1 hora.

Dia 16/5/921—A's 16 hs. o coelho foi sacrificado pela anesthesia violenta pelo chloroformio.

Uma unica descripção dá conta do aspecto da medulla ossea nestes 3 animaes, tão analogas são as alterações existentes.

Apenas na medulla ossea de 405 e 408 só com difficuldade é possível encontrar cellulas encerrando pigmento, as quaes, ao contrario, não são raras em 409.

Estudo histologico.—Com fraco augmento as cellulas gordurosas são diminuidas de volume e as porções do reticulo que as circumdam tomam fortemente a eosina. Nos preparados pelo MALLORY (azul de anilina) estas porções coram-se de modo uniforme em vermelho alaranjado dando o aspecto de uma substancia hyalina, ao passo que a porção restante do reticulo se cora em azul (liquido do edema).

As cellulas do parenchyma são sensivelmente tão numerosas como no animal normal.

A existencia de myelocytos em pequenas ilhotas isoladas de 3, 4, 6 ou 10 e mais elementos ao lado de outros grupos distinctos de elementos cujo plasma encerra hemoglobina (grupos onde existe regeneração das cellulas da série myeloide e grupos erythrogeneticos) é uma feição bem evidente nesta medulla ossea concordando com o que BUNTING e SELLING referem a respeito deste orgão em regeneração.

Os leucocytos polymorphonucleares são igualmente abundantes e os megakaryocytos bem conservados.

Occasionalmente são vistas areas on-

de existe discreta congestão dos capillares.

O aspecto das alterações não é uniforme; em alguns fragmentos o edema do reticulo é mais pronunciado e as cellulas gordurosas menos volumosas; as cellulas do parenchyma, embora menos numerosas, mostram a disposição em grupos distinctos de elementos da série myeloide e erythrogeneticos.

A medulla ossea no 10° dia de immunisação mostra, portanto, uma activa regeneração das cellulas do parenchyma, tanto das cellulas da série myeloide como dos elementos encerrando hemoglobina; aquellas, porém, mais numerosas que estas.

A congestão dos capillares só existe em raros pontos e o edema do reticulo acha-se em reabsorpção; na visinhança immediata das cellulas gordurosas é encontrada uma substancia homogenea, corando-se em vermelho alaranjado pelo methodo de MALLORY (azul de anilina) e tomando fortemente a eosina (substancia hyalina?).

14° dia de immunisação.

Coelho 133A—Peso 1.750 grs.

Dias.

19—1—920—Globulos brancos: 13.290 por mm.3.

20—1—920—Globulos brancos (16 hs.): 6 600 por mm.3. Foi inoculado no peritoneo (16 hs. 20') com 1,5 c. c. de uma mistura de 2 c. c. de agua physiologica mais 1 c. c. de uma cultura em caldo (24 hs.) de *B. Paratyphico A*.

21—1—920—Globulos brancos (14 hs.): 18.800 por mm.3.

22—1—920—Globulos brancos (12 hs. 30'): 11.800 por mm.3.

24—1—920—Inoculado no peritoneo (13 hs. 30') com 3 c. c. de agua physiologica tendo em suspensão 2 alças de uma cultura em agar de 24 hs. de *B. Paratyphico A*.

3—2—920—Globulos brancos (11 hs.): 13.000.

Foi sacrificado ás 11 hs. 30'.

Estudo histologico:—Com pequeno augmento nota-se que a medulla ossea é mais rica de cellulas que o orgão normal. Os espaços claros que, neste, cor-

respondem ás cellulas gordurosas, aqui não são reconhecíveis; em lugar delles vê-se as numerosas cellulas do parenchyma diffusamente disseminadas.

Os capillares sanguineos não são dilatados sendo reconhecíveis (fraco augmento) com difficuldade entre as abundantes cellulas do parenchyma.

Com forte augmento reconhece-se que as cellulas mais numerosas são myelocytos e leucocytos polymorphonucleares; é commum ver-se focos de myelocytos e, em suas margens, numerosos leucocytos polymorphonucleares. Entre estas cellulas são facilmente encontrados megakaryocytos, quasi todos encerrando em seu plasma 1 a 2 leucocytos phagocytados; são também encontradas cellulas da série que encerra hemoglobina.

O facto, porém, mais notavel nesta medulla ossea em pronunciada hyperplasia é a existencia de focos de proliferação das cellulas do reticulo, que formam estruturas, á primeira vista, semelhantes a folliculos lymphoides (Fig. 17, Est. 72).

Os referidos focos são bastante conspicuos, já com pequeno augmento, devido, á ausencia, nelles, de granulocytos; são formados por cellulas grandes, de nucleo redondo ou oval, pobre de chromatina mostrando 1, 2 a 3 nucleos plasma levemente basophilo (cellulas do reticulo); a coloração pelo azul de anilina (MALLORY) mostra que essas cellulas não encerram fibrilas conjunctivas; em certos campos favoraveis vê-se que o protoplasma dessas grandes cellulas possui prolongamentos finos que caminham ao encontro de outros vindos de cellulas semelhantes. Estas cellulas gozam de actividade phagocytaria, encerrando o seu plasma, ás vezes, leucocytos granulosos em via de desintegração, granulos redondos corados pela eosina e, ás vezes, pigmento amarello-claro. Entre estas cellulas, nos focos, occorrem outros elementos, de nucleo redondo, com abundante chromatina

e plasma sem granulações; alguns tem a morphologia de lymphocytos.

Quando o foco attinge dimensões mais consideraveis, as grandes cellulas occupam a parte central, semelhando o centro germinativo de um folliculo lymphoide com os respectivos lymphoblastos; as cellulas mononucleadas não granulosas e lymphocytos, tornando-se numerosos, occupam a zona marginal; o aspecto lembra um folliculo lymphoide (vide Fig. 4, Est. 17).

Não são ainda definitivos os conhecimentos que temos sobre as cellulas do reticulo dos órgãos hematopoéticos. Auctores, como DOWNEY e WEIDENREICH, admittem a formação de leucocytos mononucleares e lymphocytos á custa de cellulas do reticulo dos órgãos lymphoides.

Não queremos affirmar, de modo categorico, que os focos que descrevemos são folliculos lymphoides; isso será objecto de outra pesquisa. O que queremos deixar bem evidente é á differença entre esses focos, que talvez sejam folliculos lymphoides, e os focos de proliferação das cellulas conjunctivas (fibrose) que foram constatação banal na nossa serie de coelhos a partir do 6º dia, e que representam pequenos focos hemorrhagicos no periodo de organização.

ASKANAZY acha que em condições normase a medulla ossea da creança encerra folliculos lymphoides, facto esse negado por SCHRIDDE, o qual é de opinião que, sómente em condições pathologicas, tal se verifica. Os folliculos lymphoides assignalados por ASKANAZY não mostravam centro germinativo.

Caso se trate, no nosso coelho, de verdadeiros folliculos lymphoides, o que achamos muito provavel, o phenomeno teria um interesse especial, pois demonstraria a possibilidade de occorrerem, na medulla ossea, folliculos lymphoides com um centro germinativo bem evidente (Fig. 4, Est. 17).

Nos coelhos normaes, só occasional-

mente encontramos lymphocytos, os quaes eram sempre elementos isolados. A existencia de folliculos lymphoides na medulla ossea do coelho adulto é, para nós, uma condição pathologica. Seria, aqui, cabivel a designação de «*metaplasia lymphoide*» da medulla ossea?

IV—Conclusões.

E' commum verificar alterações histopathologicas da medulla ossea em coelhos aparentemente sadios; em taes animaes, porém, a cifra de globulos brancos é quasi sempre anormal. Mostrou-se de grande utilidade a recommendação de SELLING, de observar durante o prazo de 3 dias consecutivo a cifra de globulos brancos, despresando os coelhos que apresentarem, durante esse tempo, variações diarias consideraveis ou uma cifra anormal.

Fizemos o estudo histopathologico da medulla ossea de 40 coelhos immunisados para a obtenção de agglutininas (*B. Paratyphico A*).

Verificámos a existencia de alterações, as quaes se succedem com grande constancia e regularidade, podendo o processo ser dividido, sob um ponto de visto morphologico, nas seguintes phases:

4 horas de immunisação. Congestão pouco intensa, edema discreto do reticulo e uma alteração (desordem) do arranjo normal das cellulas do parenchyma as quaes são menos numerosas que no estado normal, e sobretudo uma transformação extensa dos myelocytos em leucocytos polymorphonucleares. Estas ultimas cellulas dispondendo-se á maneira de uma corôa em torno de algumas cellulas gordurosas, constituem um pequeno foco ao nivel da cellula gordurosa (v. Figs. 1 e 2, Est. 17). Os aspectos observados sugerem um chimiotactismo pronunciado das cellulas gordurosas para os leucocytos polymorphonucleares.

17 a 36 horas. Congestão pronunciada e edema accentuado do reticulo (v.

Fig. 3, Est. 19). Diminuição notavel de numero de cellulas do parenchyma (aplasia) (v. Figs. 3 e 4, Est. 19), havendo de sapparecimento quasi completo dos leucocytos polymorphonucleares. Alterações regressivas pronunciadas dos myelocytos e megakaryocytos (Fig. 5, Est. 19). Multiplicação de myelocytos amphophilos, a qual se acha em inicio, constituindo pequenos focos de 3—4 elementos, raros, esparsos. Diminuição de volume das cellulas gordurosas (v. Fig. 3, Est. 19), cujo nucleo, mostrando bem os finos detalhes de estructura, é levemente tumefacto e deslocado para o centro da cellula (v. Fig. 4, Est. 19); o protoplasma, em torno tem uma estructura reticular muito apparenente. Finalmente, uma infiltração lymphocytaria diffusa (v. Fig. 4, Est. 19).

2º dia. Persistem a congestão, edema do reticulo e infiltração lymphocytaria diffusa. Ha regeneração dos leucocytos polymorphonucleares, e talvez, ligeiro excesso dessas cellulas. Inicia-se o processo de recomposição ou reconstituição do conteudo gorduroso das cellulas gordurosas.

3º dia. Inicia-se a resorpção do edema do reticulo. Persiste a congestão capillar (Fig. 9, Est. 21). As cellulas do parenchyma, tão abundantes como no estado normal, são principalmente, myelocytos dispostos em pequenos focos de 2,4 e mais elementos (Fig. 8, Est. 20), e leucocytos polymorphonucleares. Começam a apparecer focos de regeneração dos elementos encerrando hemoglobina (focos perivasculares de erythroblastos (normoblastos) (v. Fig. 10, Est. 21)..

Prosegue a reconstituição do conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas (v. Figs. 9, 10 e 11, Est. 21). Os lymphocytos tornam-se mais raros, desapparecendo o caracter de infiltração diffuse que apresentavam, megakaryocytos em pronunciada actividade phagocytaria. Hyperplasia discreta das cellulas fixas do tecido conjunctivo (fibrose) (v. Fig. 10, Est. 20).

5º 6º e 7º dias. A congestão capillar tende a desaparecer e o edema do reticulo acha-se em absorção. Existe uma hyperplasia ou proliferação intensa de myelocytos, os quaes assumem uma disposição perivascular bem nitida (v. Fig. 13, Est. 22 e Fig. 3, Est. 17). a evolução de myelocytos para leucocytos polymorphonucleares effectua-se de modo activo, apresentando variações individuaes, a proporção reciproca dos dois elementos cellulares. As cellulas gordurosas são diminuidas de volume; algumas, porém, já readquiriram as suas primitivas dimensões (v. Fig. 12, Est. 22); outras são mascaradas pelos myelocytos em hyperplasia (v. Fig. 3, Est. 17). Pequenos focos de fibrose (proliferação de cellulas conjunctivas) são numerosos, representando, provavelmente, a organização de pequenos focos hemorrhagicos (v. Fig. 9, Est. 20).

10º dia. A congestão dos capillares só existe em raros pontos e o edema do reticulo acha-se em reabsorção; em torno das cellulas gordurosas acha-se depositada uma substancia com os caracteres da substancia hyalina. O parenchyma mostra uma activa regeneração de cellulas, tanto das cellulas da série myeloide como dos elementos encerrando hemoglobina, aquellas mais numerosas que estas.

14º dia. A medulla ossea acha-se em notavel hyperplasia sendo as cellulas mais numerosas os myelocytos e leucocytos polymorphonucleares. Devido á hyperplasia de cellulas de série myeloide, as cellulas gordurosas não são conspicuas. Nota-se ainda, facto digno de interesse especial, a existencia de focos com a estrutura de folliculos lymphoides providos de um centro germinativo (v. Fig. 4, Est. 17). Megakaryocytos em pronunciada actividade phagocytaria.

Resumindo, diremos que, no decurso da immunisação para a obtenção de agglutininas (*B Paratyphico A*), a medulla ossea soffre, logo nas primeiras horas,

um notavel empobrecimento em elementos cellulares, havendo congestão intensa e edema do reticulo e alterações regressivas das cellulas do parenchyma. Um phenomeno, então, digno de nota, é a rapida e pronunciada perda do conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas, precedida de uma disposição de leucocytos polymorphonucleares em torno desses elementos á maneira de uma côroa; a diminuição de volume da cellula gordurosa parece ser um phenomeno comum em diversos estados pathologicos do orgão; é, porém, facto ainda não assignalado o chimiotaclismo evidente e precoce dos leucocytos polymorphonucleares para com a cellula gordurosa, e, só pesquisas complementares poderão elucidar se se trata ou não de um phenomeno peculiar das alterações do orgão na immunisação.

Após esse periodo inicial, os elementos cellulares são pouco a pouco regenerados; antes disso, a medulla ossea é séde de uma infiltração por elementos cellulares com todos os caracteres dos lymphocytos do sangue; essa invasão precede a phase de regeneração dos myelocytos e elementos da serie encerrando hemoglobina, facto curioso, que poderá ter uma grande importancia theorica.

O conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas, é, aos poucos, reconstituído.

Mais tarde, no 6º dia de immunisação, a modificação histologica mais evidente, é uma intensa hyperplasia dos elementos do parenchyma medullar; as figuras de divisão indirecta dos myelocytos são muito abundantes. Esta hyperplasia torna-se notavel no 10º e 14º dias; as cellulas gordurosas são, então, mascaradas pelas cellulas do parenchyma. Occorre, em menor escala, uma regeneração das cellulas da série que encerra hemoglobina. Nesse periodo, um facto interessante sob um ponto de vista geral, é a occorência de formações morphologicamente semelhantes a folliculos

lymphoides providos de um centro germinativo.

E' interessante comparar a curva de produccão de agglutininas com as alteraçõs da medulla ossea. Sabemos que essa cura attinge o seu maximo (TSUKAHARA) no 6º—8º dias de immunisação, coincidindo assim com uma notavel hyperplasia das cellulas da série myeloide e com a regeneração do conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas da medulla ossea.

E' fóra de duvida que as lesões que observamos acham-se intimamente ligadas ás alteraçõs do sangue desde longa data assignaladas no decurso da immunisação.

Achamos que a acção do antígeno, a leucocytose e a produccão de anticorpos são phenomenos intimamente li-

gados entre si, e que todos concorrem para a produccão das alteraçõs da medulla ossea no decurso da immunisação.

Não é isso uma supposiçãõ gratuita, pois as experiencias de HEKTOEN mostraram que os «centros leucocytogenicos» participam da elaboraçãõ dos anticorpos e TISCORNIA, empregando uma technica especial, isolou dos leucocytos de animaes immunisados, substancias com poder immunisante.

Levando em conta que pesquisas immunologicas recentes e experiencias com agentes physicos taes como os raios X, radio e thorio X, tendem a estabelecer que a medulla ossea é o lugar de produccão de alguns anticorpos (agglutininas), podemos concluir que os dados morphologicos que apresentamos reforçam essa hypothese.

Explicação das Estampas.

As Figs. das Estampas 18—22, são microphotographias de preparações microscópicas (córtes) de medulla ossea de coelho, coradas pela hematoxylina-eosina.

As Figs. 1 e 2, Est. 17, são desenhos de preparações microscópicas (córtes) de medulla ossea, corados pela hematoxilina-eosina e desenhados com Oc. comp. 4 de ZEISS e Obj. imm. homog. 1/12; a Fig. 3 é desenhada com Oc. 2 de ZEISS e Obj. imm. homog. 1/12. A Fig. 4, Est. 17, é desenhada de um córte de medulla ossea corado pelo methodo de GIEMSA a humido, examinado com Oc. comp. 6 de ZEISS e Obj. DD, ZEISS.

Estampa 17.

Fig. 1—Medulla ossea na 4ª hora de immunisação (coelho 368).

Leucocyots dispostos em torno de uma cellula gordurosa á maneira de uma coroa (chimiotactismo da cellula gordurosa sobre os leucocyots).

Fig. 2—Medulla ossea na 4ª hora de immunisação (coelho 369).

Os leucocyots dispostos em torno da cellula gordurosa (chimiotactismo) são mais numerosos que na Fig. 1, sobrepondo-se a cellula gordurosa.

Fig. 3—Medulla ossea no fim do 7º dia de immunisação (coelho 218), mostrando activa proliferação de myelocyots.

Notar a predominancia desta especie cellular sobre as demais cellulas do parenchyma e a sua disposição perivascular.

Capillares sanguineos dilatados, um pouco menos que nos primeiros dias de immunisação. Algumas cellulas gordurosas tem dimensões visinhas do normal (*b*); outras são mascaradas pelos grupos de myelocyots, dando á pri-

meira vista, a impressão de que as cellulas gordurosas foram invadidas por myelocyots (*a*).

Fig. 4—Medulla ossea no fim do 14º dia de immunisação (coelho 133-A).

Foco cellular que deve ser identificado a um folliculo lymphoide com o respectivo centro germinativo.

A porção central (centro germinativo) é occupada por grandes cellulas de cytoplasma levemente basophilo, nucleo oval, podre de chromatina, com 1—2 nucleolos (*cellulas do reticulo*).

Na periphéria são numerosas as cellulas com a morphologia de lymphocyots, entre as quaes nota-se tambem, elementos do parenchyma medullar (myelocyots e leucocyots).

Nesses focos cellulares não são vistos erythroblastos.

Estampa 18.

Fig. 1—Medulla ossea de um coelho normal (vista com fraco augmento).

Os espaços claros correspondem ás cellulas gordurosas; entre ellas, acham-se dispostas as cellulas do parenchyma. Os vasos sanguineos não são apparentes.

Fig. 2—Medulla ossea de um coelho normal (vista com forte augmento).

Estampa 19.

Fig. 3—Medulla ossea no fim de 24 hs. de immunisação (coelho 212).

Congestão pronunciada e edema do reticulo (compare com a Fig. 1, Est. 18). Reducção do numero de cellulas do parenchyma (*aplasia*). Cellulas gordurosas diminuidas de volume.

Fig. 4—Medulla ossea no fim de 24

hs. de immunisação (coelho 212). (Compare com a Fig. 2, Est. 18). Reducção do numero de cellulas do parenchyma (*aplasia*). Abundancia de cellulas com a morphologia de lymphocytos. Congestão e edema do reticulo. Alterações das cellulas gordurosas (vide a descripção no texto).

Fig. 5—*Medulla ossea no fim de 24 hs. de immunisação (coelho 212)*. Megakaryocyto com alterações regressivas (v. o texto).

Estampa 20.

Fig. 8—*Medulla ossea no fim do 3º dia de immunisação (coelho 215)*. Multiplicação intensa de myelocytos, os quaes formam pequenos agglomerados de 3—4 elementos. Infiltração diffusa por lymphocytos. Desapparecimento completo do conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas.

Fig. 9—*Medulla ossea no fim do 3º dia de immunisação (coelho 216)*. Focos constituídos por leucocytos polymorphonucleares; muitos destes, em um mesmo ponto, sobrepostos uns aos outros, mostram um nucleo pycnotico e outros acham-se em completa desintegração (pequeno «infarcto»).

Fig. 10—*Medulla ossea no fim do 3º dia de immunisação (coelho 216)*. Augmento do numero de cellulas fixas do tecido conjunctivo, as quaes, em numero de 10—15 se collocam lado a lado e em seguimento umas ás outras.

Es tampa 21.

Fig. 9—*Medulla ossea no fim do 3º dia de immunisação (coelho 150)*.

Accentuada congestão (compare com a Fig. 1, Est. 18).

As cellulas do parenchyma, menos abundantes que no orgão normal, são porém, mais numerosas que nas primeiras 24 hs. de immunisação (compare com a Fig. 3, Est. 19).

Fig. 10—*Medulla ossea no fim do 3º dia de immunisação (coelho 150)*.

Focos de regeneração dos elementos encerrando hemoglobina (focos perivasculares de erythroblastos (normoblastos)).

Fig. 11—*O mesmo córte representado na Fig. 9, visto com forte augmento*.

As cellulas do parenchyma mais abundantes são myelocytos.

Estampa 22.

Fig. 12—*Medulla ossea no fim do 5º dia de immunisação (coelho 367)*.

Hyperplasia das cellulas do parenchyma, das quaes as mais abundantes são leucocytos polymorphonucleares. As cellulas gordurosas mostram a reconstituição do seu conteúdo gorduroso. O edema do reticulo acha-se em grande parte reabsorvido.

Fig. 13—*Medulla ossea no fim do 7º dia de immunisação (colho 218)*.

Congestão pronunciada e disposição perivascular das cellulas do parenchyma.

LITTERATURA

- ACHARD et BENSAUDE —(cit. por JATTA) Sur la présence de la propriété agglutinante dans le plasma sanguin et dans les divers liquides de l'organisme. Acad. des Scienc. 28 Sept. 1896. Archives de Med. exper. Nov. 1896.
- ASKANAZY, M. —Ueber die Lymphfollikel im menschlichen Knochenmark Virchow's Arch., Bd. 220, p. 257, 1915.
- BACHMANN, A. —Immunité anti-infectieuse. Présence de substances spécifiques dans les leucocytes des animaux immunisés. Rev. de la Assoc. Med. Argent., vol. 29, 1918, p. 519.
- BACHMANN, A. —Présence de substances spécifiques dans les leucocytes des animaux immunisés. C. R. Soc. Biol., 82:1031, 1919.
- BORDET —Les Leucocytes et les Propriétés Actives du Sérum chez les Vaccinés. Ann. Inst. Pasteur, 1895.
- CARREL, A. and INGEBRIGTSEN, R. —The Production of Antibodies by Tissues living outside of the Organism. Jour. Exper. Med., 1912, 15, p. 287.
- CUTLER, E. —The Relation of the Hypophysis to Antibody Production. Journ. Exper. Med., 1922, 22, p. 243.
- DEUTSCH, L. —Contribution á l'étude de l'origine des anticorps typhiques. Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 13, 1899, p. 689. Wiener med. Presse, 1899.
- DOMINICI, M. —Sur l'Histologie de la Rate au Cours des États Infectieux. Arch. de Méd. Expér., 12, 1900, p. 733.
- DOWNEY, H. u. WEIDENREICH, F. —Ueber die Bildung der Lymphocyten in Lymphdrüsen u. Milz. Arch. f. mik. Anat., 1922, Bd. 80, p. 306.
- DUNGERN —Die Antikörper, (cit. de STENSTROM), JENA, 1902.
- ECKER, E. P. and GOLDBLATT, H. —Thyroidectomy and Parathyroidectomy with Relation to the Development of Immune Substances. J. of Exp. Med., 1921, 34, p. 275.
- EMDEN, J. E. G. —Uber die Bildungsstätte der agglutinirenden Substanzen bei der Infektion mit Bacillus aërogenes. Ztsch. f. Hyg., Bd. 30, 1899, p. 18.
- van EMDEN, J. E. G. —The Reaction of the Spleen in Acute Infections. Johns Hopkins Hosp. Bull, n. 310, p. 356, 1916.
- FOÁ, P. —Beiträg zum Studium des Knochenmarks. Beiträge zur path. Anat. u. z. allg. Path., 1899, Bd. 25, p. 376.
- FONSECA, MOREIRA da —Origem lymphocytaria dos anticorpos. Arch. Bras. Med., 1912, An. 2, n. 6, p. 688.
- GAY, F. P. and RUSK, G. Y. —Studies on the Locus of Antibody Formation. Transactions of the XVth Internat. Cong. Hyg. and Demogr., 1912, ii. p. 328.
- GRUBER —(cit. por JATTA). Wiener Klin. Wochenschrift, 1896, no. 11/12. Münch. med. Woch., 1897, no. 17/18. Münch med. Woch., 1896, May.

- GUERRINI, G. —Delle mod. istolog. d. organi nel corso dell'immunita sperimentale Res. em Journ. de Phys. e de Path. Génér. 1903, p. 451.
- HEKTOEN, L. —Harvey Society Lectures, New-York, 1909-1910.
- HEKTOEN, L. —On the Local Production of Antibodies. Journ. Infect. Dis., 1911, vol. 9, no. 2, p. 103.
- HEKTOEN, L. —The Effect of Benzene on the Production of Antibodies. Journ. Infect. Dis., 1916, vol. 19, p. 69.
- HEKTOEN, L. —Further Studies on the Effects of the Roentgen Ray on Antibody-Production. Journ. of infect. Dis., 1918, v. 22, p. 29.
- HEKTOEN, L. —Effects of Roentgenization and Splenectomy on Antibody-Production. Journ. of Infect. Dis., 1920, v. 27, no. 1, p. 23.
- HEKTOEN, L. —Further Observations on the Effects of Roentgenization and Splenectomy on Antibody-Production. Journ. Infect. Dis., v. 27, 1920, no. 1, p. 23.
- HOUSSAY e SORDELLI —Sensibilité des animaux éthyroïdés envers les toxines et le B. dipht. Formation d'anticorps chez les animaux éthyroïdés. Res. in Bull. Inst. Pasteur, 1922, T. 20, no. 4, p. 157.
- HÖWELL, K. M. —The Failure of Antibody Formation In Leukemia. Arch. of Int. Med., 1920, v. 26, no. 6, p. 706.
- JATTA, M. —Experimentelle Untersuchungen über die Agglutination des Typhusbacillus und der Mikroorganismen der Coligruppe. Zeitsch. f. Hyg., Bd. 33, p. 185, 1900.
- JOTTEN, K. W. —Der Einfluss wiederholter Aderlösse auf die Antikörperbildung. Arbeiten a. d. Reichsgesundheitsamte, Bd. 52, 1920, H. 4, p. 626.
- KRAUS, R. u. LEVADITI, C. —Sur l'Origine des Précipitines. C. R. l'Acad. d. Sciences, vol. 138, p. 865, 1904.
- KRAUS, u. SCHIFFMANN —Sur l'Origine des Anticorps Précipitines et Agglutinines. Ann. Inst. Pasteur, p. 225, 1906,
- LENGEMANN, P. —Knochenmarkveränderungen als Grundlage von Leukocytose und Riesenkernverschleppungen (Myelokinese). Beitr. z. path. Anat. u. z. allg. Path, Bd, 29, S. 1, 1901.
- LEVADITI, C. e BANU, G. —Importanza della lesione locale provocata dai vaccini nella genesi degli anticorpi agglutinanti. Res. in Pathologica, vol. 14, no 322, p. 246, 1922.
- LIPPMANN —Ueber die spezifische Stimulation der antikörperbildenden Organe bei Infektionskrank. Deutsch. Med. Wochenschrift, Bd. 2, no. 37, p. 1693, 1911.
- LIPPMANN —Stud. ü. die Steigerung d. Resistenz u. d. Antikörpergehalte durch Knochenmarksreizmittel: Thorium X, Arsenikalium u. s. w. Zeitsch f. Exp. Path. u. Ther., 1914, 16, p. 124.

- LONGCOPE, W. T. —A Study of the Bone-marrow in Typhoid Fever and others Acute Infections. Bull. of the Ayer Clin. Lab. of the Penna. Hosp., 1915, II, 1 (cit. per EVANS (1916).)
- LUDKE, H. —Ueber Antikörperbildung in Kulturen lebender Körperzellen. Berliner klin. Wochenschrift, 1912, n^o. 22, p. 1034.
- METALNIKOW, S. et GASCHEN, H. —Immunité cellulaire et humorale chez la chenille. Ann. Inst. Pasteur, 1922, T. 36, p. 233.
- M. GOWAN, J. P. —The Fate of Hen Corpuscles when Injected Intravenously into Rabbits, with some Considerations as to the Seat of the Formation of Immune body Journ. Path. a Bact., vol. 14, p. 379, 1909.
- MUIR, R. —On the Relation of the Bone-marrow to Leucocyte Production and Leucocytosis. Jour. Path. and Bact., 1901. VII, p. 191.
- MULLER, L. —Recherches sur le lieu et le mode d'origine des cytolysines naturelles (alexines et ambocepteurs normaux) et les moyens d'en provoquer l'hyper-sécrétion. Centralb. f. Bakt., I. abt. Orig. vol. 57, p. 577, 1911.
- OSHIKAWA, K. —Antikörperbildung durch Transplantate, Zeitsch. f. Imm. u. exper. Therap. Orig. Bd. 33, H. 4/5, 1921, p. 297.
- PENTIMALLI, F. —Studi sull'intossicazione proteica. VIII—Alterazione morfologiche del sangue. Haematologica, v. II, fasc. III, 1921.
- PFEIFFER, R. u. MARX. —Die Bildungsstätte der Choleraszutzstoffe. Ztschr f. Hyg. u. Infektionskr., 1898, Bd. 27, p. 272.
- PFEIFFER, R. u. MARX. —Untersuchungen über die Bildungsstätte der Choleraantikörper. Deutsche Med. Wochenschrift, 1898, n^o. 3, Januar, p. 47.
- ROBERTSON, O. and ROUS, P. —Sources of the Antibodies Developing after Repeated Transfusion. Journ. Exp. Med., 1922, v. XXXV, n^o. 2, p. 141.
- ROMER —Experimentelle Unters. ü. Abrin (Jequiritol)—Immunität als Grundlagen einer rationellen Jequirity-Therapie. Arch. f. Ophthalmol., 1901, 52, p. 72.
- SAHLI, H. —Nature a. Origin of Antibodies. Schwel. Med. Wochenschr. 1920, 50, p. 1129, Res. em J. Am. Med. Ass. 76: 344, Jan. 29, 1921, 76: 483, 1921, e J. Am. Med. Ass. 76: 1373.
- SCHRIDDE, H. —Die blutbereitenden Organe in L. ASCHOFF's Pathol. Anatomie, Fünfte Aufl., 1921.
- SELLING, L. —Benzol as a Leucotoxin. Studies on the Degeneration and Regeneration of the Blood and Haematopoietic Organs. Johns Hopkins Hosp. Reports, 1916, vol. 17, p. 83.

- SESTINI, C. —Sulla attività della ghiandola tiroide nel processo immunitario. *Lo Sperimentale*, Fas. I—III, p. 79, 1922.
- SIMONDS J. P. and JONES H. M. —The Influence of Exposure to Röntgen-Rays on the Formation of Antibodies. *J. Med. Res.*, 33:183, 1915.
- SIMONDS, J. P. and JONES, H. M. —The Effect of Injections of Benzol upon the Production of Antibodies. *Journ. Med. Res.*, 1915—16, 33, p. 197.
- STENSTROM, O. —Ueber die Einwirkung des Exsudatleukocyten auf die Antikörperbildung. *Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap.* 8:483, 1911.
- TISCORNIA, G. —Action spéciale des leucocytes dans la réaction d'immunité. *Res. em Arch. Mal. d. Coeur*, 1921, n^o. 11, 512. *La Riforma Medica*, 1921, p. 196.
- TSUKAHARA, J. —Verlauf der Agglutininbildung bei Infektion normaler u. immunisierter Tiere. *Zeitsch. f. Immunitätsf. Orig.* Bd. 32, n^o. 5, p. 410.
- TSURUMI, M. u. KOHDA, K. —Ueber die Bildungsstätte des komplementbindenden Antikörpers. *Zeits. f. Immunitätsforsch. Orig.*, Bd. 10, p. 519, 1913.
- WALBUM, L. E. —Action exercée par le chlorure de manganèse et d'autres sels métalliques sur la formation de l'antitoxine diphtérique et l'agglutinine du *B. coli*. *Bull. Inst. Pasteur*, 1922, T. 20, n^o. 4, p. 165.
- WASSERMANN, M. —Pneumococcenschutzstoffe. *Deuts. Med. Woch.*, 1899, n. 9, p. 141.
- WASSERMANN. u. CITRON —Ueber die Bildungsstätten der Typhus-immunkörper. Ein Beitrag z. Frage der lok. Immunität der Gewebe. *Ztsch. Hyg. u. Infektionkr.*, 1905, 50, p. 331.
- ZINSSER, H. —Infection and Resistance. Second Ed. Rev. The Macmillian Co., 1918.
-