

CONDITORES

† PROF. BASÍLIO FREIRE — † PROF. GERALDINO BRITES — † PROF. MAXIMINO CORREIA

FOLIA ANATOMICA VNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

MODERADORES

PROF. A. TAVARES DE SOUSA — PROF. HERMÊNIO CARDOSO

PROF. A. SIMÕES DE CARVALHO

INDEX

- ROGÉRIO DOS SANTOS CARDOSO TEIXEIRA — *Sistema de lamelas no oócito do criceto* N 6
- ABEL SAMPAIO TAVARES e J. A. ESPERANÇA PINA — *Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão* N 7
- REINALDO AZOUBEL, SÁLUA IUCIF e RUBERVAL A. LOPES — *Estudo do crescimento pós-natal do arco dentário do rato, após a administração da hidrocortisona* N 8
- ROGÉRIO DOS SANTOS CARDOSO TEIXEIRA — *Ultraestrutura das ovogónias e dos ovócitos em estado leptóteno, zigóteno, paquíteno e diploteno da profase meiótica no criceto dourado* N 9
- ANTÓNIO MADEIRA DE LACERDA — *Sobre a morfologia dos núcleos do cerebelo do gato* N 10
- HERMÊNIO CARDOSO, ARMANDO GONSALVES e COLABORADORES — *Contribuição da coronariografia no estudo das consequências da oclusão coronária experimental* N 11

VOL. XLIII



1974

« IMPRENSA DE COIMBRA, L.^{DA} »
M C M L X X I V

FOLIA ANATOMICA UNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

VOL. XLIII

N.º 6

SISTEMAS DE LAMELAS DO OÓCITO DO CRICETO (*)

POR

ROGÉRIO DOS SANTOS CARDOSO TEIXEIRA (**)



ÍNDICE

INTRODUÇÃO	1
MATERIAL E MÉTODOS	2
RESULTADOS	6
DISCUSSÃO	24
RESUMO	27
SUMMARY	28
BIBLIOGRAFIA CITADA	30

INTRODUÇÃO

São características dos oócitos do Criceto os sistemas de lamelas (annulate lamellae e lamelas citoplásmicas) que se observam no ooplasma.

Na literatura Anglo-Saxónica existem várias designações para estes componentes intracelulares.

Para as annulate lamellae (16) existem os seguintes sinónimos: periodic lamellae (14), fenestrated lamellae (13), cisternae fenestratae (87), fenestrated membranes (20),

(*) Comunicação apresentada na V.ª Reunião Anual da Sociedade Portuguesa de Microscopia Electrónica.

(**) Professor Auxiliar de Biologia Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.



secondary membranes (10) e pitted membranes (3). Preferí a de annulate lamellae (que traduzí para língua portuguesa por lamela anelada) por ser a que melhor caracteriza a estrutura que aparece na matriz citoplásmica dos oócitos em estado multilaminar e de Graaf. As lamelas aneladas quando observadas ao ME são constituídas por pilhas de 4 a 20 elementos; cada elemento é formado por duas membranas relativamente paralelas, separadas por um intervalo de 30-40 nm e interrompidas ao longo da sua superfície por numerosos poros.

Para as lamelas citoplásmicas encontram-se também os sinónimos: paracrystalline lattices (15), cytoplasmic whorls (5), filaments (17) e cytoplasmic lamellae (18). Uso esta última designação (que traduzí por lamelas citoplásmicas) por ser a que está de acordo com o aspecto que se mostra nas gravuras n.ºs 2, 7, 8, 9, 11, 12, 13 e 14. Aparecem como fiadas de elementos simples e duplos a formar lamelas simples e duplas respectivamente, no citoplasma dos oócitos em estado bilaminar, multilaminar e de Graaf do folículo ovárico.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL

Como material de estudo usei para o presente trabalho ovários de Criceto dourado. Este animal pertence à ordem dos Roedores, à família *Cricetidae*, à subfamília *Cricetinae*, ao género *Mesocricetus* e à espécie *Mesocricetus auratus* (1).

Os Cricetos dourados para o presente trabalho foram fornecidos pelo Biotério do Instituto Gulbenkian de Ciência.

MÉTODOS

Colheita

Colhi ovários de animais com idades compreendidas entre 14 e 70 dias após o nascimento.

Os animais foram mortos por decapitação após leve anestesia com éter. Retirei-lhes os ovários, coloquei-os numas gotas de fixador (glutaraldeído a 3% em tampão Millonig a pH 7,3) e seccionei um de cada vez em pequenos fragmentos de 1 a 2 mm de lado. Executei esta tarefa com o auxílio de uma lupa e de lâminas de barbear novas. Estes pequenos fragmentos foram imediatamente imersos em frascos com 2 a 3 cc de glutaraldeído a 3% em tampão Millonig a pH 7,3 e colocados no frigorífico a 4°C, durante uma hora.

Fixação

Ao fim deste tempo, depois de ter decantado o fixador, lavei os pequenos fragmentos em três banhos (10 minutos cada um), em tampão Millonig a pH 7,3 gelado. Em seguida transferei-os para frascos com uma solução de tetróxido de ósmio a 2% em tampão Millonig a pH 7,3, durante um período de duas horas, a 4° C.

Após este tempo, decantei o tetróxido de ósmio com uma pipeta tipo Pasteur e lavei os pequenos fragmentos rapidamente duas vezes com tampão Millonig à temperatura ambiente. Seguiu-se imediatamente a desidratação.

Desidratação

A desidratação foi efectuada à temperatura ambiente numa série de álcoois de concentração crescente segundo o esquema seguinte:

Álcool etílico a	70°	15 minutos
»	»	»	»
»	»	»	»
»	»	»	»
»	»	»	»

Após a última passagem por álcool absoluto, os fragmentos passaram por dois banhos consecutivos de óxido de propileno, com a duração de 15 minutos cada.

Inclusão

Os pequenos fragmentos de tecido foram incluídos na resina Epon₈₁₂. Para isso, tive de transferir os fragmentos para uma solução em partes iguais, de óxido de propileno e de mistura completa das resinas durante uma hora.

A mistura completa das resinas prepara-se, adicionando partes iguais de uma solução que se pode designar por A (62 cc de Epon₈₁₂ + 100 cc de DDSA) com uma solução também designada por B (100 cc de Epon₈₁₂ + 89 cc de MNA), acrescidas de DMP₃₀ na percentagem de 1,5%.

Depois os fragmentos foram retirados daquele meio e colocados num pedaço de papel de filtro. Daqui foram transferidos para cápsulas de gelatina tipo 00, com o auxílio de um palito de madeira. Seguidamente enchi as cápsulas até 2/3 do seu tamanho, com mistura completa das resinas. Coloquei-as numa estufa a 60°C., durante 48 horas, para se efectuar a polimerização do meio de inclusão.

Cortes

Obtidos desta maneira os blocos de Epon₈₁₂, contendo o material em estudo, efectuei cortes semifinos e ultrafinos num Ultramicrotomo (Ultratome-LKB), utilizando facas de vidro.

A obtenção de cortes semifinos (1000 nm de espessura) permitiu-me observar ao microscópio de luz a morfologia do ovário em cada idade de modo a poder seleccionar a célula ou células em estudo. Depois talhava os blocos de modo a obter cortes ultrafinos da região seleccionada.

Cortes semifinos — Os cortes semifinos foram recolhidos do recipiente da faca de vidro, que se encontrava cheio de água destilada, com uma ansa de metal e colocados sobre uma lâmina histológica onde previamente colocava uma gota de água destilada. Seguidamente, e à lupa,

dispuz os cortes, com a ajuda de uma agulha especial, à periferia da gôta e utilizando papel de filtro, retirava a água excedente: aqueci ligeiramente a lâmina de vidro não só para evaporação da água restante como também para permitir a colagem dos cortes: depois corei os cortes com azul de toluidina a 1%, em solução alcalina, durante 10 minutos, numa platina aquecida à temperatura de 47°C.; passei rapidamente os cortes por água destilada, efectuei a montagem em Permunt e fotografei-os num Fotomicroscópio.

Cortes ultrafinos — Os cortes ultrafinos (90-60 nm de espessura), depois de efectuados num Ultramicrotomo foram recolhidos fazendo contactar as grelhas com a superfície líquida do recipiente da faca onde se encontravam os cortes. Depois eliminei o excesso de água, na superfície da grelha, tocando-a contra papel de filtro.

Para este estudo utilizei grelhas de cobre (200 malhas por polegada quadrada), revestidas por uma película de formvar reforçada com carbono.

Coloração

Utilizei a técnica da dupla coloração pelo acetato de uranilo e citrato de chumbo (solução 1/10 em hidróxido de sódio). Para execução da coloração, coloquei algumas gotas de uma solução saturada de acetato de uranilo em álcool etílico a 50%, numa lâmina de vidro com várias escavações; sobre cada gôta coloquei uma grelha de forma a que o lado em que se encontravam os cortes ficasse em contacto com a referida solução; deixei assim durante 30 minutos; após este tempo retirei as grelhas e lavei-as cautelosamente em dois banhos de água destilada, mergulhando-as 10 a 20 vezes em cada banho; seguidamente sequei-as com papel de filtro e efectuei a coloração com citrato de chumbo; neste caso procedi do seguinte modo: sobre uma superfície hidrofóbica coloquei várias gotas da solução a 1/10 em hidróxido de

citrato de chumbo e sobre cada gota uma grelha, de forma que a superfície em que se encontravam os cortes ficasse em contacto directo com esta solução; deixei assim durante 5 minutos; após este tempo passei as grelhas por uma série alternada de dois banhos de soda cáustica 0,02N e água destilada, tendo o cuidado de mergulhar 10 a 20 vezes em cada banho; após o último banho de água, retirei o excesso de líquido, tocando com a grelha num papel de filtro e deixei secar.

Observação

Somente depois das grelhas estarem bem secas estavam em condições de serem observadas no microscópio electrónico.

Em todas as observações utilizei um microscópio electrónico de marca Siemens Elmiskop 1A, funcionando a 80kv.; utilizei chapas fotográficas Kodak 6,5 × 9 cm (.040 in. glass); revelei-as em Kodak D-11, durante 8 minutos, seguida de passagem rápida por um banho de água corrente; depois fixei as chapas em Kodak unifix, durante 20 minutos; passei-as por um banho de água corrente durante 30 minutos; finalmente passei os negativos por uma solução de Kodak photo-flo 200 e deixei-os secar.

Para obter positivos usei papel AGFA de grau entre 2 e 5, de acordo com o contraste dos negativos.

RESULTADOS

Lamelas aneladas

As lamelas aneladas aparecem pela 1.^a vez neste animal no estado de folículo multilaminar (figuras n.^{os} 3, 4, 5 e 6). São constituídas por pilhas de 3 a 8 elementos, separados por intervalos de matriz citoplásmica de 75-120 nm de espessura. Cada um dos elementos é formado por dois folhetos densos relativamente paralelos,

separados por uma área quase transparente aos electrões de 20 a 40 nm de largura. Cada folheto dos elementos das lamelas aneladas tem a espessura de 6 a 7,5 nm e estrutura típica de «unit membrane». Em certas regiões, as duas membranas de cada elemento unem-se uma à outra e os locais de união aparecem como zonas densas aos electrões, constituindo os poros das lamelas aneladas.

A matriz citoplásmica do oócito em estado de folículo de Graaf (figuras n.ºs 10, 14, 15 e 16) contem lamelas aneladas muito mais desenvolvidas, contrariamente ao que acontece no estado de folículo multilaminar; dispõem-se em pilhas de 9 a 20 elementos; os elementos que constituem as lamelas aneladas estão também separados uns dos outros por intervalos de matriz citoplásmica com a espessura de 75-120 nm. Cada um dos elementos das lamelas aneladas apresenta também dois folhetos densos relativamente paralelos (de 6-7 nm de espessura cada um), separados por um intervalo de 30-40 nm de largura quase transparente aos electrões. Em determinadas regiões, os folhetos de cada elemento ligam-se um ao outro. As áreas de união aparecem electronicamente densas como ânnulos regularmente distribuídos em cortes tangenciais (figura n.º 16). Associados com alguns elementos das lamelas aneladas observam-se grãos densos aos electrões com 10-20 nm de diâmetro (ribosomas).

Lamelas citoplásmicas

As lamelas citoplásmicas aparecem pela 1.^a vez no citoplasma do oócito em estado de folículo bilaminar (figuras n.ºs 1 e 2). Observam-se dispersas ao acaso na matriz citoplásmica, são densas aos electrões, têm comprimento variável e estruturalmente formadas de pequenos grânulos. Dispõem-se em elementos simples e duplos. Os elementos duplos são menos numerosos e estão separados um do outro por um intervalo de 25 nm quase transparente aos electrões.

No estado de folículo multilaminar (figuras n.ºs 7 e 8), as LA encontram-se dispersas na matriz citoplásmica também em elementos simples e duplos, todavia existe um maior número de elementos duplos do que no estado precedente.

No estado de folículo de Graaf (figuras n.ºs 11, 12, 13 e 14) as lamelas citoplásmicas apresentam estrutura idêntica ao estado precedente. Distribuem-se uniformemente em número considerável pela matriz citoplásmica, havendo predomínio de elementos duplos.

FIG. N.º 1 — OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM DEZOITO DIAS DE IDADE.

A micrografia de luz mostra (corte semifino de um folículo bilaminar) um ovócito rodeado por duas camadas de células foliculares poliédricas.

- N — Núcleo
- C — Citoplasma
- M — Nucléolo
- ZP — Zona pelúcida
- F — Célula folicular
- MB — Membrana basal

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Azul de toluidina a 1%

Ampliação: 1 000 ×

FIG. N.º 2 — FOLÍCULO BILAMINAR DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM DEZOITO DIAS DE IDADE.

A presente micrografia electrónica mostra o citoplasma de um ovócito de 1.ª ordem. Distinguem-se as mitocôndrias (MI), dispostas à volta de uma substância densa aos electrões (substância intermitocondrial), as lamelas citoplásmicas (L) com os elementos simples e duplos, as cisternas de retículo endoplásmico rugoso (RE), o aparelho de Golgi (G), a zona pelúcida (Z) e os ribosomas (R).

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 9 000 ×

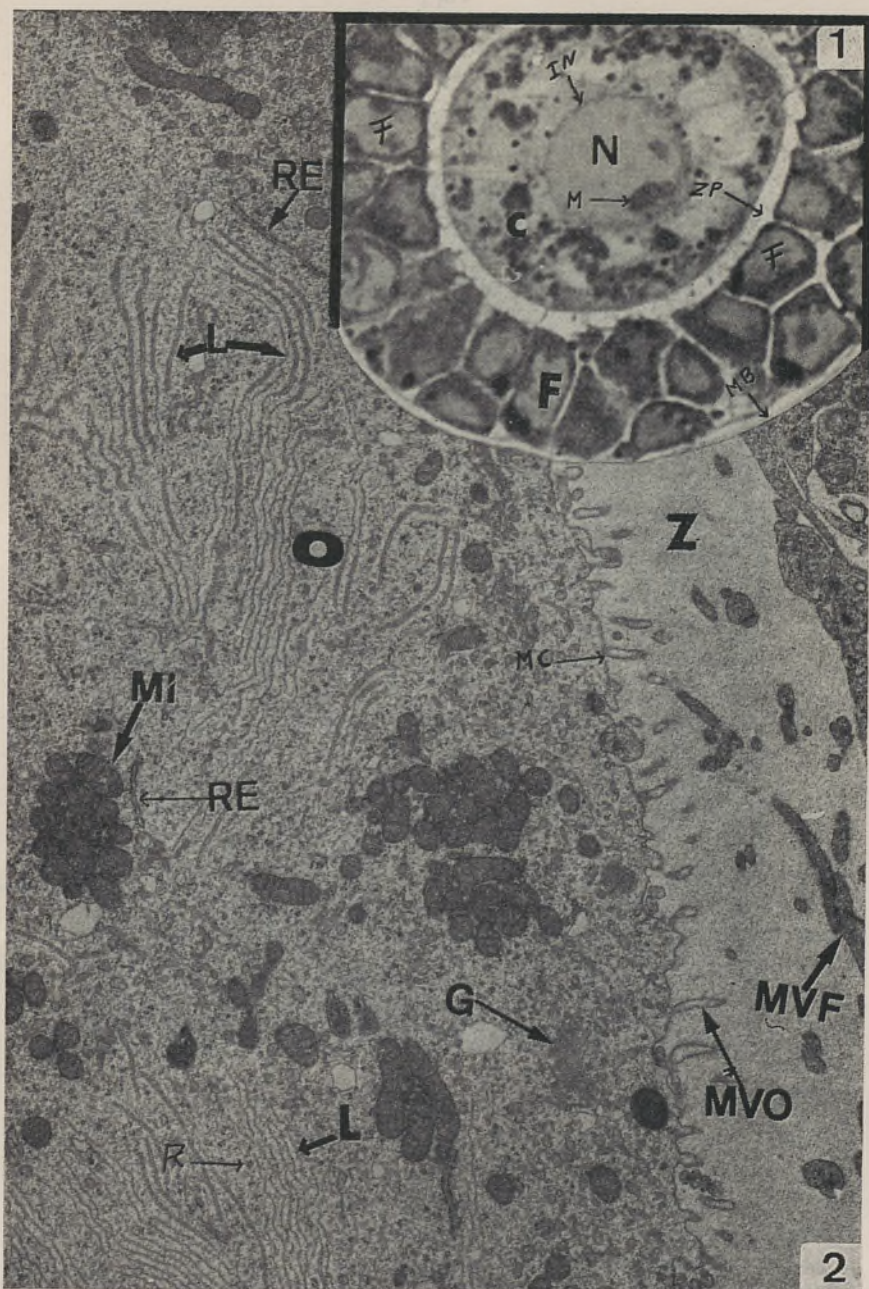




FIG. N.º 3 — OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM VINTE E QUATRO DIAS DE IDADE.

A micrografia de luz mostra um corte semifino de um foliculo multilaminar.

Distingue-se o epitélio folicular com várias camadas de células foliculares prismáticas, a zona pelúcida e o ovócito de 1.^a ordem com o núcleo localizado excentricamente.

- N — Núcleo
- C — Citoplasma
- m — Nucléolo
- z — Zona pelúcida
- g — Células foliculares
- mb — Membrana de Slavjanski
- t — Células da teca interna

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Azul de toluidina a 1%

Ampliação: 346,5 ×

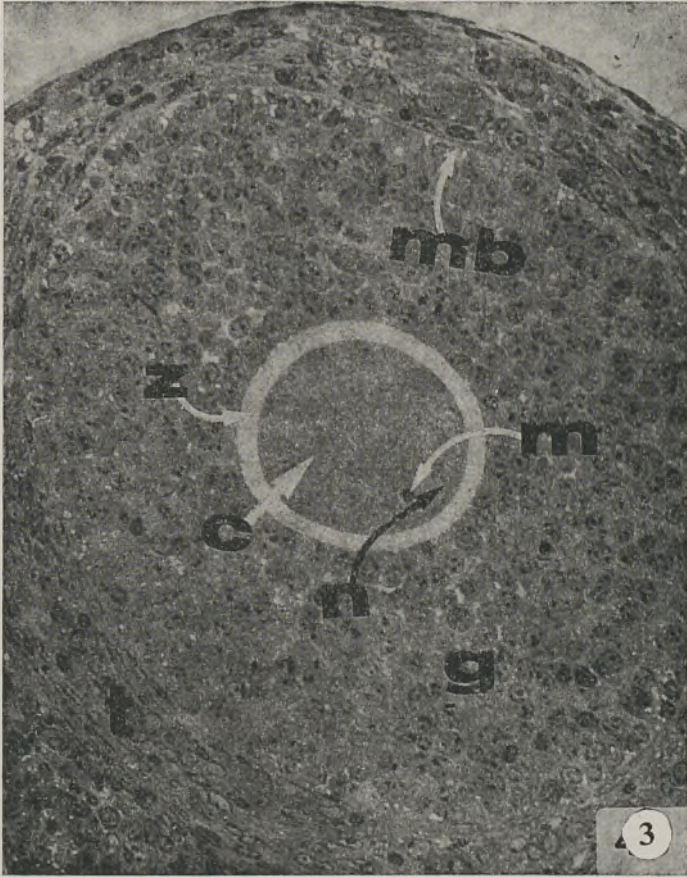


FIG. N.º 4 — FOLÍCULO MULTILAMINAR DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM VINTE E QUATRO DIAS DE IDADE.

A micrografia electrónica mostra no citoplasma do ovócito de 1.^a ordem as lamelas aneladas (LA), dispostas em pilhas de cinco elementos. Cada elemento (E) é constituído por dois folhetos relativamente paralelos, separados por um espaço de 30-40 nm de espessura. No seu trajecto observam-se descontinuidades ou poros (P). Associados com alguns elementos das LA, observam-se grãos densos aos electrões com 10-20 nm de diâmetro (ribosomas).

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 36 000 ×

FIG. N.º 5 — FOLÍCULO MULTILAMINAR DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM VINTE E SETE DIAS DE IDADE.

A figura mostra no ovócito de 1.^a ordem lamelas aneladas (LA), dispostas em pilhas de sete elementos

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 36 000 ×

FIG. N.º 6 — FOLÍCULO MULTILAMINAR DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM VINTE E OITO DIAS DE IDADE.

Observam-se as lamelas aneladas (LA), dispostas em pilhas de oito elementos, no citoplasma de um ovócito de 1.^a ordem de um folículo multilaminar.

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 24 000 ×

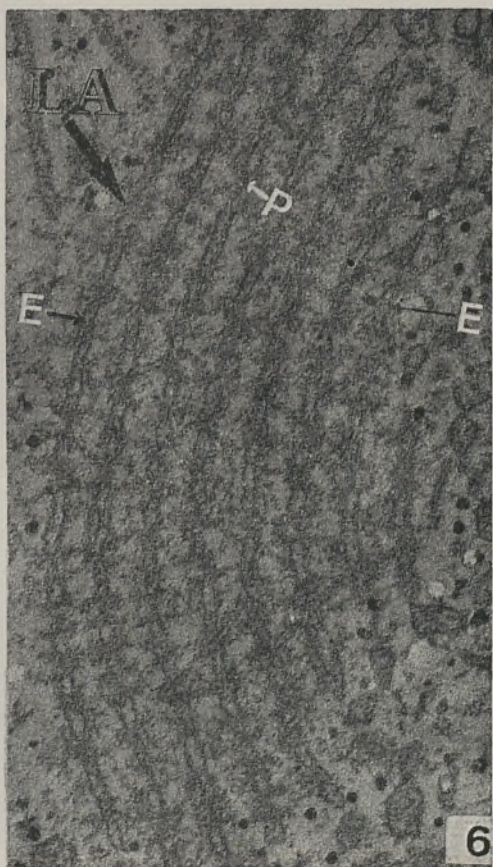
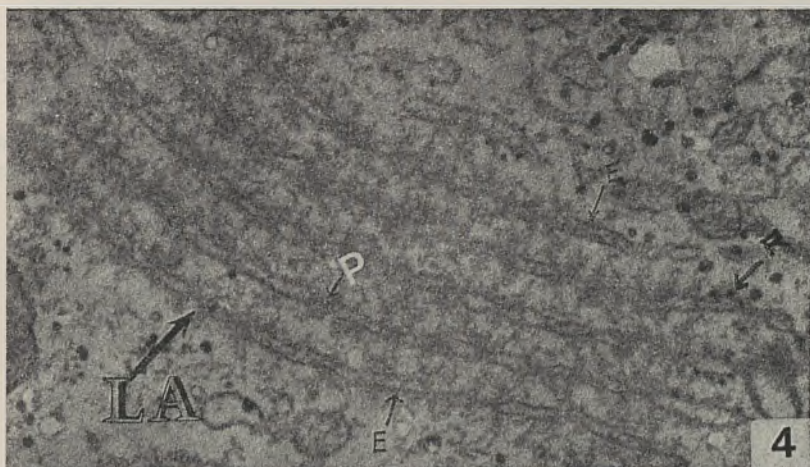


FIG. N.º 7 — FOLÍCULO MULTILAMINAR DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM VINTE E SEIS DIAS DE IDADE.

A micrografia electrónica mostra o citoplasma de um ovócito de 1.^a ordem de um folículo multilaminar. Observam-se no interior de cisternas de retículo endoplásmico rugoso (RER), os elementos simples das lamelas citoplásmicas (LC).

C — Citoplasma
 LC — Lamelas citoplásmicas
 RER — Reticulo endoplásmico rugoso
 Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio
 Inclusão: Epon₈₁₂
 Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo
 Ampliação: 38 000 ×

FIG. N.º 8 — FOLÍCULO MULTILAMINAR DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM VINTE E CINCO DIAS DE IDADE.

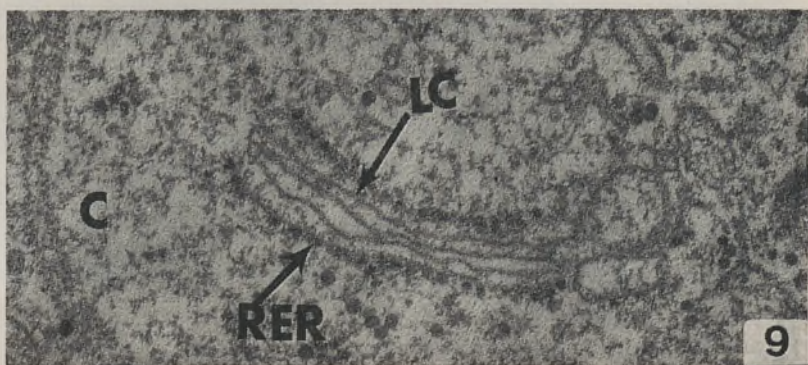
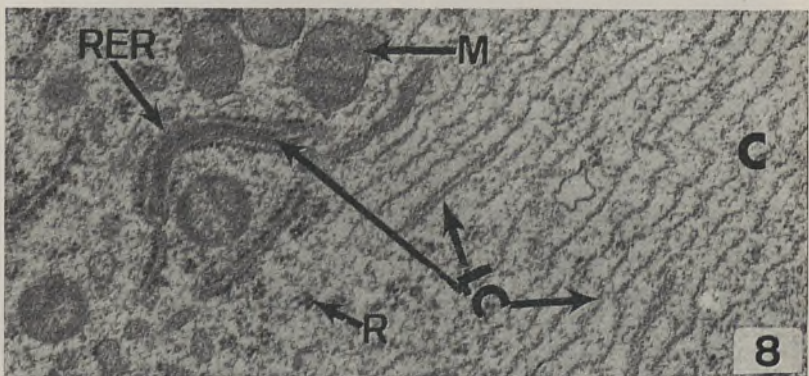
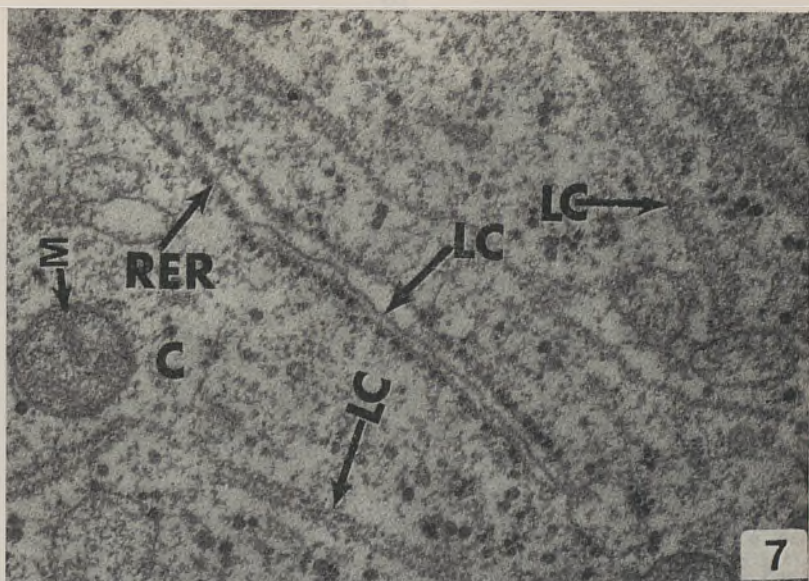
A micrografia electrónica mostra no interior de cisternas de retículo endoplásmico rugoso, elementos simples das lamelas citoplásmicas.

C — Citoplasma
 RER — Reticulo endoplásmico rugoso
 R — Ribosoma
 LC — Lamela citoplásmica
 M — Mitocôndria
 Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio
 Inclusão: Epon₈₁₂
 Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo
 Ampliação: 27 000 ×

FIG. N.º 9 — FOLÍCULO MULTILAMINAR DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM VINTE E SEIS DIAS DE IDADE.

A micrografia electrónica mostra parte do citoplasma de um ovócito de 1.^a ordem de um folículo multilaminar. Observam-se as lamelas citoplásmicas (LC) no interior das cisternas do retículo endoplásmico rugoso (RER).

C — Citoplasma
 LC — Lamelas citoplásmicas
 RER — Reticulo endoplásmico rugoso
 Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio
 Inclusão: Epon₈₁₂
 Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo
 Ampliação: 52 000 ×



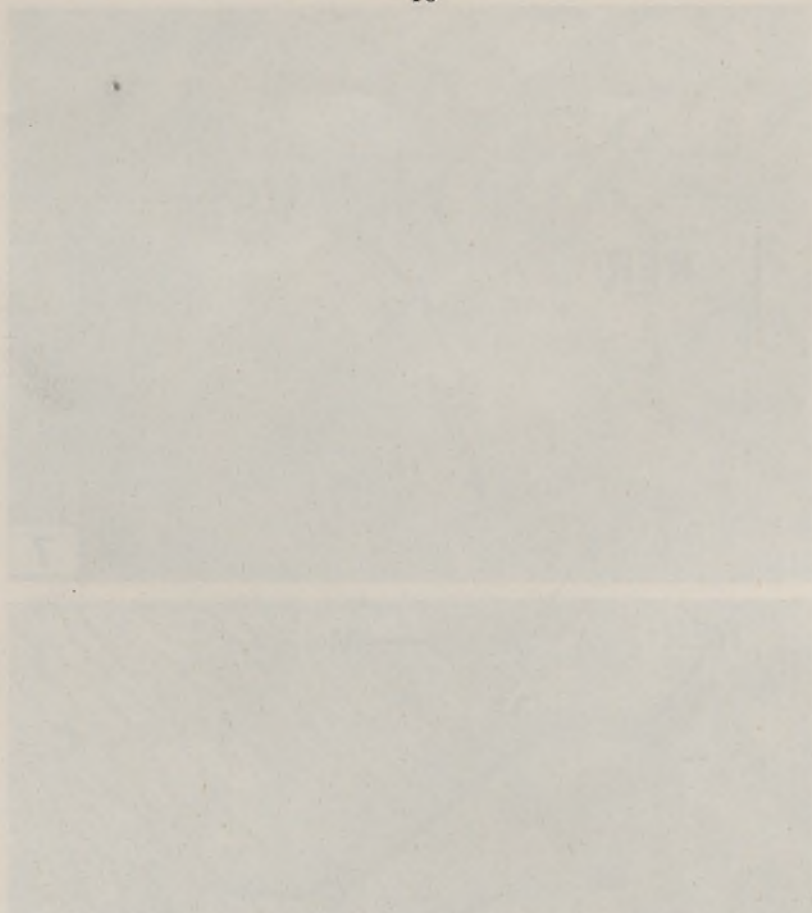


FIG. N.º 10 — OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM TRINTA E DOIS DIAS DE IDADE.

A presente micrografia de luz mostra um corte semifino do folículo de Graaf. Distingue-se no ovócito de 1.ª ordem (O) o núcleo (N) em início de pro-metáfase.

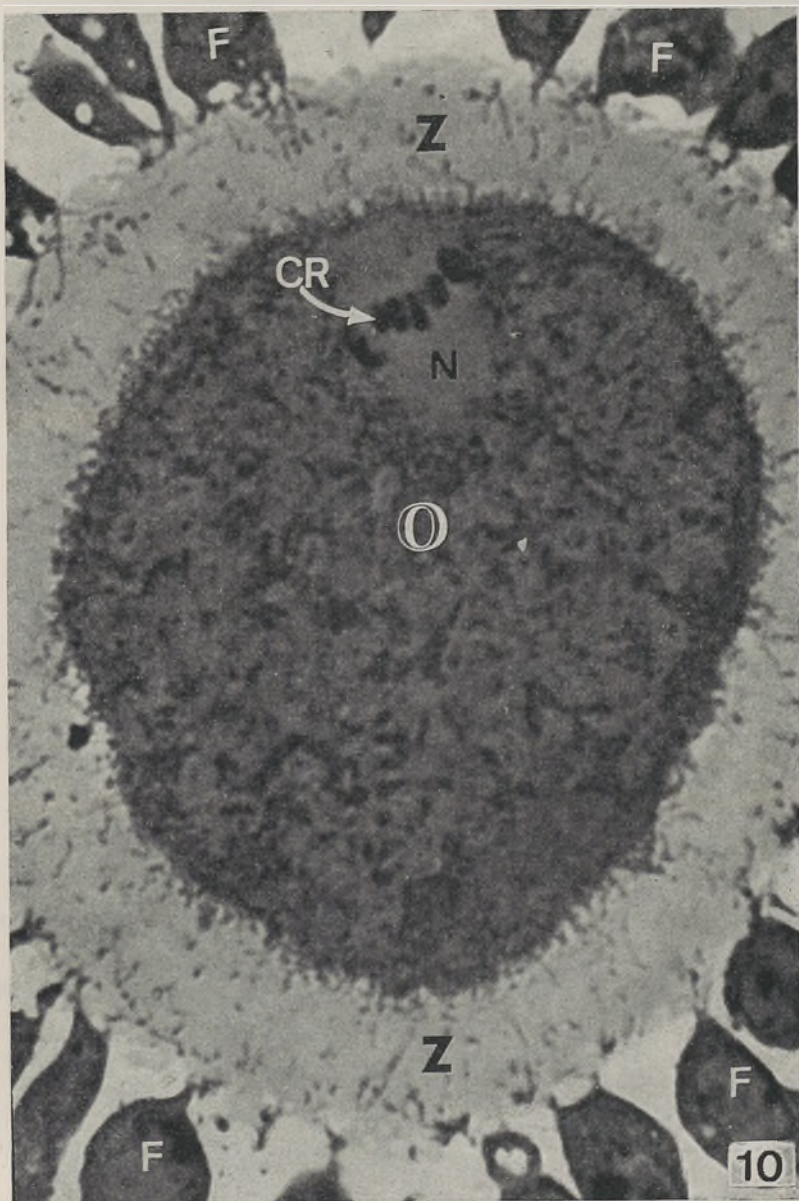
- O — Ovócito
- Z — Zona pelúcida
- F — Células foliculares
- N — Núcleo
- CR — Cromosomias

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Azul de toluidina a 1%

Ampliação: 2 200 ×





FIGS. N.ºS 11, 12 e 13 — FOLÍCULO DE GRAAF DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM TRINTA E DOIS DIAS DE IDADE.

No ooplasma observam-se as lamelas citoplásmicas (LC) simples e duplas, e os ribosomas livres (R).

- O — Citoplasma
- LC — Lamelas citoplásmicas
- R — Ribosomas

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 27 000 ×, 42 000 × e 24 000 ×

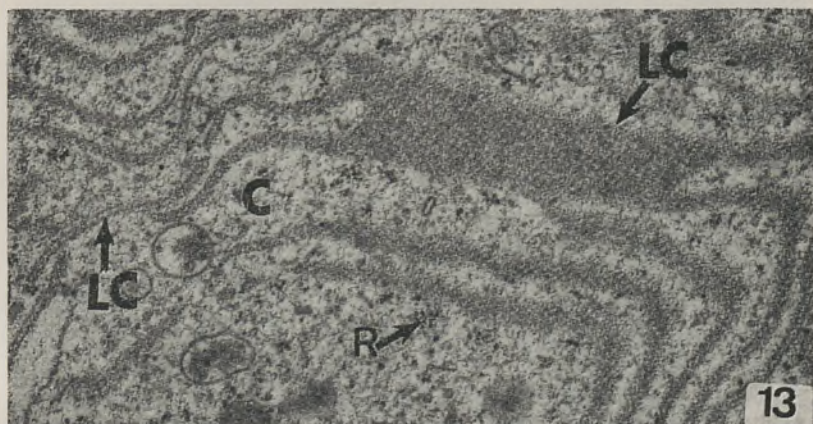
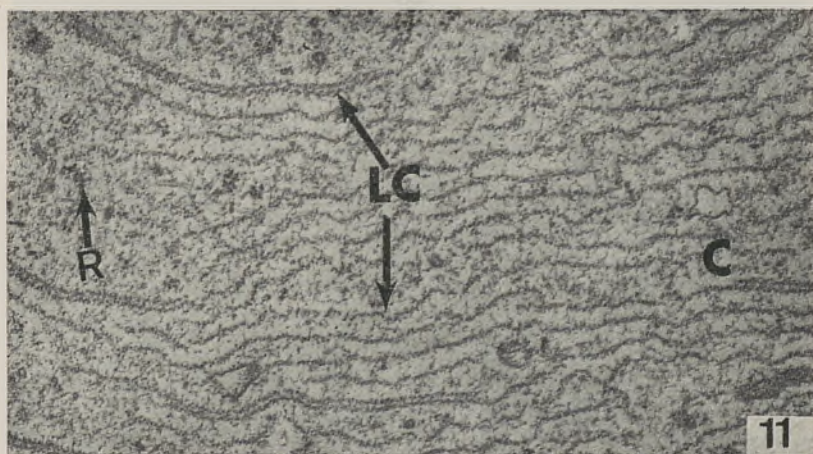


FIG. N.º 14 — FOLÍCULO DE GRAAF DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM QUARENTA E DOIS DIAS DE IDADE.

A micrografia electrónica mostra no citoplasma de um ovócito de 1.^a ordem, lamelas aneladas (LA) dispostas em pilhas de nove elementos.

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 36 000 ×

FIG. N.º 15 — FOLÍCULO DE GRAAF DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM CINQUENTA DIAS DE IDADE.

A micrografia electrónica mostra no citoplasma de um ovócito de 1.^a ordem, de um folículo de Graaf, lamelas aneladas (LA) dispostas em pilhas de vinte elementos. Cada elemento (E) é constituído por dois folhetos relativamente paralelos, com 6-7 nm de espessura separados por um espaço de 30-40 nm; no seu trajecto observam-se poros (P). Associados com alguns elementos das LA observam-se grãos densos aos electrões com 10-20 nm de diâmetro (ribosomas).

R — Ribosomas

E — Elemento

C — Citoplasma

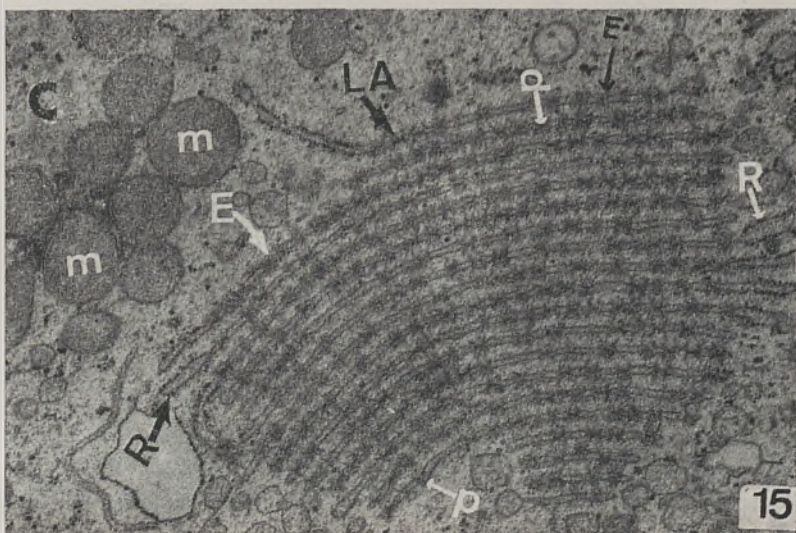
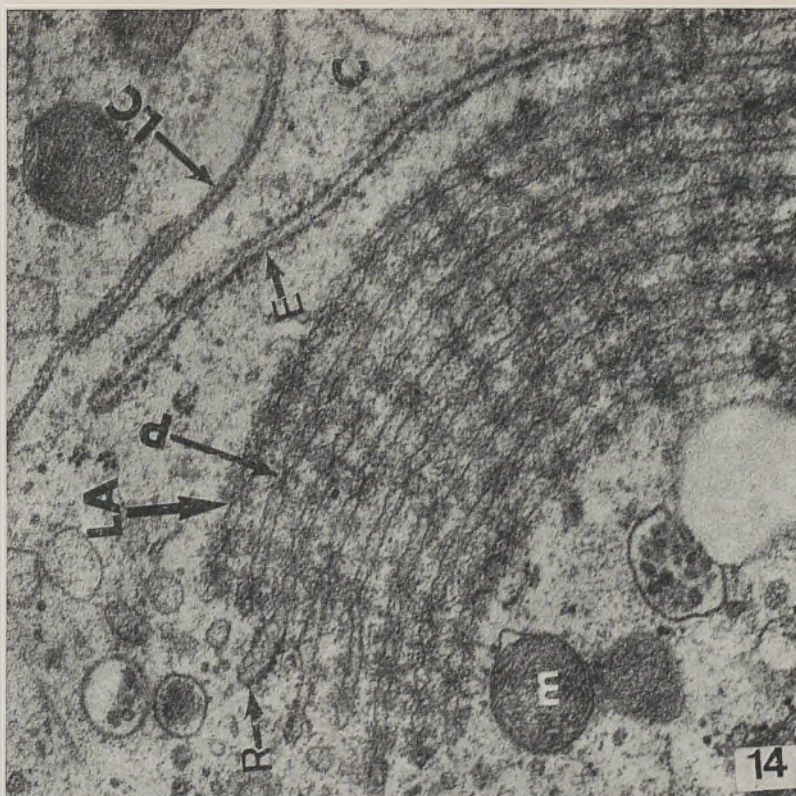
P — Poro

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 18 000 ×






FIG. N.º 16 — FOLÍCULO DE GRAAF DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM CINQUENTA DIAS DE IDADE.

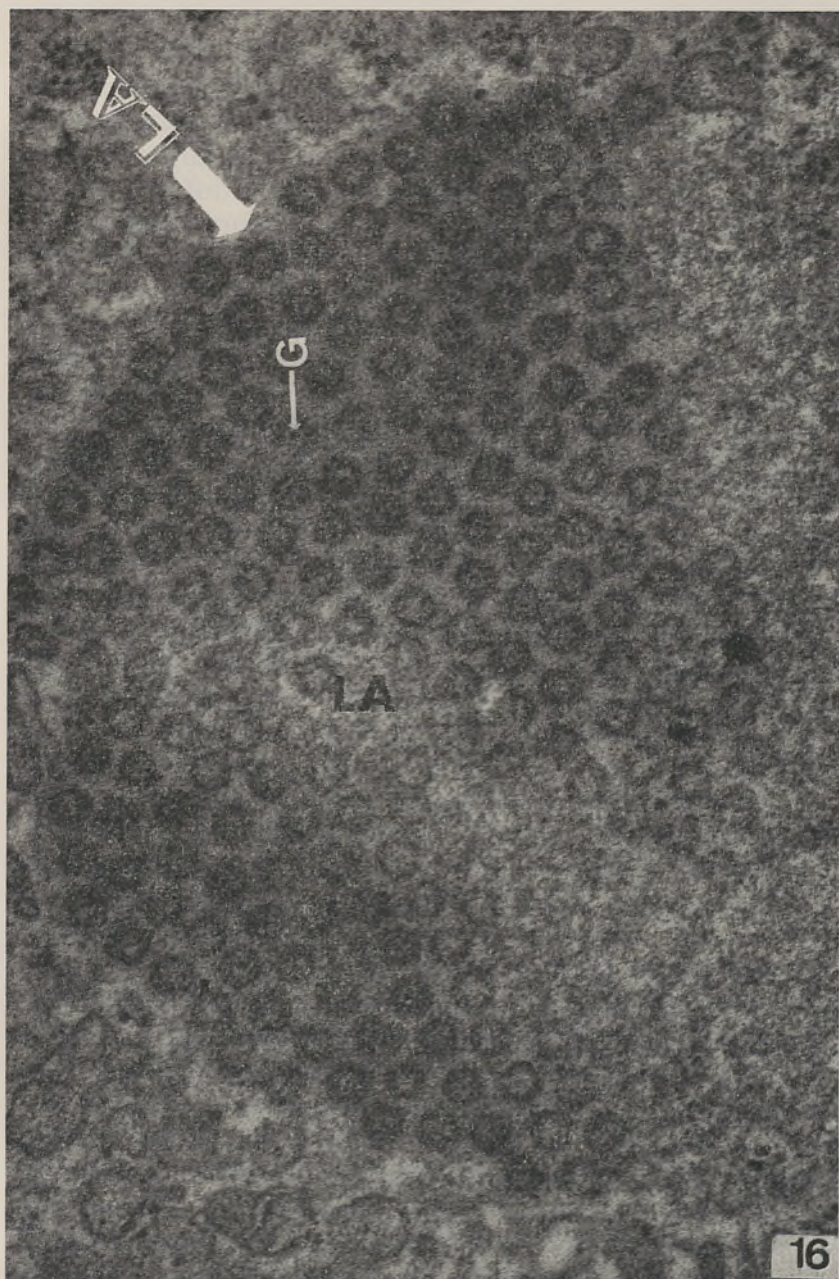
A micrografia electrónica mostra no citoplasma de um ovócito de 1.^a ordem, de um folículo de Graaf, as lamelas aneladas (LA), seccionadas tangencialmente.

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 42 000 ×



DISCUSSÃO

Lamelas aneladas

Considerando as semelhanças estruturais entre as lamelas aneladas e o invólucro nuclear, não é de surpreender que todas as hipóteses sobre a origem das lamelas aneladas envolvam o invólucro nuclear de uma maneira ou de outra. Afzelius (2) considerou a possibilidade de este sistema lamelar representar os fragmentos do invólucro nuclear que ficassem no citoplasma após a mitose. Gay (4) sugeriu que o núcleo pode produzir material que passa através do invólucro nuclear, formando uma membrana ao chegar à matriz citoplásmica. Swift (16) sugeriu três possíveis mecanismos para a origem das lamelas aneladas; estes mecanismos incluem: *a*) fragmentação do invólucro nuclear; *b*) síntese a nível do invólucro nuclear, actuando a membrana nuclear externa como molde e *c*) formação independente do invólucro nuclear.

Merrian (10) sugeriu um fenómeno de vesiculação da membrana nuclear interna para o interior do núcleo, originando vesículas intranucleares. Por fusão destas formava-se uma lamela simples no nucleoplasma, que eventualmente passava para a matriz citoplásmica durante a desintegração do invólucro nuclear. Rebhum (14) sugeriu que as lamelas aneladas aparecem por um processo de delaminação directa do invólucro nuclear.

Okada e Waddington (11) apresentaram ainda uma outra origem. Notaram um aumento do invólucro nuclear nas «nurse cells» (células nutridoras) que envolvem os oócitos de *Drosophila melanogaster* e afirmam que as lamelas aneladas se formavam a partir de fragmentos do invólucro nuclear das células nutridoras que passaram para a matriz citoplásmica do oócito.

Em todos os casos mencionados não se observaram suficientes estados da sequência proposta para a formação de lamelas aneladas de modo a proporcionarem uma demonstração inequívoca dos métodos envolvidos na sua origem.

Kessel foi o primeiro a dar uma informação completa respeitante à origem das lamelas aneladas, com trabalhos efectuados em oócitos de *Necturus* (6), de Equinodermes (7) e de Tunicados (8). Este autor demonstrou citologicamente que existem dois processos de formação das lamelas aneladas a partir do invólucro nuclear. Num, a membrana externa do invólucro nuclear forma inicialmente estreitas projecções digitiformes que se destacam sob a forma de vesículas para o ectoplasma onde se dispõem linearmente, achatando-se e acabando por formar os elementos típicos das lamelas aneladas; no outro as lamelas aneladas originam-se por uma duplicação do invólucro nuclear.

Acontece que no presente trabalho nunca se observaram aspectos morfológicos idênticos aos descritos por Kessel, nem de qualquer Autor. Como observei com bastante frequência cisternas de retículo endoplásmico granular dispostas paralelamente umas às outras na matriz citoplásmica (figuras n.ºs 4, 5, 6, 14 e 15) em que os ribosomas aderentes à superfície externa deixavam de se observar à medida que se diferenciavam em lamelas aneladas, formando as pilhas características, afirmo que as lamelas aneladas no *Criceto* dourado se originam do retículo endoplásmico granular.

A semelhança estrutural das lamelas aneladas com o invólucro nuclear sugere também uma função estreitamente associada (9). As provas de que as lamelas aneladas contêm ribosomas aderentes levaram Swift (16) a propor que exercem uma função importante na transferência e acumulação da informação genética.

Como se observam predominantemente nas células embrionárias, germinais e neoplásicas, Wischnitzer (21) emitiu a hipótese de que devem estar relacionadas com a síntese proteica.

Como no presente trabalho somente observei lamelas aneladas nos estados finais da ovogênese (estado multilaminar do folículo e folículo de Graaf) penso que as lamelas aneladas constituem um «stock» de membranas com funções semelhantes à do invólucro nuclear, necessárias durante as primeiras fases da embriogênese.

Lamelas citoplásmicas

As lamelas citoplásmicas foram observadas somente a partir do estado bilaminar do folículo. Aparecem como fiadas de elementos simples e duplos a formar lamelas simples e duplas respectivamente.

Uma revisão da literatura (19) mostra que a origem destas estruturas é completamente desconhecida. Acontece porém que no presente trabalho encontrei na matriz citoplásmica dos oócitos em estado bilaminar e multilaminar (figuras n.ºs 7, 8 e 9) cisternas de retículo endoplásmico granular contendo no interior um a três elementos de comprimento variável, densos, de morfologia semelhante aos elementos simples das lamelas citoplásmicas; este aspecto morfológico leva-me a afirmar que pelo menos no *Criceto dourado*, a origem das lamelas citoplásmicas, está relacionada com o retículo endoplásmico granular. O que me leva a propor o seguinte mecanismo de formação das lamelas citoplásmicas: as proteínas uma vez sintetizadas no retículo endoplásmico rugoso passam para o interior das cisternas e sofrem um processo de polimerização originando os elementos típicos das lamelas citoplásmicas.

Ignora-se a função das lamelas citoplásmicas, embora se possam relacionar com uma reserva de material proteico necessário nas fases finais da ovogênese altura em que a síntese proteica decai (19).

RESUMO

São característicos dos oócitos do Criceto os sistemas de lamelas (*annulate lamellae* e lamelas citoplásmicas) que se observam no citoplasma. O número e aspecto destas formações variam com o desenvolvimento do oócito. No decurso de um trabalho, tendo por finalidade o estudo da ovogénese, o A. observou a estrutura, relações e variações sofridas pelos dois sistemas de lamelas. São essas observações que se transmitem. O material utilizado (ovários de Criceto) foi, na maior parte, fixado pelo glutaraldeído a 3% (t. Millonig, pH 7,3), seguido de ácido ósmico a 2%. Algum material foi tratado pelo fixador de DALTON. Após inclusão (Epon 812), fizeram-se cortes (*ULTRATOME*) que, depois de corados (acetato de uranilo e citrato de chumbo), foram observados num ELMISKOP 1 A (80 Kv). De todas as colheitas foram feitos cortes para observação ao m. óptico.

Lamelas aneladas — Foram observadas em oócitos em estado avançado de maturação. Cada elemento é constituído por dois folhetos relativamente paralelos, com uma espessura de 6-7 nm (unit membrane), separados por um espaço de 30-40 nm. No seu trajecto observam-se descontinuidades ou poros. Em cortes tangenciais as descontinuidades têm aspecto semelhante aos annulus da invólucro nuclear, observando-se nalguns um grânulo de 20 nm. As *annulate lamellae* dispõem-se em pilhas de cinco a vinte elementos separados por intervalos de 75-120 nm. Associados com alguns elementos observam-se ribosomas.

Lamelas citoplásmicas — Estas estruturas que têm sido descritas sob diversas designações (redes paracrísticas, filamentos, espirais) são formadas por lamelas de 16-25 nm de espessura, trajecto ondulante e estrutura granular. Não se observaram nos folículos unilaminares,

nos folículos bilaminares são em pequeno número e nos folículos multilaminares observam-se com maior frequência. Dispõem-se quase paralelamente umas às outras, separadas por intervalos variáveis. Nesta fase notam-se elementos associados em pares separados por um espaço de 25 nm. Em fases avançadas da ovogênese (folículo de Graaf), as lamelas citoplásmicas mais abundantes constituem grupos com maior número de elementos.

As hipóteses relativas à origem e função destas estruturas são discutidas.

SUMMARY

Systems of lamellae (annulate lamellae and cytoplasmic lamellae) are characteristic elements of the cytoplasm of the hamster oocyte. The appearance and number of these structures vary with the developmental stage of the oocyte. In a study on hamster Oogenesis, the structure and modifications of these systems of lamellae have been studied. The material used (hamster ovaries), has been fixed in 3% glutaraldehyde (Millonig's buffer pH 7,3) followed by 2% osmium tetroxide. Occasionally some material has been fixed in a chromo-osmium fixative (Dalton). After embedding (Epon 812) thin sections were cut (Ultratome) and stained (uranyl acetate-lead citrate). They were observed in an Elmiskop 1 A (80 Kv). Thick sections were made for observation in light microscopy.

Annulate lamellae — The have been observed only in mature oocytes. Each element is formed by a pair of parallel membranes presenting the unit membrane structure. In their trajet they have discontinuities similar to the pores of the nuclear envelope. Those discontinuities have also been observed in tangential sections and, like the annulus of the n. membrane, they present, sometimes, a dense central granule (20 nm).

Cytoplasmic lamellae — These structures previously reported under various names (paracrystalline lattices, filaments, cytoplasmic whorls), are formed by undulating pairs of parallel lamellae (16-25 nm thick) presenting in tangential section a granular structure sometimes with a crystalline-like appearance. They have not been observed in the oocytes of the unilaminar follicles. Some have been seen in the oocytes of the bilaminar follicles. In the oocytes of the multilaminar follicles, the cytoplasmic lamellae are more abundant and parallel to one another. In that stage some lamellae are grouped in pairs separated by a 25 nm clear space. In the oocytes of mature follicles the cytoplasmic lamellae are more frequent and associated in groups of more than two elements.

The origin and function of these structures are discussed.

BIBLIOGRAFIA CITADA

1. ADLER, S. — *Origin of the golden hamster Cricetus auratus as a laboratory animal.* «Nature», 162 (4), III, 256-7, 1948.
2. AFZELIUS, B. A. — *The ultrastructure of the nuclear membrane of the sea urchin oocyte as studied with the electron microscope.* «Exptl. Cell Res.», 8, 147, 1955.
3. BALINSKY, B. I. e DEVIS, R. J. — *Origin and differentiation of cytoplasmic structures in the oocytes of Xenopus laevis.* «Acta Embryol. Morphol. Exptl.», 6, 55, 1963.
4. GAY, H. — *Nucleo-cytoplasmic relations in salivary gland cells of Drosophila.* «Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.», 41, 370, 1955.
5. HADEK, R. — *Cytoplasmic whorls in the golden hamster oocyte.* «J. Cell Sci», 1, 281-282, 1966.
6. KESSEL, R. G. — *The formation and subsequent differentiation of cytoplasm vesicles in oocytes of Necturus.* «Anat. Rec.» 145, 363, 1963.
7. — — — *Electron microscope studies on oocytes of an echinoderm, Thyone briarens, with special reference to the origin and structure of the annulate lamellae.* «J. Ultrastruct. Res.» 10, 498, 1964.
8. — — — *Intranuclear and cytoplasmic annulate lamellae in tunicate oocytes.* «J. Cell Biol.», 24, 471, 1965.
9. — — — *Annulate lamellae.* «J. Ultrastruct. Res.», Suppl., 10, 1-82, 1968.
10. MERRIAN, R. W. — *The origin and fate of annulate lamellae in maturing and dollar eggs.* «J. Biophys. Biochem. Cytol.» 5, 117, 1959.
11. OKADA, E. e WADDINGTON, C. H. — *The submicroscopic structure of the Drosophila egg.* «J. Embryol. Exptl. Morphol.» 7, 583, 1959.
12. PALADE, G. E. — *Studies on the endoplasmic reticulum. II. Simple dispositions in cells in situ.* «J. Biophys. Biochem. Cytol.» 1, 567, 1955.
13. PASTEELS, J. J., CASTIAUX, P. e VANDERMURSSCHE, G. — *Cytochemical localizations and ultrastructure in the fertilized unsegmented egg of Paracentrotus lividus.* «J. Biophys. Biochem. Cytol.» 4, 575, 1958.
14. REBHUN, L. I. — *Some electron microscope observations on membranous basophilic elements of invertebrate eggs.* «J. Ultrastruct. Res.» 5, 208, 1961.

15. SZOLLOSI, D. — *Development of «yolky substance» in some rodent eggs.* «Anat. Rec.» 151, 424, 1965.
16. SWIFT, H. — *The fine structure of annulate lamellae.* «J. Biophys. Biochem. Cytol. Suppl.» 2, 418, 1956.
17. WEAKLEY, B. S. — *Electron microscopy of the oocyte and granulosa cells in the developing ovarian follicles of the golden hamster (Mesocricetus auratus).* «J. Anat.» 100, 503-534, 1966.
18. — — *Investigations into the structure and fixation properties of cytoplasmic lamellae in the hamster oocyte.* «Z. Zellforsch.» 81, 91-99, 1967.
19. — — *Initial stages in the formation of cytoplasmic lamellae in the hamster oocyte and the identification of associated electron-dense particles.* «Z. Zellforsch.» 97, 438-448, 1969.
20. WESSEL, W. e BERNHARD, W. — Cit. em Kessel (9).
21. WISCHNITZER, S. — *The annulate lamellae.* «Int. Rev. Cytol.» 27, 65-97, 1970.

FOLIA ANATOMICA VNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

VOL. XLIII

N.º 7

LINFÁTICOS SUB-EPICÁRDICOS VENTRICULARES DO CÃO

J. A. ESPERANÇA PINA

Professor-Agregado de Anatomia da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

ABEL SAMPAIO TAVARES

Professor-Catedrático de Anatomia Topográfica da Faculdade de Medicina
da Universidade do Porto

INTRODUÇÃO

Os vasos linfáticos cardíacos no Cão distribuem-se por três redes, em comunicação umas com as outras. Todos os autores estão de acordo quanto à existência das redes linfáticas subendocárdica e subepicárdica. A presença de vasos ou capilares linfáticos no miocárdio foi também demonstrada, mas a sua origem e a maneira como se faz a continuidade com as duas redes adjacentes não estão completamente esclarecidas.

Com efeito, a revisão bibliográfica põe em evidência pontos insuficientemente estudados ou discordantes. Tentámos esclarecê-los com o presente estudo pelo qual se procurou obter o padrão normal da disposição das redes linfáticas subepicárdicas ventriculares nessa espécie.

Procurámos estabelecer este padrão para o podermos comparar com os aspectos obtidos, quando «in vivo», executámos laqueações arteriais, venosas ou linfáticas.

A revisão da literatura sobre os linfáticos cardíacos revela que este sistema é pouco conhecido nos seus pormenores, possivelmente por limitações e dificuldades das técnicas da sua visualização. O pequeno tamanho, a delicadeza de tais estruturas e a presença de válvulas dificulta a injeção por cateterização. A melhor demonstração é ainda a injeção indirecta em várias zonas subepicárdicas de ambos os ventrículos.

Todos aqueles que se têm dedicado à medição do fluxo linfático cardíaco, ou ainda a outros estudos experimentais, têm obtido resultados divergentes. Isso deve-se não só a conhecimentos pouco precisos da anatomia do sistema linfático subepicárdico, bem como, e sobretudo ao número e localização dos colectores linfáticos principais, que drenam a linfa cardíaca. Assim, uns autores, nas suas experiências, têm laqueado ou cateterizado apenas um tronco único, resultante da união de dois colectores linfáticos principais; outros têm verificado a existência de dois troncos independentes, drenando cada um determinado território cardíaco; a ainda outros, além dos dois troncos independentes, descrevem um terceiro, que drena a face posterior do coração.

Procuramos assim estudar, no presente trabalho, qual a disposição destas estruturas, como base de estudos funcionais das obstrucções linfáticas ou venosas e consequente repercussão cardíaca.

REVISÃO HISTÓRICA

O primeiro trabalho sobre linfáticos cardíacos no Cão parece ter sido realizado em 1653, por RUBDECK (1). Observou e descreveu estes vasos, tendo dissecado alguns linfáticos subepicárdicos que constituíam vasos aferentes de grupos ganglionares mediastínicos.

Em 1692, NUCK (2) utilizou a técnica de injeção directa de linfáticos com mercúrio, conseguindo preenchimento de maior número de linfáticos subepicárdicos.

Em 1833, FOHMANN (3) deu maior incremento ao estudo dos linfáticos, ao utilizar um método de punção indirecta consistindo na injeção intra-miocárdica de mercúrio e com bastante pressão; a hiperpressão levava à rotura dos linfáticos e o mercúrio passava para dentro do seu lume. Esta técnica permitiu encher capilares e pequenos vasos linfáticos subepicárdicos.

Em 1866, EBERTH e BELAJEFF (4) empregaram na visualização dos linfáticos o método da injeção indirecta e o da impregnação pela prata, tendo injectado ainda os vasos sanguíneos com soluções coradas. Não observaram em diferentes mamíferos grandes diferenças na distribuição das redes linfáticas, embora tivessem tentado estabelecer para cada animal um padrão típico.

Em 1871, WEDL (5) estudou em vários mamíferos os linfáticos subepicárdicos.

Em 1908, RAINER (6) estudou linfáticos subepicárdicos ventriculares e em 1911, apresentou um estudo comparativo em diversos mamíferos.

Em 1909, MOUCHET (7) fez o estudo até então mais completo destas estruturas. Utilizou a técnica de Gerota com azul da Prússia, tendo injectado corações humanos e de vários animais domésticos. Verificou a existência de dois troncos linfáticos em cada sulco cardíaco. Cada tronco vai lançar-se nos grupos ganglionares inter-tráqueo-brônquicos, terminando o tronco linfático direito no gânglio pré-aórtico e o esquerdo num gânglio situado no flanco esquerdo da artéria pulmonar. Referiu ainda, no Cão e no Cavalo, nódulos linfáticos nos sulcos inter-ventriculares.

Em 1924, AAGAARD (8) escreveu um livro sobre linfáticos, no Homem e nalguns animais. Tendo utilizado a injeção linfática directa, descreveu pormenorizadamente

o plexo subepicárdico e a sua drenagem para nódulos linfáticos regionais.

Em 1939, PATEK (9) comprovou, no Cão, que a drenagem da linfa cardíaca, se fazia por vasos linfáticos satélites dos vasos coronários. Os dois troncos principais situavam-se no sulco aurículo-ventricular e drenavam a linfa do coração direito e esquerdo. Estes dois vasos linfáticos convergiam depois para formar um tronco único com início perto da base da artéria pulmonar, e que receberia toda a linfa cardíaca.

Em 1940, DRINKER, WARREN, MAURER e MCCARREL (10) cateterizaram este tronco único, descrito por PATEK, a montante da entrada deste num gânglio linfático constante e situado entre a veia cava superior e o tronco arterial bráquio-cefálico. Foram de parecer que a linfa captada neste tronco representava a totalidade da linfa cardíaca, tendo-se baseado em dois motivos: as alterações do fluxo e composição da linfa seguiam-se a alterações da actividade cardíaca; quando se injectava o corante no coração, este aparecia unicamente neste tronco.

Em 1963, MILLER (11) utilizando também Cães nas suas experiências, verificou que o maior tronco de drenagem cardíaca passa por baixo da artéria pulmonar, para terminar invariavelmente num gânglio pré-traqueal, perto do início da aorta torácica. Deste gânglio, partem um ou dois troncos linfáticos, que acabam por terminar no gânglio cardíaco descrito por DRINKER, situado entre a veia cava superior e o tronco arterial bráquio-cefálico. A partir deste gânglio, os linfáticos terminavam, na grande veia linfática.

Em 1966, SYMBAS, COOPER, GANTNER JR. e WILLMAN (12) injectaram, «in vivo», 40 animais com uma solução a 0,5% de azul de Evans. Observaram que os pequenos capilares linfáticos vão convergindo para pequenos troncos, que acabam por constituir troncos de maior calibre. Estes alcançam a base do coração, onde se

formam dois troncos independentes. Aquele que acompanha os ramos da artéria coronária esquerda sai do coração entre o apêndice auricular esquerdo e a artéria pulmonar; o que acompanha os ramos da coronária direita situa-se à frente da aorta, passando através da prega pré-aórtica. Ambos os troncos vão para a porção posterior do mediastino superior, para alcançarem o gânglio cardíaco de DRINKER. Por vezes, um terceiro tronco drena a linfa da porção posterior do coração.

Também em 1966, JOHNSON e BLAKE (13) estudaram a anatomia do sistema linfático cardíaco em Porcos, Cães e no Homem, utilizando a técnica de aplicação tópica do peróxido de hidrogénio e ainda técnicas de injeção. A técnica de aplicação do peróxido de hidrogénio produz uma reacção de oxi-redução, com as catalases e peroxidases dos tecidos da linfa; produz oxigénio e água, causando ainda distensão dos linfáticos e vasos sanguíneos que se distinguem pela sua morfologia. Segundo estas observações, no Cão, os linfáticos sub-epicárdicos convergem para troncos mais desenvolvidos, que se encontram no sulco aurículo-ventricular e vão continuar-se com o único colector de toda a linfa cardíaca.

Em 1969, JOHNSON (14) utilizou a visualização dos linfáticos, também com a técnica do peróxido de hidrogénio. Entre vários corações que injectou, utilizou treze de Cão. Também, para este autor, a drenagem da linfa cardíaca é feita por um único colector linfático.

Finalmente em 1971, LEEDS e UHLE (15) dissecando 75 regiões mediastínicas no Cão, verificaram a grande variabilidade, quanto ao número e localização dos vasos e gânglios linfáticos. O gânglio de DRINKER, onde terminam 2 linfáticos aferentes, foi encontrado em cerca de metade dos casos. Contudo, frequentemente, foram encontrados três ou quatro gânglios, tendo sido observados quatro ou cinco troncos linfáticos.

MATERIAL E MÉTODOS DE ESTUDO

Estudamos 25 corações de Cão e utilizamos dois métodos de visualização dos linfáticos sub-epicárdicos ventriculares.

O primeiro, mais fisiológico, consiste na injeção sub-epicárdica «in vivo», lenta e contínua, de uma solução apirogénica de azul de Evans a 1%. Em 5 animais injectamos esta solução, ao nível da ponta, numa zona, a partir da qual se visualizam, com uma única picada, todos os linfáticos sub-epicárdicos ventriculares. Por este método, aproveitando a actividade cardíaca, obtém-se, de um modo mais funcional, a visualização linfática, permitindo ainda uma distribuição do azul de Evans por todos os linfáticos sub-epicárdicos ventriculares. A anestesia dos animais foi feita com pentobarital sódico e éter e a respiração foi assistida com um respirador tipo Oxford. Após toractomia e pericardiomotia injectaram-se, ao nível da ponta os linfáticos sub-epicárdicos ventriculares. Em cada coração injectou-se cerca de 3 cm de azul de Evans, com pressão de injeção constante.

O segundo método utilizado consistiu na injeção de corações, quatro a seis horas depois da morte, tendo esta sido provocada por intoxicação barbitúrica. Durante este tempo os corações permaneceram em soro fisiológico a 37°. A injeção dos linfáticos foi também feita com uma solução apirogénica de azul de Evans a 1%. Praticamos esta técnica em 20 corações.

Este método permitiu-nos adquirir experiência na injeção de linfáticos cardíacos e determinar uma zona a partir da qual com uma ou duas picadas apenas, é possível obter a visualização da maioria dos linfáticos sub-epicárdicos ventriculares. Quando se efectuavam várias injeções, havia grandes difusões de corante, o que levava muitas vezes a dificuldades de interpretação.

Nalguns destes vinte corações após a injeção dos linfáticos, realizámos o preenchimento das artérias e veias

com soluções coradas. O nosso objectivo era podermos distinguir vasos linfáticos das estruturas arteriais e venosas e sobretudo tentar esclarecer a causa do aparecimento, nas veias superficiais do coração, do azul de Evans, injectado nos linfáticos sub-epicárdicos.

OBSERVAÇÕES

A demonstração «in vivo» dos capilares linfáticos sub-epicárdicos ventriculares começa cerca de 2 a 5 segundos após o início da injeção, encontrando-se os vasos linfáticos visualizados ao fim de 30 a 60 segundos.

A maior rapidez de enchimento depende do local de injeção, sendo o preenchimento tanto mais rápido quanto mais aproximada da ponta se pratica; nestas zonas os linfáticos podem ser preenchidos com mais facilidade, dada a sua maior riqueza. À medida que o local de injeção se vai aproximando do sulco aurículo-ventricular, a visualização torna-se mais difícil, pelo facto de os capilares linfáticos se disporem aí em redes de malhas mais largas e menos abundantes.

O tempo que medeia entre a injeção dos linfáticos sub-epicárdicos ventriculares e o desaparecimento total do corante do lume dos vasos, é variável, sucedendo normalmente ao fim de cinco minutos.

Durante a primeira semana, o corante mantém-se no local da injeção e nos grupos ganglionares que recebem os colectores linfáticos principais cardíacos.

Neste trabalho, iremos considerar apenas alguns aspectos da disposição morfológica dos linfáticos sub-epicárdicos ventriculares: a rede plexiforme linfática, os troncos linfáticos de drenagem com alguns gânglios intercalares, os colectores linfáticos principais e os grupos ganglionares que recebem a linfa cardíaca.

I — Rede Plexiforme Linfática

Quando se injectam linfáticos sub-epicárdicos ventriculares, no ponto da picada e após discreta pressão de

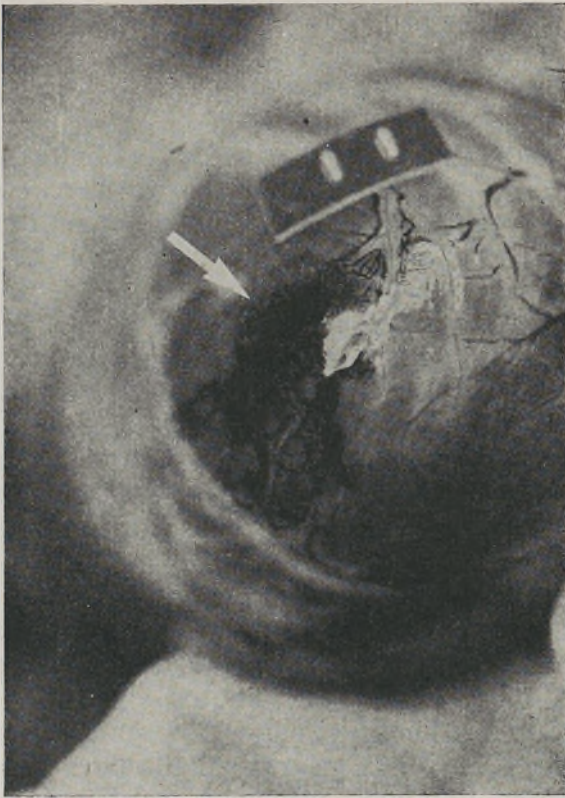


FIG. 1 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

injecção, podemos observar uma mancha do produto injectado, que aos poucos se vai transformando numa densa rede, constituída por capilares linfáticos. Estes capilares acabam por convergir para vasos linfáticos de pequeno calibre.

Ao nível da ponta as redes são muito finas e cerradas, sendo bastante difícil descrever-se-lhes um padrão predominante, tal a variedade e complexidade da sua disposição (Fig. 1, seta).



FIG. 2 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

À medida que se vai subindo o nível da injeccção, estas malhas vão-se tornando mais largas e dão origem, quase imediatamente, a vasos linfáticos de maior diâmetro (Fig. 2, seta).

Estas redes linfáticas encontram-se situadas no tecido conjuntivo sub-epicárdico, localizado entre o miocárdio e o epicárdio. Os capilares linfáticos que as constituem são de morfologia variável, alguns com forma bulbar e de calibre irregular. O seu aspecto varia ainda conforme a região ventricular que se considera, e ainda em zonas idênticas de corações diferentes.



FIG. 3 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

Nestas redes linfáticas os vasos que mostram aproximadamente o mesmo calibre, anastomosam-se, desenhando figuras poliédricas, cujos lados são curvos, muito variáveis quanto ao número e sobretudo quanto à forma (Fig. 1).

Nas malhas mais largas, isto é, nas mais afastadas da ponta do coração, das quais se vê com mais facilidade partir um colector linfático, as redes apresentam a forma de figuras poliédricas mais largas, de forma rectangular ou trapezoidal (Fig. 2, seta).

Pode verificar-se que, uma vez injectada a maioria dos linfáticos sub-epicárdicos ventriculares, é grande o número de anastomoses que os ligam entre si e muito mais desenvolvidas, em tamanho e calibre, nas porções superiores dos ventrículos (Fig. 3, setas).

Não observamos redes linfáticas plexiformes nos sulcos primários do coração e nos seus bordos, encontrando-se aí habitualmente troncos linfáticos bem desenvolvidos (Fig. 3).

Por outro lado, os vasos linfáticos mais finos, talvez por não possuírem válvulas, mostram aspecto homogeneamente cilíndrico (Fig. 4, seta 1) em contraste com os vasos linfáticos mais desenvolvidos que são ampuliformes (Fig. 4, seta 2).

II — *Troncos linfáticos de drenagem*

Os troncos linfáticos de drenagem da rede sub-epicárdica estão, tal como os capilares, no tecido conjuntivo sub-epicárdico. Podemos reparti-los em três grupos, consoante o seu calibre e localização.

Troncos linfáticos de 1.^a ordem — pequenos troncos resultantes da convergência de capilares linfáticos (Fig. 5, seta 1). Não acompanham vasos sanguíneos e convergem uns para os outros, até originarem vasos de calibre um pouco maior, constituindo os troncos de 2.^a ordem.

Troncos linfáticos de 2.^a ordem — troncos com calibre superior aos de 1.^a ordem e resultantes da sua convergência (Fig. 5, setas 2). Acompanham sempre vasos sanguíneos, sendo em geral em número de dois para cada artéria. Terminando em troncos de 3.^a ordem ou nos colectores linfáticos principais, estes últimos drenam geralmente a linfa da porção superior dos ventrículos.

Quando existe apenas um tronco em relação à artéria, este pode situar-se em qualquer dos seus flancos, cruzar



Fig. 4 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

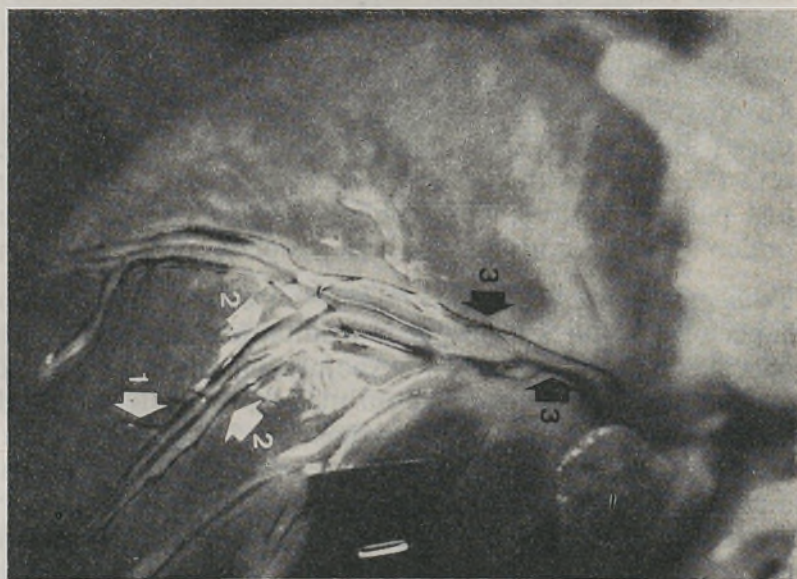


Fig. 5 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

a artéria profundamente ou mais frequentemente à sua superfície. São vasos que se podem anastomosar com outros situados nas regiões vizinhas, quer sejam de 2.^a ou até mesmo de 3.^a ordem.

Troncos linfáticos de 3.^a ordem — caracterizados por um calibre mais desenvolvido e sobretudo pela constância da localização (Fig. 5, setas 3). Durante o seu trajecto, recebem muitos troncos de 2.^a ordem, sendo os mais característicos e desenvolvidos aqueles que estão situados nos sulcos interventricular anterior e posterior, e ainda no bordo esquerdo do coração. As suas relações com os vasos coronários são praticamente constantes. Ao nível da ponta, ou mais exactamente entre esta e o sulco interventricular anterior, na face anterior do ventrículo esquerdo, podemos observar uma extensa rede linfática, que vai originar directamente os troncos linfáticos interventriculares anteriores, posterior e marginal esquerdo. É a este nível que praticamos de preferência as nossas injecções.

O *tronco interventricular anterior*, situado no sulco do mesmo nome, é habitualmente único, nalguns casos duplo. Quando se encontra apenas um, costuma originar-se ao nível da ponta e situar-se de início à direita dos vasos interventriculares anteriores. Perto do 1/3 médio do sulco interventricular cruza esses vasos, para depois se colocar à esquerda deles, até alcançar a porção anterior e esquerda do sulco aurículo-ventricular. Durante o seu trajecto recebe vários linfáticos de 2.^a ordem, provenientes da face anterior do ventrículo esquerdo e da porção inferior da face anterior do ventrículo direito.

Entre os vasos provenientes do ventrículo esquerdo recebe um tronco, que, constantemente encontramos e denominamos por tronco ventricular antero-esquerdo. É satélite da artéria ventricular antero-esquerda (Fig. 6, seta 1).

Quando existem dois troncos interventriculares anteriores (Fig. 6, setas 2 e 3), cada um está situado do seu

lado dos vasos interventriculares anteriores, recebendo o direito alguns troncos de 2.^a ordem; estes drenam a linfa da porção inferior da face anterior do ventrículo direito.

O tronco direito acaba por terminar no esquerdo e muito perto do ponto de entrada do tronco ventricular antero-esquerdo (Fig. 6, seta 4).

O resultado da junção dos dois troncos interventriculares anteriores dá origem a um tronco comum, que acaba de percorrer a restante porção do sulco interventricular anterior (Fig. 6, seta 5).

O tronco interventricular posterior, tem origem no sulco do mesmo nome, pela convergência de troncos linfáticos de 2.^a ordem. Está situado à esquerda da artéria do mesmo nome (Fig. 7, seta 1). Quando alcança a cruz, continua-se com o tronco circunflexo (Fig. 7, seta 2). Recebe um tronco bem desenvolvido, que se origina perto da ponta, e percorre a face posterior do ventrículo esquerdo, paralelamente ao sulco interventricular posterior (Fig. 7, seta 3) e ainda troncos de 2.^a ordem, que acompanham os vasos ventriculares póstero-esquerdos.

O tronco marginal esquerdo, em regra único, origina-se na porção inferior do bordo esquerdo do coração, nascendo da rede capilar linfática, por 2 ou 3 troncos; tendo percorrido o bordo esquerdo, vai lançar-se no tronco circunflexo, no ponto onde este último cruza precisamente esse bordo cardíaco (Fig. 8 e Fig. 9, seta 1).

O tronco ventricular antero-esquerdo, é um tronco linfático de 3.^a ordem, que encontramos sempre muito desenvolvido, a drenar a linfa de quase toda a totalidade da face anterior do ventrículo esquerdo. Alguns vasos de origem acompanham ramos da artéria ventricular antero-esquerda e outros cruzam-nos a vários níveis. Todos estes ramos vão-se reunindo até se constituir um único tronco, que vai terminar no tronco circunflexo (Fig. 9, seta 2) ou, quando existem dois troncos interventriculares anteriores, no tronco de união destes últimos (Fig. 6, seta 5).

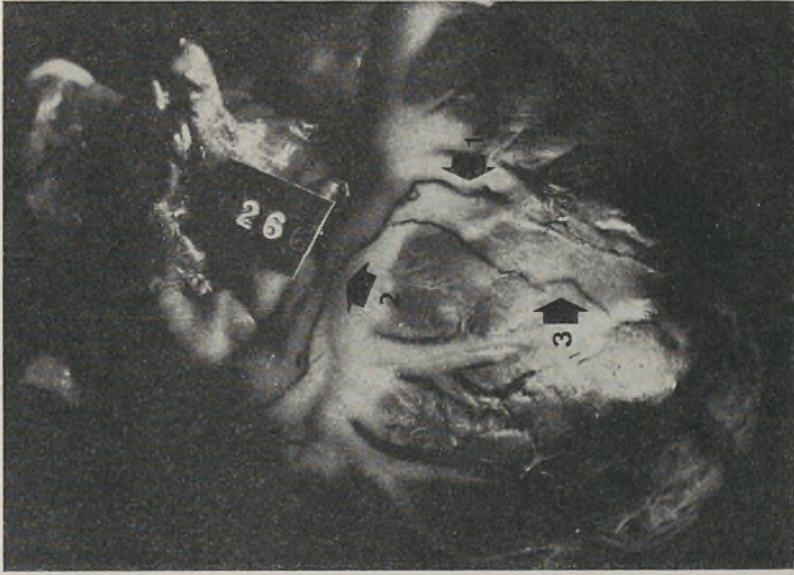


FIG. 7 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

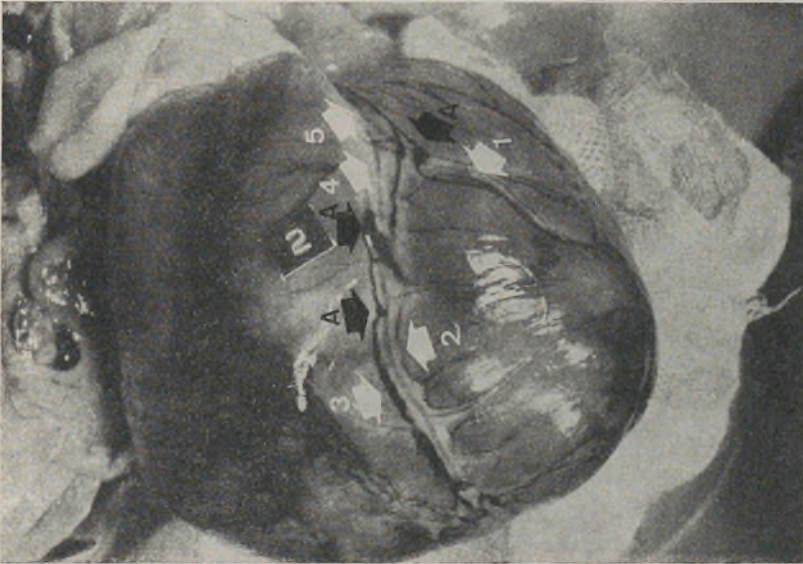


FIG. 6 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.



FIG. 8 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

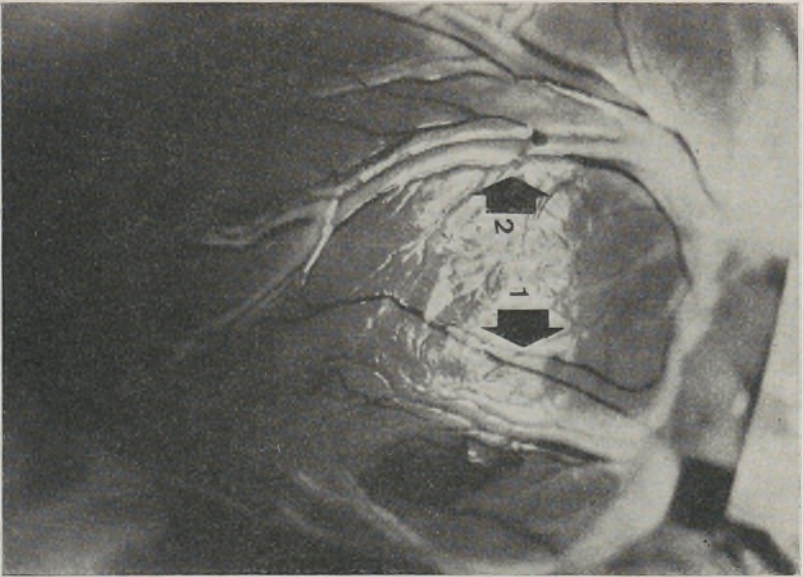


FIG. 9 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

O *tronco circunflexo*, é um vaso muito desenvolvido, que ao nível da cruz, continua o tronco interventricular posterior (Fig. 7 seta 2). A partir daí, percorre toda a porção esquerda do sulco aurículo-ventricular, até alcançar o flanco esquerdo da base da artéria pulmonar; une-se

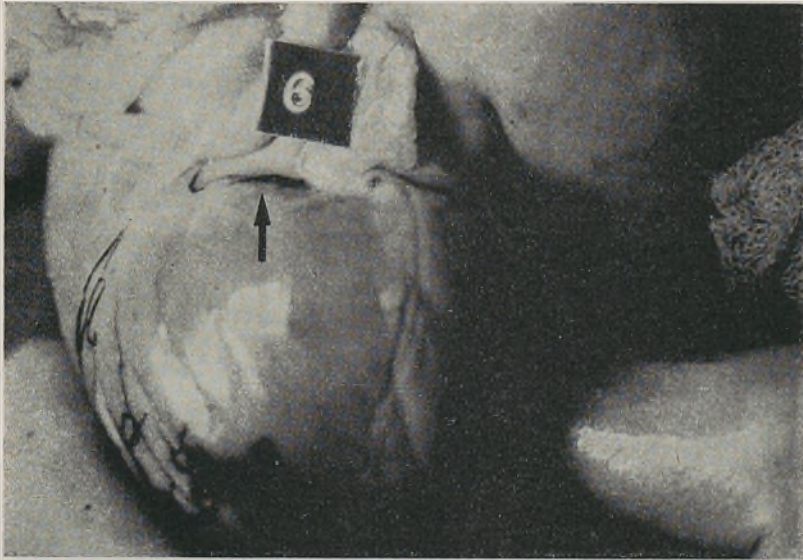


FIG. 10 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

então com o tronco interventricular anterior, ou com o resultante da união de dois interventriculares anteriores. Durante o seu trajecto, é acompanhado pela artéria circunflexa e pela grande veia cardíaca. Recebe vários troncos de 2.^a ordem, o tronco marginal esquerdo e, por vezes, o tronco ventricular antero-esquerdo (Fig. 10, seta e Fig. 11, seta 1).

III — *Colectores linfáticos principais*

São dois os colectores linfáticos, que drenam a totalidade da linfa cardíaca. Para alguns autores, o coração é drenado apenas por um único colector linfático, que resulta da união dos dois colectores linfáticos principais, direito e esquerdo.

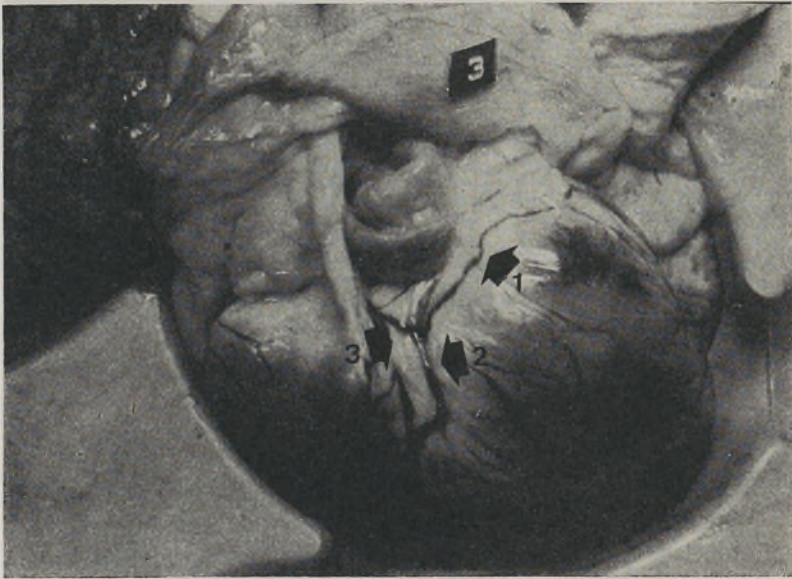


FIG. 11 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

O colector linfático principal esquerdo, de maior calibre que o direito, resulta da união do tronco circunflexo (Fig. 11, seta 1), com o tronco interventricular anterior, ou quando existem dois, do tronco resultante da união destes (Fig. 11, seta 2). Este tronco inicia-se entre o flanco esquerdo da artéria pulmonar e o apêndice auricular esquerdo (Fig. 11, seta 3 e Fig. 12, seta).

O colector linfático principal direito, origina-se por troncos linfáticos de 2.^a ordem, localizados na porção



FIG. 13 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

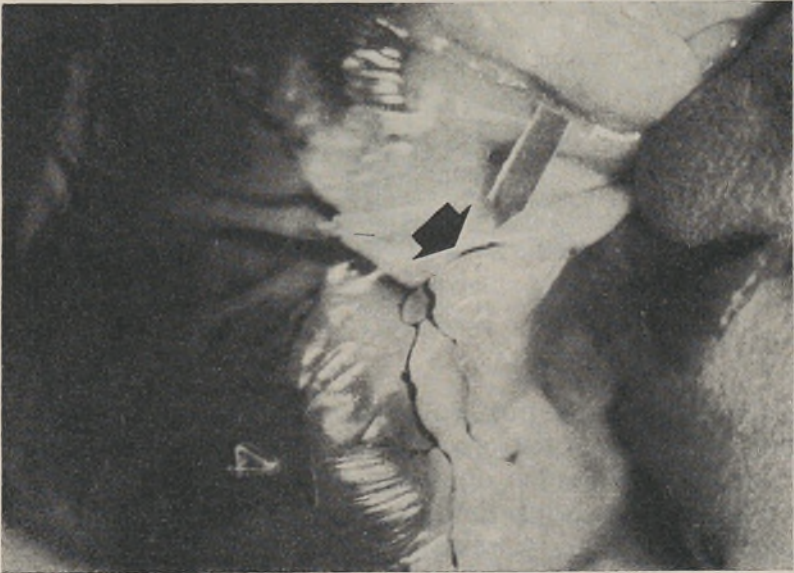


FIG. 12 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

superior e externa da face posterior do ventrículo direito. Estes linfáticos acabam por convergir para um tronco de maior calibre, ao nível da porção mais externa do sulco



FIG. 14 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

aurículo-ventricular postero-direito (Fig. 13). Contorna depois o bordo direito do coração e caminha na porção antero-direita do sulco do mesmo nome. Durante o seu trajecto recebe vários linfáticos de 2.^a ordem das faces ventriculares (Fig. 14, setas). Tendo passado através da

prega pré-aórtica, muito desenvolvida no Cão, o que torna impossível, sem dissecação, a observação do colector a este nível, acaba por alcançar a porção ascendente da crossa da aorta em cujo flanco anterior ou direito o vemos caminhar (Fig. 15, seta).



FIG. 15 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

IV — *Gânglios intercalares e grupos ganglionares que recebem os linfáticos cardíacos*

É com certa frequência que nos troncos linfáticos sub-epicárdicos observamos pequenos gânglios linfáticos de grande variabilidade numérica. Estão localizados no trajecto de vasos de 2.^a ordem, podendo contudo aparecer em vasos de 3.^a ordem (Fig. 6, setas A).

Quando o linfático principal esquerdo passa por baixo da origem do tronco da artéria pulmonar, entre esta e o apêndice auricular esquerdo (Fig. 16, seta 1),



FIG. 16 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

pode existir a este nível um gânglio — *gânglio da artéria pulmonar* (Fig. 16, seta 2), afinal o mais anterior dos grupos ganglionares mediastínicos anteriores.

O referido colector linfático, depois de estar em relação com a artéria pulmonar (Fig. 17, seta 1), passa por

detrás da porção horizontal da crossa da aorta, até alcançar gânglios linfáticos que se encontram em relação com a traqueia — *gânglios para-traqueais* (Fig. 17, setas 2



FIG. 17 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

e 3). O seu número é variável, não ultrapassando, em regra o de três. De cada um destes gânglios partem vasos eferentes, que acabam por alcançar um gânglio muito desenvolvido, o descrito por DRINKER, situado entre a veia cava superior e o tronco arterial bráquio-cefálico (Fig. 17, seta 4).

Deste gânglio de DRINKER saem colectores linfáticos, que alcançam grupos ganglionares mediastínicos. Nalguns casos, o colector linfático principal esquerdo termina direc-



FIG. 18 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

tamente nos gânglios para-traqueais, não chegando depois a linfa ao gânglio de DRINKER (Fig. 18, seta).

Como dissemos, o colector linfático principal direito, depois da sua origem vai alcançar o flanco anterior ou direito da porção ascendente da crossa da aorta. Passa

através da prega pré-aórtica, para alcançar depois o mediastino (Fig. 15, seta). Por vezes, sobre esta porção da aorta, encontra-se um pequeno gânglio — *gânglio pré-aórtico* (Fig. 19, seta). A partir desta região, o colector linfático principal direito alcança também o gânglio de DRINKER, situado entre a veia cava superior e o tronco arterial bráquio-cefálico (Fig. 20, seta).



Fig. 19 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.



Fig. 20 — Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão.

RESUMO

Os AA. estudaram os linfáticos sub-epicárdicos ventriculares, em 25 corações de Cão.

Após injeção sub-epicárdica de diferentes zonas ventriculares «in vivo», ou nas primeiras 24 horas após a morte do animal, de uma solução pirogênica de azul de Evans a 1%, verificaram a existência de uma densa rede, constituída por capilares linfáticos, que convergiam para vasos linfáticos de drenagem. Ao nível da ponta, as redes são muito finas e cerradas, mas à medida que se vai subindo o nível da injeção, estas malhas vão-se tornando mais largas.

Os troncos linfáticos de drenagem sub-epicárdica foram classificados em três grupos: os de 1.^a ordem, resultantes da convergência de capilares linfáticos, os de 2.^a ordem, da convergência de vasos de 1.^a ordem, acabando por sua vez por constituir os de 3.^a ordem e os colectores linfáticos principais. Os troncos de 3.^a ordem são caracterizados por calibre relativamente desenvolvido e constância de localização. São descritos como constantes os troncos interventriculares anteriores, interventricular posterior, marginal esquerdo e circunflexo. Descreveram ainda como constante e importante o tronco ventricular antero-esquerdo.

Alguns dos troncos de 2.^a ou de 3.^a ordem apresentam gânglios intercalares.

Contra a opinião de alguns autores, verificaram os AA. que a linfa cardíaca é drenada sistematicamente por 2 colectores linfáticos principais, esquerdo e direito.

O colector linfático principal esquerdo, durante o seu trajecto, ao nível da artéria pulmonar, pode apresentar o gânglio da artéria pulmonar e acaba por terminar em gânglios para-traqueais; destes podem partir colectores que alcançam o gânglio de DRINKER, situado entre a veia cava superior e o tronco arterial bráquio-cefálico.

O colector linfático principal direito pode alcançar o gânglio pré-aórtico, ao nível do flanco anterior ou direito da porção ascendente da crossa da aorta, e a partir deste gânglio a linfa atinge habitualmente também o referido ganglio de DRINKER.

RESUMÉ

Les AA. ont étudié les vaisseaux lymphatiques sous-épicaudiques ventriculaires chez 25 coeurs de chien. L'injection a été effectuée «in vivo» or dans les 24 heures après la mort des animaux, en utilisant une solution apyrogenique de bleu d'Evans a 1%.

Après l'injection sous-épicaudique des différentes zones ventriculaires, ils ont vu un réseau dense constitué par des capillaires lymphatiques, qui se terminent dans les vaisseaux lymphatiques. Vers la pointe du coeur les réseaux sont très fins et serrés, mais quand on injecte près la base, les mailles sont de plus en plus larges.

Les troncs lymphatiques collecteurs sous-épicaudiques ont été classés en trois groupes: les vaisseaux de 1.ère ordre resultants de la convergence des capillaires lymphatiques; ceux de 2.ième ordre resultants de la convergence des vaisseaux de 1.ère ordre et qui se terminent aux vaisseaux de 3.ième ordre et finalement aux troncs collecteurs principaux.

Les vaisseaux de 3.ième. ordre ont un certain calibre et une situation constante. Les AA. considèrent constants les troncs interventriculaires antérieures, interventriculaire postérieur, marginal gauche et circonflexe.

Ils considèrent aussi très important et constant le tronc ventriculaire antero-gauche.

Malgré l'opinion de quelques auteurs, ils pensent que la lymphe cardiaque est drainé systématiquement par deux troncs collecteurs lymphatiques principaux.

Le tronc collecteur gauche, qui peut montrer sur son

trajet un ganglion de l'artère pulmonaire, se termine aux ganglions para-tracheaux d'où les collecteurs partent vers le ganglion de DRINKER, situé entre la veine cave supérieure et le tronc artériel brachio-céphalique.

Le tronc collecteur principal droit peut atteindre le ganglion pré-aortique au flanc antérieur ou droit de la portion ascendente de la crosse aortique et d'ici la lymphe atteint normalement le ganglion de DRINKER.

SUMMARY

The Authors studied the subepicardial ventricular lymphatic vessels in 25 hearts of the dog.

The injection was performed «in vivo» and also in the first 24 hours after death. An 1% apyrogenic solution of Evans blue at was used.

After the subepicardial injection of every ventricular zone, we observed a very dense net of lymphatic capillaries converging to the lymphatic vessels.

Near the apex, the nets have very thin and tight meshes but as we inject zones nearer the basis we observe that these meshes became larger.

The subepicardial lymphatic trunks were classified in three groups: 1st. order resulting from the convergence of the lymphatic capillaries; 2nd. order resulting from the junction of the 1st. order vessels and 3rd. order the vessels resulting from the 2nd order ones and at last the principal lymphatic collectors.

The 3rd. order vessels have a great calibre and their localization is constant.

The anterior interventricular trunks, the posterior interventricular, the left marginal and the circumflex trunks are described as constant.

It is also described as constant and very important the anterior left ventricular trunk. Some of the 2nd and 3rd order vessels have some intercalar nodes.

Disagreeing with the opinion of some authors, we observed that the cardiac lymph is drained as a rule by two main lymphatic collectors. The main left lymphatic trunk ends in the paratracheal nodes and near the pulmonary artery we can sometimes find the node of the pulmonary artery; the paratracheal nodes can origin trunks going to the node of DRINKER, situated between the superior caval vein and the brachiocephalic arterial trunk.

The main right lymphatic collector can join the preaortic node, near the anterior or right border of the ascendant aorta and from this node the lymph goes to the node of DRINKER.

Trabalho do Instituto de Anatomia da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa (Dir.: Prof. A. DOS SANTOS FERREIRA) e do Instituto de Anatomia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (Dir.: Prof. ABEL SAMPAIO TAVARES).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — RUDBECK, O. — Nova exercitatio anatomica exhibens ductus hepatico aquosos et vasa glandularum serosa, nune primum inventa, aeneisque figuris delineata. Arosiae 1653. Cit. por *Aagaard*.
- 2 — NUCK, A. — Adenographia curiosa et uteri foemenei anatome nova. Leydae, 1692. Cit. por *Mouchet*.
- 3 — FOHMANN, V. — Mémoire sur les vaisseaux lymphatiques de la peau, des membranes muqueuses, séreuses, du tissu nerveux et musculaire. Liège, 1833.
- 4 — EBERTH, C.J. et BELAJEFF, A. — Uber die Lymphgefasse des Herzens. *Virch, Arch.* 37, 124, 1866.
- 5 — WEDL, C. — Histologische Mitteilungen. 3. Uber die Lymphgefasse des Herzens. *Weimer Akademieberichte*, Ed. 64. 1871. Cit. por *Mouchet*.

- 6 — RAINER, Fr. J. — Contribution à l'étude des lymphatiques superficiels du coeur. *C. R. Soc. Biol. Paris*, 65, 245, 1908.
- 7 — MOUCHET, A. — Les vaisseaux lymphatiques du coeur chez l'homme et quelques mammifères. *J. de l'Anat. et de la Phys.*, 45, 433, 1909.
- 8 — AAGAARD, O. — Les vaisseaux lymphatiques du coeur chez l'homme et chez quelques mammifères. Levin et Munksgaard. Copenhagen, 1924.
- 9 — PATEK, P.R. — The morphology of the lymphatics of the mammalian heart. *Amer. J. Anat.*, 64, 203, 1939.
- 10 — DRINKER, C.K., WARREN, M.F., MAURER, F.W. e MCCARRELL, J.D. — The flow, pressure, and composition of cardiac lymph. *Amer. J. Phys.*, 130, 43, 1940.
- 11 — MILLER, A.J. — The lymphatics of the heart. *Arch. Int. Med.* 112, 501, 1963.
- 12 — SYMBAS, P.N., COOPER, T., GANTNER, Jr. G.E. e WILLMAN, V.L. — Lymphatics of the heart (Anatomic effects following interruption of the drainage of cardiac lymph). *Arch. Path.*, 81, 573, 1966.
- 13 — JOHNSON, R. e BLAKE, T. — Lymphatics of the heart. *Circulation*, 33, 137, 1966.
- 14 — JOHNSON, R.A. — The lymphatic system of the heart. *Lymphology*, 2, 95, 1969.
- 15 — LEEDS, S.E. e UHLEY, H.N. — Measurement of lymph flow of the heart. *Lymphology*, 4, 31, 1971.

FOLIA ANATOMICA VNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

VOL. XLIII

N.º 8

ESTUDO DO CRESCIMENTO PÓS-NATAL DO ARCO DENTÁRIO DO RATO, APÓS A ADMINISTRAÇÃO DA HIDROCORTISONA

POR

SÁLUA IUCIF, RUBERVAL A. LOPES E REINALDO AZOUBEL *

INTRODUÇÃO

Uma dose suficientemente grande de cortisona produz inibição ou retardamento no desenvolvimento do tecido ósseo (FOLLIS, 1951; CAVALLERO, BERTAZZOLI, ROSSI e SCALA, 1951; SISSONS e HADFIELD, 1955; STOREY, 1957, 1960, 1961; STAFNE e LOVESTEDT, 1960; BERNICK e ERSHOFF, 1963; HULTH e OLERUD, 1963; MANNHART, 1970). Tanto em animais como na espécie humana, a cortisona conduz a um aumento da reabsorção óssea (HULTH e OLERUD, 1963).

Existem dados contraditórios quanto à acção da cortisona ou da hidrocortisona no crescimento das dimen-

* Departamento de Morfologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Brasil.

sões crânio-faciais, do neuro-crânio e da face propriamente dita. Alguns autores (CHE-KUO e JOHANNESSEN, 1970; LEROY e DOMM, 1951; MOSS, 1955; DAVIDOVITCH e JOHANNESSEN, 1964; JOHANNESSEN, DAVIDOVITCH e BLACKKEY, 1966) observaram reduções nas dimensões crânio-faciais e/ou nas dimensões neuro-crânicas, em ratos tratados com cortisona. Observaram-se reduções em certas porções dos ossos faciais de ratos (LEROY e DOMM, 1951; BLACKKEY e JOHANNESSEN, 1964; ZIPKIN, BERNICK e MENCZEL, 1965; ROCCA, 1967), camundongo (GLICKMAN, STONE e CHAWLA, 1953) e coelhos (STOREY, 1958). Entretanto, verificou-se aumento do crescimento do osso alveolar em ratos sob ação da cortisona (GOLDSMITH e STAHL, 1953; GOLDSMITH e ROSS, 1956).

Também são contraditórios os dados referentes à ação da cortisona durante os períodos de formação e crescimento do tecido dentário. Enquanto para GOLDSMITH e ROSS (1954), estudando os incisivos de fetos e de ratos recém-nascidos, e ANNEROTH e BLOOM (1966), estudando os incisivos de ratos adultos, a cortisona seria responsável pelo aumento na deposição dentinária, para JOHANNESSEN (1964, 1965), estudando os molares de ratos após o 21.º dia de vida pós-natal, e RUSSO (1966), estudando os molares de ratos recém-nascidos, a cortisona teria ação de diminuir a deposição dentinária.

Tendo-se em vista a falta de um estudo sistemático de crescimento das dimensões das regiões incisivas e molar no rato submetido à ação da hidrocortisona, durante os 30 primeiros dias de vida pós-natal, procurou-se neste trabalho analisar alguns aspectos do crescimento das citadas regiões, empregando-se a relação alométrica.

MATERIAL E MÉTODOS

1. *Material*

Foram utilizados 181 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar), obtidos do Biotério da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, divididos em dois grupos:

Grupo I (Injetados): 99 ratos, com pesos variável de 6,0 a 44,0 g, os quais receberam uma única injeção subcutânea de 0,5 mg de acetato de hidrocortisona (Suspensão injetável de hidrocortisona a 2,5% — Laboratório Silva Araujo — Russel S/A) em 0,1 ml de água destilada, logo após o nascimento.

Grupo II (Controles): 82 ratos com pesos variável de 6,0 a 64,5 g, os quais receberam uma única injeção subcutânea de salina no mesmo volume estabelecido para o Grupo I.

Ambos os grupos foram mantidos em ninhadas de 7 filhotes. As ratas receberam água e ração «ad libitum».

Após decorridas as 24 horas da aplicação da injeção de acetato de hidrocortisona, para o Grupo I e de salina para o Grupo II, diariamente eram sacrificados um animal tratado e um animal controle da mesma idade, até o 30.º dia de vida pós-natal.

Os animais anestesiados pelo éter, após pesagem, eram decapitados, sendo as cabeças imersas em Alfac (álcool 80% — 85 ml; formalina — 10 ml e ácido acético — 5 ml).

2. *Técnica de dissecação e pontos de reparo para as medidas craniométricas*

Após a fixação, as cabeças eram dissecadas sob lupa (2x), e as mandíbulas desarticuladas e separadas uma da outra na linha mediana, aproveitando-se a do lado esquerdo para este estudo.

As medidas foram tomadas com paquímetro, com precisão de 0,1 mm, compreendendo as seguintes distâncias (Fig. 1):

a) entre o ponto mediano da borda nasal e a protuberância occipital externa — *comprimento total do crânio*;

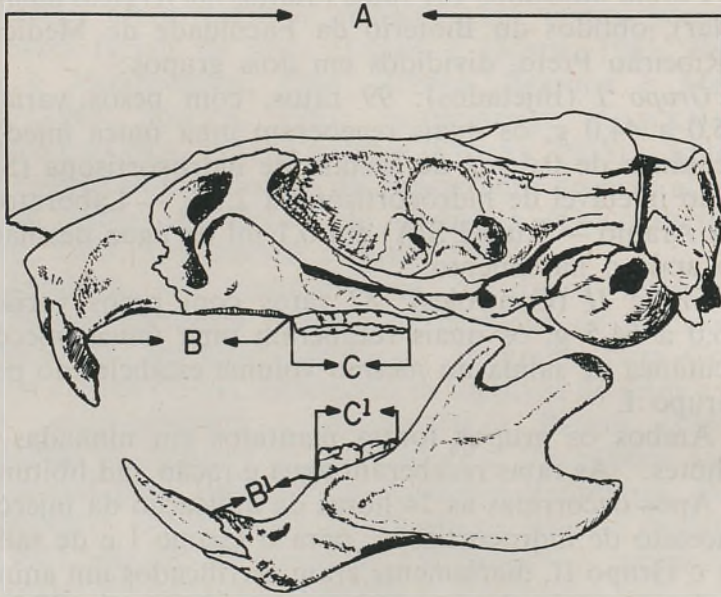


FIG. 1 — Esquema do crânio do rato, visto de perfil. A = comprimento total do crânio; B-B' = diastema superior e inferior; C-C' = comprimento da região dos molares superior e inferior.

b) da face distal do dente incisivo à face mesial do primeiro molar. A esta distância chamaremos de *diastema superior* e *diastema inferior*, quando compreender o arco dentário superior e inferior respectivamente. A medida do diastema inferior foi tomada sem levar-se em consideração a curvatura apresentada, procurando-se apenas a menor distância entre os pontos escolhidos;

c) da face mesial do primeiro molar à face distal do terceiro molar — *comprimento da região do molar superior*

e da região do molar inferior, quando compreender o arco dentário superior e inferior respectivamente.

Em crânios cujos terceiros molares ainda não haviam irrompido, tomava-se como referência a presença do 2.º molar. Para isso, expunha-se o referido germe dental, retirando-se a mucosa que o cobria.

Após a tomada dessas medidas, os valores eram transformados em logaritmos e projetados em gráficos, tendo-se como abcissas os logs. do comprimento total do crânio e, em ordenadas, os logs. dos diastemas superior e inferior, e dos comprimentos dos molares superior e inferior.

3. *Técnica estatística*

Após a projeção dos dados experimentais em escala logarítmica dupla, analisamos a curva de crescimento visando a verificação da possível existência de uma relação alométrica simples, isto é, uma relação adequadamente representada por uma única reta, durante todo o período estudado. Quando tal fato não ocorria, dividíamos a curva de crescimento nas etapas que julgávamos existir.

Com base nesta primeira análise da projeção gráfica, calculávamos os três parâmetros estatísticos (coeficiente de alometria, teste de linearidade e os limites do intervalo de confiança para k) para cada etapa de desenvolvimento.

Dentre as várias técnicas de análise de regressão a duas variáveis aleatórias, escolheu-se a de WALD (1940), modificada por BARTLETT (1949), e preconizada por CRUZ (1962) e CRUZ e LISON (1963).

RESULTADOS

1. *Crescimento alométrico do comprimento do crânio, em função do peso corporal dos ratos-controle e injetados com hidrocortisona*

Na Figura 2 encontra-se a projeção dos logaritmos das médias dos valores do comprimento do crânio, em

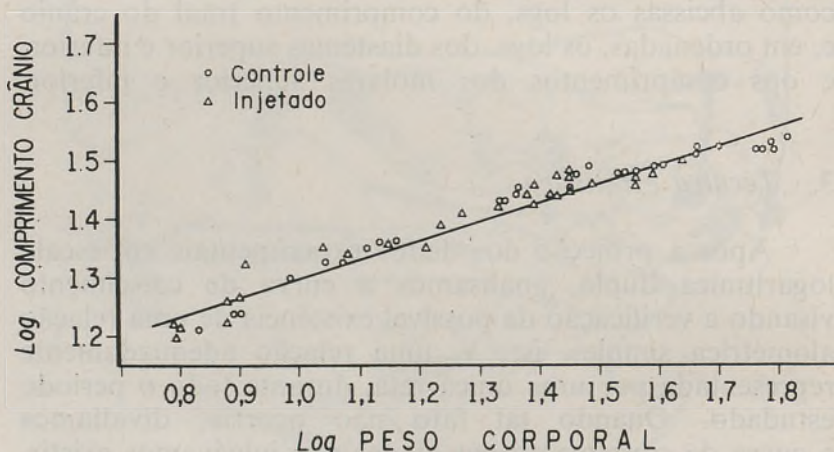


FIG. 2 — Projeção logarítmica do comprimento do crânio, em função do peso corporal, em ratos controle (o) e injetados com hidrocortisona (\triangle)

função do logaritmo do peso corporal do animal controle e do animal injetado.

O exame dessa projeção gráfica sugere que se trata de uma relação simples de alometria, com valores semelhantes para os dois grupos estudados ($k = 0,306$ para o rato-controle e $0,330$ para o rato injetado). Essa semelhança dos valores de k ($0,3$) mostrou-se menor que 1, o que indica um aumento do comprimento do crânio proporcionalmente menor que o do peso corporal, para os dois grupos experimentais e durante todo o período de vida estudado.

2. *Crescimento alométrico das dimensões dos arcos dentários, no rato-controle.*

a) *Crescimento alométrico do diastema superior, em função do crescimento do crânio.*

Durante todo o desenvolvimento pós-natal, no rato-controle existe relação alométrica simples entre o diastema

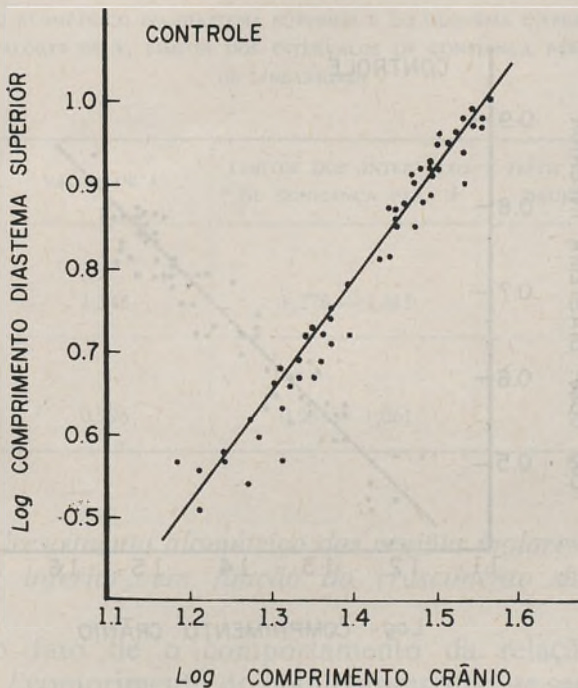


FIG. 3 — Linhas de regressão a duas variáveis aleatórias. Projeção logarítmica do diastema superior, em função do comprimento do crânio, no rato normal.

Cada ponto corresponde aos dados experimentais, do rato controle.

superior e o comprimento do crânio (Fig. 3). O valor do coeficiente de alometria k apresenta-se constante e maior que a unidade (Tabela I). Os resultados expostos revelam que o crescimento do diastema superior é proporcionalmente maior que o do crânio.

b) *Crescimento alométrico do diastema inferior, em função do crescimento do crânio*

Durante o desenvolvimento pós-natal do rato normal, o crescimento do diastema inferior, em função do crescimento do crânio, é caracterizado por uma relação de

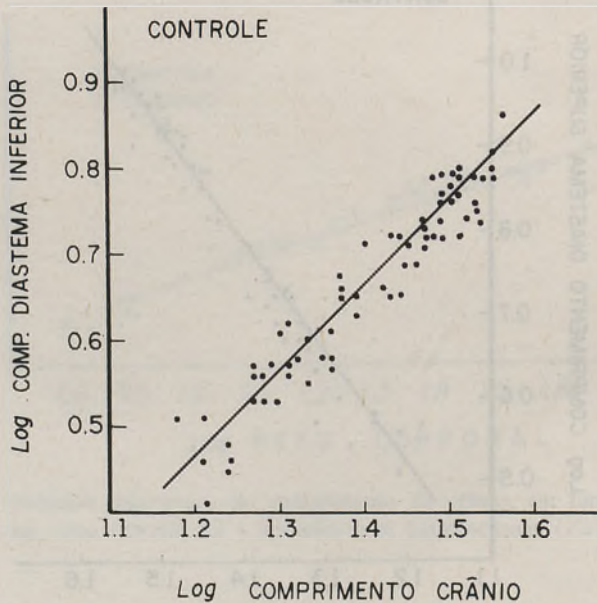


FIG. 4 — Linhas de regressão a duas variáveis aleatórias. Projeção logarítmica do comprimento do diastema inferior, em função do comprimento do crânio, no rato normal. Cada ponto corresponde aos dados experimentais do rato controle.

alometria simples, adequadamente representada por uma linha reta (Fig. 4).

O exame da figura 4 e da tabela I revela que a taxa de crescimento do diastema inferior pode ser considerada proporcional ao crescimento do crânio, pois o valor de

k é isométrico. O valor de t , para o teste de linearidade, permite aceitar essa hipótese, tanto para o diastema superior como para o inferior (Tabela I).

TABELA I

CRESCIMENTO ALOMÉTRICO DO DIASTEMA SUPERIOR E DO DIASTEMA INFERIOR, NO RATO NORMAL. VALORES DE k , LIMITES DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA PARA k E TESTE DE LINEARIDADE

DIMENSÕES	VALOR DE k	LIMITES DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA PARA k	TESTE DE LINEARIDADE $P = 0,05$
Diastema Superior	1,346	1,276 — 1,415	0,0285
Diastema Inferior	0,996	0,932 — 1,061	0,0370

c) *Crescimento alométrico das regiões molares superior e inferior, em função do crescimento do crânio.*

Pelo fato de o comportamento da relação molar superior / comprimento do crânio apresentar-se semelhante ao da relação molar inferior / comprimento do crânio, essas relações serão descritas em um parágrafo.

O comprimento da região dos molares superior e inferior é do tipo alométrico. O exame das figuras 5 e 6 mostra que é possível aceitar duas etapas de desenvolvimento durante o crescimento das dimensões estudadas. Uma primeira etapa, que se estende desde o nascimento até o 15.º dia de vida, e corresponde, no eixo das abcissas, aproximadamente ao valor 1,45. Uma segunda etapa,

a partir desse ponto, estende-se até o animal atingir o 30.º dia de vida pós-natal.

As duas etapas de desenvolvimento são separadas por um ponto crítico, momento em que há uma modificação brusca do valor do coeficiente de alometria para as

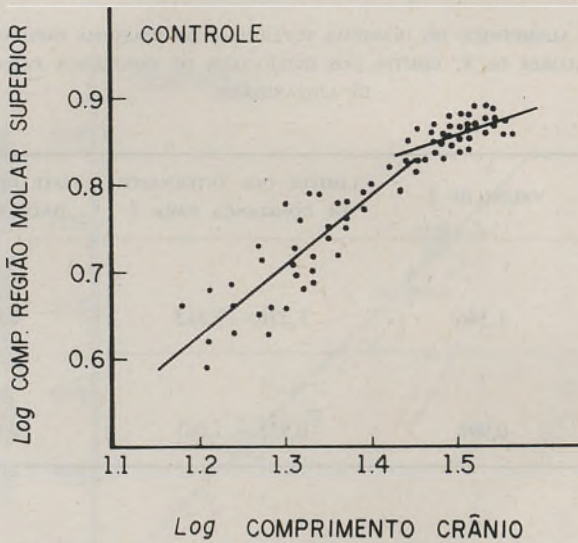


FIG. 5 — Linhas de regressão a duas variáveis aleatórias. Projeção logarítmica das dimensões do molar superior, em função do comprimento do crânio. Cada ponto corresponde aos dados experimentais do rato controle.

relações molar superior / comprimento do crânio e molar inferior / comprimento do crânio.

A primeira e a segunda etapas de desenvolvimento, para ambas as relações, são caracterizadas por uma relação de alometria simples, representada para cada fase por uma linha reta (Fig. 5 e 6). Os valores de t , para o teste de linearidade, permite aceitar-se a validade de uma relação linear entre as relações estudadas (Tabela II).

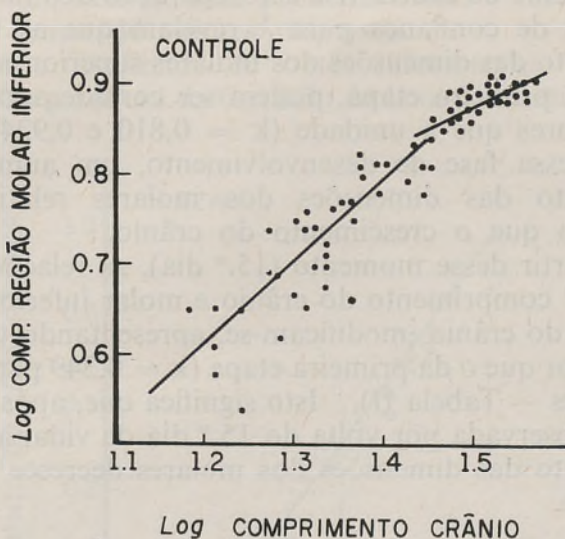


FIG. 6 — Linhas de regressão a duas variáveis aleatórias, calculadas pelo método de Bartlett. Projeção logarítmica das dimensões do molar inferior, em função do comprimento do crânio. Cada ponto corresponde aos dados experimentais do rato controle.

TABELA II

CRESCIMENTO ALOMÉTRICO DOS MOLARES SUPERIOR E INFERIOR, NO RATO NORMAL. VALORES DE k , LIMITES DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA PARA k E TESTE DE LINEARIDADE

DIMENSÕES	FASES	VALORES DE k	LIMITES DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA PARA k	TESTE DE LINEARIDADE $P = 0,05$
Molar Superior	1. ^a	0,810	0,661 — 0,965	0,0269
	2. ^a	0,349	0,178 — 0,545	0,0415
Molar Inferior	1. ^a	0,924	0,734 — 1,132	0,0966
	2. ^a	0,349	0,189 — 0,509	0,1906

O exame da tabela II e a comparação dos limites dos intervalos de confiança para k revelam que as taxas de crescimento das dimensões dos molares superior e inferior, durante a primeira etapa, podem ser considerados iguais. São menores que a unidade ($k = 0,810$ e $0,924$), o que indica, nessa fase de desenvolvimento, um aumento do crescimento das dimensões dos molares relativamente menor do que o crescimento do crânio.

A partir desse momento (15.º dia), as relações molar superior / comprimento do crânio e molar inferior / comprimento do crânio, modificam-se, apresentando um valor de k menor que o da primeira etapa ($k = 0,349$ para ambas as relações — Tabela II). Isto significa que, após a modificação observada por volta do 15.º dia de vida, a taxa de crescimento das dimensões dos molares decresce progressivamente.

3. *Crescimento alométrico das dimensões dos arcos dentários, no rato submetido à acção da hidrocortisona.*
 - a) *Crescimento alométrico do diastema superior, em função do crescimento do crânio.*

Na figura 7 encontra-se a projecção gráfica dos logaritmos da relação diastema superior, em função do crescimento do crânio, no rato, após a administração da hidrocortisona.

O exame dessa figura sugere, em primeiro lugar, uma modificação da inclinação da reta de alometria. Essa modificação situa-se aproximadamente à altura do valor 1,30 do eixo das abcissas. Além desse fato, que caracteriza a existência de um ponto crítico durante o desenvolvimento do animal, em torno do 10.º dia de vida, momento esse em que se dá a modificação do coeficiente de alometria k , outro fato chama a atenção. Assim, entre os valores 1,10 e 1,30 (primeira etapa) para o log. do com-

primento do crânio, essa primeira etapa é caracterizada por um grupo de valores dispersos.

Com a finalidade de obter informações referentes à ordem de grandeza da variação da taxa de crescimento do

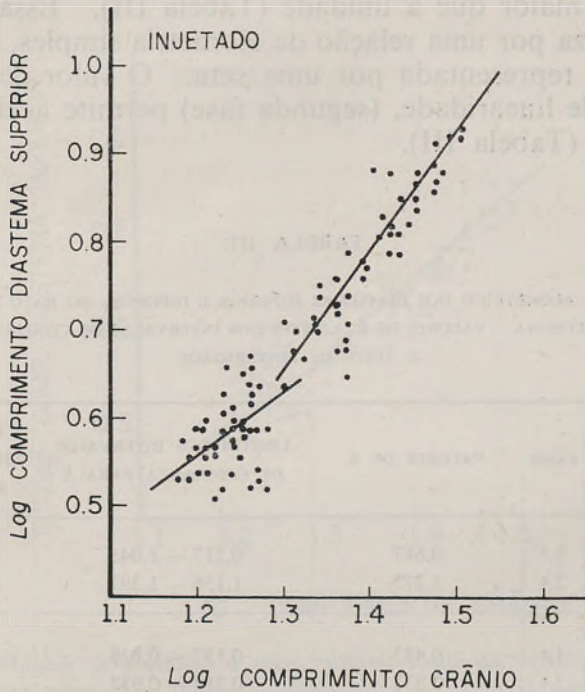


FIG. 7— Linhas de regressão a duas variáveis aleatórias, calculada pelo método de Bartlett. Projeção logarítmica do diastema superior, em função do comprimento do crânio, no rato sob a ação da hidrocortisona. Cada ponto corresponde aos dados experimentais do rato injetado.

diastema superior, em função do crescimento do crânio, calculou-se somente o valor de k para a primeira etapa, pois a dispersão dos dados torna difícil a comparação entre as duas curvas de crescimento da mesma relação (região incisiva) pela comparação dos seus intervalos de confiança.

Para a primeira etapa do desenvolvimento, o valor de k apresentou-se menor que 1, o que indica que o aumento da taxa de crescimento do diastema superior é relativamente menor que o crescimento no crânio; para a segunda etapa, o inverso ocorre, pois o valor de k mostrou-se elevado ou seja, maior que a unidade (Tabela III). Essa fase se caracteriza por uma relação de alometria simples, adequadamente representada por uma reta. O valor de t , para o teste de linearidade, (segunda fase) permite aceitar essa hipótese (Tabela III).

TABELA III

CRESCIMENTO ALOMÉTRICO DOS DIASTEMAS SUPERIOR E INFERIOR, NO RATO SOB A AÇÃO DA HIDROCORTISONA. VALORES DE k , LIMITES DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA PARA k E TESTE DE LINEARIDADE

DIMENSÕES	FASES	VALORES DE k	LIMITES DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA PARA k	TESTE DE LINEARIDADE $P = 0,05$
Diastema Superior	1. ^a	0,617	0,217 — 1,045	—
	2. ^a	1,277	1,156 — 1,397	0,2253
Diastema Inferior	1. ^a	0,483	0,137 — 0,829	—
	2. ^a	0,833	0,712 — 0,952	0,0817

b) *Crescimento alométrico do diastema inferior, em função do crescimento do crânio.*

O exame da figura 8 leva a admitir, para o crescimento do diastema inferior, em função do crescimento do crânio, as mesmas conclusões observadas para a relação diastema superior / comprimento do crânio. Para a primeira etapa, o valor de k mostrou-se semelhante ao do diastema superior, e para a segunda etapa, menor (Tabela III).

O exame das figuras 7 e 8 mostra que não é possível aceitar a existência de uma relação linear para as relações diastema superior / comprimento do crânio e diastema inferior / comprimento do crânio, durante a primeira etapa do desenvolvimento, o que levou à não execução do teste de t .

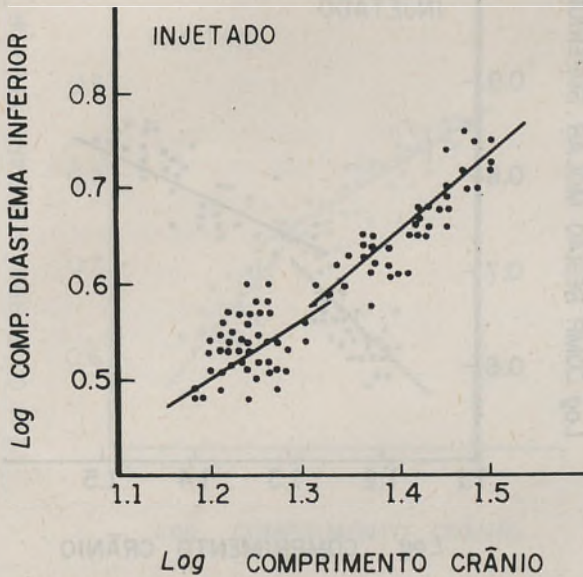


FIG. 8 — Linhas de regressão a duas variáveis aleatórias. Projeção logarítmica do diastema inferior, em função do crescimento do crânio, no rato submetido à ação da hidrocortisona. Cada ponto corresponde aos dados experimentais do rato injetado.

c) *Crescimento alométrico das regiões molares superior e inferior, em função do crescimento do crânio.*

Pelo fato de as relações molar superior / comprimento do crânio e molar inferior / comprimento do crânio se apresentarem semelhantes, serão descritas em um mesmo parágrafo.

O exame das figuras 9 e 10 mostra, em primeiro lugar, que o crescimento das regiões dos molares é do tipo alométrico e que apresenta duas etapas de desenvolvimento durante o período estudado.

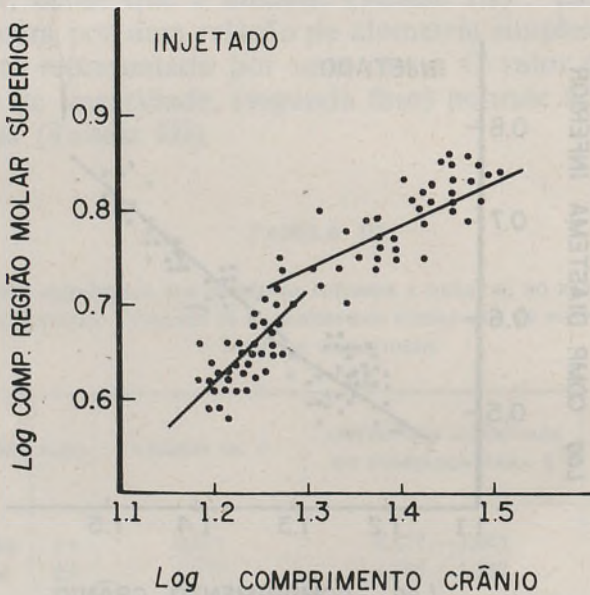


FIG. 9 — Projeção logarítmica das relações molar superior/comprimento do crânio, em rato injetado com hidrocortisona. Os pontos correspondem aos dados experimentais. Linhas de regressão calculadas pelo método de Bartlett.

Uma primeira etapa de desenvolvimento estende-se desde o nascimento do animal até este atingir aproximadamente o 10.º dia de vida pós-natal, (mais precoce que o do rato-controle), correspondendo, no eixo das abcissas, aproximadamente ao valor 1,30. Uma segunda etapa, a partir desse ponto, estende-se até o 30º dia de vida.

As duas etapas de desenvolvimento são separadas por um ponto crítico, momento em que se dá uma modificação

brusca do valor do coeficiente de alometria ($k = 1,035$ e $0,454$ para o molar superior, e $1,084$ e $0,586$ para o molar inferior).

Pelo exame da tabela IV, e feita a comparação dos limites dos intervalos de confiança, verifica-se que as taxas

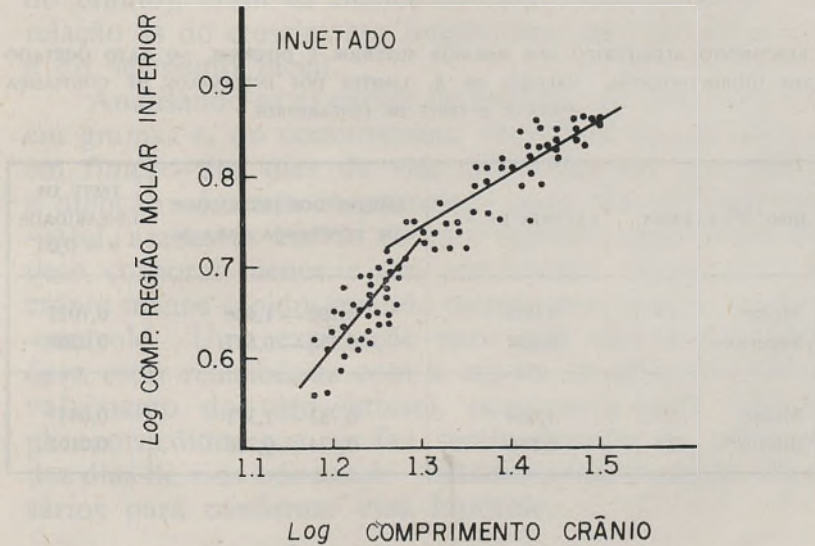


FIG. 10 — Projeção logarítmica da relação molar inferior/comprimento do crânio, no rato sob a ação da hidrocortisona. Os pontos correspondem aos dados experimentais do rato injetado. Linhas de regressão calculadas pelo método de Bartlett.

de crescimento do molar superior, durante todo o período estudado pode ser considerada semelhante à do molar inferior. Para a primeira etapa, os valores de k são maiores que a unidade, o que indica, nessa fase do desenvolvimento, um aumento das dimensões das regiões dos molares, relativamente maior que o do crânio. Nessa etapa, estão compreendidos os animais desde o nascimento até aproximadamente os 10 primeiros dias de vida pós-

-natal. A partir desse momento, os valores de k para os molares superior e inferior mostram-se menores que 1, significando isto que a taxa de crescimento, para ambas as dimensões estudadas, decresce progressivamente.

TABELA IV

CRESCIMENTO ALOMÉTRICO DOS MOLARES SUPERIOR E INFERIOR, NO RATO INJETADO COM HIDROCORTISONA. VALORES DE k , LIMITES DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA PARA k E TESTE DE LINEARIDADE

DIMENSÕES	FASES	VALORES DE k	LIMITES DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA PARA k	TESTE DE LINEARIDADE $P = 0,05$
Molar Superior	1. ^a	1,035	0,702 — 1,406	0,1027
	2. ^a	0,454	0,338 — 0,577	0,0209
Molar Inferior	1. ^a	1,084	0,783 — 1,371	0,0437
	2. ^a	0,586	0,474 — 0,708	0,0102

DISCUSSÃO

1. *Influência da hidrocortisona no crescimento do comprimento total do crânio.*

Não se observou modificação do valor de k para a projeção logarítmica da relação comprimento do crânio / peso corporal, a qual é adequadamente representada por uma única reta e com valor de k menor que 1 ($k = 0,3$), para ambos os grupos experimentais. Essa igualdade da taxa de crescimento do crânio, entre os dois grupos estudados, talvez possa estar correlacionada com os acha-

dos de MOSS (1955) em ratos recém-nascidos, de JOHAN-
NESSEN, DAVIDOVITCH e BLACKKEY (1966), em ratos jovens
e de CHE-KUO e JOHANNESSEN (1970), em ratos adultos,
os quais, em estudos do crescimento de diversas dimensões
neuro-crânicas e crânio-faciais, observaram que as do
neuro-crânio (inclusive a do crescimento longitudinal
do crânio), eram as menos afetadas pela cortisona, em
relação às do crescimento longitudinal da base do crânio
e do segmento facial.

Analisando-se as curvas de projeção do peso corporal,
em gramas e, do comprimento do crânio em milímetros,
em função dos dias de vida pós-natal, um fato chama
a atenção: durante os primeiros nove dias de vida pós-
-natal, ambas as curvas do rato injetado apresentam um
peso corporal menor e um crescimento longitudinal do
crânio menos rápido, quando comparadas com as do rato-
-controle. Uma explicação para essa observação talvez
deva estar relacionada com a «época de crise» do desen-
volvimento do rato (stress), ocasionada pela ação do
glicocorticóide, que se faz sentir durante os primeiros
dez dias de vida pós-natal. Estudos posteriores são neces-
sários para confirmar essa hipótese.

2. *Padrão de crescimento do arco dentário para o rato controle.*

a) *Região dos diastemas superior e inferior.*

Para as relações diastema superior / comprimento do
crânio e diastema inferior / comprimento do crânio, os
resultados deste trabalho revelaram que a relação alomé-
trica é constante. Os valores de k para o diastema supe-
rior apresentaram-se maiores que a unidade ($k = 1,346$)
e para o diastema inferior, isométrico ($k = 0,996$).

Ao se comparar o crescimento de ambos os diastemas
(Tabela I), verifica-se que, proporcionalmente, o diastema

superior cresce mais rapidamente. Portanto, desde o nascimento, a relação entre diastema superior e inferior vai-se alterando, o que leva progressivamente à predominância do diastema superior, até o fim do período estudado.

Uma explicação para esse fato encontra-se na influência exercida pelo dente incisivo no crescimento ósseo, a qual seria maior para o dente superior (IUCIF, 1962).

b) *Região dos molares superiores e inferiores.*

Para as relações molar superior e molar inferior, em função do crescimento do crânio, observou-se que o crescimento pós-natal é do tipo alométrico e se faz em duas etapas de desenvolvimento, existindo um período crítico de desenvolvimento (interfase) em torno do 15.º dia de vida pós-natal (IUCIF, 1962).

Em ambos os arcos dentários, os valores do coeficiente de alometria k , tanto para a primeira etapa como para a segunda etapa, são menores que 1 ($k = 0,810$ e $0,349$), para o molar superior, e $0,924$ e $0,349$, para o molar inferior) e, por conseguinte, o crescimento dos molares é proporcionalmente menor que o crescimento do crânio.

As variações do valor do coeficiente de alometria, durante o desenvolvimento ontogenético, têm grande significação, pois caracterizam etapas evolutivas de desenvolvimento. Encontrar as causas determinantes das modificações do valor do coeficiente de alometria, em um dado momento, é caracterizar biologicamente uma interfase (LEVY, 1952) ou uma descontinuidade (TEISSIER, 1948).

Interfase ou descontinuidade constituem modificações dos valores do coeficiente de alometria k que ocorrem durante períodos críticos do desenvolvimento do animal. Acresce o fato de que uma descontinuidade, ou uma interfase, não significa um salto, uma vez que ela, apesar de ter essa aparência, faz parte de um processo lento, contínuo e é bruscamente surpreendida em alometria.

Experimentalmente, apenas se consegue estimar a época aproximada do fenómeno e, muitas vezes, é difícil encontrar uma explicação razoável para o fato.

Embora alguns autores neguem a existência da interfase ou pontos críticos nos crescimentos alométricos, argumentando que a natureza não dá saltos, modificações do coeficiente de alometria são exemplos muito freqüentes. Trabalhos alométricos realizados neste Departamento demonstraram que o 15.º dia de vida pós-natal representa, para o rato, um momento crítico do desenvolvimento do animal (CRUZ, 1962; IUCIF, 1962; SESSO, 1962; SESSO, CRUZ e ARRUDA LEITE, 1962; AZOUBEL, 1964; OLIVÉRIO, 1965; VIANNA, 1966). Períodos críticos de desenvolvimento já foram descritos por ABELOOS (1947), em gato, ABELOOS (1948) e IUCIF (1962) em camundongo, e SCHUMACHER (1964 a, b) em hamster.

Outros estudos, de natureza fisiológica, caracterizam esse período. Assim, o hormônio tireotrópico aparece no soro pela primeira vez, em ratos, ao redor do 11.º-12.º dia de vida pós-natal (PHILLIPS e GORDON, 1955), ocorrendo maior índice de função entre o 12.º-15.º dia de vida (PHILLIPS e PIP, 1957). A refrigeração de ratos jovens causa queda do teor de ácido ascórbico da suprarrenal apenas em animais que atingiram 16 ou mais dias de idade (JAILER, 1950). Hipófises desses animais, sacrificados antes do 18.º dia de vida, não apresentam actividade de ACTH (JAILER, 1951); durante a primeira semana, a hipófise do rato não apresenta células eosinófilas, responsáveis pela elaboração do hormônio de crescimento, aparecendo as primeiras ao redor do 8.º dia e em número apreciável, apenas ao 15.º dia de vida (SESSO e MUÇOUÇA, 1958). Estudos sobre a secreção pancreática (SESSO, 1962) fornecem outros elementos para situar em torno do 15.º dia de vida pós-natal do rato, o momento crítico do desenvolvimento.

No presente trabalho, a modificação do valor do coeficiente de alometria k , relacionada com o período crítico

de desenvolvimento, já bem caracterizado, ou seja, em torno do 15.º dia de vida, na região dos molares, talvez pudesse ser explicada pela formação das raízes do molar, que se inicia entre o 14.º e o 16.º dia de vida pós-natal (SCHOUR e MASSLER, 1963).

Comparando-se os achados dos diastemas com os dos molares, verifica-se que o crescimento do diastema superior é, em função do crescimento do crânio, mais rápido que o do molar; o crescimento do diastema inferior o é a partir do 15.º dia de vida.

Uma explicação razoável para esse fato seria o fato de que o crescimento do dente incisivo do rato se faz segundo uma espiral logarítmica (STEADMAN e SCHOUR, 1935; HERZBERG e SCHOUR, 1941; WIERDA, 1942), é de crescimento contínuo, de forma e funções diferentes das do dente molar.

3. *Padrão de crescimento do arco dentário do rato, após a administração da hidrocortisona.*
 - a) *Região dos diastemas superior e inferior.*

O aparecimento de um aglomerado de dados nas dimensões dos diastemas superior e inferior, durante os dez primeiros dias de vida pós-natal do rato sob a acção da hidrocortisona, leva a aceitar a existência de uma inter-fase (ponto 1,30 do eixo das abcissas — figuras 7 e 8), caracterizando duas etapas de desenvolvimento. Esse fato talvez possa ser explicado como o resultado da acção da hidrocortisona face às modificações de equilíbrio fisiológico (stress), a que, por certo, o animal está sujeito nos primeiros dez dias de vida pós-natal. Esse achado torna-se importante, porque o aparecimento de duas retas alométricas para definir o comportamento do crescimento ósseo na região do diastema (incisiva) em rato injetado com cortisona parece não ter sido ainda descrito em outros estudos alométricos.

Embora haja superposição dos limites dos intervalos de confiança entre a primeira e a segunda etapas de desenvolvimento para o diastema inferior (Tabela III), esses resultados encontram justificativa na dispersão dos dados, o que torna difícil uma comparação entre as duas curvas de crescimento, por meio dos limites de seus intervalos de confiança. O exame da figura 6 e os valores de k (0,483 para o primeiro segmento, e 0,833 para o segundo), sugerem que, após a modificação observada por volta do 10.º dia de vida, a taxa de crescimento do diastema inferior, que era de 0,483, cresce progressivamente (0,833), em relação ao crescimento do crânio. Sendo esse comportamento semelhante ao observado para o diastema superior: 0,617 para o primeiro segmento, e 1,277 para o segundo (Tabela III) — parece lógico admitir que as taxas de crescimento dos diastemas superior e inferior, em cada etapa do desenvolvimento, são diferentes.

Assim é que, para a primeira etapa de desenvolvimento o valor de k mostrou-se menor que a unidade, para ambos os diastemas, e semelhantes entre si; para a segunda etapa de desenvolvimento, apresentou-se maior que a unidade, para o diastema superior, e menor que 1, para o diastema inferior. Portanto, do nascimento até o 10.º dia de vida do animal, aproximadamente, a taxa de crescimento entre os diastemas superior e inferior são semelhantes; porém, à medida que o animal cresce, ou seja, após o 10.º dia de vida, a taxa de crescimento vai se alterando, o que leva à predominância do diastema superior.

b) *Região dos molares superiores e inferiores.*

Após o tratamento com hidrocortisona (0,5 mg ao nascimento), o crescimento da região dos molares superior e inferior, em função do crescimento do crânio, se processa em duas etapas de desenvolvimento. O período crítico de desenvolvimento, caracterizado por modificação

brusca do coeficiente de alometria k , situa-se em torno do 10.º dia de vida pós-natal, mais precoce, portanto, que o observado para o rato normal. Durante a primeira etapa, o crescimento dos molares é proporcionalmente maior ($k = 1,035$ e $1,084$) que o crescimento do crânio; após o 10.º dia de vida, o inverso acontece em ambos os arcos ($k = 0,454$ e $0,586$).

Outros estudos alométricos, em ratos, caracterizaram essa antecipação do período crítico de desenvolvimento em torno de 10.º dia de vida: IUCIF (1965), em estudos sobre o crescimento da adrenal em ratos castrados; IUCIF e LOPES (1973), em testículos sob a ação da hidrocortisona; LOPES, VALERI, AZOUBEL, IUCIF e CAMPOS (1974), em crescimento de testículos de ratos sob a ação da hipervitaminose A; LOPES, VALERI, IUCIF, AZOUBEL e CAMPOS (1974), em rim de rato submetido a ação da hipervitaminose A; e SOUZA, AZOUBEL, IUCIF e LOPES (1974), em cérebro de ratos sob a ação da hipervitaminose A.

Ao se comparar o crescimento dos molares superior e inferior, em ambos os grupos estudados, verifica-se por meio dos limites dos seus intervalos de confiança (Tabela IV que são semelhantes entre si, nas duas etapas evolutivas.

Uma explicação para essa antecipação do ponto crítico de desenvolvimento na região dos molares, e seu aparecimento na região dos diastemas, talvez se encontre na influência exercida pela hidrocortisona no tecido ósseo e/ou no dentário.

De fato, se a reabsorção remodeladora, bem como a aposição, estão sempre presentes no tecido ósseo ou dentário, uma dose suficientemente alta de um glicocorticóide poderia alterar o ritmo de crescimento do órgão estudado. Senão vejamos:

1) para FOLLIS (1951), SISSONS e HADFIELD (1955), STOREY (1957, 1960, 1961), e HULTH e WESTERBORN (1963), a cortisona tem um efeito marcante no crescimento do tecido ósseo. FOLLIS (1955), encontrou em tíbias de ratos jovens, que receberam doses variáveis de cortisona,

uma densa zona composta de espículas de matriz cartilaginosa calcificada, encaixada em osso, e verificou que a largura dessa zona estava relacionada com a duração do hormônio, constituindo-se em um distúrbio da atividade osteolítica normal. CAVALLERO, BERTAZZOLI, ROSSI e SALA (1951) observaram alterações histológicas em ossos longos de ratos submetidos à ação da cortisona: estreitamento das lâminas epifisiárias, encurtamento das colunas das células cartilaginosas e redução no número das trabéculas da metáfise. Em ratos e coelhos, SISSONS e HADFIELD (1955) observaram retardamento do crescimento longitudinal dos ossos longos e mudanças estruturais nas lâminas epifisiárias e nas trabéculas da metáfise, quando esses animais recebiam cortisona. Uma dose suficientemente alta de cortisona produz uma diminuição ou uma inibição dos crescimentos aposicional e endocondral (HULTH e OLERUD, 1963). Na metáfise do rato submetido à ação da cortisona, aparece o osso denso (FOLLIS, 1951; STOREY, 1960), que consiste, segundo esses autores, de condrócitos da matriz cartilaginosa mineralizada e não reabsorvida, e de osso lamelar superabundante. STOREY (1960) mostrou que o osso denso aparece quando o rato recebe alta dieta balanceada de cálcio e fósforo. Na maioria dos animais e mesmo na espécie humana, a cortisona também produz aumento da reabsorção osteoclástica, bem como reabsorção em torno dos canais vasculares do osso (HULTH e OLERUD, 1963; STOREY, 1961). Em ratos tratados com hidrocortisona, BERNICK e ZIPKIN (1967) verificaram uma redução da cartilagem nas epífises dos ossos longos, associada a uma diminuição em número e tamanho das células, nas zonas de proliferação e hipertrófica. MANHART (1970), em ratos sob o efeito da cortisona, mostrou, na cartilagem de conjugação, inibição na proliferação das células e contração da substância intercelular;

2) ratos recém-nascidos, cujas mães receberam cortisona, apresentaram aos Raios X menor grau de calci-

ficação nos ossos crânicos, em relação ao dos ratos-controle (DOMM e LEROY, 1951). MOSS (1955), em ratos recém-nascidos, tratados com cortisona no dia do nascimento e, subseqüentemente, no 2.º, 4.º e 6.º dia de vida, sacrificando-os no 15.º dia de vida, observou redução nas dimensões crânio-faciais e neuro-crânicas, sendo o comprimento do segmento facial e a altura do ramo da mandíbula proporcionalmente mais afetados que o neuro-crânio. DOMM e LEROY (1955), em ratos cujas mães receberam cortisona, e LEROY e DOMM (1955), em ratos injetados após o nascimento observaram um retardamento do desenvolvimento dos ossos faciais e atrofia dos tecidos gengivais. Em ratos jovens, a cortisona reduz as dimensões de todo o esqueleto facial (DAVIDOVITCH e JOHANNESSEN, 1964) e as dimensões crânio-faciais (JOHANNESSEN, DAVIDOVITCH e BLACKKEY, 1966). Em estudo sobre o crescimento do crânio, CHE-KUO e JOHANNESSEN (1970) revelaram que o crescimento longitudinal da base do crânio é o mais afetado pela cortisona;

3) LEROY e DOMM (1951) observaram que altas doses de cortisona, em ratos jovens, provocavam irregularidades no crescimento dos ossos maxilares, com má formação dos dentes incisivos. DOMM e LEROY (1955), em ratos durante a gestação e em ratos recém-nascidos (LEROY e DOMM, 1955) tratados com cortisona, observaram redução dos ossos maxilares. GLICKMAN, STONE e CHAWLA (1953) mostraram que o tratamento com cortisona em camundongos provocava redução em altura do osso alveolar, osteoporose e diminuição em quantidade da matriz osteóide. Reabsorção do osso pre-maxilar e inibição do novo osso em formação foram observados por STOREY (1958), em coelhos. ZIPKIN, BERNICK e MENCZEL (1965) verificaram marcada perda óssea na crista alveolar em ratos tratados com hidrocortisona. BLACKKEY e JOHANNESSEN (1964), em ratos, após o 21.º dia de vida, encontraram redução nas dimensões do diastema inferior. Em ratos recém-nascidos, com doses diárias de hidrocortisona, por períodos de

5 a 10 dias; ROCCA (1967) revelou redução no desenvolvimento do processo condilar da mandíbula e inibição da condrogênese e tendência à rarefação óssea. SAKIMA (1973), em camundongos sacrificados no 23.º dia após o acasalamento, e no 5.º dia de vida pós-natal, observou que o acetato de cortisona, injetado nas mães, provocou, no processo condilar da mandíbula, diminuição do número de células nas zonas cartilaginosas de repouso e de multiplicação e um amadurecimento mais rápido dos condrócitos, dificultando a evolução normal do processo de ossificação.

Entretanto, GOLDSMITH e STAHL (1953) observaram, em ratos tratados com cortisona, aumento da quantidade do osso alveolar e marcada diminuição dos espaços medulares. GOLDSMITH e ROSS (1956), em ratos recém-nascidos, revelaram aumento do crescimento do osso alveolar e desarranjo das fibras do ligamento periodontal, após administração diária de cortisona;

4) alterações semelhantes às provocadas pelos glicocorticóides no tecido ósseo podem ocorrer também no tecido dentário, durante os períodos de formação e de crescimento. JOHANNESSEN (1964), em ratos entre o 21.º e o 41.º dia de vida pós-natal, verificou, por meio de mensurações, diminuição na deposição dentinária, especialmente na superfície oclusal da câmara pulpar do primeiro molar inferior, quando os animais recebiam injeções de cortisona. Ratos com 21 dias, tratados com cortisona por um período de 20 dias, mostraram que, em um estudo histológico quantitativo, havia diminuição da dentinogênese no primeiro molar inferior (JOHANNESSEN, 1965). RUSSO (1966), usando métodos histológicos quantitativos, observou, em germes dentais dos primeiros molares inferiores de ratos recém-nascidos, sob o efeito da hidrocortisona, deficiência da deposição e calcificação da matriz dentinária. RUSSO e HADLER (1973), em ratos recém-nascidos, após injeções diárias de hidrocortisona durante 5 e 10 dias, observaram, por meio de mensurações feitas

em projecções de cortes do primeiro molar inferior, redução no desenvolvimento dentinário, por deficiência de deposição de matriz e de sua mineralização.

No entanto, GOLDSMITH e ROSS (1954) mostraram, em ratos recém-nascidos tratados com cortisona, redução dos tecidos conjuntivos peridentais e aceleração da amelogenese e dontogênese. Em incisivos de fetos de ratas sob a ação da cortisona, verificaram desenvolvimento precoce do dente, acompanhado do aumento do RNA citoplasmático dos odontoblastos e aumento do glicogênio da papila dental (GOLDSMITH e ROSS, 1956); em ratos recém-nascidos, tratados com cortisona durante 10 dias, esses mesmos autores observaram aumento na deposição dentinária do dente incisivo e desorganização no arranjo das fibras do ligamento peridental. Em incisivos de ratos adultos, tratados com cortisona, ANNEROTH e BLOOM (1966) mostraram calcificação precoce da pre-dentina, calcificação do tecido conjuntivo pulpar, desorganização da camada dos odontoblastos e deficiência na histo-diferenciação dos odontoblastos; porém, atribuem esse fato à carência de vitumina C, decorrente do tratamento com cortisona, que seria o fator responsável por estas alterações.

Sendo o dente molar de crescimento limitado, de forma e função semelhantes ao do homem (SCHOUR e MASSLER, 1963) e diferentes das do dente incisivo, parece razoável considerar o dente molar como um órgão diferente do dente incisivo, apesar de ambos exercerem influência sobre o mesmo osso.

Não se encontraram na literatura, exceção feita aos trabalhos de GOLDSMITH e ROSS (1954, 1956) e de RUSSO (1966), outros que se preocupassem com o estudo dos dentes incisivo e molar sob o efeito de um corticosteróide em ratos recém-nascidos. Ao estudarem os dentes durante o desenvolvimento pós-natal, os autores iniciam suas amostras com ratos já além do 20.º dia de vida, perdendo assim toda informação de um dos períodos mais

significativos do desenvolvimento dental, ou seja do nascimento ao 15.º dia de vida.

GOLDSMITH e ROSS (1956) observaram, no incisivo de ratos recém-nascidos submetidos a injeções de cortisona até o 10.º dia de vida, aumento na deposição dentinária. RUSSO (1966) e RUSSO e HADLER (1973) em ratos recém-nascidos, sob o efeito da hidrocortisona entre o 5.º e o 10.º dia de vida, observaram deficiência na deposição dentinária. Assim sendo, os dentes incisivo e molar em ratos recém-nascidos, mostraram, segundo esses autores, um comportamento diferente quanto às alterações estruturais e morfológicas provocadas pela cortisona.

O crescimento alométrico dos arcos dentários, em ratos após a administração da hidrocortisona, é caracterizado pelo aparecimento de duas retas de inclinações diferentes, cada uma delas separadas por uma interfase ou ponto anguloso, tanto para os diastemas como para os molares. Essa interfase, que define um momento crítico no desenvolvimento do arco dentário, situa-se, na projeção gráfica, à altura do valor 1,30 (Figs. 5, 6, 7 e 8), na época em que o animal atinge aproximadamente o 10.º dia de vida pós-natal.

Portanto, dois fatos importantes na curva de crescimento dos arcos dentários chamaram a atenção: 1) a presença de duas retas alométricas, caracterizadas cada uma delas por um valor de k diferente, para os diastemas superior e inferior, fato esse ainda não descrito em outros estudos alométricos. Os resultados deste trabalho revelam que as taxas de crescimento dos diastemas superior e inferior, durante a primeira etapa (do nascimento ao 10.º dia de vida), podem ser consideradas semelhantes entre si e inferiores às encontradas para a segunda etapa; após o 10.º dia de vida, e durante todo o restante do período estudado, o comportamento do crescimento dessas regiões é semelhante ao do rato-controle; 2) a modificação do valor de k , em torno do 10.º dia de vida observado para o crescimento da região dos molares superior e inferior,

apresenta-se, em relação ao do rato-controle, em uma época mais precoce.

Se de fato o crescimento ósseo sofre a influência do crescimento dentário, parece plausível aceitar a hipótese de que o aparecimento de uma interfase na região dos diastemas, por volta do 10.º dia de vida, possa estar relacionado com os achados de GOLDSMITH e ROSS (1956). A antecipação do ponto crítico de desenvolvimento, na região dos molares talvez esteja relacionada com as alterações estruturais e morfológicas observadas por RUSSO (1966) e RUSSO e HADLER (1973).

Estudos posteriores são necessários para confirmar essas hipóteses.

Apesar de a alometria ser uma aproximação empírica, não fornecendo base para a investigação dos mecanismos envolvidos, sua aplicabilidade a estudos de crescimentos parece ter sido demonstrada. Surpreendendo as fases ou períodos críticos de desenvolvimento de um órgão, abre campo para novas pesquisas, além de permitir a demonstração dos efeitos de uma modificação fisiológica sobre um determinado órgão ou sobre o organismo como um todo (CRUZ, 1962).

SUMÁRIO

Os autores estudaram os efeitos de uma única dose subcutânea de 0,5 mg de acetato de hidrocortisona no arco dentário do rato, logo após o nascimento. Dos seus resultados experimentais os autores concluíram:

1 — para o rato-controle, as relações diastema superior / crânio e diastema inferior / crânio são caracterizadas por um valor constante do coeficiente de alometria, durante todo o período estudado. A taxa de crescimento do diastema superior, durante todo o período estudado, é sempre mais elevada que a do diastema inferior. Para o rato injetado com hidrocortisona, por outro lado,

o crescimento dessas relações se processa em duas etapas de desenvolvimento. As duas etapas de desenvolvimento, para cada dimensão estudada, estão separadas por um ponto anguloso, situado em torno do 10.º dia de vida pós-natal, ponto esse que representa o momento crítico da modificação do coeficiente de alometria k . As taxas de crescimento dos diastemas superior e inferior, durante os primeiros 10 dias de vida, são semelhantes entre si, após o período crítico, há predominância da taxa do superior sobre a do inferior;

2 — para o rato-controle, as relações molar superior / / crânio e molar inferior / crânio existem duas etapas de desenvolvimento, separadas por um ponto crítico, situado em torno do 15.º dia de vida pós-natal, o qual representa o momento crítico da modificação do valor de k . A taxa de crescimento dos molares, antes do período crítico, é mais elevada, para depois decrescer. Também para o rato injetado com hidrocortisona essas relações em projeções logarítmicas, são definidas por duas retas alométricas separadas por um ponto anguloso (crítico). O ponto crítico, situado em torno do 10.º dia de vida do animal injetado, separa as duas etapas de desenvolvimento e representa a «época de crise». Os valores de k , para os molares, são semelhantes ao do rato-controle, porém o ponto crítico situa-se em uma época mais precoce;

3 — a taxa de crescimento do comprimento total do crânio mostrou-se semelhante entre o rato-controle e o rato injetado com hidrocortisona.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABELOOS, M.M. — C.R. Acad. Sci., 224: 1450-1451, 1947.
- C. R. Acad. Sci., 226: 2095-2096, 1948.
- ANNEROTH, G. and BLOOM, G. — J. Dent. Res., 45: 229-235, 1966.
- AZOUBEL, R. — Crescimento alométrico do bulbo ocular durante o desenvolvimento ontogenético da galinha e do rato. Tese de doutoramento. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1964.
- BARTLETT, M.S. — Biometrics, 5: 207-212, 1949.
- BERNICK, S. and ERSHOFF, B.H. — Endocr., 72: 231-237, 1963.
- and ZIPKIN, I. — J. Dent. Res., 46: 1404-1411, 1967.
- BLACKKEY, W.E. and JOHANNESSEN, L.B. — J. Dent. Res., 43: 758, 1964.
- CAVALLERO, C., BERTAZZOLI, C., ROSSI, L. e SALA, G. — Sperimentali, 101: 209-225, 1951.
- CHE-KUO, H. and JOHANNESSEN, L.B. — J. Dent. Res., 49: 34-41, 1970.
- CRUZ, A.R. — Estudo do crescimento pós-natal do testículo e da supra-renal do rato. A relação de alometria como método de estudo. Tese de Livre docência. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1962.
- and LISON, L. — Z. mikr.-ant. Forsch., 70: 139-167, 1963.
- DAVIDOVITCH, Z. and JOHANNESSEN, L. B. — J. Dent. Res., 43: 757, 1964.
- DOMM, L.V. et LEROY, P. — J. Dent. Res., 30: 488-489, 1951.
- et ——— C. R. Acad. Sci., 241: 1514-1516, 1955.
- and KIELY, M.L. — Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 129: 912, 1968.
- FOLLIS, R.G. — Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 76: 722-724, 1951.
- GLICKMAN, I., STONE, I.C. and CHAWLA, T.N. — J. Periodont., 24: 161-167, 1953.
- GOLDSMITH, E.D. and ROSS, L. — J. Clin. End. Met., 14: 824, 1954.
- and ——— Acta Endocr., 22: 23-41, 1956.
- and STAHL, S.S. — J. Dent. Res., 32: 699, 1953.
- HERZBERG, F. and SCHOUR, I. — Anat. Rec., 80: 497, 1941.
- HULTH, A. and OLERUD, S. — Brit. J. Exp. Path., 44: 491-496, 1963.
- and WESTERBORN, O. — Arch. Path. Anat., 336: 209-219, 1963.

- IUCIF, S. — Crescimento alométrico do crânio e do arco dentário, durante a vida pós-natal de alguns roedores. Tese de doutoramento. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1962.
- *Ciência e Cultura*, 17: 241, 1965.
- e LOPES, R.A. — Resumos da II Semana de Estudos Biológicos da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras «Barão de Mauá», 1973.
- JAILER, J.W. — *Endocr.*, 46: 420-425, 1950.
- *Endocr.*, 49: 826-827, 1951.
- JOHANNESSEN, L.B. — *Arch. Oral Biol.*, 9: 421-434, 1964.
- *Arch. Oral Biol.*, 10: 819-832, 1965.
- , DAVIDOVITCH, Z. and BLACKKEY, W.E. — *Arch. Oral Biol.*, 11: 31-39, 1966.
- LEROY, P. et DOMM, L.V. — *J. Physiol.*, 43: 780, 1951.
- et —— — *Ann. d'Endocr.*, 16: 773, 1955.
- LEVY, M. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 55: 51-56, 1952.
- LOPES, R.A., VALERI, V., AZOUBEL, R., IUCIF, S. e CAMPOS, G.M. — *Rev. Brasil. Pesq. Med. Biol.*, 1974 (no prelo).
- , ——, IUCIF, S., AZOUBEL, R. e CAMPOS, G.M. — *Ciência e Cultura*, 1974 (no prelo).
- MANNHART, H. — *Acta Anat.*, 76: 250-262, 1970.
- MOSS, M.L. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 89: 648-650, 1955.
- OLIVÉRIO, L.G. — Crescimento alométrico dos membros anterior e posterior do rato e posterior da galinha. Tese de doutoramento. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1965.
- PHILLIPS, J.B. and GORDON, A.S. — *Anat. Rec.*, 123: 487-508, 1955.
- and PIIP, L.K. — *Anat. Rec.*, 129: 415-431, 1957.
- ROCCA, R.A. — Efeitos da administração da hidrocortisona no desenvolvimento do processo condilar da mandíbula do rato. Contribuição para o estudo morfológico. Tese de doutoramento. Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araraquara, 1967.
- RUSO, M.C. — Efeitos da administração da hidrocortisona na formação dentinária do primeiro molar inferior do rato. Tese de doutoramento. Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araçatuba, 1966.
- and HADLER, W.A. — *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, 2: 135-145, 1973.
- SAKIMA, T. — Ação do acetato de cortisona no desenvolvimento intrauterino da cabeça da mandíbula do damundongo. Estudo morfológico e histoquímico. Tese de doutoramento. Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araraquara, 1973.

- SCHOUR, I. and MASSLER, M. — «The teeth». In Farris, J.D. and Griffith, J.Q. *The rat in the laboratory investigation*, 2nd ed. Hafner, N. Y., 1963, p. 104-165.
- SCHUMACHER, G.H., WOLF, E. und SCHULTZ, G. — *Gegenbaur Morph. Jahrb.*, 105: 396-430, 1964.
- , — und — — *Gegenbaur Morph. Jahrb.*, 105: 431-469, 1964.
- SESSO, A. — Observações citológicas e bioquímicas sôbre a evolução do pâncreas exócrino do rato, durante o crescimento pós-natal. Tese de doutoramento. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1962.
- , CRUZ, A.R. e ARRUDA LEITE, J.B. — *Soc. Biol. de Ribeirão Preto*, 1962.
- e MUÇOUÇAH, J.C. — *Rev. Brasil. Biol.*, 18: 451, 1958.
- SISSONS, H.A. and HADFIELD, G.J. — *J. Anat.*, 89: 69-78, 1955.
- SOUZA, M.L., AZOUBEL, R., IUCIF, S. e LOPES, R.A. — *Rev. Brasil. Pesq. Med. Biol.*, 1974 (no prelo).
- STAFNE, E.C. and LOVESTEDT, S.A. — *Oral Surg.*, 13: 1445, 1960.
- STEADMAN, S.R. and SCHOUR, I. — *J. Dent. Res.*, 15: 222, 1935.
- STOREY, E. — *Aust. N.Z. J. Surg.*, 27: 19-30, 1957.
- — *J. Bone Joint Surg.*, 40: 558, 1958.
- — *Brit. J. Path.*, 41: 207-213, 1960.
- — *Endocr.*, 68: 533-542, 1961.
- TEISSIER, G. — *Biometrics*, 4: 14-53, 1948.
- VIANNA, G.F. — Crescimento alométrico das glândulas lacrimal e de Harder do rato, durante a vida pós-natal. Tese de doutoramento. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1966.
- WALD, A. — *Ann. Math. Stat.*, 11: 284-300, 1940.
- WIERDA, J.L. — *Anat. Rec.*, 83: 495-501, 1942.
- ZIPKIN, I., BERNICK, S. and MENCZEL, J. — *Periodontics*, 3: 111-114, 1965.

FOLIA ANATOMICA VNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

VOL. XLIII

N.º 9

ULTRASTRUTURA DAS OVOGÓNIAS E DOS OVÓCITOS EM ESTADO LEPTÓTENO, ZIGÓTENO, PAQUÍTENO E DIPLÓTENO DA PROFASE MEIÓTICA NO CRICETO DOURADO

POR

ROGÉRIO DOS SANTOS CARDOSO TEIXEIRA *

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	1
MATERIAL E MÉTODOS	3
RESULTADOS	8
DISCUSSÃO	32
RESUMO	38
SUMMARY	40
BIBLIOGRAFIA CITADA	42

INTRODUÇÃO

Nos mamíferos (20) as células germinais femininas ao chegarem às cristas genitais, oriundas da endoderme da parede do saco vitelino, multiplicam-se activamente por mitose dando origem às ovogónias.

As ovogónias das primeiras gerações atingem a região medular das gónadas e aí juntamente com as

* Professor Auxiliar de Biologia Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

células epiteliais que também migraram desde o epitélio germinal, dão origem aos cordões medulares. Todavia, todas as ovogónias degeneram, mesmo se algumas delas entraram na profase meiótica (4).

As ovogónias das gerações subsequentes, responsáveis pelo desenvolvimento do cortex ovárico definitivo destacam-se do epitélio germinal mas não penetram na zona medular do ovário, como acontece com as das gerações anteriores. Em vez disso, ficam na região periférica ou cortical do ovário. Nesta zona multiplicam-se activamente por mitose, aumentando rapidamente o seu número.

No final da proliferação mitótica, as ovogónias entram em profase meiótica e diferenciam-se em ovócitos. A meiose continua-se até diplóteno e neste momento cessa, para continuar pouco tempo antes da ovulação.

Uma revisão da literatura (30) sobre a ultraestrutura das ovogónias e ovócitos de várias espécies de mamíferos mostra que é essencialmente idêntica. Apenas no núcleo ocorrem modificações ligeiramente diferentes. No estado de leptóteno, a cromatina organiza-se em cromosomas. Estes possuem zonas centrais densas aos electrões rodeadas por quantidades variáveis de material fibrilar. Em zigóteno os cromosomas tornam-se mais evidentes e estão frequentemente polarizados num ponto do nucleoplasma. As partes centrais dos cromosomas são simples, como no leptóteno ou estão associadas aos pares e esta última morfologia indica que se iniciou o emparelhamento dos cromosomas homólogos. Em paquíteno há a transformação da parte central do cromosoma, em filamentos tripartidos, constituídos por três estruturas lineares paralelas, separadas umas das outras por áreas quase transparentes aos electrões. Estes componentes nucleares designados na literatura por complexos sinápticos indicam que os cromosomas homólogos estão completamente em sinapse e representam a parte central de cada bivalente. O diplóteno é caracterizado pelo reapareci-

mento de cromosomas não emparelhados com morfologia similar aos do leptóteno.

A configuração típica de diplóteno dura muito pouco tempo no Criceto dourado, aliás como noutros mamíferos (30). Os cromosomas deixam de se ver e a cromatina adquire uma forma semelhante à dos núcleos interfásicos. Este aspecto morfológico é conhecido na literatura Anglo-Saxónica como «dictyate» (30).

Ao contrário, nos ovócitos da mulher e de outros mamíferos persiste o aspecto que os cromosomas têm em estado diplóteno durante todo o tempo de diferenciação do estado folicular (30).

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL

Como material de estudo usei para este trabalho, ovários de Criceto dourado. Este animal pertence à ordem dos Roedores, à família *Cricetidae*, à subfamília *Cricetinae*, ao género *Mesocricetus* e à espécie *Mesocricetus auratus* (12).

Os Cricetos dourados para o presente trabalho foram fornecidos pelo Biotério do Instituto Gulbenkian de Ciência.

MÉTODOS

Colheita

Para o estudo das ovogónias tive de utilizar Cricetos fetais. Retirei os Cricetos do útero materno aproximadamente 48 e 24 horas antes do nascimento. As fêmeas de cada ninhada foram mortas por decapitação, após leve anestesia com éter. Introduzi-lhes dentro da cavidade abdominal um fixador (glutaraldeído a 3% em tampão Millonig a pH 7,3, a 4°C.), para que a fixação começasse rapidamente.

Em seguida efectuei o isolamento dos ovários fetais com a ajuda de uma lupa; depois coloquei um ovário de cada animal sobre uma gota de glutaraldeído e com o auxílio de lâminas de barbear bem afiadas e limpas, dividi-o em fragmentos de 1 a 2 mm de lado. Com uma pipeta tipo Pasteur transferei os pequeninos fragmentos para frascos com 2 a 3 cc do mesmo fixador e coloquei-os no frigorífico a 4°C., durante uma hora.

Para assegurar a obtenção dos estados meióticos (leptóteno, zigóteno e paquíteno e diplóteno), sacrifiquei Cricetos desde o nascimento até aos 10 dias de idade. Os animais foram também mortos por decapitação após leve anestesia com éter. Retirei-lhes os ovários, coloquei-os numas gotas de fixador (glutaraldeído a 3% em tampão Millonig a pH 7,3) e seccionei um de cada vez em pequenos fragmentos de 1 a 2 mm de lado. Executei esta tarefa também com o auxílio de uma lupa e de lâminas de barbear novas. Estes pequenos fragmentos foram imediatamente imersos em frascos com 2 a 3 cc de glutaraldeído a 3% em tampão Millonig a pH 7,3 e colocados no frigorífico a 4°C, durante uma hora.

Fixação

Ao fim deste tempo, depois de ter decantado o fixador lavei os pequenos fragmentos em três banhos (10 minutos cada um), em tampão Millonig a pH 7,3 gelado. Em seguida transferei-os para frascos com uma solução de tetróxido de ósmio a 2% em tampão Millonig a pH 7,3, durante um período de duas horas, a 4°C.

Após este tempo, decantei o tetróxido de ósmio com uma pipeta tipo Pasteur e lavei os pequenos fragmentos rapidamente duas vezes com tampão Millonig à temperatura ambiente. Seguiu-se imediatamente a desidratação.

Desidratação

A desidratação foi efectuada à temperatura ambiente numa série de álcoois de concentração crescente segundo o esquema seguinte:

Álcool etílico a	70°	15 minutos
»	»	»	95° »
»	»	»	100° »
»	»	»	100° »
»	»	»	100° »

Após a última passagem por álcool absoluto, os fragmentos passaram por dois banhos consecutivos de óxido de propileno, com a duração de 15 minutos cada.

Inclusão

Os pequenos fragmentos de tecido foram incluídos na resina Epon₈₁₂. Para isso, tive de transferir os fragmentos para uma solução em partes iguais, de óxido de propileno e de mistura completa das resinas durante uma hora.

A mistura completa das resinas prepara-se, adicionando partes iguais de uma solução que se pode designar por A (62 cc de Epon₈₁₂ + 100 cc de DDSA) com uma solução também designada por B (100 cc de Epon₈₁₂ + 89 cc de MNA), acrescidas de DMP₃₀ na percentagem de 1,5%.

Depois os fragmentos foram retirados daquele meio e colocados num pedaço de papel de filtro. Daqui foram transferidos para cápsulas de gelatina tipo 00, com o auxílio de um palito de madeira. Seguidamente enchi as cápsulas até 2/3 do seu tamanho, com mistura completa das resinas. Coloquei-as numa estufa a 60°C., durante 48 horas, para se efectuar a polimerização do meio de inclusão.

Cortes

Obtidos desta maneira os blocos de Epon₈₁₂, contendo o material em estudo, efectuei cortes semifinos e

ultrafinos num Ultramicrotomo (Ultratome-LKB), utilizando facas de vidro.

A obtenção de cortes semifinos (1000 nm de espessura) permitiu-me observar ao microscópio de luz a morfologia do ovário em cada idade de modo a poder seleccionar a célula ou células em estudo. Depois talhava os blocos de modo a obter cortes ultrafinos da região seleccionada.

Cortes semifinos — Os cortes semifinos foram recolhidos do recipiente da faca de vidro, que se encontrava cheio de água destilada, com uma ansa de metal e colocados sobre uma lâmina histológica onde previamente colocava uma gota de água destilada. Seguidamente, e à lupa, dispuz os cortes, com a ajuda de uma agulha especial, à periferia da gota e utilizando papel de filtro, retirava a água excedente; aqueci ligeiramente a lâmina de vidro não só para evaporação da água restante como também para permitir a colagem dos cortes; depois corei os cortes com azul de toluidina a 1%, em solução alcalina, durante 10 minutos, numa platina aquecida à temperatura de 47°C.; passei rapidamente os cortes por água destilada, efectuei a montagem em Permunt e fotografei-os num Fotomicroscópio.

Cortes ultrafinos — Os cortes ultrafinos (90-60 nm de espessura), depois de efectuados num Ultramicrotomo, foram recolhidos, fazendo contactar as grelhas com a superfície líquida do recipiente da faca. Depois eliminei o excesso de água, na superfície da grelha, tocando-a contra papel de filtro.

Para este estudo utilizei grelhas de cobre (200 malhas por polegada quadrada), revestidas por uma película de formvar reforçada com carbono.

Coloração

Utilizei a técnica da dupla coloração pelo acetato de uranilo e citrato de chumbo (solução 1/10 em hidróxido de sódio). Para execução da coloração, coloquei algumas gotas de uma solução saturada de acetato de uranilo

em álcool etílico a 50%, numa lâmina de vidro com várias escavações; sobre cada gôta coloquei as grelhas de forma que o lado em que se encontravam os cortes ficasse em contacto com a referida solução; deixei assim durante 30 minutos; após este tempo retirei as grelhas e lavei-as cautelosamente em dois banhos de água destilada, mergulhando-as 10 a 20 vezes em cada banho; seguidamente sequei-as com papel de filtro e efectuei a coloração com citrato de chumbo.

Neste caso procedi do seguinte modo: sobre uma superfície hidrofóbica coloquei várias gotas da solução a 1/10 em hidróxido de citrato de chumbo e sobre cada gota uma grelha, de forma que a superfície em que se encontravam os cortes ficasse em contacto directo com esta solução; deixei assim durante 5 minutos; após este tempo passei as grelhas por uma série alternada de dois banhos de soda cáustica 0,02N e água destilada, tendo o cuidado de mergulhar 10 a 20 vezes em cada banho; após o último banho de água, retirei o excesso de líquido, tocando com a grelha num papel de filtro e deixei secar.

Observação

Somente depois das grelhas estarem bem secas, estavam em condições de serem observadas no microscópio electrónico.

Em todas as observações utilizei um microscópio electrónico de marca Siemens Elmiskop 1A, funcionando a 80kv.; utilizei chapas fotográficas Kodak 6,5 × 9 cm (.040 in. glass); revelei-as em Kodak D-11, durante 8 minutos, seguida de passagem rápida por um banho de água corrente; depois fixei as chapas em Kodak unifix, durante 20 minutos; passei-as por um banho de água corrente durante 30 minutos; finalmente passei os negativos por uma solução de Kodak photo-flo 200 e deixei-os secar.

Para obter positivos usei papel AGFA de grau entre 2 e 5, de acordo com o contraste dos negativos.

RESULTADOS

OVOGÓNIAS EM INTERFASE

Num corte semifino ($1 \mu\text{m}$ de espessura) pode observar-se que o ovário do Criceto dourado (figura n.º 1) se compõe de vários grupos de células germinais (ovogónias) em diferenciação, muito unidas umas às outras, separadas apenas por pequena quantidade de material intercelular. As ovogónias têm forma irregular, e possuem núcleos redondos ou ovóides com o diâmetro de $8\text{-}12 \mu\text{m}$ e um ou dois nucléolos.

Ao microscópio electrónico o núcleo das ovogónias em interfase (figura n.º 3) é de forma redonda ou ovóide com cerca de $9 \mu\text{m}$ de diâmetro e apresenta as seguintes estruturas: invólucro nuclear, nucleoplasma, cromatina e nucléolos.

O invólucro nuclear é constituído pelas membranas nucleares externa e interna, espaço perinuclear, lamela densa interna e poros com material anular. As membranas nucleares externa e interna aparecem escuras por serem mais densas e dispõem-se na periferia nuclear, concentricamente e quase paralelamente. A membrana externa está em contacto directo com o citoplasma e a interna com o nucleoplasma. Cada uma das membranas tem espessura de cerca de $7\text{-}8 \text{ nm}$ (unidade de membrana).

As membranas nucleares externa e interna estão separadas por uma área menos densa aos electrões com uma largura compreendida entre 12 e 28 nm (espaço perinuclear). Em determinados pontos da sua superfície, as duas membranas unem-se uma à outra, de modo especial, formando intervalos ou poros. Este aspecto de união das duas membranas nucleares de modo a formarem uma espécie de lábio arredondado, deixando entre si intervalos ou poros, é melhor observado nos cortes em que o invólucro foi seccionado perpendicularmente. Com a dupla fixação usada, os poros nucleares têm aspecto

bastante denso, provavelmente devido à presença de material proteico dentro do poro (material anular).

A cromatina aparece sob duas formas: grupos de fibrilas muito densas aos electrões (heterocromatina) e grupos de fibrilas menos densas (eucromatina) dispersos ao acaso numa substância quase transparente aos electrões (nucleoplasma).

O nucléolo, bastante denso, de forma redonda, com $1,5-2 \mu\text{m}$ de diâmetro apresenta uma estrutura de tipo fibrilo-granular (figura n.º 3). Os elementos fibrilares têm uma espessura compreendida entre 6-10 nm e os grânulos um diâmetro aproximado de 15 nm. A distribuição deste material fibrilo-granular no nucléolo é diferente, de modo que se podem distinguir três componentes. Estes componentes são referidos com os algarismos 1, 2, 3 por uma questão didáctica. O componente-1 apresenta uma estrutura fibrilo-granular densa aos electrões e ocupa a maior parte da estrutura do nucléolo. Devido à sua abundância e à distribuição uniforme, parece ter a aparência de uma matriz na qual estão embebidos os componentes 2 e 3. O componente-2 tem aspecto semelhante ao nucleoplasma, preenche as numerosas áreas redondas ou levemente alongadas do nucléolo e parece ser constituído apenas por elementos fibrilares. O componente-3 localiza-se na porção mais periférica do nucléolo, é constituído por fibrilas muito juntas, o que o torna bastante mais denso que o componente-1.

O citoplasma das ovogónias quando observado ao microscópio electrónico apresenta: mitocôndrias, elementos do aparelho de Golgi, retículo endoplásmico liso e rugoso, ribosomas livres e polisomas (figuras n.º 3).

As mitocôndrias têm forma arredondada ou em bastonete, com o diâmetro de $0,5-1 \mu\text{m}$; estruturalmente apresentam duas membranas concêntricas, uma externa e outra interna, separadas por um intervalo quase transparente aos electrões, de 7-9 nm de espessura. As membranas têm a espessura de 6-7 nm e a interna apresenta cristas a delimitar um espaço interior (matriz). Em algu-

mas mitocôndrias, observam-se, no interior das cristas, áreas quase transparentes aos electrões, de forma e tamanho variáveis, semelhantes às descritas na literatura Anglo-Saxónica (27) por «mitochondrial vacuoles».

O aparelho de Golgi é muito pouco desenvolvido neste tipo de célula.

Distingue-se o retículo endoplásmico liso ou agranular e o rugoso ou granular. O retículo endoplásmico liso apresenta-se em pequenas vesículas. O retículo endoplásmico rugoso observa-se sob a forma de vesículas e de pequenas cisternas revestidas externamente por ribosomas.

Ribosomas livres e polirribosomas encontram-se dispersos por toda a matriz citoplásmica.

As ovogónias estão limitadas por uma membrana celular, com a espessura de 7,5-8 nm (unidade de membrana). As membranas celulares de ovogónias adjacentes são sensivelmente rectilíneas. O espaço intercelular que as separa tem uma espessura compreendida entre 25-80 nm.

FIG. N.º 1 — OVÁRIO FETAL DO CRICETO DOURADO COM QUINZE DIAS DE IDADE.

A micrografia de luz de um corte semifino (1 μ m) mostra grupos de células germinais em desenvolvimento (ovogónias). Estes grupos de células (CL), estão rodeados por células mesenquimatosas e vasos sanguíneos do estroma ovárico.

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Azul de toluidina a 1%

Ampliação: 346,5 \times

FIG. N.º 2 — OVÁRIO FETAL DO CRICETO DOURADO COM QUINZE DIAS DE IDADE.

A micrografia de luz de um corte semifino (1 μ m de espessura) mostra ovogónias (O) em mitose.

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 1 122 \times

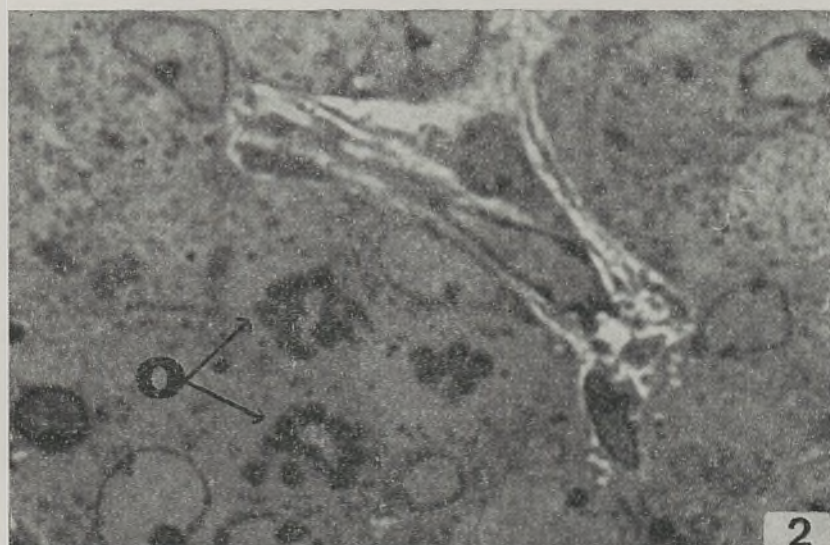
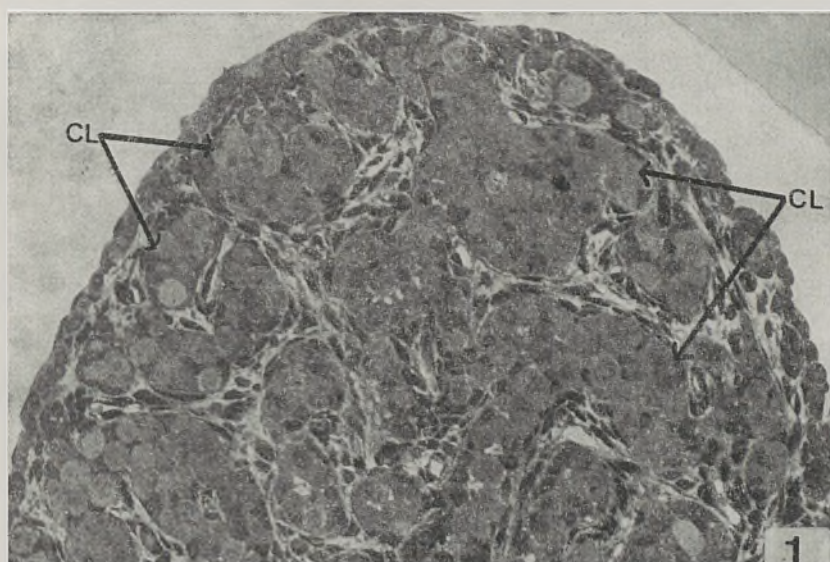


FIG. N.º 3 — OVOGÓNIA EM INTERFASE DO OVÁRIO FETAL DO CRICETO DOURADO COM QUINZE DIAS DE IDADE.

A micrografia electrónica mostra uma ovogónia (O) limitada pela membrana celular (MC), com o núcleo (N) e o citoplasma (C). No núcleo observa-se o invólucro nuclear (IN), o nucleoplasma (NU), a cromatina (CR) e o nucléolo (M). No citoplasma observam-se as mitocôndrias (MI) e os ribosomas (R).

- O — Ovogónia
- N — Núcleo
- C — Citoplasma
- MC — Membrana celular
- IN — Invólucro nuclear
- CR — Cromatina
- M — Nucléolo
- NU — Nucleoplasma
- MI — Mitocôndria
- R — Ribosomas

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 18 000 ×



OVOGÓNIAS EM MITOSE

A maioria das células estudadas encontravam-se em metafase (figuras n.ºs 2 e 4), o que leva a supor que talvez as outras fases mitóticas sejam mais rápidas e portanto difíceis de encontrar. Os cromosomas em metafase mostram-se muito densos aos electrões e observam-se entre eles microtúbulos, que representam porções do fuso mitótico (figura n.º 4).

O comportamento dos organelos citoplásmicos durante as divisões celulares é ainda pouco conhecido (22). Contudo, observam-se (figura n.º 4), mitocôndrias, retículo endoplásmico liso e rugoso, elementos do aparelho de Golgi, fragmentos do invólucro nuclear e ribosomas.

FIG. N.º 4 — OVOGÓNIA EM MITOSE DO OVÁRIO FETAL DO CRICETO DOURADO COM QUINZE DIAS DE IDADE.

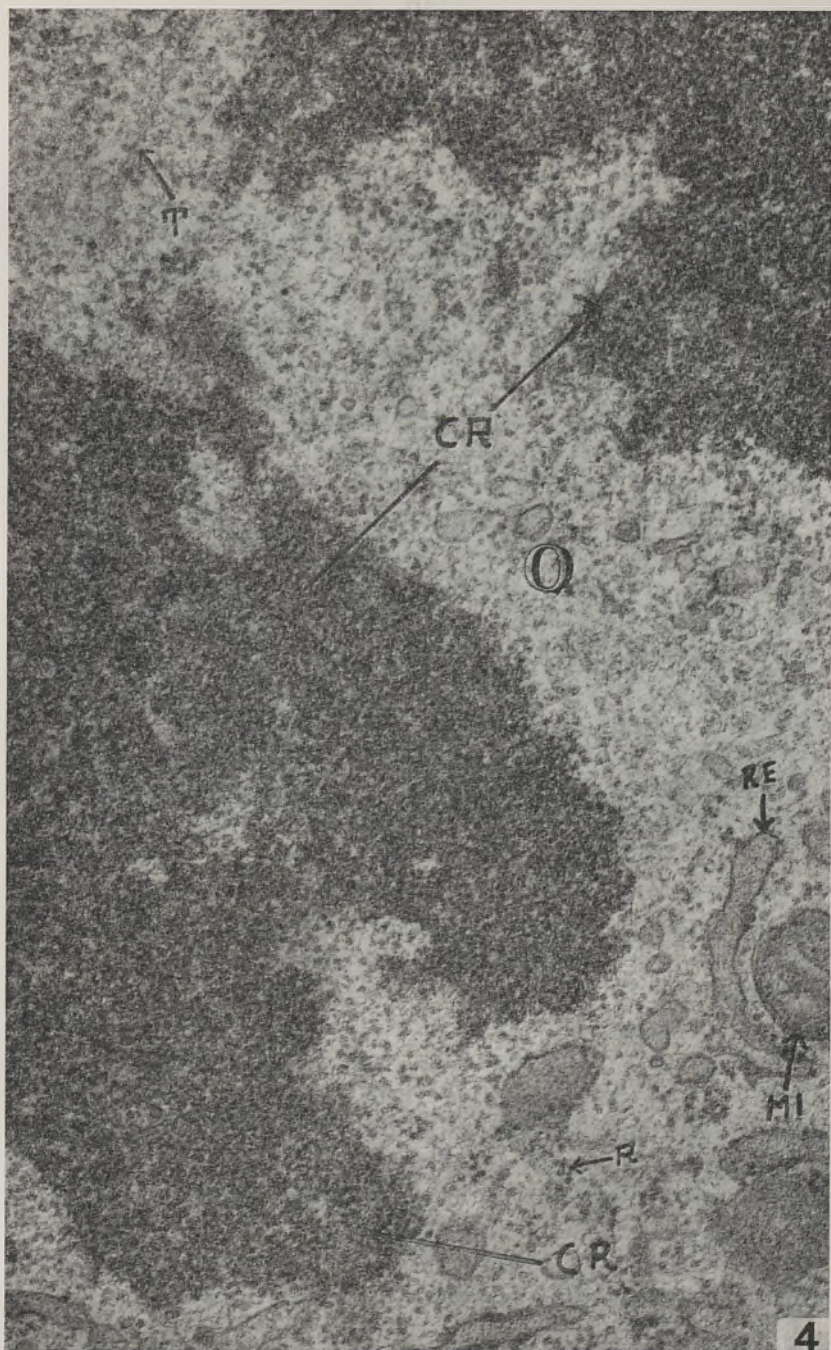
A micrografia electrónica mostra uma ovogónia em metafase, na qual se vêem cromosomas (CR), microtúbulos (T), retículo endoplásmico liso (RE), ribosomas (R) e mitocôndrias (MI).

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 48 000 ×



OVÓCITOS EM ESTADO DE LEPTÓTENO

No primeiro dia após o nascimento, no ovário do Criceto dourado (figura n.º 5), observam-se pela primeira vez grupos de ovócitos em estado de leptótenu que se distinguem do estado anterior essencialmente pela morfologia nuclear. Os ovócitos dentro destes grupos têm forma redonda ou ovóide, com núcleos redondos de 11-13 μm de diâmetro. As membranas celulares dos ovócitos adjacentes são sensivelmente rectilíneas e estão separadas por pequena quantidade de substância intercelular.

Algumas células germinais (ovócitos) nos primeiros dias após o nascimento quando observadas ao microscópio electrónico são morfologicamente semelhantes às ovogónias em interfase, porém a cromatina tem disposição diferente. O material fibrilar (cromatina) mostra-se agora condensado em formações semelhantes a filamentos (figura n.º 6). Estes filamentos (cromosomas leptoténicos) estão orientados ao acaso e o comprimento médio é de 3 nm. São constituídos por uma zona axial mais densa aos electrões, separada do nucleoplasma circundante por uma área de cromatina menos densa.

Além dos cromosomas leptoténicos foi possível distinguir no núcleo, o invólucro nuclear, o nucleoplasma e os nucléolos. A morfologia do invólucro nuclear, do nucleoplasma e dos nucléolos é semelhante à das ovogónias em interfase.

A matriz citoplásmica dos ovócitos em estado leptótenu quando observada ao microscópio electrónico é semelhante à das ovogónias em interfase. Os organelos apresentam morfologia idêntica, embora se encontrem um pouco mais numerosos (figura n.º 6). Existe maior número de ribosomas livres, polisomas, retículo endoplásmico rugoso e liso e mitocôndrias.

A membrana celular dos ovócitos continua com a mesma morfologia das ovogónias em interfase.

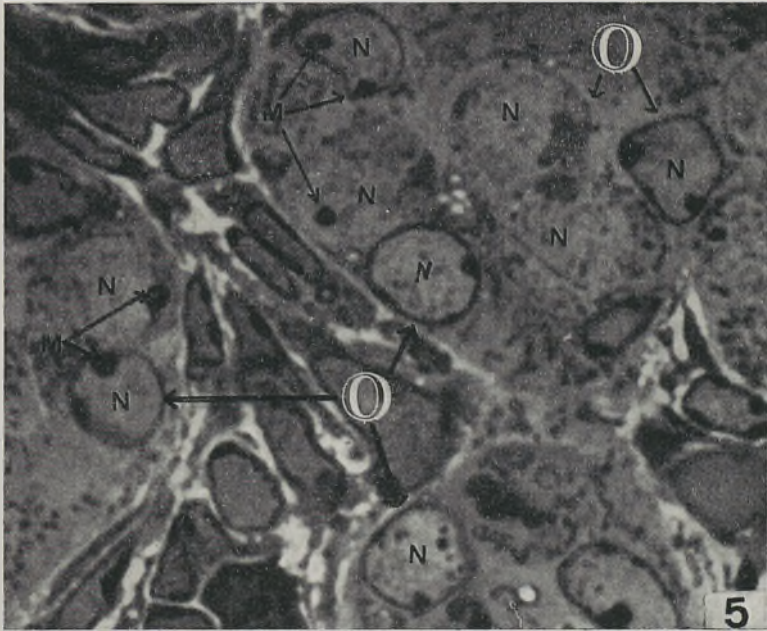


FIG. N.º 5. — OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM DOIS DIAS DE IDADE.

A micrografia de luz mostra grupos de células germinais em desenvolvimento (ovócitos em estado de leptóteno), muito próximos uns dos outros limitados pelo estroma ovárico.

O — Ovócitos

N — Núcleo

M — Nucléolo

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Azul de toluidina a 1%

Ampliação: 1 000 ×



FIG. N.º 6 — OVÓCITO EM ESTADO DE LEPTÓTENO DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM DOIS DIAS DE IDADE.

A micrografia electrónica mostra um ovócito em estado leptóteno da profase meiótica. Encontram-se presentes no núcleo (N), a cromatina e os filamentos cromosómicos (CR).

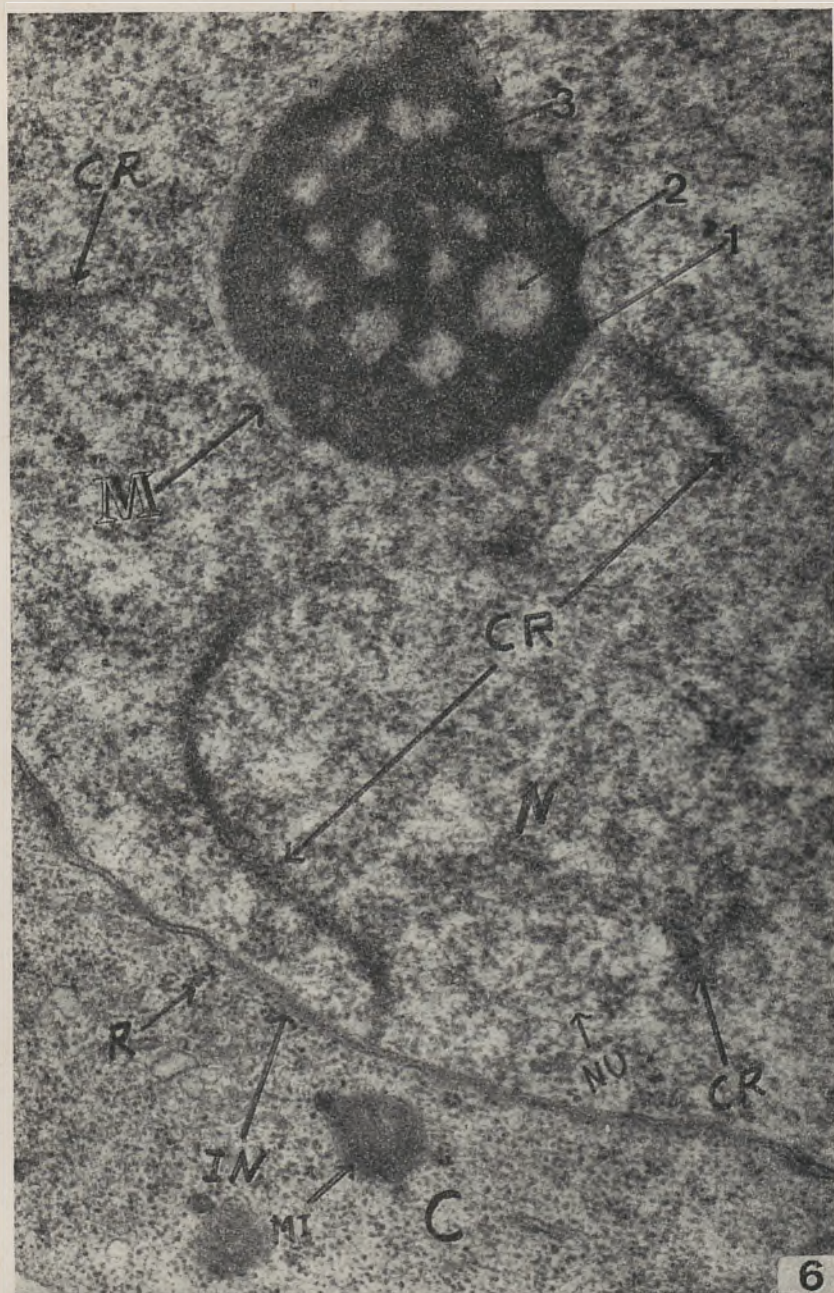
- N — Núcleo
- C — Citoplasma
- M — Nucléolo
- IN — Invólucro nuclear
- NU — Nucleoplasma
- CR — Cromosomas
- MI — Mitocôndrias
- R — Ribosomas

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 42 000×



OVÓCITOS EM ESTADO DE ZIGÓTENO

No terceiro dia após o nascimento o ovário do Criceto dourado apresenta, como nos estados precedentes, vários grupos de células germinais (ovócitos em estado de zigóteno) em diferenciação, além de grupos de ovogônias e de ovócitos em estado de leptóteno (figura n.º 7).

Os ovócitos no estado de zigóteno quando observados ao ME são um pouco maiores que as células germinais (ovócitos em estado de leptóteno). Têm forma arredondada ou oval com 13-15 μm de diâmetro. Nos núcleos (10 μm de diâmetro) observam-se, além de filamentos cromosômicos simples em início de emparelhamento, cromosomas zigoténicos. Os cromosomas em estado de zigóteno são constituídos por dois elementos lineares densos, paralelos, com a espessura de 65 nm e separados por uma zona menos densa de 800 nm de espessura (figura n.º 8).

A morfologia do invólucro nuclear, nucleoplasma e dos nucléolos é semelhante à dos estados precedentes.

A organização morfológica da matriz citoplásmica quando observada ao ME apresenta-se um pouco diferente do estado anterior. O mais notável é o aumento do número de mitocôndrias, elementos do aparelho de Golgi, retículo endoplásmico rugoso, ribosomas livres e polisomas (figura n.º 8).

As membranas celulares dos ovócitos têm morfologia idêntica à do estado anterior, embora seja um pouco maior o espaço intercelular (30-40 nm de espessura), situado entre as células adjacentes.

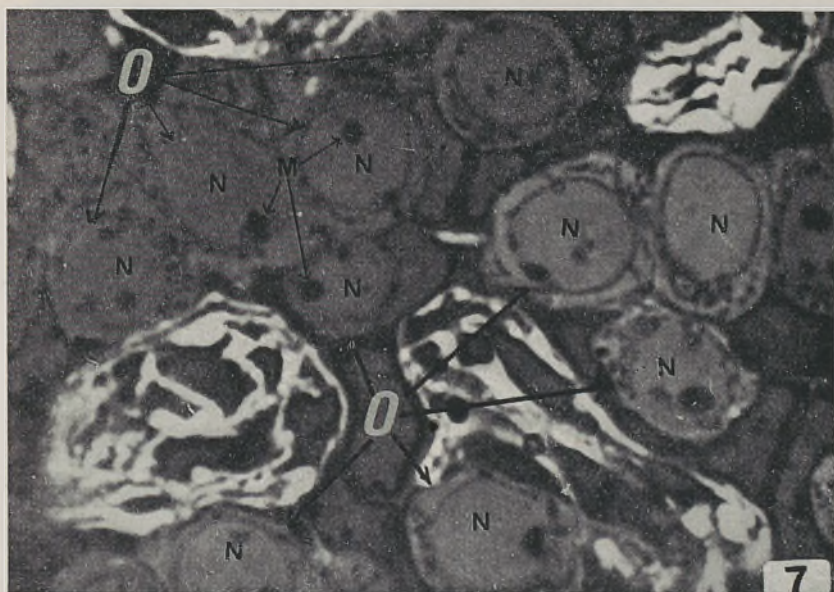


FIG. N.º 7 — OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM QUATRO DIAS DE IDADE.

A micrografia de luz mostra grupos de células (ovócitos em estado de zigóteno) rodeados por tecido conjuntivo e vasos sanguíneos.

O — Ovócito
 N — Núcleo
 M — Nucléolo

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Azul de toluidina a 1%

Ampliação: 1 120 ×



FIG. N.º 8 — OVÓCITO EM ESTADO DE ZIGÓTENO DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM QUATRO DIAS DE IDADE.

No núcleo (N) distingue-se: o invólucro nuclear, o nucleoplasma, a cromatina e os cromosomas zigoténicos (CR).

No citoplasma observam-se as mitocôndrias, o retículo endoplásmico liso e rugoso e os ribosomas.

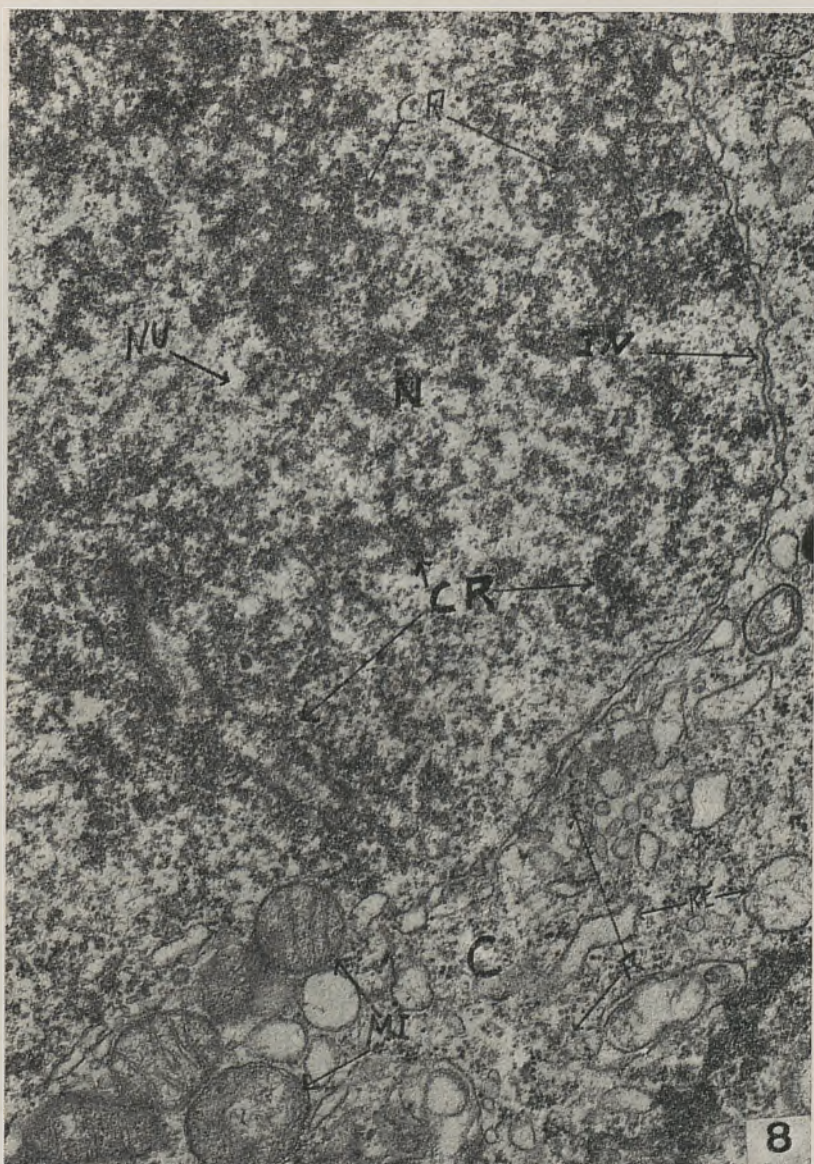
- N — Núcleo
- C — Citoplasma
- CR — Cromosomas zigoténicos
- M — Nucléolo
- IN — Invólucro nuclear
- MI — Mitocôndria
- RE — Reticulo endoplásmico
- R — Ribosomas

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 24 000 ×



OVÓCITOS EM ESTADO DE PAQUÍTENO

Entre o quatro e o sétimo dia, após o nascimento, o ovário do Criceto dourado compõe-se de grupos de células em estado de paquíteno e de células em estado de ovogônia, leptóteno e zigóteno. Os grupos de células germinais continuam limitados pelo estroma ovárico e observam-se pela primeira vez, entre os ovócitos em estado de paquíteno, células foliculares em diferenciação (figura n.º 9).

O núcleo dos ovócitos em estado de paquíteno ao ME apresenta constituintes semelhantes: o invólucro nuclear, o nucleoplasma e os nucléolos e de novo os complexos sinápticos (figuras n.ºs 10, 11, 12, 13 e 14).

O complexo sináptico é constituído por três elementos lineares, densos, paralelos e uniformemente distanciados. Os elementos laterais (L) têm a espessura de 50-65 nm e o central (C) 18-22 nm. Os elementos laterais estão ligados ao central, por numerosas fibrilas com a espessura de 5 a 10 nm e distam do central 150-200 nm. O complexo sináptico parece unido à membrana nuclear interna e lamela densa do invólucro nuclear, por um dos extremos (figuras n.ºs 10, 11 e 14).

A matriz citoplásmica ao ME tem morfologia idêntica à do estado anterior, embora tenha um maior número de mitocôndrias, de retículo endoplásmico liso e rugoso, ribossomas livres e polisomas.

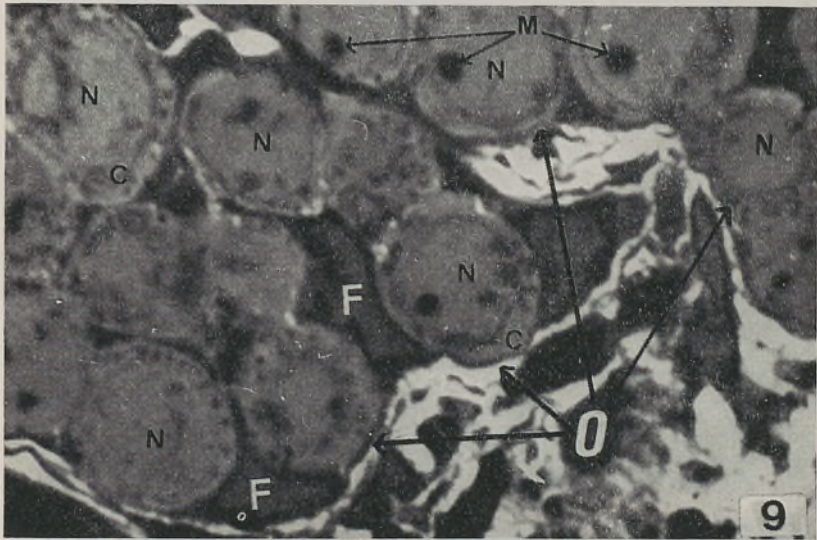


FIG. N.º 9 — OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM SEIS DIAS DE IDADE.

A micrografia de luz mostra um grupo de células germinais em diferenciação (ovócitos em estado de paquíteno), limitado pelo estroma ovárico.

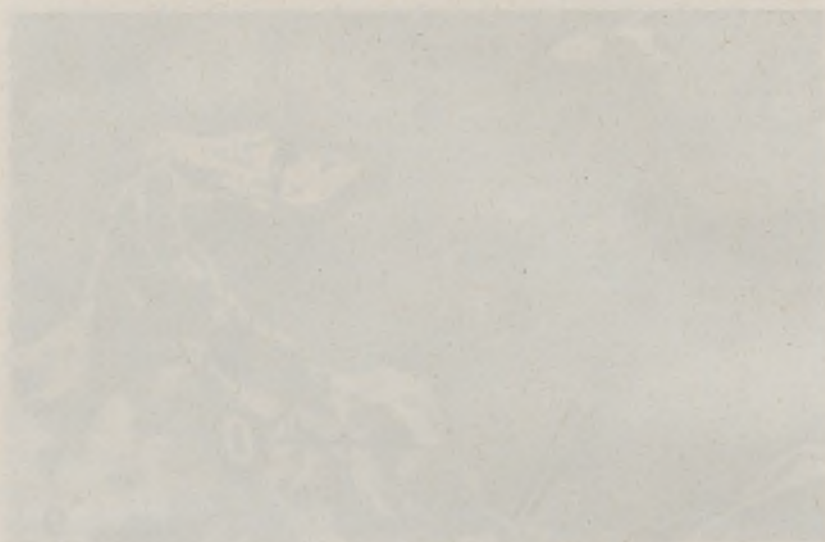
- O — Ovócito
- N — Núcleo
- C — Citoplasma
- F — Célula folicular

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Azul de toluidina a 1%

Ampliação: 1 120 ×



FIGS. N.ºs 10, 11, 12, 13 e 14 — OVÓCITOS EM ESTADO DE PAQUÍTENO DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM QUATRO, QUATRO, CINCO, SEIS E SETE DIAS DE IDADE.

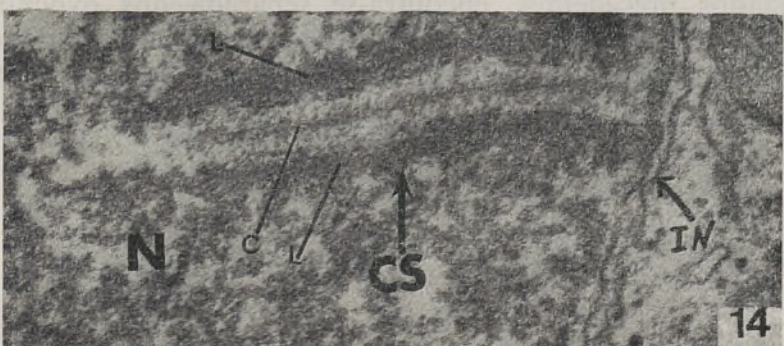
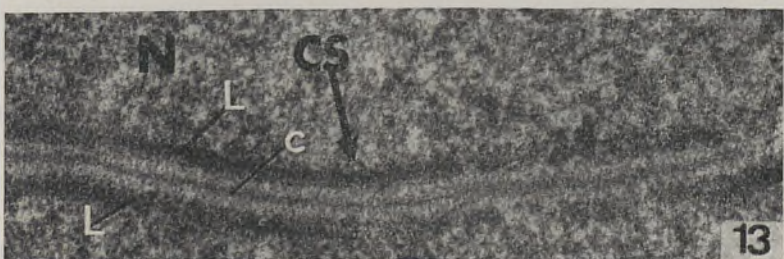
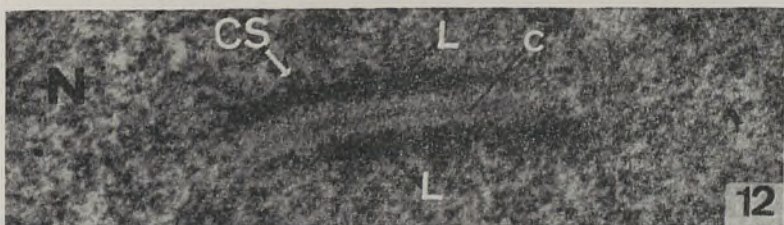
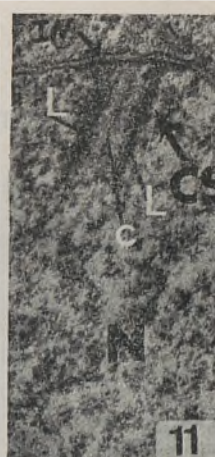
As micrografias electrónicas mostram a estrutura do complexo sináptico (CS) no núcleo de ovócitos em estado de paquiteno. O complexo sináptico é formado por três elementos densos, lineares, paralelos, separados por espaços uniformemente distanciados, de comprimento variável. Os elementos laterais (L) têm espessura de 50-60 nm e distam do central (18-22 nm de espessura) cerca de 150-200 nm. O elemento central (C) e os braços laterais estão ligados por elementos transversais regularmente espaçados.

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 48 000 ×, 36 000 ×, 40 000 ×, 36 000 × e 52 000 ×



OVÓCITOS EM ESTADO DE DIPLÓTENO

Entre o oitavo e o décimo primeiro dia após o nascimento o ovário do Criceto dourado é constituído por vários grupos de ovócitos em estado de diplóteno. Os ovócitos possuem forma arredondada ou oval com 14-16 μm de diâmetro. Os núcleos são redondos, com 11 μm de diâmetro, providos e um ou dois nucléolos (figura n.º 15).

O núcleo dos ovócitos em estado de diplóteno ao ME é redondo, com 11 μm de diâmetro e compõe-se de vários filamentos cromosómicos simples, dispersos pelo nucleoplasma com morfologia semelhante à dos cromosomas plumosos dos vertebrados inferiores (7). Os cromosomas diploténicos possuem uma parte central densa envolvida por material grânulo-fibrilar a formar projecções laterais ou ansas (figura n.º 16).

Os nucléolos redondos e maiores do que nos estados anteriores, com 1,9-2,5 μm de diâmetro, possuem estrutura fibrilo-granular semelhante à dos estados precedentes.

A matriz citoplásmica dos ovócitos em estado de diplóteno ao ME (figura n.º 16) encontra-se bastante mais desenvolvida do que no estado anterior. Tem maior número de organelos, mitocôndrias, retículo endoplásmico liso e rugoso, ribosomas livres, polisomas e elementos do aparelho de Golgi.

A membrana celular, com morfologia idêntica à dos estados precedentes, encontra-se separada dos ovócitos adjacentes e de algumas células foliculares por um espaço pouco denso aos electrões de 40-50 nm de espessura.

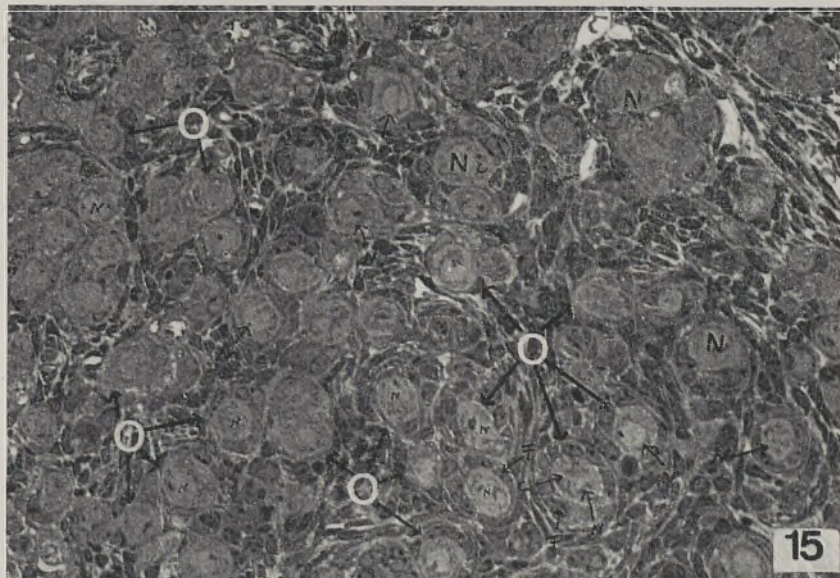


FIG. N.º 15 — OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM DEZ DIAS DE IDADE.

A micrografia de luz mostra várias células em estado de diplóteno rodeadas por algumas células foliculares achatadas e estroma ovárico.

- O — Ovócito
- N — Núcleo
- C — Citoplasma
- F — Célula folicular

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Azul de toluidina a 1%

Ampliação: 800 ×



FIG. N.º 16 — OVÓCITO EM ESTADO DE DIPLÓTENO DO OVÁRIO DO CRICETO DOURADO COM DEZ DIAS DE IDADE.

A micrografia electrónica mostra um ovócito em estado de diplóteno. No núcleo (N), observam-se os cromosomas diploténicos (CR). No citoplasma observam-se os ribosomas (R), as mitocôndrias (MI), e o retículo endoplásmico (RE) liso.

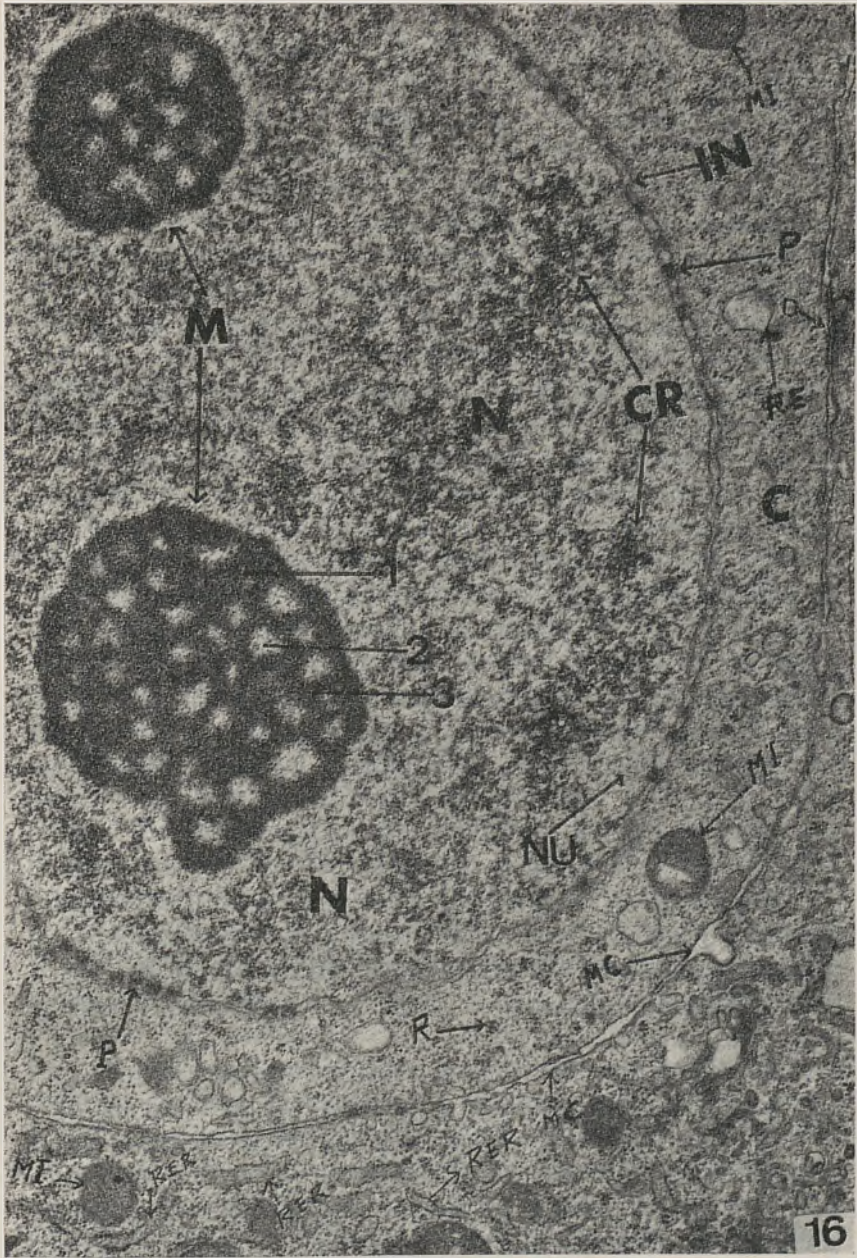
- N — Núcleo
- C — Citoplasma
- MC — Membrana celular
- IN — Invólucro nuclear
- CR — Cromosomas diploténicos
- M — Nucléolo
- NU — Nucleoplasma
- MI — Mitocôndria
- RE — Retículo endoplásmico
- R — Ribosomas

Fixação: Glutaraldeído/Tetróxido de ósmio

Inclusão: Epon₈₁₂

Coloração: Acetato de uranilo/Citrato de chumbo

Ampliação: 18 000 ×



DISCUSSÃO

No presente trabalho, verificou-se que as células germinais sofrem alterações morfológicas e estruturais. A discussão tem como objectivo interpretar essas transformações em cada um dos estados do desenvolvimento das células germinais, com base na organização estrutural da célula diferenciada normal.

O grau de confiança na morfologia ultra-estrutural apresentada pelas células germinais nos diversos estados da ovogénese, após a utilização das técnicas usadas, foi determinado tendo em consideração o que é aceite pela generalidade dos autores. Se os aspectos ultra-estruturais encontrados são regulares e ordenados interpretam-se como resultantes de uma organização pré-formada e não de uma organização criada artificialmente (23). Efectivamente, e de acordo com este princípio, das presentes observações ressalta que a técnica utilizada conserva bem a morfologia do ovário do Criceto dourado em qualquer das idades estudadas.

NÚCLEO

O *núcleo das ovogónias em interfase* é constituído por material fibrilar disperso ao acaso no nucleoplasma e está organizado sob duas formas: muito denso aos electrões (heterocromatina) e pouco denso aos electrões (eucromatina), figura n.º 3.

O termo cromatina usa-se para indicar o material cromosómico quando não é possível reconhecer cromosomas individualizados (21). A cromatina inactiva, heterocromatina, é constituída quase exclusivamente por DNA e histonas, formando o complexo DNA-histonas; a cromatina activa contém grande variedade de proteínas não histónicas que, uma vez combinadas com as proteínas

histónicas, funcionam como desrepressores do DNA (21). Estudos de autorradiografia ao microscópio electrónico demonstraram que a maior parte da síntese de RNA ocorre nas regiões eucromáticas da cromatina e pequena quantidade é sintetizada nas áreas heterocromáticas (8). O conhecimento da estrutura da cromatina inactiva e activa é necessário para se compreenderem as funções dos cromosomas. Os cromosomas têm duas funções principais: manter e replicar a informação genética contida no DNA (21). Esta informação é transcrita, na altura devida e na sequência adequada, para os tipos específicos de RNA que dirigem a síntese de proteínas.

Os *ovócitos em estado de leptóteno*, semelhantes em tamanho e forma às ovogónias, contêm cromatina organizada, cromosomas leptoténicos. Os cromosomas leptoténicos são constituídos por uma zona central mais densa de 17-20 nm de espessura à qual estão ligadas fibrilas de pequeno tamanho e espessura susceptíveis de se confundirem com o nucleoplasma (figura n.º 6). É evidente que a modificação que ocorreu consistiu na ordenação da cromatina num número diplóide de filamentos cromosómicos. Baker e col. (2), e Woollam e col. (28) mostraram que o material fibrilar que rodeia a zona central do cromosoma leptoténico está organizado em pequenos tufos «tufts» fibrilares intimamente associados num extremo com a zona central do cromosoma, projectando-se lateralmente a partir dela. Aspectos semelhantes observam-se na figura n.º 6. Provavelmente esta morfologia é semelhante à dos cromosomas plumosos dos ovócitos dos Anfíbios.

Os *núcleos em estado de zigóteno* apresentam filamentos com morfologia ultrastrutural semelhante à do estado leptóteno, mas emparelhados. Formam uma estrutura dupla, na qual se observa um intervalo quase transparente aos electrões de 75 nm de espessura entre os dois elementos (figura n.º 8). É provável que esta morfologia corresponda ao emparelhamento meiótico.

Os núcleos dos ovócitos em estado de paquíteno apresentam complexos sinápticos. Moses (14 e 15) verificou ao microscópico electrónico que os cromosomas em estado de zigóteno e paquíteno formavam estruturas lineares, densas, tripartidas, às quais deu o nome de complexos sinápticos. Posteriormente encontraram-se complexos sinápticos nas células meióticas masculinas e femininas de animais e plantas (24). Ora, nos ovócitos do Criceto dourado, o complexo sináptico é também constituído por três elementos lineares, densos, paralelos, uniformemente distanciados (figuras n.ºs 10, 11, 12 13 e 14). O elemento central, centro sináptico, de 18-22 nm de espessura é menos denso que os laterais ou externos. Os elementos laterais têm 50-65 nm de espessura cada um, estão ligados ao central por numerosas fibrilas de 10 nm de espessura e distam dele 150-200 nm. Nas figuras n.ºs 10, 11 e 14 observam-se complexos sinápticos associados por um dos extremos à membrana nuclear interna do invólucro nuclear. A membrana nuclear interna aparece mais densa no sítio da associação do que habitualmente, o espaço perinuclear é mais reduzido e não existem poros a esse nível. Não há provas para explicar o papel desta íntima associação.

A função do complexo sináptico é pouco conhecida. A hipótese (24) de que o crossing-over genético ocorre no complexo sináptico e que foi sugerida pela presença dos filamentos transversais que ligam os elementos laterais ao central é possível. Contudo, é necessário provar que o DNA ocorre entre as moléculas proteicas da face de emparelhamento. Para isso é necessário que a informação morfológica seja completada com estudos histoquímicos e autorradiográficos.

O núcleo dos ovócitos em estado de diplóteno (figura n.º 16) apresenta cromosomas com morfologia semelhante aos cromosomas plumosos «lampbrush chromosomes» (1). Tais cromosomas possuem uma parte central densa aos electrões envolvida por material fibrilar a formar ansas.

Gall e Callan (9) demonstraram, por autorradio-
grafia, que as ansas dos cromosomas plumosos são
sítios de activa incorporação de uridina tritiada (indi-
cando síntese de RNA) e da fenilalanina tritiada
(revelando síntese de proteínas). É provável que a
função dos cromosomas em estado diplóteno seja
idêntica.

O *nucléolo* durante a profase meiótica sofre hiper-
trofia, porém a estrutura não se altera pois continua a
apresentar os três componentes morfológicos, referen-
ciados pelos algarismos 1, 2 e 3. O componente-1 é de
natureza fibrilo-granular pouco denso aos electrões e
ocupa a maior parte da estrutura do nucléolo; o com-
ponente-2 quase transparente aos electrões, semelhante
ao nucleoplasma, preenche as numerosas áreas do nucléolo
(vacúolos nucleolares) e o componente-3, de natureza
exclusivamente fibrilar, é muito denso aos electrões, e
ocupa as áreas mais periféricas do componente-1.
Heitz (11) foi o primeiro a notar que os nucléolos se
encontram estreitamente relacionados com cromosomas
específicos. Este conceito foi confirmado e elaborado
por McClintock (13) que demonstrou que o nucléolo no
milho está associado a um locus cromosómico específico
que designou «corpo organizador do nucléolo». Perry (19)
refere que a região do organizador nucleolar contém
cistrões (genes) que codificam ambos os RNA ribosó-
micos (18 S e 28 S) que são transferidos para as subuni-
dades ribosómicas do citoplasma. Os componentes
nucleolares referenciados com os algarismos 1 e 3 são
semelhantes aos referidos na literatura como organizadores
nucleolares e o componente-2 como sistema intranucleolar
de cavidades nucleolares intercomunicantes (6). De acordo
com as presentes observações, aumento gradual de tama-
nho dos três componentes nucleolares e simultâneo
aumento dos elementos citoplásmicos envolvidos na bios-
síntese das proteínas, é provável que neste animal os
componentes-1 e 3 sejam de facto os organizadores

nucleolares e o componente-2 se relacione com a acumulação dos produtos nucleolares sintetizados.

A ultraestrutura do *invólucro nuclear* (membranas nucleares interna e externa, espaço perinuclear, poros, material anular e lamela densa interna) das células germinais durante a profase meiótica é semelhante aos das células diferenciadas normais (figuras n.ºs 3, 6, 8, 10, 11, 14 e 16). Contudo, o invólucro nuclear apresenta algumas características próprias: 1) ligação da membrana nuclear interna ao complexo sináptico (figuras n.ºs 10, 11 e 14); a membrana nuclear interna mostra a este nível um aumento de densidade e rigidez aparente; o espaço perinuclear é mais reduzido e não existem poros. Não existem provas para explicar a função desta íntima associação; 2) nucléolos muito próximos quase em contacto com o invólucro nuclear (figuras n.ºs 3, 6 e 16); esta associação transitória nucléolo-invólucro nuclear é provável que esteja relacionada com a transferência de material nucleolar para o citoplasma; 3) lamela densa interna muito reduzida e grande número de poros (figuras n.ºs 3 e 16) que estão de acordo com o estado metabólico das células germinais.

CITOPLASMA

As mitocôndrias das ovogónias e dos primeiros estados da profase meiótica encontram-se dispersas ao acaso na matriz citoplásmica; apresentam a forma e ultra-estrutura habituais, embora algumas desenvolvam no interior áreas quase transparentes aos electrões fig. n.º 16. Estas áreas aparecem no interior das cristas mitocondriais (espaço intracrista), têm forma triangular e são idênticas às designadas na literatura Anglo-Saxónica por «mitochondrial vacuoles» (27).

A ocorrência de vacúolos intramitocondriais foi referida pela primeira vez por Yamada e cols. (29); subsequentemente por Chiquoine (18); Parsons (18); Odor e col. (16 e 17); Hadek (10); Wischnitzer (27) e Wea-

kley (25 e 26). Wischnitzer sugere que os vacúolos intramitocondriais são consequência da dilatação das cristas mitocondriais, formando-se uma cavidade de configuração triangular que aumenta progressivamente de tamanho. Ora este aspecto foi realmente encontrado neste estudo.

O significado funcional dos vacúolos intramitocondriais permanece obscuro. Hadek (10) relacionou-os com as necessidades metabólicas da célula o que é provável pois as células germinais apresentam nesta altura do desenvolvimento grande actividade metabólica.

RESUMO

A morfologia ultrastrutural das ovogónias e dos ovócitos em estado leptóteno, zigóteno, paquíteno e diplóteno do Criceto dourado (*Mesocricetus auratus*) foi o objectivo principal do presente trabalho.

Material e métodos. O material utilizado (ovários do Criceto dourado) foi submetido à técnica de preparação de material biológico para microscopia electrónica; assim, depois de colhido foi seccionado e fixado em glutaraldeído a 3% (tampão Millonig) e em tetróxido de ósmio a 2% (tampão Millonig); incluído em Epon₈₁₂ e cortado num ultramicrótomo (Ultrotome). Os cortes ultrafinos depois de corados (acetato de uranilo e citrato de chumbo) foram observados num Elmiskop 1 A a 80 Kv.

Ovogónias em interfase. As ovogónias em interfase no Criceto dourado aparecem no 14.º e 15.º dia de gestação. O núcleo apresenta os seguintes constituintes: o invólucro nuclear, o nucleoplasma, a cromatina e os nucléolos. O invólucro nuclear é constituído pelas membranas nucleares interna e externa, espaço perinuclear, poros e lamela densa interna. A cromatina aparece sob duas formas: grupos de fibrilas muito densas aos electrões (heterocromatina) e grupos de fibrilas menos densas (eucromatina) dispersos pelo nucleoplasma. Os nucléolos bastante densos, de forma redonda com 1,5-2 μm de diâmetro apresentam estrutura do tipo fibrilo-granular.

O citoplasma contém em pequena quantidade mitocôndrias com e sem vacúolos, retículo endoplásmico liso e rugoso, polisomas e elementos do aparelho de Golgi.

Ovogónias em mitose. A maioria das ovogónias em mitose encontravam-se em metafase, o que leva a supor que as outras fases mitóticas sejam mais rápidas e portanto difíceis de observar. Os cromosomas em metafase

mostram-se muito densos aos electrões e observam-se entre eles microtúbulos que representam porções do fuso mitótico. Na periferia do citoplasma das ovogónias em mitose observam-se mitocôndrias, retículo endoplásmico rugoso e liso, elementos do aparelho de Golgi, fragmentos do invólucro nuclear e ribosomas.

Estado de leptóteno. Os ovócitos em estado de leptóteno observam-se entre o 1.º e 3.º dia após o nascimento. O núcleo tem estrutura idêntica ao estado anterior, excepto a cromatina que está organizada em filamentos (cromosomas leptoténicos).

O citoplasma é semelhante ao citoplasma das ovogónias em interfase, aparecendo contudo maior número de mitocôndrias, de polisomas, de elementos do retículo endoplásmico liso e rugoso e do aparelho de Golgi.

Estado de zigóteno. Os ovócitos em estado de zigóteno observam-se entre o 3.º e 5.º dia após o nascimento. O núcleo apresenta os filamentos cromosómicos emparelhados, cromosomas zigoténicos.

A organização citoplásmica assemelha-se à do estado de leptóteno, embora apareçam mitocôndrias com vacúolos em maior número.

Estado de paquíteno. Os ovócitos em estado de paquíteno observam-se entre o 4.º e 7.º dia após o nascimento. O núcleo apresenta os complexos sinápticos ligados à membrana nuclear interna por um dos extremos.

O citoplasma tem morfologia semelhante à do estado de zigóteno, mas com maior número de mitocôndrias, polisomas e elementos vesiculares de retículo endoplásmico liso e rugoso.

Estado de diplóteno. Os ovócitos em estado diplóteno observam-se entre o 8.º e 11.º dia após o nascimento. Cada cromosoma individual (cromatídeo) no estado de diplóteno aparece como um filamento do qual emergem várias ansas (aspecto de cromosoma plumoso). O nucléolo é maior que nos estados anteriores, mas apresenta estrutura idêntica.

O citoplasma tem maior dimensão e contém mitocôndrias com e sem vacúolos, maior número de retículo endoplasmático rugoso e liso, elementos do aparelho de Golgi e polisomas.

SUMMARY

The main purpose of the present work is the study of the ultrastructural morphology of Oogonia and Oocytes in the hamster ovaries.

Materials and Methods. The material which was used (hamster ovaries) was fixed in 3% glutaraldehyde (Millonig's buffer) followed by 2% osmium tetroxide. After embedding in Epon 812 thin sections were cut at the Ultratome and stained with uranyl acetate-lead citrate. They were then observed in an Elmiskop 1 A (80 kv.).

Interphase Oogonia. The Oogonia at interphase are observed in fetal days 14 and 15. The nuclei of oogonia contains the nuclear envelope, the nucleoplasm, the chromatin and the nucleolus. The nuclear envelope comprises the following parts: inner and outer nuclear membranes, perinuclear space, pores and internal dense lamellae. The chromatin appears under two forms: clumps of electron dense chromatin fibrils (heterochromatin) and the reticular network of the euchromatin. The nucleolus appears rather dense, round shaped, with a diameter of 1.5-2 μm and exhibit a fibrillo-granular texture.

The cytoplasm contains few mitochondria with and without vacuoles, smooth and rough endoplasmic reticulum, polyribosomes and elements of the Golgi apparatus.

Oogonia mitosis. The most oogonia in the mitotic stage were in metaphase which probably indicates that the other mitotic phases are more rapid and therefore difficult to be found. The chromosomes in metaphase are very dense to the electrons and the microtubules seen among them represent portions of the mitotic spindle.

At the periphery of the cytoplasm of the oogonia in mitotic stage, mitochondria, smooth and rough endoplasmic reticulum, Golgi apparatus elements, fragments of the nuclear envelope and ribosomes are observed.

The leptotene stage. Between the 1st and 3rd postnatal days oocytes at the leptotene stage are observed. The nucleus is similar in structure to the interphase oogonia but it contains chromatin in which the fibrillar material is condensed in thread structures (leptotene-chromosomes).

The cytoplasm in oocytes at leptotene is similar to the one at interphase oogonia. However a larger number of mitochondria appears, as well as polyribosomes, smooth and rough endoplasmic reticulum, and Golgi apparatus.

The Zygotene stage. Between the 3rd and 5th postnatal days oocytes at the zygotene stage are observed. The nucleus contains paired chromosomal threads (zygotene chromosomes).

The cytoplasm in oocytes at zygotene stage is similar to that at leptotene, although a larger number of mitochondrial vacuoles appears.

The pachytene stage. Between the 4th and 7th postnatal days, oocytes at the pachytene stage are observed. The nucleus contains synaptonemal complexes ending at the inner nuclear membrane.

The cytoplasm in oocytes at pachytene stage is similar to that at zygotene stage, but with a still larger number of mitochondria, polyribosomes and vesicular elements of smooth and rough endoplasmic reticulum.

The diplotene stage. Between the 8th and 11th postnatal days, oocytes at the diplotene stage are observed.

Each individual chromosome (chromatid) at diplotene stage is seen as a thread from which several loops emerge (lumpbrush-like chromosomes). The nucleolus is larger than at previous stages, but with similar structure.

Mitochondria with and without vacuoles, smooth and rough endoplasmic reticulum, Golgi apparatus and polyribosomes, are more abundant.

BIBLIOGRAFIA CITADA

1. BAKER, T. G. e FRANCHI, L. L. — *Lampbrush chromosomes in human oocytes*. «J. Anat. Lond.», 100, 702, 1966.
2. — e — — *The fine structure of oogonia and oocytes in human ovaries*. «J. Cell Sci.», 2, 213-224, 1967.
3. BAKER, T. G. e FRANCHI, L. G. — *The fine structure of oogonia and oocytes in the rhesus monkey (Macaca mulatta)*. «Z. Zellforsch.», 126, 53-74, 1972.
4. BRAMBELL, F. W. R. — *The development and morphology of the gonads of the mouse. I. The morphogenesis of the indifferent gonad and of the ovary*. «Proc. Roy. Soc. Biol.», 101, 391, 1927.
5. CHIQUOINE, A. D. — *The development of the zona pellucida of the mammalian ovum*. «Amer. J. Anat.», 106, 149-170, 1960.
6. CHOUINARD, L. A. — *A light and electron microscope study of the nucleolus during growth of the oocyte in the prepubertal mouse*. «J. Cell Sci.», 9, 637-663. 1971.
7. DU PRAW, E. J. — *Organization of Genetic Material in Eukaryotic Chromosomes. Cell division*. 514-662, «Cell and Molecular Biology». Academic Press. New York, 1969.
8. FRENSTER, J. H. — *Biochemistry and molecular biophysics of heterochromatin and euchromatin*. «Handbook of Molecular Cytology» (Ed. Lima de Faria), 251-276, North-Holland Publishing Company — Amsterdam, 1969.
9. GALL, J. G. e CALLAN, A. G. — Cit. por J. Du Praw. «Cell and Molecular Biology», 548-553. Academic Press. New York, 1969.
10. HADEK, R. — *The structure of the Mammalian egg*. «Intern. Rev. Cytol.», 18, 29-71, 1965.
11. HEITZ, E. — Cit. J. H. Frenster. «Handbook of Molecular Cytology» (Ed. Lima de Faria), 251-276, North-Holland Publishing Company — Amsterdam, 1969.
12. HION, A. — *Contribution à l'étude biologique de hamster doré (Mesocricetus auratus, W.)*. «Bul. Soc. Sci. Bret.» XXXIX, 99-109, 1964.
13. McCLINTOCK, B. — Cit. por PERRY, R. P. — *Nucleoli: the cellular sites of ribosome production*. «Handbook of Molecular Cytology» (Ed. Lima de Faria), 620-636. North-Holland Publishing Company — Amsterdam, 1969.
14. MOSES, M. J. — *Synaptonemal complex*. «Ann. Rev. Genetics», 2, 363-412, 1968.
15. — — *Structure and function of the synaptonemal complex*. «Genetics», 61, Supp, 41-51, 1969.

16. ODOR, D. L. e BLANDAU, R. J. — *Ultrastructural studies on fetal and early postnatal mouse ovaries. I. Histogenesis and Organogenesis.* «Amer. J. Anat.», 124, 163-186, 1969.
17. — e — — *Ultrastructural studies on fetal and early postnatal mouse ovaries. II. Cytodifferentiation.* «Amer. J. Anat.», 125, 177-216, 1969.
18. PARSONS, D. F. — *An electron microscope study of radiation damage in the mouse oocyte.* «J. Cell Biol.», 14, 31-48, 1962.
19. PERRY, R. P. — *Nucleoli: the cellular sites of ribosome production.* «Handbook of Molecular Cytology» (Ed. Lima de Faria), 620-636. North-Holland Publishing Company — Amsterdam, 1969.
20. PETERS, H. — *Migration of gonocytes into the mammalian gonad and their differentiation.* «Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B.», 259, 91-101, 1970.
21. RIS, H. — *The molecular organization of chromosomes.* «Handbook of Molecular Cytology» (Ed. Lima de Faria), 221-250. North Holland Publishing Company — Amsterdam, 1969.
22. SANDOZ, D. — *Variations ultrastructurales de l'appareil de Golgi au cours des divisions cellulaires dans les spermatocytes de souris.* «J. Microsc.», 15, 225-246, 1972.
23. SJOSTRAND, S. F. — *Electron microscopy of cells and tissues*, 393-411. Academic Press. New York, 1967.
24. SOTELO, J. R. — *Ultrastructure of the chromosomes at meiosis. Handbook of Molecular Cytology.* (Ed. Lima de Faria), 412-434. North Holland Publishing Company-Amsterdam, 1969.
25. WEAKLEY, B. S. — *Electron microscopy of the oocyte and granulosa cells in the developing ovarian follicles of the golden hamster (Mesocricetus auratus).* «J. Anat.», 100, 503-534, 1966.
26. — — — *Light and electron microscopy of developing germ cells and follicle cells in the ovary of the golden hamster: twenty-four hours before birth to eight days post partum.* «J. Anat.», 101, 435-459, 1967.
27. WISCHNITZER, S. — *Intramitochondrial transformations during oocyte maturation in the mouse.* «J. Morphol.», 121, 29-46, 1967.
28. WOOLLAM, D. H. M., e FORD, E. H. R. — *The fine structure of the mammalian chromosome in meiotic prophase with special reference to the synaptonemal complex.* «J. Anat.», 98, 163-174, 1964.
29. YAMADA, E., MUTA, T., MOTOMURA, A., e KOGA, H. — *The fine structure of the oocyte in the mouse ovary studied with electron microscope-* «Kurume Med. J.», 4, 148-171, 1957.
30. ZAMBONI, L. — *Comparative studies on the ultrastructure of mammalian oocytes. Oogenesis* (Ed. J. D. Biggers e A. W. Schuetz), 5-46, University Park Press, Baltimore, 1972.

FOLIA ANATOMICA VNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

VOL. XLIII

N.º 10

SOBRE A MORFOLOGIA DOS NÚCLEOS DO CEREBELO NO GATO

POR

ANTÓNIO MONTEIRO DE LACERDA

INTRODUÇÃO

Os núcleos do cerebelo formam um conglomerado de células mais ou menos contínuo, de dimensões variáveis conforme a espécie considerada (16). A subdivisão em núcleos individualizados obedece a critérios vários, baseados não só na sua topografia como também na citoarquitettura, mieloarquitettura, desenvolvimento ontogénico e conexões de fibras, tanto aferentes como eferentes (14).

Classicamente, duas grandes subdivisões se opõem na descrição dos núcleos do cerebelo dos mamíferos. Uma, no sentido mediolateral proposta por BRUNNER (9) considerando um núcleo medial (NM), um núcleo interpósito (NI) e um núcleo lateral (NL); outra, no sentido rostro-caudal, proposta por WEIDENREICH (43) e posteriormente modificada por OGAWA (29) a qual distingue 4 núcleos — o núcleo medial e o núcleo interpósito

posterior (NIP) que constituem um grupo postero-medial e o núcleo interpósito anterior (NIA) e o núcleo lateral, formando um grupo rostro-lateral.

Embora muitos autores como JANSEN e BRODAL (17) baseassem as suas descrições nos conceitos de Brunner, modernamente a subdivisão rostro-caudal de Weidenreich-Ogawa é aceite cada vez mais, sendo seguida entre outros por FLOOD e JANSEN (14), VOOGD (37), COURVILLE e BRODAL (12), e vendo a sua posição consideravelmente reforçada pelos trabalhos de KORNELIUSSEN e JANSEN (22) sobre a morfogênese dos núcleos do cerebelo nos cetáceos.

Isto porém não implica que os limites precisos dos diversos núcleos continuem por definir, citando como exemplo no caso particular do gato, a introdução do conceito de uma área de transição entre o NIA e o NL proposto por BRODAL e COURVILLE (5) ou mesmo a subdivisão por VOOGD (37) do NL, em 2 porções distintas: a «pars convexa» e a «pars rotunda», bem como ainda as zonas «pars parvocellularis» descritas por FLOOD e JANSEN (14) nos núcleos medial e lateral, os «sub-nucleus medialis parvocellularis» e «sub-nucleus lateralis parvocellularis», respectivamente.

O facto de não se utilizar uma nomenclatura uniforme acarreta consequências graves, tornando-se por vezes difícil o comparar de resultados, no tocante ao local exacto do estabelecimento de lesões ou no da distribuição de degenerescência. Se o assunto não é de grande relevância quando do estudo de áreas relativamente grandes e consideradas globalmente, já uma análise detalhada de pequenas e restritas zonas dentro de um núcleo, quer anatómica como neurofisiologicamente exige uma localização precisa, o que implica uma terminologia rigorosa, se possível uniforme, bem como uma descrição minuciosa para um mais fácil enquadramento da pequena área no todo em estudo.

É objecto do presente trabalho uma análise detalhada da morfologia dos núcleos centrais do cerebelo

(NCC) no gato, à base de dados citomieloarquitectónicos, numa reavaliação topográfica dos seus limites e perspectiva tridimensional dos mesmos.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizei 6 gatos adultos normais, sacrificados por perfusão intravital de solução de formalina a 10% através da aorta abdominal, após anestesia por Nembutal.

Extraídos os encéfalos e isolados os cerebelos, 3 deles foram imersos em formalina a 10% para prosseguimento da fixação e posterior coloração mielínica segundo M. Woelcke e os outros 3 fixados em álcool a 96° e posteriormente corados pela tionina.

Após inclusão em parafina, os cerebelos foram cortados a 15 ou 20 μm de espessura, nos planos transversal, horizontal e sagital, sendo retirado um de cada 10 cortes para subsequente coloração.

Os desenhos dos respectivos cortes foram feitos com o auxílio dum aparelho de projecção e os contornos dos núcleos cuidadosamente corrigidos ao microscópio.

Elaborei diagramas dos núcleos do cerebelo a partir de desenhos de cortes equidistantes, nos planos transversal, horizontal e sagital, adiante comentados. Foi ainda construído, um modelo dos mesmos núcleos, em material acrílico e realizado à base dos desenhos de cortes em plano horizontal. Os pontos de referência para a sobreposição dos referidos cortes foram obtidos mediante a prévia realização de dois furos no cerebelo com uma agulha. Este mesmo modelo serviu ainda de orientação para a elaboração de um diagrama standard dos núcleos do cerebelo, vistos em projecções ortogonais.

OBSERVAÇÕES

O aspecto topográfico apresentado pelas diferentes massas nucleares, separadas entre si e da restante subs-

tância branca por feixes de fibras e espaços vazios de células nervosas, é nalguns locais de tal modo nítido que permite uma separação fácil das diversas subdivisões. Noutras ocasiões, as dificuldades avolumam-se, sendo quasi impossível estabelecer um limite preciso entre os núcleos, apresentando estes, aspectos diferentes, conforme o plano em que são observados.

Numa análise sumária e inicial do aspecto da massa nuclear vista tridimensionalmente (ver figuras do modelo) dois pontos se me afiguram importantes. O primeiro é a fácil identificação de 4 formações. O segundo diz respeito ao seu modo de agrupamento. Com efeito, se se podem considerar dois núcleos formando uma massa medio-caudal (o NM e o NIP), separados por uma linha oblíqua de diante para trás e de dentro para fora, de uma outra massa nuclear rostro-lateral, formada pelo complexo interpósito-lateral (NIA e NL) seguindo o critério de Weidenreich-Ogawa, um outro modo de agrupamento se me afigura importante e sob um ponto de vista topográfico realisticamente mais válido. Trata-se da existência de 2 massas nucleares distintas: o NM por um lado e os restantes núcleos (NIA, NIP e NL) formando uma outra entidade. Estes últimos núcleos, sendo nuns pontos facilmente individualizáveis, noutros, a identificação das suas linhas de separação oferece sérias dificuldades.

Para uma análise detalhada de cada um dos núcleos, servi-me de várias séries de cortes do cerebelo, em planos diferentes, tanto mais que o aspecto daqueles, variava como atrás referi, conforme a orientação do plano escolhido.

Assim, em *séries transversais* (fig. 1) o núcleo mais rostral a aparecer é o NIA (c. 7) apresentando habitualmente a forma de um crescente. Em seguida surgem o NM e o NL (c. 10), encontrando-se este, ainda perfeitamente separado do NIA. No plano seguinte (c. 13) dá-se uma fusão do NIA com o NL, segundo uma linha difícil de demarcar e estabelecendo-se a transição do NIA para o NIP (c. 16) igualmente de modo difícil de

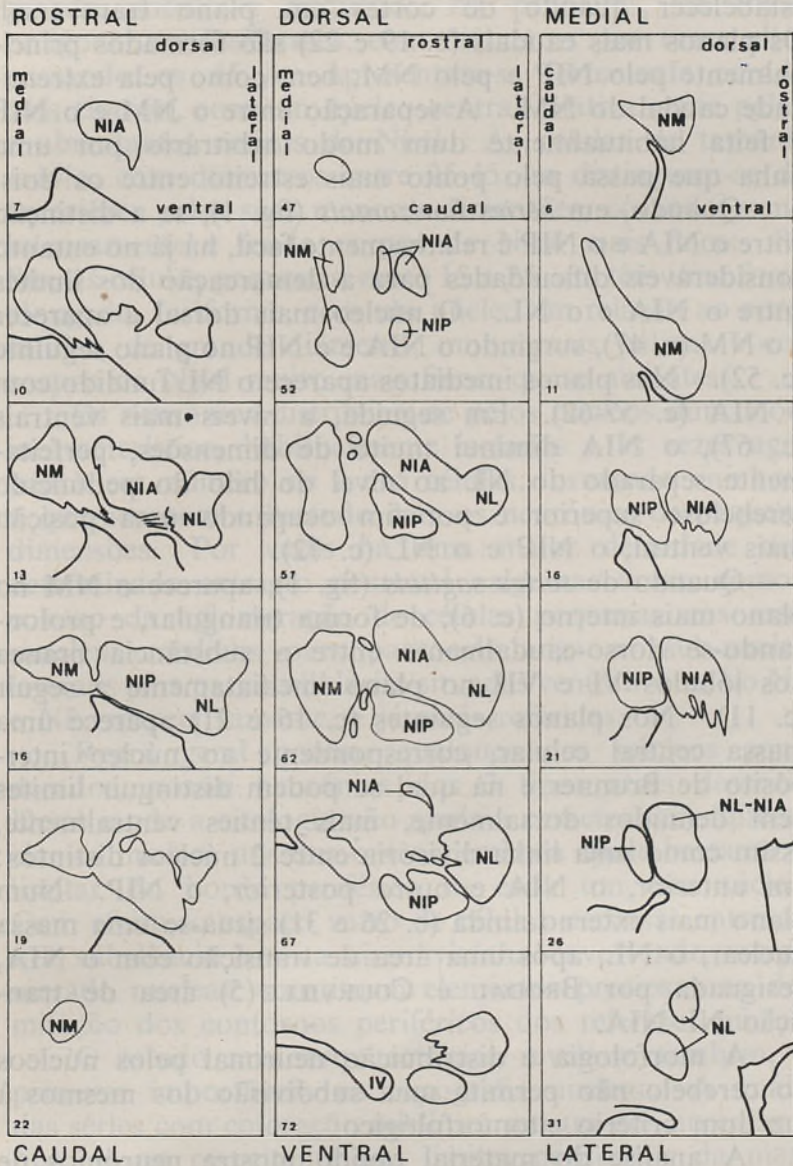


FIG. 1 — Diagrama dos núcleos do cerebelo, vistos em séries transversal, horizontal e sagital.

estabelecer quando de cortes em plano transversal. Os planos mais caudais (c. 19 e 22) são formados principalmente pelo NIP e pelo NM, bem como pela extremidade caudal do NM. A separação entre o NM e o NIP é feita habitualmente dum modo arbitrário por uma linha que passa pelo ponto mais estreito entre os dois.

Quando, em *séries horizontais* (fig. 1), se a distinção entre o NIA e o NIP é relativamente fácil, há já no entanto consideráveis dificuldades para a demarcação dos limites entre o NIA e o NL. O núcleo mais dorsal a aparecer é o NM (c. 47), surgindo o NIA e o NIP no plano seguinte (c. 52). Nos planos imediatos aparece o NL fundido com o NIA (c. 57-62). Em seguida, a níveis mais ventrais (c. 67), o NIA diminui muito de dimensões, perfeitamente separado do NL ao nível do hilo do pedúnculo cerebeloso superior e por fim ocupando uma posição mais ventral, o NIP e o NL (c. 72).

Quando de *séries sagitais* (fig. 1), aparece o NM no plano mais interno (c. 6), de forma triangular, e prolongando-se dorso-caudalmente entre a substância branca dos lóbulos VI e VII no plano imediatamente a seguir (c. 11). Nos planos seguintes (c. 16 e 21) aparece uma massa central celular, correspondente ao núcleo interposto de Brunner e na qual se podem distinguir limites bem definidos dorsalmente, mais ténues ventralmente, assim como uma linha divisória entre 2 núcleos distintos: um anterior, o NIA e outro posterior, o NIP. Num plano mais externo ainda (c. 26 e 31) situa-se uma massa nuclear, o NL, após uma área de transição com o NIA, designada por BRODAL e COURVILLE (5) área de transição NL-NIA.

A morfologia e distribuição neuronal pelos núcleos do cerebelo não permite uma subdivisão dos mesmos à luz dum critério citomorfológico.

A análise do material obtido mostra neurónios de dimensões variáveis (fig. 2) podendo considerar 3 grupos de acordo com as suas dimensões: células de tamanho

grande, médio e pequeno. As primeiras, de forma poligonal ou fusiformes, com diâmetros por vezes ultrapassando os 45 μm apresentam-se fortemente coradas pela tionina, com um núcleo central relativamente pálido e abundantes corpos de Nissl. As células de tamanho médio, com diâmetros entre 25-45 μm distinguem-se das anteriores pelas suas menores dimensões, corando menos intensamente e tendo corpos de Nissl mais finos. Por fim, as células pequenas, entre 15 a 25 μm , têm uma forma alongada, fusiforme, com um núcleo em relação ao corpo celular, de grande diâmetro, muito mais pálidas e com corpos de Nissl muito mais finos, quase ausentes.

Os neurónios distribuem-se pelos núcleos dum modo incaracterístico, habitualmente isolados e às vezes agrupados em número de 2 a 5 células, formando «ninhos», o que acontece sobretudo com os neurónios de pequenas dimensões. Por vezes há uma maior densidade dum determinado extracto neuronal nalgumas áreas, como é o caso da aglomeração de células pequenas nos «sub-nucleus medialis pars parvocellularis» e «sub-nucleus lateralis pars parvocellularis» situadas ventralmente no NM e NL, respectivamente, e já atrás referidas.

Regra geral porém, qualquer dos núcleos considerados, possui neurónios dos 3 tipos atrás descritos. Deste modo a citologia não ajuda a caracterizar e diferenciar os núcleos uns dos outros, embora ajude bastante no limitar do bordo periférico de cada um dos núcleos. Com efeito, o espaço vazio de células nervosas entre eles e a substância branca circunvizinha envolvendo o aglomerado nuclear, constituem elementos preciosos na delimitação dos contornos periféricos dos referidos núcleos.

O estudo mieloarquitectónico revela-se também, de primeira importância na topografia nuclear. A análise das séries com coloração mielínica mostra-nos no entanto, que, se no respeitante aos limites periféricos da massa nuclear são duma utilidade extrema, já o mesmo não sucede sempre, infelizmente, nos limites entre as diversas

subdivisões. Com efeito, nem sempre é nítida a separação entre o NIA e o NL ou entre o NIA e o NIP. Esta, muito mais nítida do que aquela, oferece certas dificuldades em determinados níveis.

Um forte contingente de fibras mielinizadas situa-se na porção rostral, seguindo uma linha de separação entre o NM e o NIA e, um outro, correspondente ao hilo do pedúnculo cerebeloso superior, situa-se na parte ventral do NIA e recebe fibras pela sua porção mais externa, do NL. Na fig. 3 veêm-se diversos feixes de fibras a estabelecer um limite nítido entre o NM e o NIA, oferecendo já maior dificuldade a separação entre o NIA e o NIP. A linha limite entre o NIA e o NL, de dificuldade crescente, ainda é possível diferenciar a este nível, o mesmo acontecendo entre o NM e o NIP. De salientar numerosos feixes de fibras de direcção oblíqua e curso intranuclear dentro da metade rostral do NIA. A presença de numerosas fibras de passagem de trajecto intranuclear, constitui um dos principais factores a ter em consideração quando da interpretação das consequências de lesões nos núcleos do cerebello. Infelizmente, o intrincado da rede miélnica apresentado neste tipo de coloração, torna impossível um estudo sistemático do trajecto das fibras, apenas permitindo como no caso atrás citado, um referenciar de feixes mais importantes, por vezes muito visíveis nalguns cortes, conforme a orientação dos mesmos.

A fig. 4 mostra o modelo dos núcleos centrais dum hemisfério cerebeloso do gato: em A uma vista de frente e em B uma vista oblíqua de cima e de frente, dos referidos núcleos. À esquerda, nas fotografias, vê-se o núcleo medial correspondente ao núcleo fastigial ou núcleo do tecto, com uma forma de pirâmide, de vértice superior e base triangular. De referir, na elaboração do modelo não serem representadas por dificuldade técnica, as células nervosas de distribuição irregular entre o NM

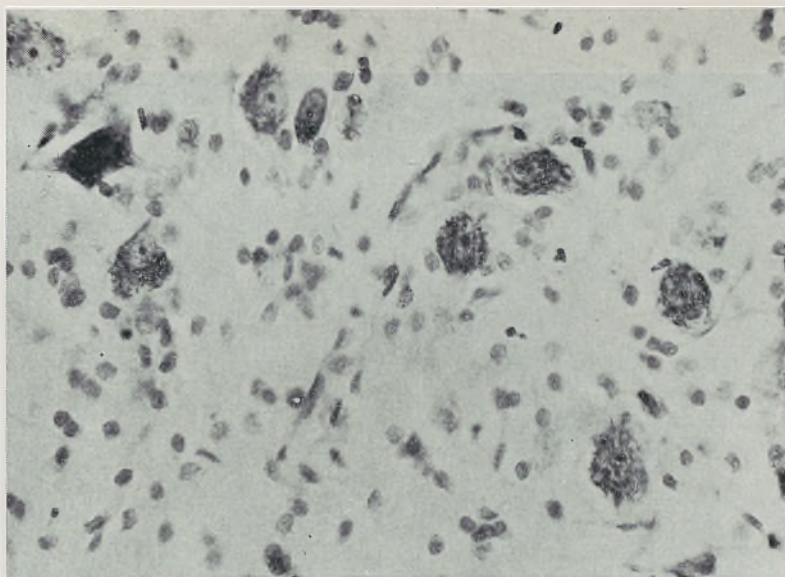


FIG. 2 — Neurónios pertencentes aos núcleos do cerebello (n. lateral). Coloração pela tionina X 320.

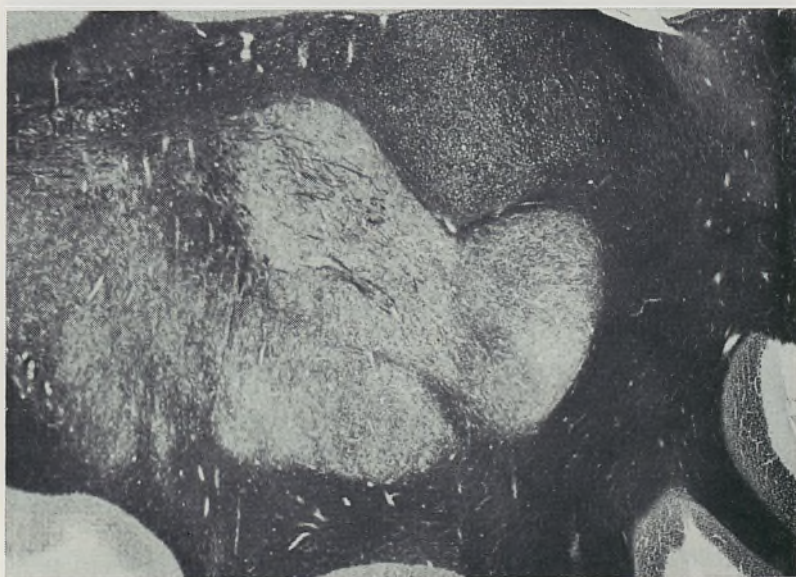
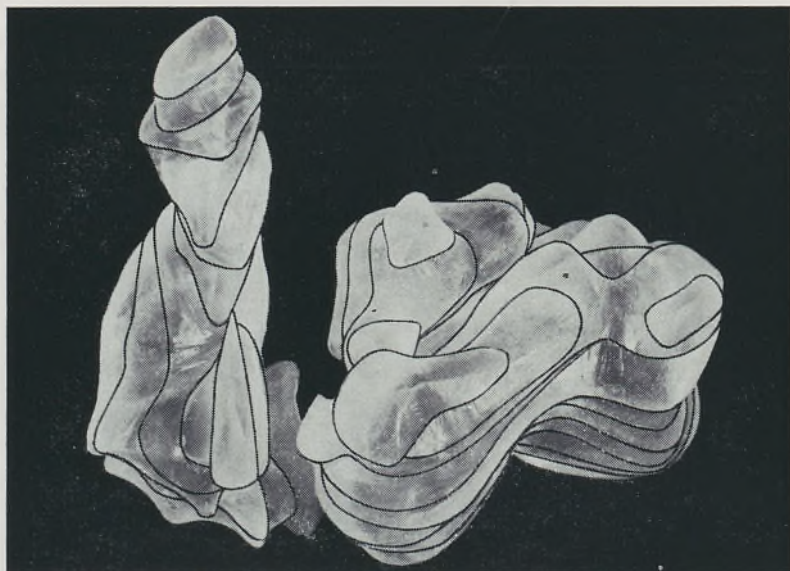


FIG. 3 — Os núcleos do cerebello vistos em corte horizontal (c. 62 da fig. 1). Coloração mielínica pelo método de Woelcke X 14.



A



B

FIG. 4 — Modelo dos núcleos dum hemisfério cerebeloso. À esquerda na gravura figura o núcleo medial. Em *A* — vista de frente. Em *B* — vista oblíqua de cima e de frente.

e os núcleos interpósitos, o que poderá dar a falsa ideia duma separação nítida do NM dos restantes núcleos, o que não é o caso. De qualquer modo no entanto, o NM aparece sempre muito mais individualizado do que os restantes 3 núcleos, muito interpenetrados entre si.

A seguir na parte central veêm-se 2 formações, uma à frente, o NIA e outra atrás, o NIP, homólogas dos núcleos emboliforme e globoso e que embora distintas estão interpenetradas. Assim, o NIA faz uma saliência para dentro do NIP, sensivelmente na parte média, no sentido dorso-ventral e o NIP recobre dorsalmente parte do bordo caudal do NIA. De forma grosseiramente cilíndrica, este último funde caudolateralmente com a metade dorsal do NL, sendo fortemente escavado na sua face inferior. A linha de separação do NIA do NL entendendo dever ser, segundo um plano oblíquo e curvilíneo, seguindo uma direcção de cima para baixo e de fora para dentro, correspondente aos pontos de inflexão das linhas limite das massas nucleares e descrito em mais pormenor adiante. O NIP com uma forma ovoide aproximada e de grande eixo oblíquo de cima para baixo e de dentro para fora, de dimensões um pouco inferiores às do NIA, prolonga-se um pouco mais no sentido ventral do que este núcleo. Por fim, o NL ocupando uma posição lateral, à direita nas figuras, homólogo do núcleo dentado ou oliva cerebelosa, tem uma forma cónica, lembrando grosseiramente uma «almotelia» e prolongando-se ventralmente dum modo irregular por baixo do NIA.

A fig. 5 é um diagrama dos núcleos do cerebelo de um hemisfério, vistos em projecções ortogonais (vista de frente e vista de cima), estando referenciados os níveis aproximados dos diversos cortes (numeração idêntica) utilizados no diagrama da fig. 1.

Ao contrário do verificado no modelo, agora já estão representadas as colunas de células nervosas presentes entre o NM e o NIA, bem como entre aquele e o

NIP. Os 2 núcleos interpósitos, quando de vista de frente (desenho superior) têm projecções sobrepostas pelo que designo o conjunto por NIA/NIP.

Numa vista de cima (desenho inferior) o NIA ocupa a parte rostral e o NIP a caudal, embora parte do bordo caudal do NIA se insinue no NIP. Por sua vez, o polo latero-ventral deste último situa-se por baixo do NIA e do NL (linha tracejada no desenho inferior e linha pontuada no desenho superior).

A linha de separação entre o NIA e o NL, respeitando unicamente à metade dorsal deste, está representada a tracejado cheio. Orienta-se obliquamente de cima para baixo e de fora para dentro (desenho superior da fig. 5) e tem uma orientação curvilínea num sentido rostro-caudal com concavidade interna (desenho inferior da fig. 5). Nítida na parte rostral é bastante imprecisa na parte caudal.

A projecção medial da parte ventral do NL, situada por baixo do NIA está representada a pontuado no desenho inferior da fig. 5 e a tracejado fino no desenho superior da fig. 5.

COMENTÁRIOS

Da descrição feita dos núcleos do cerebelo, ressalta a subdivisão em 4 núcleos como o proposto por Weidenreich-Ogawa e orientação seguida por diversos autores (5, 6, 7, 12, 13, 14, 37, 40), a saber: núcleo medial, núcleo interpósito anterior, núcleo interpósito posterior e núcleo lateral. A análise particular dos mesmos mostra que o NM é facilmente identificável em qualquer dos planos, o que não impede de haver alguns agregados celulares entre ele e o NIA, bem como e agora mais intimamente entre o NM e o NIP. De salientar contudo, a individualização do NM do restante conjunto nuclear formado pelo NIA, NIP e NL, individualização essa que se me afigura muito mais evidente do que propriamente um agrupamento dos 4 núcleos em dois grupos segundo

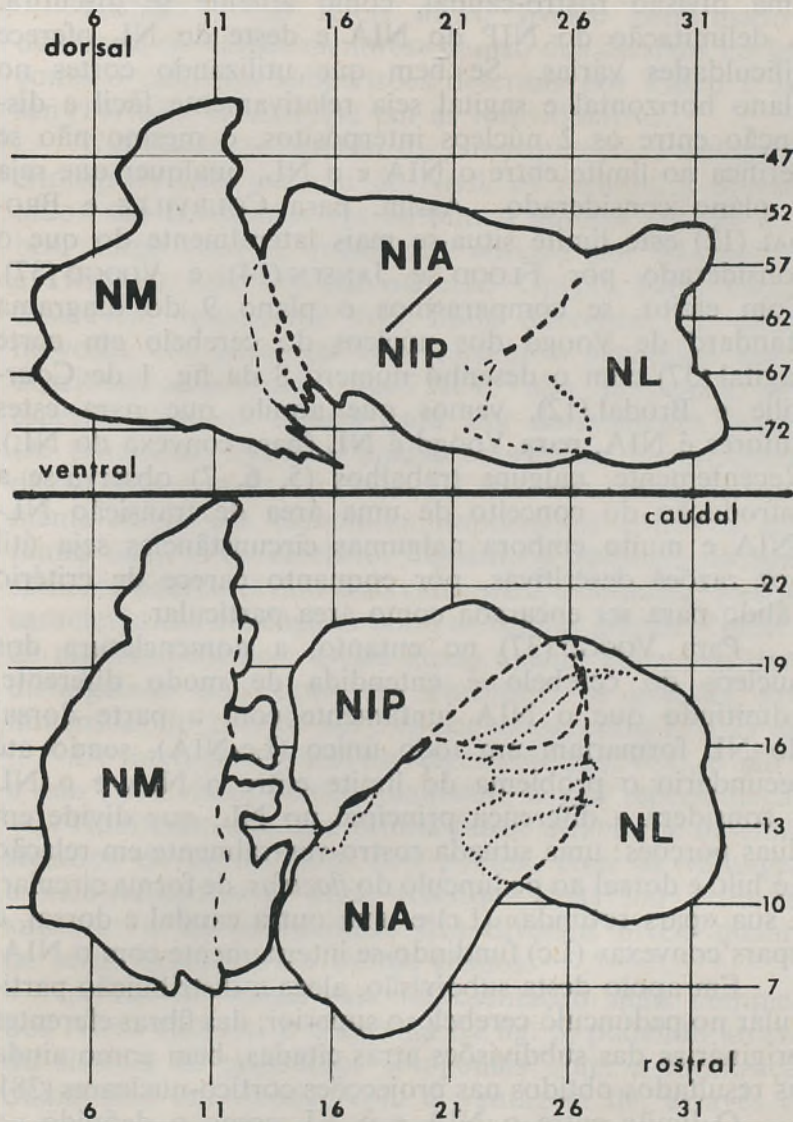


FIG. 5 — Diagrama das projecções dos núcleos dum hemisfério cerebeloso em planos ortogonais.

uma divisão rostro-caudal, como adiante se discutirá. A delimitação do NIP do NIA e deste do NL oferece dificuldades várias. Se bem que utilizando cortes no plano horizontal e sagital seja relativamente fácil a distinção entre os 2 núcleos interpósitos, o mesmo não se verifica no limite entre o NIA e o NL, qualquer que seja o plano considerado. Assim, para COURVILLE e BRODAL (12) este limite situa-se mais lateralmente do que o considerado por FLOOD e JANSEN (14) e VOOGD (37). Com efeito, se compararmos o plano 9 do diagrama standard de Voogd dos núcleos do cerebelo em corte sagital (37) com o desenho número 8 da fig. 1 de Courville e Brodal (12), vemos que aquilo que para estes autores é NIA, para Voogd é NL (pars convexa do NL). Recentemente, nalguns trabalhos (5, 6, 7) observa-se a introdução do conceito de uma área de transição NL-NIA e muito embora nalgumas circunstâncias seja útil por razões descritivas, por enquanto carece de critério válido para ser encarada como área particular.

Para VOOGD (37) no entanto, a nomenclatura dos núcleos do cerebelo é entendida de modo diferente, admitindo que o NIA juntamente com a parte dorsal do NL formariam um todo único (Lc-NIA), sendo até secundário o problema do limite entre o NIA e o NL e considera a diferença principal no NL, que divide em duas porções: uma situada rostro-ventralmente em relação ao hilo e dorsal ao pedúnculo do *floculus*, de forma circular, a sua «pars rotunda» (Lr) e uma outra caudal e dorsal, a «pars convexa» (Lc) fundindo-se internamente com o NIA.

Em apoio desta subdivisão, alega a distribuição particular no pedúnculo cerebeloso superior, das fibras eferentes originárias das subdivisões atrás citadas, bem como ainda os resultados obtidos nas projecções cortico-nucleares (38).

O limite entre o NIA e o NL como o definido no presente estudo e representado nos diagramas, baseia-se em elementos topográficos dos referidos núcleos vistos tridimensionalmente.

Embora como referi atrás, tivesse confirmado a existência de «áreas menores» dentro dos diversos núcleos, como o caso das subdivisões descritas por Flood e Jansen (14) não vi interesse em as individualizar.

Utilizando no estudo da citoarquitECTURA colorações citológicas pelo método de Nissl, os resultados apresentados são conformes aos de outros autores (14, 36 e 37) bem como com os resultados obtidos por MATSUSHITA e IWAHORI (26, 27) em material Golgi. Estes autores descrevem igualmente três tipos diferentes de células nervosas em cada um dos núcleos e acentuam que a distribuição neuronal nos NCC não pressupõe uma especificidade de células para um determinado núcleo. De particular interesse ainda, os estudos ultraestruturais de SOTELO e ANGAUT (36), que não encontraram igualmente diferenças específicas importantes entre os diferentes núcleos do cerebello. Quanto à tipologia neuronal sómente diferenciavam duas categorias, exibindo as mesmas características citológicas tanto as células grandes como as de tamanho médio. Deste modo apenas entendem dever distinguir-se dois tipos de neurónios: os grandes, com dimensões de 25 a 50 μm e os pequenos, entre 15 a 25 μm .

De interesse especial no respeitante aos NCC, é não só a sua subdivisão, como igualmente a sua representação.

Habitualmente esta última faz-se através de desenhos seriados de cortes num dos planos, com as vantagens e inconvenientes já atrás referidos, mas um problema subsiste: o da comparação dos diversos níveis quando de séries cortadas em outros planos.

A fim de obter uma representação mais completa dos NCC, elaborei o diagrama da fig. 5, podendo através do sistema de projecções ortogonais obter a localização duma área em estudo, com a vantagem de, através do mesmo, ser possível uma razoável comparação de resultados.

Por fim, referente ainda à subdivisão dos NCC não poderemos ignorar a organização do córtex cerebeloso

e as correspondentes projecções corticonucleares, bem como ainda elementos fornecidos quanto à organização e distribuição das fibras eferentes dos mesmos núcleos. Voogd propôs uma organização do córtex em zonas longitudinais, projectando cada uma delas para uma das seguintes subdivisões: NM, Lc-NIA, NIP e Lr, para além dos núcleos vestibulares (37). Baseou a sua proposição não só nos resultados obtidos das projecções corticonucleares como ainda em dados mieloarquitectónicos respeitantes à distribuição dos sistemas aferentes do córtex cerebeloso e especificamente da projecção olivo-cerebelosa (39). Esta noção de organização longitudinal multizonal estaria de acordo com trabalhos de corticogénese cerebelosa (19, 20 e 21) e com diversas observações neurofisiológicas (4 e 34) nomeadamente trabalhos de OSCARSSON e colaboradores (24, 25, 30, 31, 32 e 33) que confirmaram a existência de uma organização, como a proposta, ao nível do vérmis e parte intermédia do lobo anterior do cerebello. No coelho, VAN ROSSUM (35) confirmou a tese de Voogd estudando as projecções corticonucleares do lobo anterior e vérmis posterior, embora referindo uma maior complexidade à descrita no gato. Ao nível dos hemisférios no entanto, trabalhos recentes de BRODAL e COURVILLE (5) e de COURVILLE, DIAKIW e BRODAL (13) referentes às projecções corticonucleares, respectivamente de Crus II e do lobo paramediano, parecem não confirmar totalmente a tese de Voogd, pois cada uma das faixas longitudinais dentro do mesmo lobo projectaria não para uma única subdivisão, mas simultaneamente para três delas: NIP, NIA e NL, embora com intensidades diversas.

Do referido sobressai que dum modo geral o vérmis está em relação com o NM bem como com os núcleos vestibulares, estando o restante córtex em relação com uma massa nuclear formada pelo NIP, NIA e NL constituindo no seu conjunto uma entidade independente. Esta subdivisão que já atrás referi, tem a vantagem de

não isolar, compartimentando, núcleos, que sob um ponto de vista funcional parecem estar interdependentes. O grupo formado pelo NIP, NIA e NL estaria no que respeita ao lobo anterior em relação estreita com uma organização homogéneo-dependente, considerando segundo a proposição de Voogd uma faixa longitudinal cortical correspondente a uma divisão nuclear (admitindo mesmo a divisão do NL em duas partes).

Nos hemisférios, se admitirmos a divergência zonal de projecções (5 e 13) prevalece uma organização heterogéneo-dependente com uma potencial multi-representação nuclear, dentro de uma única faixa longitudinal.

Deste modo penso que, continuando a aceitar a divisão em 4 núcleos distintos, estes deverão agrupar-se de um modo diferente. Assim, ao invés de um grupo mediocaudal (NM e NIP) e rostro-lateral (NIA e NL), deverá preferir-se um agrupamento, considerando o NM por um lado e os restantes núcleos (NIP, NIA e NL), solidários em ordem de interdependência crescente, por outro. O NIP morfo-funcionalmente parece ser o núcleo mais diversificado do conjunto. Segue-se o complexo interpósito-lateral (NIA e NL) não sendo de excluir áreas menores dentro do conjunto.

Esta subdivisão dos núcleos do cerebelo, ajusta-se aos conceitos de ALLEN (1) e encontra igualmente suporte nas projecções eferentes dos referidos núcleos. Com efeito o NM projecta principalmente para os núcleos vestibulares e formação reticulada bolbo-protuberancial, através do feixe uncinado e do feixe fastígio-bolbar directo (37, 41, 42), enquanto o NIP, NIA e NL projectam fundamentalmente para o núcleo vermelho, tálamo, subtálamo, região tectal, substância cinzenta periaqueductal e formação reticulada (2, 3, 10, 11, 18, 28 e 37), através do pedúnculo cerebeloso superior.

A presença no terço médio do pedúnculo cerebeloso superior, de fibras originárias no NIP e algumas, embora em pequeno número, no NM e, nos dois terços laterais,

de fibras com origem no NIA e no NL (37) constitui um elemento importante que confirma uma individualização do NIP do restante complexo interpósito-lateral. Isto reforçado pelo facto do NIP não projectar ou de modo muito escasso o fará, ao contrário do NIA e NL, para o núcleo *reticularis tegmenti pontis* (NRT) (7, 8), bem como para os núcleos pânticos propriamente ditos (6). O pequeno contingente de fibras originárias do NM homolateral e localizado ventromedialmente no terço médio do pedúnculo cerebeloso superior, penso que não poderá justificar a subdivisão dos NCC numa parte médiocaudal (NM e NIP). Com efeito, ele representa uma fracção mínima das fibras quando comparado com a totalidade das fibras eferentes do NM. Finalmente, dentro do NIA-NL há áreas específicas de projecção para o NRT e núcleos pânticos (6, 7) bem como para a oliva inferior (15 e 23).

A complexidade estrutural dos núcleos do cerebelo, muito longe ainda de ser esclarecida, nomeadamente os circuitos intranucleares e a convergência crescente de informação num mecanismo integrador, constituem outros tantos factores a condicionarem uma subdivisão dos NCC necessariamente simples, face ao estado actual dos nossos conhecimentos.

RESUMO

A morfologia dos núcleos do cerebelo no gato adulto foi estudada em séries transversais, horizontais e sagitais de cortes do cerebelo corados pela tionina e pela coloração mielínica de M. Woelcke.

A análise topográfica e citomieloarquitectónica permitiram identificar 4 formações: os núcleos medial, interpósito anterior, interpósito posterior e lateral.

Embora admitindo a terminologia de Ogawa, à subdivisão rostro-caudal de Weidenreich-Ogawa com um

grupo caudomedial (NM e NIP) e um grupo rostralateral (NIA e NL) propõe-se uma outra subdivisão formada ainda por dois grupos. Um, englobando o NM e o outro os restantes núcleos (NIP, NIA e NL) que formam uma entidade anátomo-funcional distinta, com os diferentes núcleos interdependentes num grau variável.

Construiu-se um modelo dos núcleos do cerebello, muito útil para uma perspectivação tridimensional dos mesmos e que ajudou à sua representação através dum diagrama das suas projecções num sistema de planos ortogonais.

SUMMARY

The morphology of the cerebellar nuclei of the cat was studied in serial transversal, horizontal and sagittal sections through the cerebellum stained with thionine and M. Woelcke's mielin stain.

The sections were drawn and a three-dimensional reconstruction was made using a plastic model.

On the basis of topography, cytoarchitecture and myeloarchitecture, four cerebellar nuclei were identified: medial, anterior interpositus, posterior interpositus and lateral nuclei. Although the terminology of Ogawa is accepted, it is proposed that the rostrocaudal subdivision of the central cerebellar nuclei of Weidenreich-Ogawa into a caudomedial and a rostralateral group might advantageously be changed for another subdivision. Two groups may be separated: one with the medial nucleus, the other with the posterior interpositus, the anterior interpositus and the lateral nuclei. The second group includes parts which, although morphologically distinct, have close anatomical and connectional affinities.

Trabalho realizado no Laboratório de Anatomia Normal Doutor Maximino Correia da Faculdade de Medicina de Coimbra, Subsidiado pelo I.A.C., projecto CMC 3/4. Director-Prof. Doutor Herménio Cardoso Inácio

BIBLIOGRAFIA

- 1 — ALLEN, F. W. — Distribution of the fibers originating from the different basal cerebellar nuclei. *J. comp. Neurol.*, 36, 399-439, 1924.
- 2 — ANGAUT, P. — Étude anatomique expérimentale des efférences cérébelleuses ascendantes. Analyse électro-anatomique des projections cérébelleuses sur le noyau ventral latéral du thalamus. Paris thèse, 1969.
- 3 — ——— The ascending projections of the nucleus interpositus posterior of the cat cerebellum: An experimental anatomical study using silver impregnation methods. *Brain Research*, 24, 377-394, 1970.
- 4 — BATINI, C. and POMPEIANO, O. — Effects of rostro-medial and rostro-lateral fastigial lesions on decerebrate rigidity. *Arch. Ital. Biol.*, 96, 315-329, 1958.
- 5 — BRODAL, A. and COURVILLE, J. — Cerebellar corticonuclear projection in the cat. *Crus II. An experimental study with silver methods.* *Brain Research*, 50, 1-23, 1973.
- 6 — ——— DESTOMBES, J., LACERDA, A. M. and ANGAUT, P. — A cerebellar projection onto the pontine nuclei. An experimental anatomical study in the cat. *Exp. Brain Res.*, 16, 115-139, 1972.
- 7 — ——— LACERDA, A. M., DESTOMBES, J. and ANGAUT, P. — The pattern in the projection of the intracerebellar nuclei onto the nucleus reticularis tegmenti pontis in the cat. An experimental anatomical study. *Exp. Brain Res.*, 16, 140-160, 1972.
- 8 — BRODAL, A. and SZIKLA, G. — The termination of the brachium conjunctivum descendens in the nucleus reticularis tegmenti pontis. An experimental anatomical study in the cat. *Brain Research*, 39, 337-351, 1972.
- 9 — BRUNNER, H. — Die zentralen Kleinhirnkerne bei den Säugetieren. *Arb. Neurol. Inst. Univ. Wien* 22, 200-277, 1919.
- 10 — COHEN, D., CHAMBERS, W. W. and SPRAGUE, J.M. — Experimental study of the efferent projections from the cerebellar nuclei to the brainstem of the cat. *J. comp. Neurol.*, 109, 233-259, 1958.
- 11 — COURVILLE, J. — Somatotopical organization of the projection from the nucleus interpositus anterior of the cerebellum to the red nucleus. An experimental study in the cat with silver impregnation methods. *Exp. Brain Res.*, 2, 191-215, 1966.
- 12 — ——— and BRODAL, A. — Rubro-cerebellar connections in the cat; an experimental study with silver impregnation methods. *J. comp. Neurol.*, 126, 471-485, n.º 3, March, 1966.

- 13 — COURVILLE J., DIAKIW, N. and BRODAL, A. — Cerebellar corticonuclear projection in the cat. The paramedian lobule. An experimental study with silver methods. *Brain Research*, 50, 25-45, 1973.
- 14 — FLOOD, S. and JANSEN, J. — On the cerebellar nuclei in the cat. *Acta Anat.*, 46, 52-72, 1961.
- 15 — GRAYBIEL, A.M., NAUTA, H.J.W., LASEK, R.J. and NAUTA, W.J.H. — A cerebello-olivary pathway in the cat: an experimental study using autoradiographic tracing techniques. *Brain Research*, 58, 205-211, 1973.
- 16 — JANSEN, J. — On the morphogenesis and morphology of the mammalian cerebellum. In *Aspects of Cerebellar Anatomy* (J. Jansen and A. Brodal, eds., 189-197). Johan Grundt Tanum, Oslo, 1954.
- 17 — ——— and BRODAL, A. — Experimental studies on the intrinsic fibers of the cerebellum. II. The cortico-nuclear projection. *J. comp. Neurol.*, 73, 267-321, 1940.
- 18 — ——— and JANSEN, J. Jr. — On the efferent fibers of the cerebellar nuclei in the cat. *J. comp. Neurol.*, 102, 607-632, 1955.
- 19 — KORNELIUSSEN, H.K. — Cerebellar corticogenesis in Cetacea, with special reference to regional variations. *J. Hirnforsch.*, 9, 151-185, 1967.
- 20 — ——— On the ontogenetic development of the cerebellum (nuclei, fissures, and cortex) of the rat with special reference to regional variations in corticogenesis. *J. Hirnforsch.*, 10, 379-412, 1968.
- 21 — ——— Cerebellar organization in the light of cerebellar nuclear morphology and cerebellar corticogenesis. In R. Llinás, *Neurobiology of cerebellar evolution and development*. Am. Med. Assoc., Chicago, 1969.
- 22 — KORNELIUSSEN, H.K. and JANSEN, J. — On the early development and homology of the central cerebellar nuclei in Cetacea. *J. Hirnforsch* 8, 47-56, 1965.
- 23 — LACERDA, A.M. — Alguns aspectos da projeção dos núcleos centrais do cerebelo para a região da oliva bolbar. Um estudo experimental no gato. *Folia Anat. Univ. Conimbr.*, 42, 9, 1-19, 1973.
- 24 — LARSON, B., MILLER, S. and OSCARSSON, O. — Termination and functional organization of the dorsolateral spino-olivocerebellar path. *J. Physiol.*, 203, 611-640, 1969.
- 25 — ——— ——— A spinocerebellar climbing fibre path activated by the flexor reflex afferents from all four limbs. *J. Physiol.*, 203, 641-649, 1969.
- 26 — MATSUSHITA, M. and IWAHORI, N. — Structural organization of the fastigial nucleus. I. Dendrites and axonal pathways. *Brain Research*, 25, 597-610, 1971.
- 27 — ——— ——— Structural organization of the interpositus and the dentate nuclei. *Brain Research*, 35, 17-36, 1971.
- 28 — MEHLER, W.R., VERNIER, V.G. and NAUTA, W.J.H. — Efferent projections from dentate and interpositus nuclei in primates. *Anat. Record*, 130, 430-431, 1958.

- 29 — OGAWA, T. — Beiträge zur vergleichenden Anatomie des Zentralnervensystems der Wassersäugetiere: Über die Kleinhirnerne der Pinnipeden und Zeta-zeen. *Arb. Anat. Inst. Sendai*, 17, 63-136, 1935.
- 30 — OSCARSSON, O. — Termination and functional organization of the ventral spino-olivocerebellar pathway. *J. Physiol.* 196, 453-478, 1968.
- 31 — — Termination and functional organization of the dorsal spino-olivocerebellar path. *J. Physiol. (London)*, 200, 129-149, 1969.
- 32 — — The sagittal organization of the cerebellar anterior lobe as revealed by the projection patterns of the climbing fiber system. In R. Llinás, *Neurobiology of cerebellar evolution and development*, 525-537. Am. Med. Assoc., Chicago, 1969.
- 33 — — and UDDENBERG, N. — Somatotopic termination of spino-olivocerebellar path. *Brain Research*, 3, 204-207, 1966.
- 34 — POMPEIANO, O. — Risposte posturali alla stimolazione elettrica della parte intermedia des Lobus Anterior del cervelletto nel gatto decerebrato. *Arch. Sci. biol.*, 41, 513-540, 1957.
- 35 — ROSSUM, J. VAN. — Corticonuclear and Corticovestibular Projections of the Cerebellum. An Experimental Investigation of the Anterior Lobe, the Simple Lobule and the Caudal Vermis in the Rabbit. (Thesis) Van Gorcum, Assen, 1969.
- 36 — SOTELO, C., ANGAUT, P. — The fine structure of the cerebellar central nuclei in the cat. I. Neurons and neuroglial cells. *Exp. Brain Res.*, 16, 410-430, 1973.
- 37 — VOOGD, J. — The cerebellum of the cat. Structure and fibre connections (Thesis). Leiden, Assen, Van Gorcum 1964.
- 38 — — Comparative aspects of the structure and fibre connexions of the mammalian cerebellum. In *Progress in Brain Research*, 25, 94-134, 1967.
- 39 — — The importance of fiber connections in the comparative anatomy of the mammalian cerebellum. In R. Llinás (Ed.). *Neurobiology of Cerebellar Evolution and Development*. Amer. Med. Ass., Chicago, pp. 493-514, 1969.
- 40 — WALBERG, F. and JANSEN, J. — Cerebellar corticonuclear projection studied experimentally with silver impregnation methods. *J. Hirnforsch*, 6, 338-354, 1964.
- 41 — — POMPEIANO, O., BRODAL, A. and JANSEN, J. — The fastigio-vestibular projection in the cat. An experimental study with silver impregnation methods. *J. comp. Neurol.*, 118, 49-76, 1962.
- 42 — — —, WESTRUM, L.E., HAUGLIE-HANSEN, E. — Fastigioreticular fibers in cat. An experimental study with silver methods. *J. comp. Neurol.*, 119, 187-199, 1962.
- 43 — WEIDENREICH, F. — Zur Anatomie der centralen Kleinhirnerne der Säuger. *Z. Morph. Anthr.* 1, 259-312, 1899.

FOLIA ANATOMICA UNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

VOL. XLIII

N.º 11

CONTRIBUIÇÃO DA CORONÁRIOGRAFIA NO ESTUDO DAS CONSEQUÊNCIAS DA OCLUSÃO CORONÁRIA EXPERIMENTAL

POR

HERMÉNIO CARDOSO,
ARMANDO GONSALVES

e

COLABORADORES

Sabe-se hoje que as consequências da oclusão de uma artéria coronária cardíaca, dependem de múltiplos e variados factores de ordem metabólica e hemodinâmica em relação, não só com acções neuro-hormonais efectivadas pelo simpático e parassimpático, mas também de uma regulação autónoma da circulação coronária. O mecanismo de acção destes factores, começa a ser agora compreendido mas apresenta ainda muitos pontos obscuros que necessitam de completo e aturado estudo. Na verdade, para explicar os resultados de uma obstrução coronária, há que conhecer não só a anatomia da macro e microcirculação coronária cardíaca, que como se sabe

* Trabalho apresentado no Congresso das Sociedades Luso-Brasileira, Espanhola e Portuguesa de Anatomia, realizado no Porto em Julho de 1973.

representa um caso muito particular entre as circulações nutritivas dos órgãos da economia, mas ainda a sua fisiologia e fisiopatogenia, o que só se pode conseguir reunindo os dados de muitas e diferentes técnicas, capazes de elucidarem o investigador sobre os vários factores a que já nos referimos.

Os trabalhos por nós iniciados em 1962 sobre oclusões coronárias experimentais controladas pelo estudo enzimático e electrocardiográfico, eram seguidos de estudo post-mortem utilizando a coronariografia, a técnica de corrosão de Ruyshe e do estudo macro e microscópico dos territórios das artérias obstruídas. Verificámos que as consequências da oclusão brusca da artéria coronária, a 1,5 cm da sua origem, eram diferentes em animais adultos e nos que sobreviviam encontrámos redes anastomóticas macroscópicas importantes, que quanto a nós, poderiam explicar, em parte, a sobrevivência destes animais.

Não sabíamos, no entanto, se esses animais possuíam, antes da obstrução, especial desenvolvimento das suas anastomoses que explicasse a maior resistência à laqueação e as pequenas dimensões das lesões de necrose miocárdica que em 50% dos casos não tinham tradução electrocardiográfica.

Pensámos que a artériocoronariografia no vivo, mostrando-nos a rede arterial antes da oclusão, nos poderia dar uma resposta. Com base na técnica de Arnulf apurámos, em trabalhos anteriores, uma técnica de artériocoronariografia cujos resultados publicados em 1971 se mostraram satisfatórios, permitindo-nos visualizar não só os troncos das artérias coronárias como grande parte dos seus ramos colaterais (figs. n.ºs 2, 3, 4, 5, 7 e 9).

MATERIAL E TÉCNICAS

As experiências foram realizadas em 40 cães adultos de raça vulgar. Como anestésico usou-se o pentotal sódico por via endovenosa.

Laqueámos o ramo interventricular anterior da artéria coronária esquerda, pelo método de oclusão brusca e completa com tórax aberto. Os cães foram sujeitos a toracotomia, seguida de pericardiotomia e isolamento da artéria interventricular anterior, que laqueámos a diversos níveis do seu segmento proximal.

Antes da intervenção cirúrgica, colhemos electrocardiogramas e obtivemos arteri coronariografias, utilizando a técnica de cateterismo arterial retrógrado, com paragem cardíaca pela acetilcolina.

Após a oclusão da artéria interventricular anterior e a obtenção de novos traçados electrocardiograficos, procedemos a nova arteri coronariografia.

Os cães que sobreviviam a estas intervenções e às lesões miocárdicas que delas resultavam, eram sacrificadas ao fim de 30 dias depois de obtermos um electrocardiograma e nova arteri coronariografia.

Os corações isolados eram sujeitos a estudo macroscópico e depois de injectarmos as artérias coronárias com uma mistura de mínio e colódio obtínhamos imagens radiográficas que se comparavam com as obtidas no vivo.

Em alguns corações fizemos o estudo microscópico das zonas com enfarte macroscópico e das regiões miocárdicas vizinhas.

Nas últimas experiências fizemos colheitas de electrocardiogramas nas horas e dias que se seguiram à oclusão coronária e arteri coronariografias dez dias após a oclusão.

MÉTODO E RESULTADOS

Após um jejum de 24 horas, os cães eram anestesiados com pentotal sódico por via endovenosa e mantidos, durante toda a intervenção, com gota a gota de soro fisiológico ao qual se adicionavam 5 000 U. de heparina. Colhíamos um electrocardiograma com o cão em decúbito dorsal, usando agulhas subcutâneas como eléctrodos.

Procedia-se à intubação endotraquial e obtinha-se a paragem respiratória administrando uma ampola de Galhamina. A respiração passava a ser comandada por máquina eléctrica capaz de insuflar e aspirar ar simples ou com oxigénio, a ritmo e volume reguláveis.

Feito o desbridamento de uma artéria fémoral, introduzíamos um cateter opaco aos Raios X, de ponta curva e com orifícios laterais, que se fazia progredir até às valvas sigmóides aórticas. Seguia-se uma radiografia de controle para rectificar a posição do cateter.

Fazíamos então a toracotomia a nível de 5° ou 6° espaço intercostal, seguida de pericardiotomia.

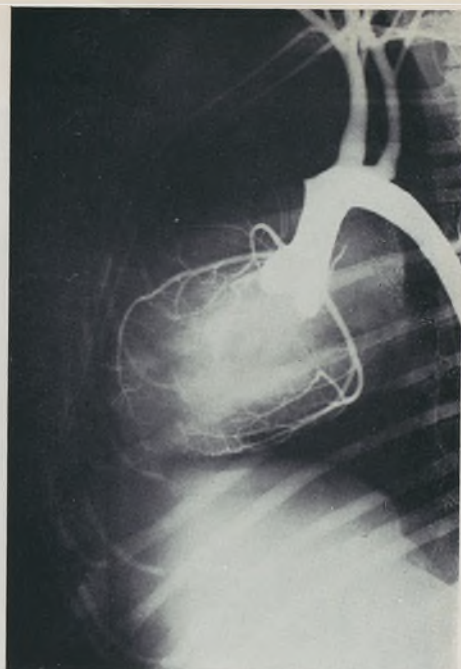
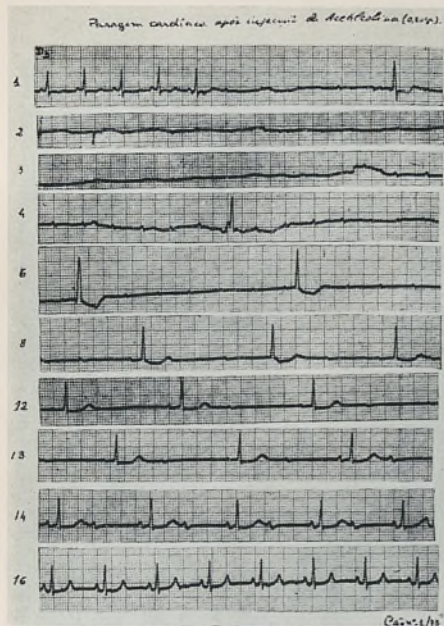
Verificada a posição correcta do cateter, injectávamos por ele rapidamente, 200 a 600 mg. de acetilcolina. Obtida a paragem cardíaca, confirmada electrocardiograficamente, injectávamos 20 cc. de Fortombrine a 70% através do cateter, a uma pressão de 5 kg por cm², utilizando o sistema descrito em trabalho anterior.

O disparo para obter a radiografia coincidia com o fim da injeção do produto de contraste e a incidência que preferimos foi a oblíqua anterior esquerda.

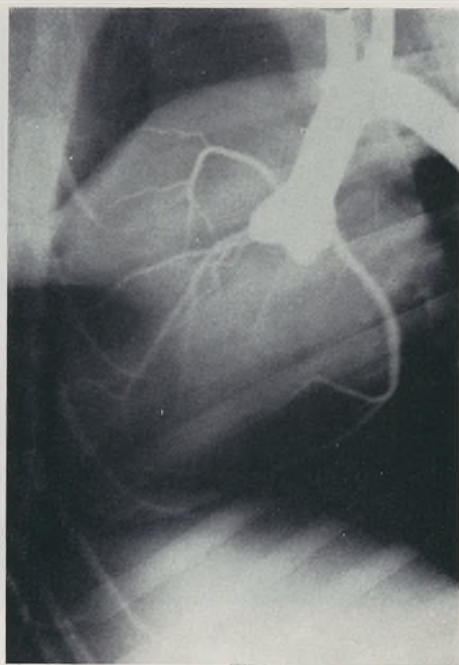
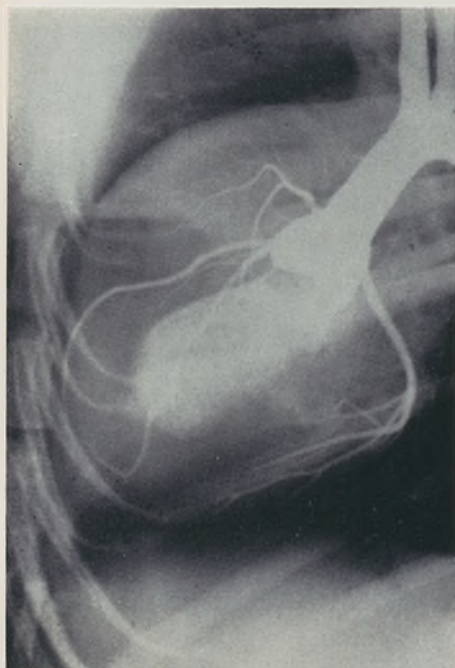
Para restaurarmos o ritmo cardíaco, mais rapidamente, injectávamos através do cateter uma ou duas ampolas de sulfato de atropina e em alguns casos tivemos que recorrer à massagem cardíaca.

Procedíamos depois à dissecação da artéria interventricular anterior, operação difícil num coração em funcionamento, do que resultou a morte de 4 cães e termos que laquear em 5 casos, não só a artéria, como as veias satélites. As primeiras laqueações foram feitas a cerca de 1 cm. da origem da artéria interventricular anterior.

Após a colheita de novo traçado electrocardiográfico, provocávamos nova paragem cardíaca e obtínhamos uma coronariografia, a fim de verificarmos as consequências imediatas da laqueação. Após esta segunda paragem cardíaca, oito dos cães, apesar de todas as manobras médicas de reanimação, não retomaram o ritmo cardíaco



Figs. 1 e 2 — E.C.G. e arteriocoronariografia obtidas após injeção de 200 mg. de Acetilcolina (cão n.º 1/73).



Figs. 3 e 4 — Arteriocoronariografias obtidas antes e após a laqueação da artéria interventricular anterior, abaixo da origem da primeira septal e da artéria oblíqua do ventrículo esquerdo. (Cão 8/73).

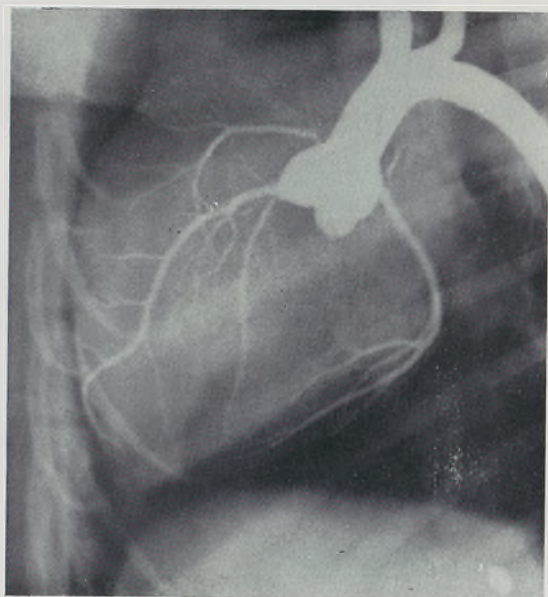


FIGURA 5
Arteriogramia obtida antes da
laqueação. (Cão n.º 17/73).

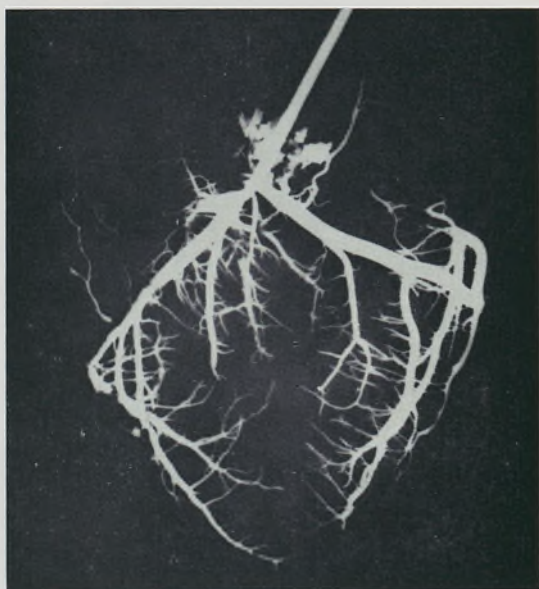


FIGURA 6
Coronariografia obtida por injeção de
mistura de múnio e colódio na artéria
coronária esquerda de um coração iso-
lado e sem laqueações, vendo-se a artéria
interventricular anterior e seus ramos
(à esquerda) e a artéria circunflexa e
seus ramos (à direita). (Cão n.º 15/73).

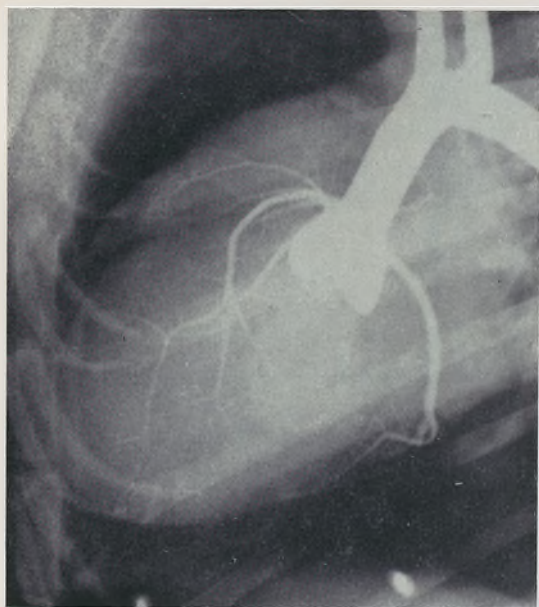


FIGURA 7

Arteriocoronariografia obtida imediatamente após a laqueação da artéria interventricular anterior, a cerca de 1 cm. da sua origem, respeitando a integridade da 1.^a septal. (Cão n.º 17/73).

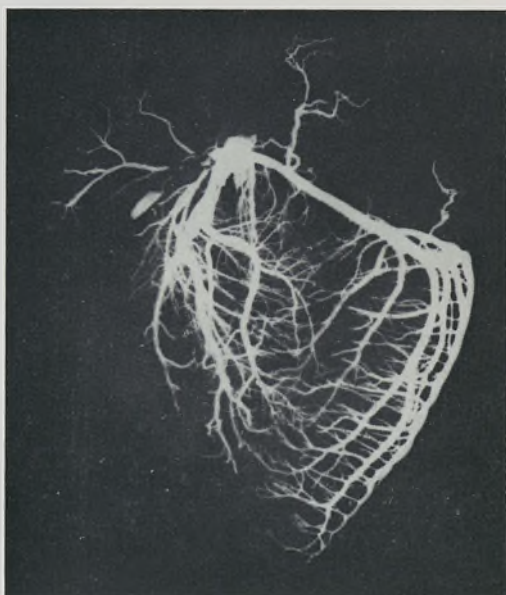


FIGURA 8

Coronariografia no coração isolado vendo-se o local da laqueação da artéria interventricular anterior e a 1.^a septal anterior (à esquerda) e a artéria circunflexa e seus ramos (à direita). (Cão n.º 17/73).

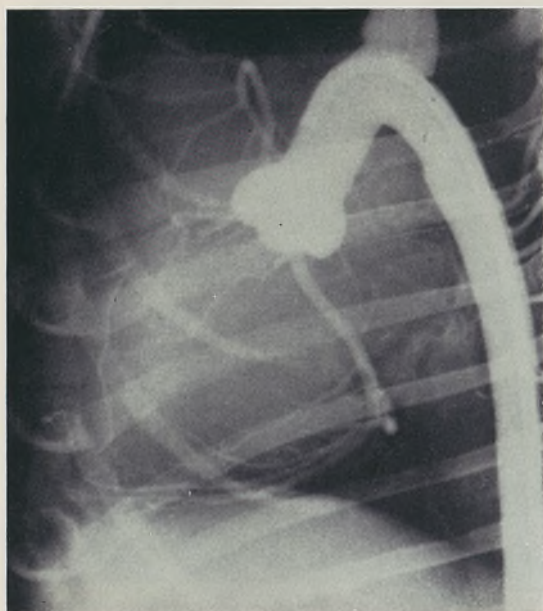


FIGURA 9

Arteriocoronariografia obtida 30 dias após a laqueação da artéria interventricular anterior, abaixo da 1.^a septal (Cão n.º 29/72). Pode-se ver na ponta do coração as anastomoses que permitiram visualizar a porção distal da artéria interventricular anterior.

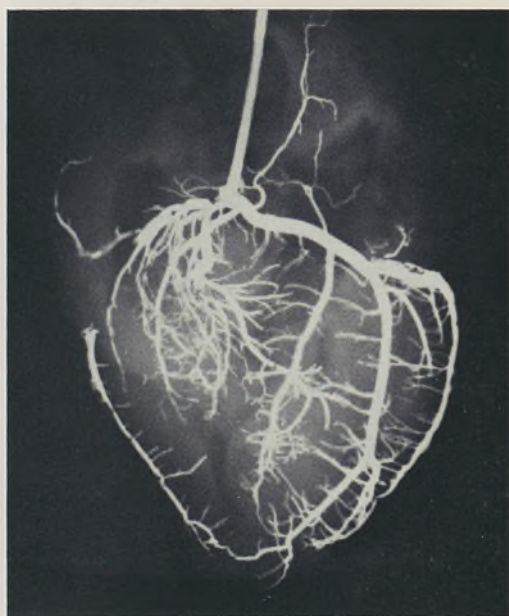


FIGURA 10

Coronariografia do mesmo cão, obtida por injeção de produto de contraste na artéria coronária esquerda, com o coração isolado. (Cão n.º 29/72). Pode-se ver com a maior nitidez a referida anastomose e visualizar toda a artéria interventricular anterior, excepto o segmento que corresponde à zona da cicatriz do enfarte.

normal, entraram em fibrilhação, acabando por morrer. Dos que sobreviveram à operação e à segunda paragem cardíaca, onze faleceram nas primeiras horas ou nos primeiros três dias da operação, razão pela qual começamos a fazer laqueações para além da emergência da artéria oblíqua do ventrículo esquerdo e da primeira septal. Destes animais, apenas nos faleceu um durante a intervenção, pois fez uma paragem cardíaca por excesso de dose de Lidocaína, administrada para vencer uma extrassistolia muito frequente. Outros três faleceram nos primeiros dias em virtude do seu enfarte ou de complicações infecciosas.

Os animais que sobreviveram foram sacrificados aos trinta dias com um excesso de pentotal, antes do que eram submetidos a novo electrocardiograma e arteri coronariografia.

Em todos os casos procedemos ao estudo post-mortem, em corações isolados, através de injeções de mínio e colódio, o que nos permitiu confirmar os resultados das arteri coronariografias e colher mais alguns dados.

O território miocárdico correspondente à artéria obstruída nem sempre apresentava enfartes miocárdicos macroscopicamente visíveis, mas o exame histológico de alguns desses corações, mostrava zonas de necrose intramiocárdicas, se bem que pouco extensas. Nesses casos, como já referimos em trabalhos anteriores, o electrocardiograma nunca chegou a apresentar ondas de necrose.

CONCLUSÕES

A técnica de arteri coronariografia pelo cateterismo retrógrado, com paragem cardíaca pela acetilcolina, parece-nos muito útil nos estudos experimentais, permitindo-nos conhecer a disposição das artérias coronárias no vivo, localizar precisamente o local das obstruções arteriais praticadas e verificar as modificações imediatas e tardias

dessas oclusões. Usada conjuntamente com outras técnicas, pode ser um auxiliar valioso no estudo da circulação coronária.

Nos casos estudados, não encontrámos anastomoses visualizáveis pela arteri coronariografia nos animais são e o facto de alguns terem resistido à laqueação, não se pode explicar por uma disposição especial da rede coronária macroscópica.

A laqueação brusca a 1,5 ou 2 cm. da origem da artéria interventricular anterior no cão, não leva necessariamente à morte do animal. Nos casos em que foi feita a juzante da origem da artéria oblíqua do ventrículo esquerdo ou da primeira septal, 50% dos animais sobreviveram e desenvolveram uma rede anastomótica macroscópica que, no entanto, só conseguimos visualizar 30 dias após a laqueação.

Trabalho realizado no Laboratório de Anatomia Normal da Faculdade de Medicina de Coimbra, subsidiado pelo Instituto de Alta Cultura.

Director: Prof. Doutor HERMÉNIO CARDOSO

BIBLIOGRAFIA

- 1 — ARNULF, G. — L'arteriographie methodique des artères coronaires grace a l'utilisation de l'acetylcoline. Données experimentales et cliniques. Bull. Acad. Nat. Med., 25-26: 661-71, 1958.
- 2 — ARNULF, G. e BUFFARD, P. — L'arteriographie des coronaires grace a l'acetylcoline. Ann. de Radiologie, 2, 685-701, 1959.
- 3 — BEFLER (Benjamim) e MACBROD (Eathel A.) — Cinearteriografia coronária selectiva. Archivos del Instituto de Cardiologia do México. 38, XXXVIII, 3, 303, México, 1968.
- 4 — BERNE (Robert M.) and RUBIO (Rafael) — Acute coronary occlusion early changes the induce coronary dilatation and developement of collateral circulation. The American Journal of Cardiology. Vol. 24, n.º 6, 776, December, 1969.
- 5 — CARDOSO (Herménio) e GONSALVES (Armando) — Origem das Artérias septais do coração do Canis Familiaris. Folia Anat. Univ. Conimbrigensis, XXXVI, 8, 1963.
- 6 — CARDOSO (Herménio) e GONSALVES (Armando) — Distribution des artères coronaires cardiaques chez le Canis Familiaris. Folia Anat. Univ. Conimbrigensis, XXXVI, 14, 1963.
- 7 — CARDOSO (Herménio), GONSALVES (Armando) e colaboradores — Coronáriografia Experimental no Canis Familiaris. Folia Anat. Univ. Conimbrigensis, LX, 1971.
- 8 — CARDOSO (Herménio), GONSALVES (Armando) e Colaboradores — Contribuição para o estudo comparado das artérias coronárias cardíacas. Folia Anat. Univ. Conimb., XLII, n.º 5, 1973.
- 9 — CARLSTEN (Arne), FORSBERG (Sven Ake), PAULIN (Sven), VARNAUSKAS (Eduardas) end WERKO (Lars) — Coronary Angiography in clinical Analysis of Suspected Coronary Disease. The American Journal of Cardiology, Vol. 19, April 1967.
- 10 — DA COSTA, (Braz C. Bruto) e GENSINI, (Goffredo G.) — Cinearteriografia Coronária. Rev. Port. Terap. Méd., Vol. 4, n.º 1, 6-10, Lisboa, 1970.
- 11 — DEMANY (Martial A.), TAUBE (Aaly) and ZIMMERMAN (Henry A.) — Corulation between Coronary Arteriography and Postexercise Electrocardiogram. The American Journal of Cardiology, vol. 19. April 1967.

- 12 — DITTRICH, H., LEUSCHAFT, R. y BACHMANN, K. — Revascularización miocárdica mediante arterias extra-cardíacas. *Munchener Medizinische Wochenschrift*. 79-88. Año 113, 2, Lisboa, 1971.
- 13 — GONSALVES (Armando) — Oclusão coronária experimental. *Arq. Inst. Farmacologia e Terap. Exp.*, Vol. 14, 1967-68.
- 14 — HOLMBERG (Stig), PAULIN (Sven), PREROVSKY (Ivo), VARNAUSKAS (Eduardas) — Coronary Blood Flow in Man and its Relation to the Coronary Arteriogram. *The American Journal of Cardiology* Vol. 19, April 1967.
- 15 — LAVAURS, G. e RIJTANO, F. — La Ciné — angiographie sélective des artères coronaires. Paris, 1968.
- 16 — SEWELL (William H.) — Coronary Disease Management. Coronary Arteriography, Nitrates and the Triple Pedicle Operation. Bristol, 1969.



CONDITORES

† Prof. BASILIO FREIRE — † Prof. GERALDINO BRITES — † Prof. MAXIMINO CORREIA

XIII

FOLIA ANATOMICA
UNIVERSITATIS
CONIMBRIGENSIS

MODERATORES

Prof. A. TAVARES DE SOUSA — Prof. HERMÊNIO CARDOSO

Prof. A. SIMÕES DE CARVALHO

COLLABORANT

CONIMBRIGENSIS

CASTRO-CORREIA (J.), NUNES (A. SOUSA) e SILVA-BACELAR (A.), CARDOSO
(HERMÊNIO) e CONSALVES (ARMANDO e Calisto) e MONTEIRO (Júnior)

- 12 — DITTRICH, H., LEUSCHAFT, R. y BACHMANN, K. — Revascularización miocárdica mediante arterias extra-cardíacas. *Munchener Medizinische Wochenschrift*. 79-88. Ano 113, 2, Lisboa, 1971.
- 13 — GONSALVES (Armando) — Oclusão coronária experimental. *Arq. Inst. Farmacologia e Terap. Exp.*, Vol. 14, 1967-68.
- 14 — HOLMBERG (Stig), PAULIN (Sven), PREROVSKY (Ivo), VARNAUSKAS (Eduardas) — Coronary Blood Flow in Man and its Relation to the Coronary Arteriogram. *The American Journal of Cardiology* Vol. 19, April 1967.
- 15 — LAVAURS, G. e RIJTANO, F. — La Ciné — angiographie sélective des artères coronaires. Paris, 1968.
- 16 — SEWELL (William H.) — Coronary Disease Management. Coronary Arteriography, Nitrates and the Triple Pedicle Operation. Bristol, 1969.



CONDITORES

† PROF. BASÍLIO FREIRE — † PROF. GERALDINO BRITES — † PROF. MAXIMINO CORRÊA

FOLIA ANATOMICA VNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

MODERADORES

PROF. A. TAVARES DE SOUSA — PROF. HERMÊNIO CARDOSO
PROF. A. SIMÕES DE CARVALHO

COLLABORANT

CASTRO-CORREIA (J.), NUNES (A. SOUSA) e SILVA-BACELAR (A.), CARDOSO (HERMÊNIO) e GONSALVES (ARMANDO e Colaboradores), MONTEIRO JÚNIOR (A.), PINA (J. A. ESPERANÇA), MENDES (J. CARIA), FERREIRA (A. DOS SANTOS) e CORREIA (MIGUEL), CRESPO (J. VAQUERO), AZOUBEL (REINALDO), TEIXEIRA (ROGÉRIO DOS SANTOS CARDOSO), TAVARES (ABEL SAMPAIO) e PINA (J. A. ESPERANÇA), AZOUBEL (REINALDO), IUCIF (SÁLUA) e LOPES (RUBERVAL A.), TEIXEIRA (ROGÉRIO DOS SANTOS CARDOSO), LACERDA (ANTÓNIO MADEIRA DE), CARDOSO (HERMÊNIO) e GONSALVES (ARMANDO e Colaboradores).

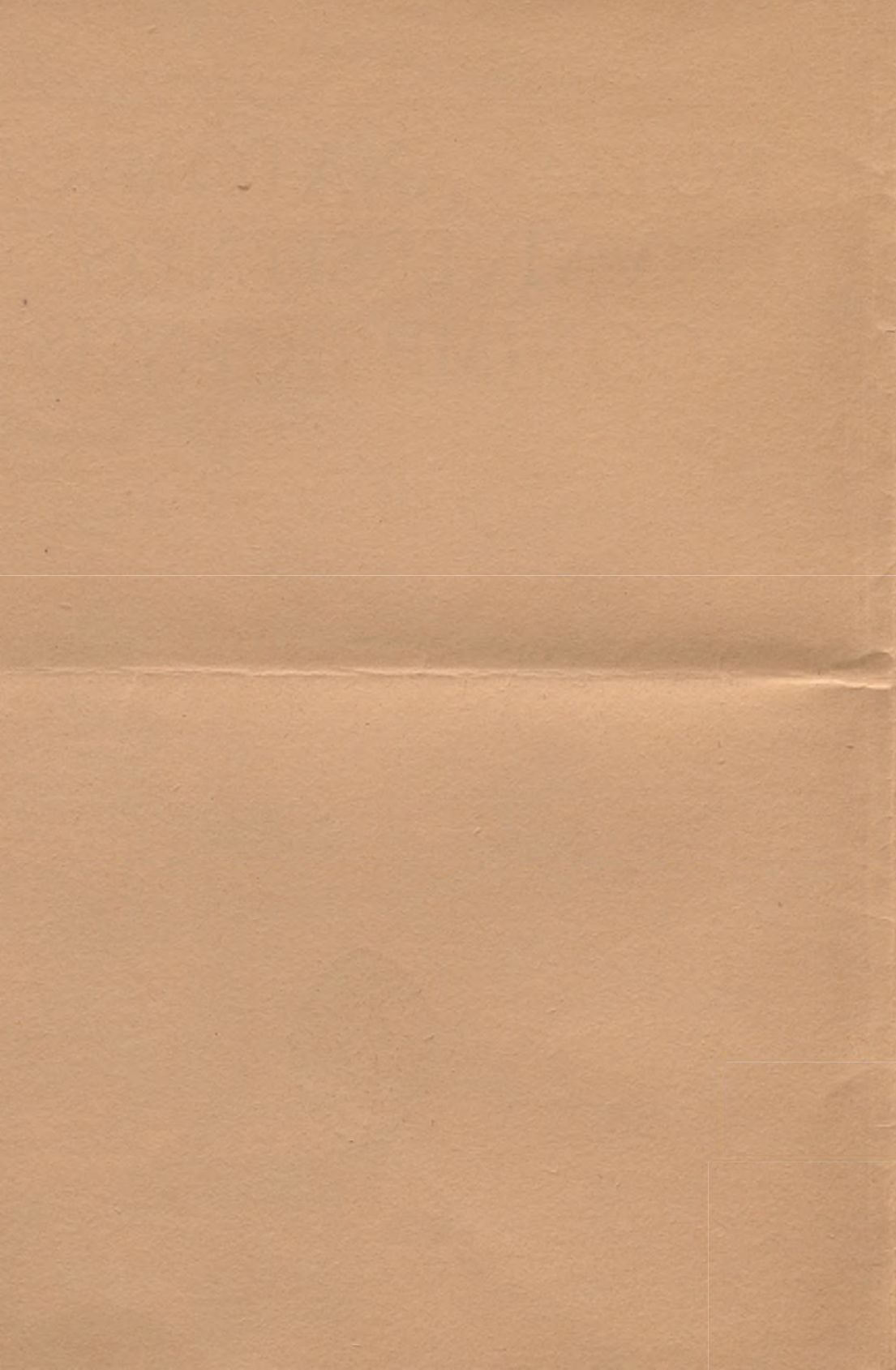
VOL. XLIII



1974

« IMPRENSA DE COIMBRA, L.^{DA} »
M C M L X X I V

UNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS



CONDITORES

† PROF. BASÍLIO FREIRE — † PROF. GERALDINO BRITES — † PROF. MAXIMINO CORREIA

FOLIA ANATOMICA VNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

MODERADORES

PROF. A. TAVARES DE SOUSA — PROF. HERMÊNIO CARDOSO
PROF. A. SIMÕES DE CARVALHO

COLLABORANT

CASTRO-CORREIA (J.), NUNES (A. SOUSA) e SILVA-BACELAR (A.), CARDOSO (HERMÊNIO) e GONSALVES (ARMANDO e Colaboradores), MONTEIRO JÚNIOR (A.), PINA (J. A. ESPERANÇA), MENDES (J. CARIA), FERREIRA (A. DOS SANTOS) e CORREIA (MIGUEL), CRESPO (J. VAQUERO), AZOUBEL (REINALDO), TEIXEIRA (ROGÉRIO DOS SANTOS CARDOSO), TAVARES (ABEL SAMPAIO) e PINA (J. A. ESPERANÇA), AZOUBEL (REINALDO), IUCIF (SÁLUA) e LOPES (RUBERVAL A.), TEIXEIRA (ROGÉRIO DOS SANTOS CARDOSO), LACERDA (ANTÓNIO MADEIRA DE), CARDOSO (HERMÊNIO) e GONSALVES (ARMANDO e Colaboradores).

VOL. XLIII



1974

« IMPRENSA DE COIMBRA, L.^{DA} »
M C M L X X I V



ESTILO FRANCIS VIVA
NÚMULO DE CARVALHO

FOLIA ANATOMICA VNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

INDEX

VOLUME XLIII — 1974

	N N
AZOUBEL (REINALDO) — <i>Malformações provocadas em embriões de galinha submetidos a resfriamento após formação da linha primitiva</i>	5
——— — IUCIF (SÁLUA) e LOPES (RUBERVAL A.) — <i>Estudo do crescimento pós-natal do arco dentário do rato, após a administração da hidrocortisona</i>	8
CARDOSO (HERMÊNIO), GONSALVES (ARMANDO) e COLABORADORES — <i>Oclusão coronária experimental-correlação de aspectos eléctricos e angiocardiógráficos</i> ...	2
———, ——— — <i>Contribuição da coronariografia no estudo das consequências da oclusão coronária experimental</i>	11
CASTRO-CORREIA (J.), NUNES (A. SOUSA) e SILVA-BACELAR (A.) — <i>A acção teratogénica da acetazolamida no ratinho</i>	1
CRESPO (J. VAQUERO) — <i>Organizaciones neurológicas del sistema nervioso central</i>	4
LACERDA (ANTÓNIO MADEIRA DE) — <i>Sobre a morfologia dos núcleos do cerebelo do gato</i>	10
MONTEIRO JÚNIOR (A.), PINA (J. A. ESPERANÇA), MENDES (J. CARIA), FERREIRA (A. DOS SANTOS) e CORREIA (MIGUEL) — <i>Acerca da anatomia dos canais pancreáticos</i>	3
TAVARES (ABEL SAMPAIO) e PINA (J. A. ESPERANÇA) — <i>Linfáticos sub-epicárdicos ventriculares do cão</i>	7
TEIXEIRA (ROGÉRIO DOS SANTOS CARDOSO) — <i>Sistema de lamelas no oócito do criceto</i>	6
TEIXEIRA (ROGÉRIO DOS SANTOS CARDOSO) — <i>Ultraestrutura das ovogónias e dos ovócitos em estado leptóteno, zigóteno, paquíteno e diploteno da profase meiótica no criceto dourado</i>	9

INDEX

VOLUME XXII - 1951

14

1. *Journal (Review)* - *Mathematical Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

2. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

3. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

4. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

5. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

6. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

7. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

8. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

9. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

10. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

11. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

12. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

13. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

14. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

15. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

16. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

17. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

18. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

19. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

20. *Journal (Review)* - *On the Foundations of the Theory of Probability* by A. N. Kolmogorov. 14

FOLIA ANATOMICA
VNIVERSITATIS
CONIMBRIGENSIS

FOLIA ANATOMICA
VNIVERSITATIS
CONIMBRIGENSIS

(Propriété du Laboratório de Anatomia Normal Doutor Maximino Correia
e do Instituto de Histologia e Embriologia)

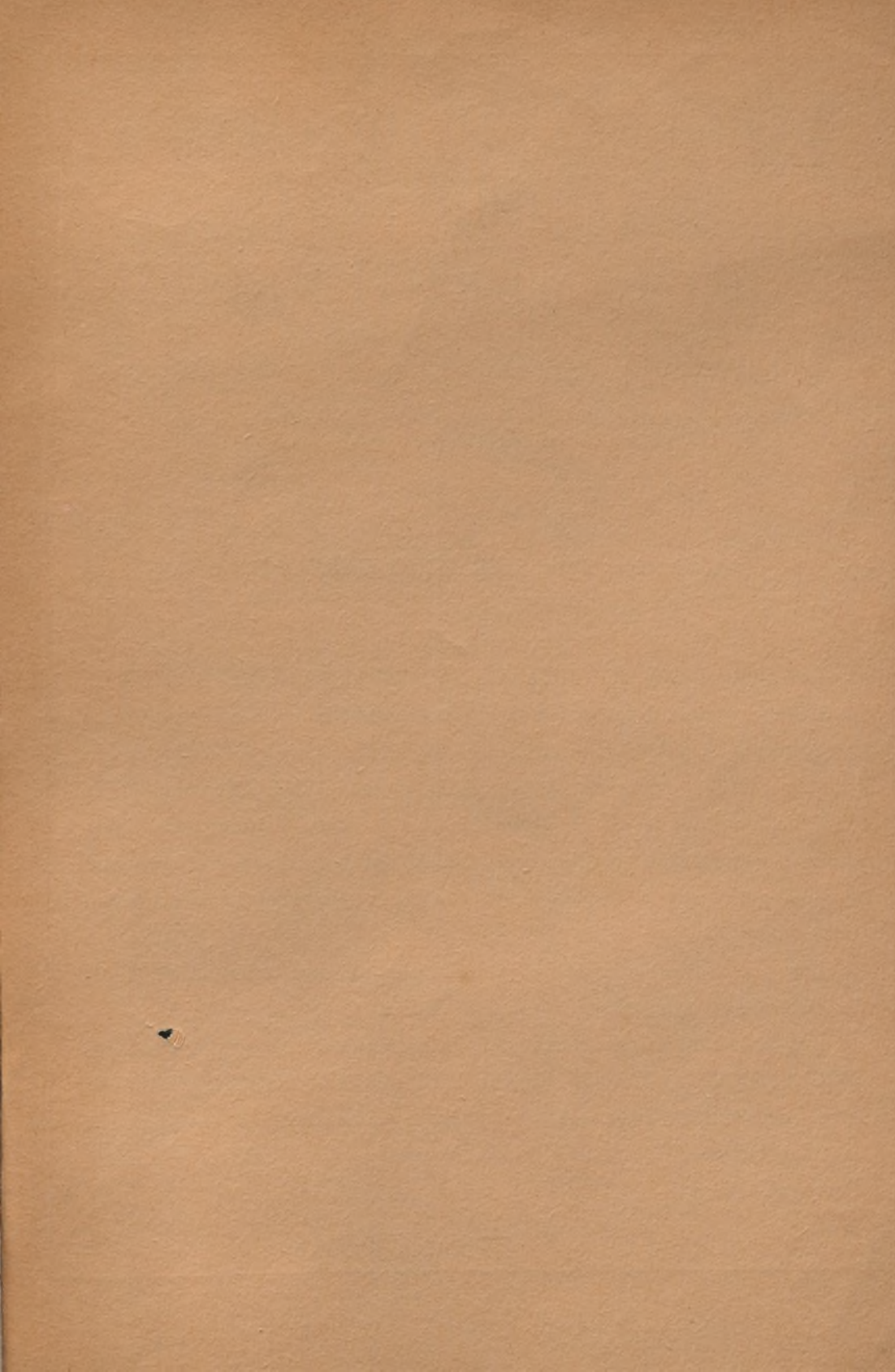
EDITEUR: PROF. HERMÊNIO CARDOSO

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

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

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

Les communications concernant la rédaction et l'administration des FOLIA ANATOMICA VNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS doivent être adressées à: Prof. Herménio Cardoso, Laboratório de Anatomia Normal Doutor Maximino Correia, Faculdade de Medicina, Coimbra, Portugal.



- 12 — DITTRICH, H., LEUSCHT, R. y BACHMANN, K. — Revascularización miocárdica mediante arterias extra-cardíacas. *Munchener Medizinische Wochenschrift*. 79-88. Ano 113, 2, Lisboa, 1971.

UNIVERSITATIS

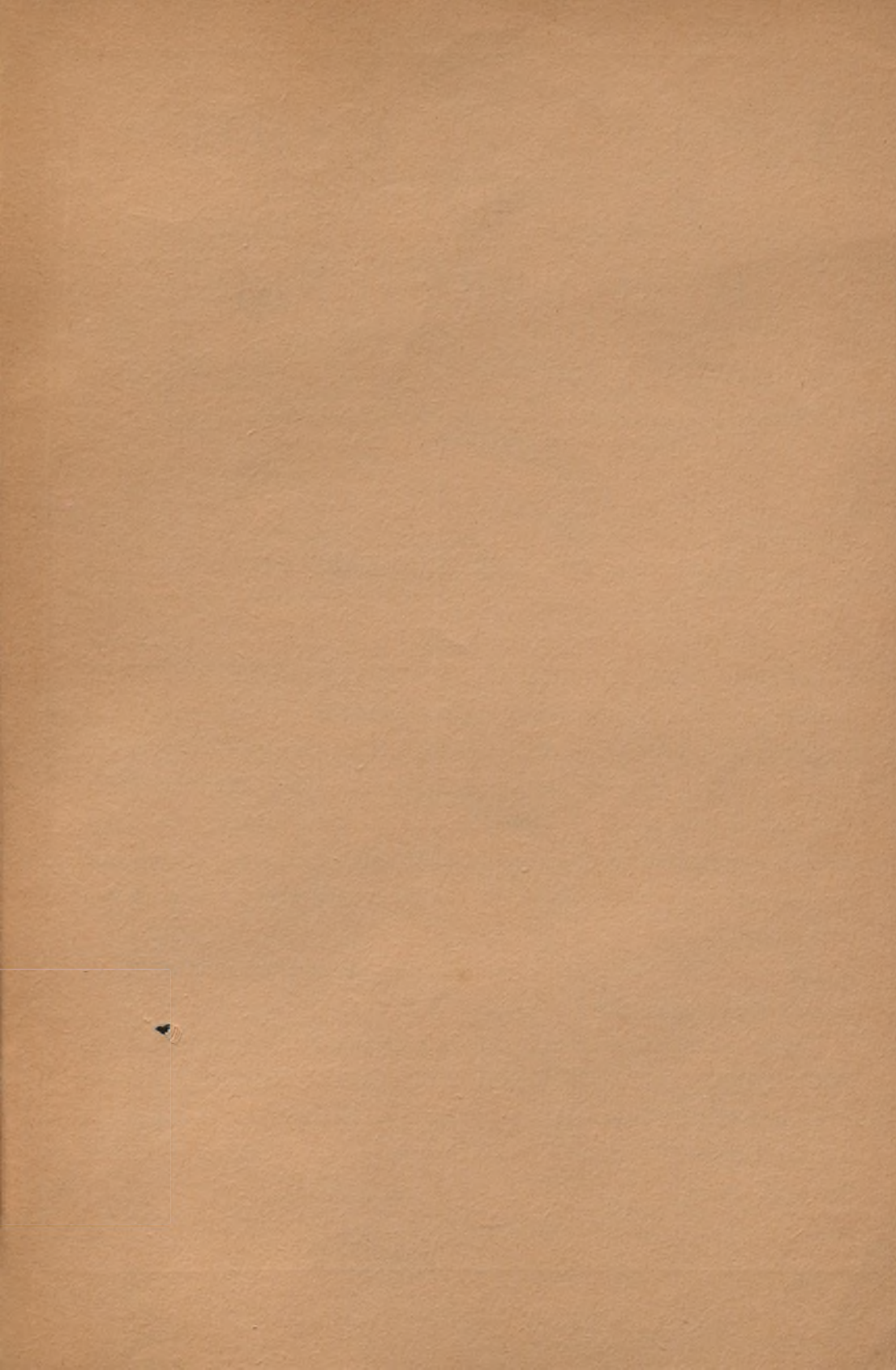
(A.), PINA (J. A. ESPERANÇA), MENDES (J. CARIA), FERREIRA (A. DOS SANTOS) e CORREIA (MIGUEL), CRESPO (J. VAQUERO), AZOUBEL (REINALDO), TEIXEIRA (ROGÉRIO DOS SANTOS CARDOSO), TAVARES (ABEL SAMPAIO) e PINA (J. A. ESPERANÇA), AZOUBEL (REINALDO), IUCIF (SÁLUA) e LOPES (RUBERVAL A.), TEIXEIRA (ROGÉRIO DOS SANTOS CARDOSO), LACERDA (ANTÓNIO MADEIRA DE), CARDOSO (HERMÉNIO) e GONSALVES (ARMANDO e Colaboradores).

VOL. XLIII



1974

« IMPRENSA DE COIMBRA, L.^{DA} »
M C M L X X I V



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

(Propriété du Laboratório de Anatomia Normal Doutor Maximino Correia
e do Instituto de Histologia e Embriologia)

EDITEUR: PROF. HERMÊNIO CARDOSO

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

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

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

Les communications concernant la rédaction et l'administration des FOLIA ANATOMICA VNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS doivent être adressées à: Prof. Herménio Cardoso, Laboratório de Anatomia Normal Doutor Maximino Correia, Faculdade de Medicina, Coimbra, Portugal.

Sal

Est

N.