

J. DE PAULA E SILVA

T
2401

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO
DOS CAPILARES E DAS ANASTO-
MOSES ARTERIO-VENOSAS "IN VIVO"

Tese para doutoramento
apresentada ao Conselho
Tecnico Administrativo
da E. Paulista de Me-
dicina, em 27-10-1939.

BIBLIOTECA EPM
Tombo 5011

SÃO PAULO — BRASIL

1939

DEDICADA A MEU PAI

PROLOGO

O presente trabalho foi feito na Seção de Histologia e Embriologia Geral da Escola Paulista de Medicina.

Nele focalisei apenas alguns aspetos do problema, deixando de fazer uma serie de outras experiencias possiveis que me ocorreram durante as minhas verificações.

Tendo-as em mente, espero poder publicar, dentro em breve, novas observações.

Ao espirito esclarecido de meus mestres, prof. André Dreyfus e dr. Edgard Barroso do Amaral, agradeço a orientação científica e os conselhos que aos mesmos devo e ao segundo, ainda, a sugestão do assunto do presente trabalho.

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DOS CAPILARES E DAS ANASTO- MOSES ARTERIO-VENOSAS “IN VIVO”

O estudo da célula e dos tecidos “in vivo” parece ter sido feito pela primeira vez, em 1661, por Malpighi, que procurava estudar por meio de lentes o comportamento das arterias e veias no mesentério da rã. Entretanto este A. nunca conseguiu na sua rã curarisada, verificar o que se passava nos vasos e principalmente nos capilares. Hoje esta observação é fácil e constitue uma demonstração elementar que “os micrografos se deliciam em mostrar mesmo às pessoas estranhas às ciencias biologicas” (M. Duval).

Só muito mais tarde, Dutrochet (1842) e Waller (1846) consideraram a presença de leucocitos como fenomeno especifico da inflamação se bem que não tenham visto a diapedese e em 1888 Cohnhein, estudando o mecanismo da flogose, conseguiu com a preparação de Malpighi ver e demonstrar a migração de leucocitos do interior dos vasos sangui-nios para o tecido conjuntivo circumjacente.

Desde essa data até 1924 todos os estudos feitos “in vivo” eram realizados ou no mesentério de sapo e da rã, ou na lingua, na membrana nictitante, na abobada palatina do sapo, descolada e evertida, na membrana interdigital das aves, na cauda do girino, etc., e mais raramente na aza do morcego ou no mesentério de coelho e da cobaia.

Desde 1909 os AA. procuraram estudar na cauda do girino varios assuntos, tais como: o aparecimentos dos vasos

sanguínios e linfáticos, as relações de suas células endoteliais com as mesenquimatosas, as relações entre os macrófagos fixos e os do sangue circulante, a contratilidade capilar e sua relação com as células de Rouget, etc. Não obstante, estes estudos eram feitos exclusivamente em vertebrados inferiores e possivelmente haveria comportamentos diferentes nos mamíferos. Donde a necessidade de se procurar realizar tais estudos, nesses animais, graças à introdução de novas técnicas.

Maximow, em 1902, estudou o mecanismo de neoformação de tecidos "in vivo". Veremos, entretanto, que não o conseguiu completamente posto que suas preparações não eram permanentes e precisavam ser retiradas do organismo para poderem ser estudadas.

Maximow introduzia na orelha do coelho duas lâminas de vidro, paralelas e afastadas de maneira tal que permitissem o crescimento do tecido no seu interior.

Harrison em 1907 estudava o tecido vivo em cultura, contribuindo desta maneira para a obtenção de dados úteis à histologia e à fisiologia.

Sandison, em 1924, tendo por base as tentativas de A. Maximow procura construir uma câmara, a ser introduzida na orelha do coelho, câmara que permitisse ao observador assistir ao aparecimento dos tecidos e igualmente às modificações apresentadas durante um tempo suficientemente longo e isso sob os maiores aumentos microscópicos.

Realmente por esta ocasião, Sandison obtem, sem grande sucesso, a introdução de uma câmara transparente na orelha do coelho, com a qual estudou o tecido neoformado com todos os seus vasos.

Sandison retirava cirurgicamente de um e outro lado a pele da orelha do coelho e substituía-a por laminulas de vidro presas à orelha por meio de fios, que por sua vez se prendiam a peças de madeira.

Frequentemente esta camara se infetava e, quando era bem sucedido, no fim de um curto tempo os bordos das laminulas cortavam o tecido e a camara tornava-se solta.

Em 1928, contudo, consegue idealizar uma camara mais complexa, que permitia maior aumento de sucessos, mas que deixava ainda muito a desejar.

Neste mesmo ano, Sandison publica um trabalho no qual estuda a neoformação de vasos na camara transparente, verificando que eles aparecem graças aos brotos já existentes nos vasos presentes ou formados devido à multiplicação das células endoteliais.

Contudo, uma tal camara ainda não permitia resultados inteiramente satisfatórios. Clark, que por esta ocasião começara a realizar experiencias semelhantes, procura com seus discipulos construir uma camara que suprisse as falhas da primitiva de Sandison.

Finalmente em 1930, publica Clark conjuntamente com Kirby-Smith, R. O. Rex e R. G. Williams, um trabalho em que apresenta dois tipos de camaras diferentes, uma oval e outra redonda, que podiam ser introduzidas na orelha do coelho, aí permanecendo longo periodo de tempo, até mesmo um ano ou mais.

Essas camaras permitiam a observação demorada e o que é mais impressionante — o exame com objetiva de imersão.

As figuras 1, 2 e 3 mostram, respectivamente, de maneira esquematica as disposições das camaras oval e redonda, assim como o material de que são feitas.

Abstenho-me no momento de referir como se instala cada uma das camaras, pois que terei ocasião de falar minuciosamente da camara redonda mais tarde. A instalação da camara oval é semelhante à da redonda e as pequenas diferenças tecnicas são facilmente compreensíveis, desde que se tenha compreendido a instalação desta.

Entretanto, as camaras transparentes idealizadas por estes pesquisadores não foram suficientes para preencher to-

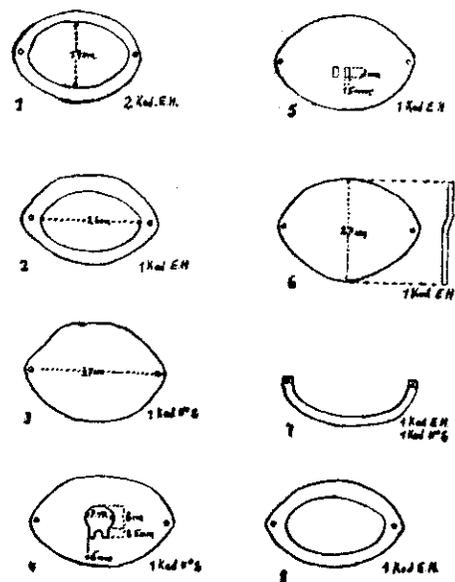


Fig. 1

Fig. 1 — Esquemas mostrando as dimensões, partes e material usado na construção da câmara "bay-type". Esquemas de 1 a 8 inclusive, representam as partes por ordem de seu aparecimento no dispositivo montado, de cima para baixo. No fundo da câmara há 2 peças semelhantes às do esquema 1 e que não são mostradas na figura. Os números das peças e o material são indicados à esquerda e à direita de cada esquema. Kod: kodaloid, do qual foram usadas 3 espessuras: E. H. (extra pesado), n.º 2 e n.º 6.

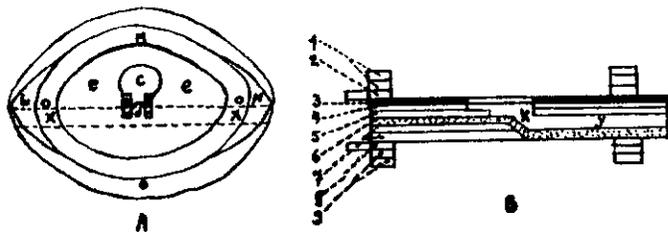


Fig. 2

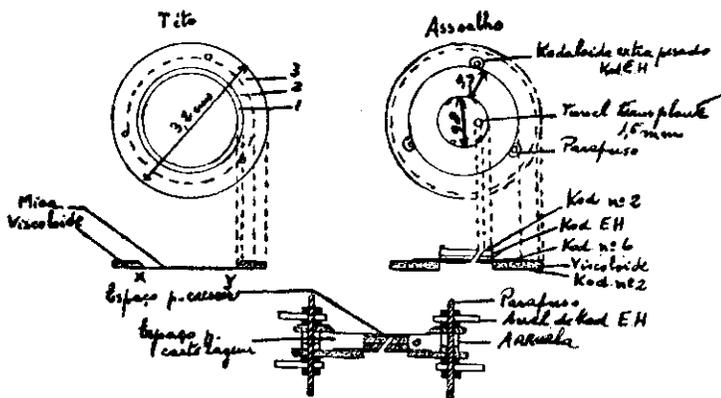


Fig. 3

Fig. 2 — Esquema mostrando a câmara "bay-type" vista de frente A e em corte, B, passando por O; a e b são túneis nos quais o tecido cresce e une á enseada e; com isso auxiliando a prender a câmara no lugar, nas vizinhanças de d. e é sólido, sendo disposto para colar as peças adjacentes; x marca o lugar ocupado pela artéria central. B mostra a câmara em corte e os números correspondem aos da figura 1.

Fig. 3 — Esquemas mostrando dimensões, partes e materiais usados na construção da câmara redonda. Kod: kodaloid, produto Eastman. É usado em varias espessuras: n.º 2, 40-75 micra; n.º 6, 0,24 mms; E. H. 0,62 mms. O viscoloid tem 1 mm de espessura. As porcas e parafusos são de cobre. A mica tem 60-100 micra de espessura.

dos os requisitos que as mais diversas pesquisas necessitam. E' assim que elas não permitem assistir às influencias de uma determinada substancia sobre os tecidos que se neoforam, desde que estas drogas necessitem agir durante um tempo suficientemente longo.

Para a realização de estudos desta natureza Richard A. Abell e E. R. Clark (1934) idealizaram e construíram outro tipo de camara, a dita "camara fosso" feita quasi que inteiramente de vidro, com fundamentos na camara oval, e que permite graças a uma adaptação especial, o armazenamento da substancia da qual se quer conhecer os efeitos.

Como se disse linhas atraz, a introdução destas camaras transparentes na orelha do coelho permite estudar, não só a neoformação do tecido conjuntivo, de vasos sanguinios, como tambem a ação dos agentes mecanicos e quimicos sobre os tecidos neoformados, a histologia dos vasos venosos e arteriais, sua contratilidade antes e depois de aparecidas as fibras nervosas, sob ação de agentes quimicos e fisicos, o comportamento dos capilares linfaticos e sanguinios, a contratilidade dos capilares sanguinios, suas relações com as células de Rouget, inervação dos capilares, estrutura e permeabilidade de suas paredes. Relações entre as células conjuntivas e sanguinias, ameboidismo, fagocitose dos varios tipos celulares, seu comportamento perante substancias extranhas, digestão, reprodução celular, vitalidade e resistencia celulares. Capacidade do sistema reticulo-endotelial, enxertos de tecidos, etc.

As possibilidades de realização de estudos no mamifero vivo com camara transparente são muito significativas, como podemos deprender dos trabalhos de Hou, da Universidade de Pekim (1929) que enxertou suprarenal e em 1933 Kirby-Smith que estudou o crescimento de osso enxertado, e dos trabalhos de R. G. Williams que em 1937 estudou a histofisiologia da vesicula tiroidiana enxertada tambem no tecido da camara transparente.

Abell em 1936 procura saber, na camara, quais as influencias que a uréa exercia sobre o crescimento de capila-

res, constatando que os efeitos de inibição e aumento do crescimento variam de acordo com a concentração da solução empregada.

Estes estudos estenderam-se cada vez mais. Em 1936 Zintel faz uma camara interessando de um lado o intestino e de outro o mesentério, e no mesmo ano Wentsler instala na cabeça do coelho uma camara transparente permanente para estudar os vasos cerebrais superficiais.

Como acabamos de ver, as possibilidades de estudo no mamífero vivo, graças à introdução de uma camara transparente na orelha do coelho, são muito grandes, e dão margem a uma serie de pesquisas, não só de ordem histologica, como de ordem fisiologica.

Foi precisamente calcado nestas possibilidades e no trabalho de Grant, em 1929, que observava as comunicações diretas entre arterias e veias na orelha do coelho, que realizei a tecnica Sandison-Clark com o fim de verificar o comportamento destas comunicações (anastomoses arterio-venosa, que agora em diante designarei A. A. V.) e dos capilares neoformados.

Às A. A. V. tem-se atribuido numerosas funções, pois têm sido encontradas em varias regiões do corpo humano e de outros animais.

O autor que parece ter descrito pela primeira vez A. A. V. foi Sucquet em 1862, na pele do cotovelo, joelho, labios, maçãs do rosto, nariz, palpebras, orelhas, dedos do pé, mão, nas eminencias tenar e hipotenar.

Vastarini-Cresi, 1902, diz te-las descrito Lealis Leali nos órgãos genitais externos e Müller em 1866 atribuiu a ereção do penis às A. A. V.

Estes estudos eram feitos por meio de injeções de uma substancia granulosa nas arterias. Os granulos eram muito grandes para poderem passar através dos capilares e contudo eram encontrados nas veias; daí a possibilidade da existencia de uma comunicação direta entre a arteria e a veia.

Esta tecnica serviu a Hoyer em 1877, para demonstrar a presença de A. A. V. em varias regiões do corpo de diversos animais, como coelho, gato, cachorro, etc.

Grösser, em 1902, fez ótimas descrições de anastomoses arterio-venosas nos mesmos animais, constatando nelas a presença de grande numero de fibras nervosas e, ao mesmo tempo, uma contratilidade maior que a das arterias; por esta razão admitiu que tivessem um papel importante na regulação da temperatura, isto é, não funcionando a anastomose, o sangue passaria pela rede capilar e consequentemente haveria um desperdicio maior de calor, dada a maior superficie de irradiação; o inverso passando-se toda a vez que pela anastomose circula sangue.

Vastarini-Cresi (1902) fez estudos histologicos das A. A. V. e verificou a existencia de três zonas: uma cuja estrutura se assemelhava à da arteria de origem, outra mais ou menos semelhante à veia e finalmente uma porção intermediaria adelgaçada, ligando as duas primeiras e que ele considerou como sendo um esfinter.

Schumacher (1915) faz os mesmos estudos descrevendo uma modificação epiteliode de suas celulas musculares. Mais tarde M. Clara (1927), estudando as A. A. V. dos passaros e mamiferos, faz uma descrição detalhada e minuciosa da sua estrutura, confirmando os achados de Schumacher.

Clark e Clark em 1934 fazem um estudo das anastomoses arterio-venosas na camara instalada na orelha do coelho. Verificaram que muito precocemente, ha formação de anastomoses entre os vasos arteriais e venosos neoformados, que estas anastomoses são muito numerosas, tem maior contratilidade que as arterias e que apresentam alterações ao frio e ao calor, assim como sofrem influencia de microabcessos que se formaram na circumvizinhança.

Seus estudos foram feitos cinco meses depois da instalação da camara.

Estes Autores observaram que as A. A. V. abrem-se ou fecham-se desde que a temperatura tenha chegado a um ni-

vel crítico. Quando a temperatura da orelha atinge 35-40° C, as anastomoses fecham-se, ao contrario chegando a 15° C ha dilatação e concomitantemente constrição dos capilares. A 5° C esta dilatação é geral e não fica restrita, exclusivamente à orelha esfriada, mas aféta tambem o lado oposto.

À estas anastomoses atribuíram-se duas funções: a) regular a temperatura do corpo por aumento de irradiação de calor, porque quando fechadas permitem uma passagem de grande quantidade de sangue pelas partes perifericas; (é grande a importancia deste mecanismo, porquanto a temperatura do corpo do coelho pode baixar ou subir si se lhe esfria ou aquece a orelha), b) manutenção da temperatura de partes expostas do corpo sujeitas a esfriamento local.

Ora, a grande quantidade de A. A. V. encontradas em varias regiões da pele humana faz supôr tambem uma função semelhante, isto é, de regulação da temperatura do corpo, principalmente das partes expostas sob a ação das variações de temperatura ambiente.

Além da pele, tambem encontram-se A. A. V. no homem, em outras regiões como lingua, palpebras, planta dos pés, palma das mãos, dedos, unhas, glomo cocigeano, no coração onde seriam uma formação anomala. No rim, ^{Gross} Grösser, em 1937, descreveu uma anastomose existente entre a artéria e veia arciformes, anastomose esta que passa pela pirâmide de Malpighi, sem dar colaterais ao longo de seu percurso; funcionando esta anastomose, diminue o fluxo de sangue para as arterias interlobulares e consequentemente o numero de glomerulos que funcionam seria muito menor. Assim se poderiam explicar os achados de Richard e Smith, segudos os quais, em condição normais, apenas 47% dos glomerulos do parenquima funcionam.

Não raras vezes, estas anastomoses são séde de formação tumoral.

Alguns autores pretendem que as A. A. V. não existem no feto, começando a se desenvolver na criança um mez após o nascimento. Assim se poderia explicar a dificuldade que

a criança tem em manter constante a temperatura do corpo, dada a impossibilidade de ajustar por si mesma a temperatura, quando ha mudanças bruscas, devido à falta ou à pobreza destas termoreguladoras cutaneas.

Só depois do aparecimento destas anastomoses é que a criança adquiriria a capacidade de habituar-se às mudanças termicas bruscas.

Por outro lado estas anastomoses sofrem uma atrofia em pessoas depois dos 60 anos, ocasião em que diminue a eficiencia do controle termoregulador da péle. A quantidade de anastomoses varia de acordo com a região do corpo e aumenta nas extremidades e em determinadas regiões o que provavelmente fala a favor de um mecanismo acessorio necessario, destinado a ajudar a manutenção da temperatura nessas regiões mais sujeitas a estímulos sensoriais. Tendo sido encontrada frequentemente anastomoses em relação com o corpusculo de Paccini, Maximow sugeriu a hipótese de uma possível associação funcional concomitante destas anastomoses com o controle da pressão sanguinia da pele.

Estas anastomoses são inervadas por fibras simpaticas constritoras e, como demonstraram Lewis e Grant, sofrem constrição pela adrenalina, dilatação por excitações mecanicas, por estímulo de fibras sensitivas, histamina e acetilcolina.

Igualmente interessante é o estudo dos capilares. Estes vasos que estruturalmente são bastante simples, apresentam entretanto, histofisiologia bastante complexa.

As observações de numerosos investigadores vieram demonstrar que os capilares são capazes de apresentar modificações no seu diametro independentes dos vasos arteriais. Stricker (1865) foi o primeiro a observar, na membrana nictitante do sapo, contrações e dilatações dos capilares. Stejnach e Hahn demonstraram a independencia dos movimentos capilares sob estímulos eletricos em tecidos retirados do organismo (membrana nictitante do sapo e mesentério do gato). Estes autores tambem demonstraram que a excita-

ção do simpático cervical provocava contração das paredes capilares da área interessada.

Entretanto até 1917, ocasião em que Ebbecke demonstrou claramente a capacidade de contração capilar, eram eles considerados como possuindo uma função puramente mecânica passiva.

Em 1874, Rouget descreve um tipo especial de células pericapilares, que têm o seu nome e às quais cinco anos mais tarde ele atribui a responsabilidade da contração capilar.

O estudo da fisiologia capilar tem sido empreendido por numerosos autores, principalmente por Krogh, Vimtrup, Zimmermann, Zweifach, Bensley e muitos outros.

Krogh acha que há grande variação no número de capilares que num dado momento estão em funcionamento. Os capilares apresentam assim modificações acentuadas de acordo com o estado funcional dos tecidos. Muitas vezes o diâmetro do capilar é suficiente para impedir o trânsito de células sem contudo fechar a passagem do plasma. Este fenômeno foi chamado "plasma Skimming". Krogh considera que estas constantes variações do volume do capilar têm importância capital nas trocas entre os tecidos e o sangue e particularmente no fornecimento de oxigênio aos tecidos. Krogh atribui à contração do oxigênio um papel importante na manutenção do tônus capilar, e também, julga provável a existência de um hormônio X, responsável pelo tônus.

O mecanismo pelo qual a contratilidade se processa constitui uma questão altamente controversa. Numerosos autores atribuem-na às células de Rouget; é assim que Bensley e Vimtrup (1928), fazendo estudos sobre a natureza destas células (experiência na língua e membrana interdigital da rã) chegaram às seguintes conclusões: a) as contrações espontâneas dos capilares têm origem sempre onde as células de Rouget estão aderentes à parede. Os capilares não se contraem independentemente das células de Rouget. Da mesma forma o estímulo elétrico provoca contração da célula de Rouget, contração esta transmitida ao capilar; b) fazendo coloração supravital das células de Rouget com o ver-

de Janus, os autores observaram miofibrilas no interior das células iguais às encontradas nas células musculares das artérias. Tanto numa como noutra as miofibrilas coravam-se do mesmo modo e ao mesmo tempo. Os AA. acham pois que as células de Rouget são de natureza muscular.

Outros autores ha, entretanto, que negam às células de Rouget papel na contração capilar. Assim Clark e Clark (1925 e 1925) trabalhando com girinos, sapos e rãs demonstraram que os capilares sanguíneos se contraem independentemente das células de Rouget. Estes autores observaram contração capilar em zonas desprovidas de células de Rouget e descrevem a possibilidade de um afastamento da parede capilar que assim se distancia da célula de Rouget que permanece imóvel.

Tambem Zweifach em 1934 e 1937, estudando as artérias, venulas e capilares sanguíneos da cauda do girino, por meio da micromanipulação, chegou às seguintes conclusões: a) as células pericapilares, inclusive as células de Rouget, são muito diferentes das células musculares dos vasos acima citados, não sendo de natureza muscular como aquelas e assemelhando-se muito às do tecido conjuntivo circunvizinho; b) a punção com microagulha das células pericapilares não tem nenhum efeito sobre os capilares. Aquelas células ainda podem ser retiradas da parede do capilar, sem que este sofra modificação alguma; c) as arteríolas, venulas e capilares estimulados mecanicamente, respondem por uma contração; d) punção das células endoteliais produz contração da região. Cada célula endotelial é capaz de se contrair independentemente das circunvizinhas. Na contração as extremidades se retraem, aproximando da região nuclear que faz saliência na luz do vaso.

Este Autor não faz uma distinção nitida entre as células de Rouget e as demais células pericapilares, julgando que a única diferença está em as células de Rouget servirem para reforçar a parede capilar.

Tudor Jones (1936), considera as células de Rouget não como um elemento contrátil, mas pertencente ao sistema

nervoso. Para ele os elementos contrateis dos vasos são ordinariamente as fibras musculares lisas. A sua contratilidade dependeria da extensão dos elementos em continuidade com o sistema nervoso na sua vizinhança.

Leontowitsch, Grösser, Beale, Stöhr, descreveram grande quantidade de fibras nervosas amielinicas distribuidas entre os capilares de uma maneira plexiforme ao longo de seu curso, tendo-as considerado, como um plexo proprio. Segundo aqueles autores este plexo está em intima conexão com a parede capilar e muitas vezes mostra terminações livres no endotelio.

M. Michels, crê que este plexo não é tão rico como querem Stöhr e Beale e que outrossim póde ser considerado como uma unidade fisiologica que funcionaria pelos pontos de contrato com o endotelio. Este A. não encontrou celulas ganglionares e nas suas preparações não viu nenhuma correlação entre as fibras de Remak e as celulas de Rouget, se bem que existiam numerosas correlações com o endotelio.

Experiencias de ordem fisiologica demonstram existir uma correlação entre o sistema nervoso e o capilar. A excitação do simpatico cervical, vimos atraz, determina constrição dos capilares da região interessada.

Como acabamos de ver, o estudo da histofisiologia capilar é tão complexo e o papel dos capilares na circulação é tão grande que podemos dizer com Krogh: "mesmo depois que o esplendido trabalho de Cl. Bernard (1852) inaugurou o estudo do mecanismo vaso-motor, este ramo da ciencia fisiologica que se ocupa da regulação da circulação, continuou sujeito a pesquisas e exerceu uma profunda influencia sobre os pensamentos fisiologicos e patologicos em geral. Até estes ultimos tempos a palavra vaso-motor era sinonima de arterio-motor. Nós adquirimos a convicção de que além do mecanismo arterio motor, bem conhecido, tambem temos os mecanismos capilaro-motores, se bem que o estudo sistematico dos capilares e suas reações esteja ainda em sua infancia; pode-se predizer-lhe um lugar de destaque na ciencia pura com aplicação direta ou indireta ao alivio da humanidade e reconhecer-lhe enfim uma importancia igual à do estudo do coração e do sistema arterial".

MATERIAL, TECNICA E EXPERIENCIAS

Como disse linhas atraz e como se depreende da constituição de cada um dos tipos de camara, a sua instalação apresenta dificuldades de ordem tecnica que, o mais das vezes, são facilmente resolvidas.

A camara redonda, por mim utilizada, é de construção facil e pode ser feita por tecnicos de laboratorio.

Por motivos alheios à minha vontade, tive que utilizar material diferente do empregado por Clark, Kirby-Smith e Williams, os quais utilizaram "Kodaloid", "Viscoloid" e "mica".

Substituí o "Kodaloid", "Viscoloid" e "Mica" por filmes de chapas radiograficas e fotograficas respectivamente.

A camara construida consta de duas porções que encerrão no seu interior uma delgada lamina de tecido conjuntivo com a arteria central e depois o tecido neoformado. A primeira porção ou tétó possui uma peça circular de 3,5 cms. de diametro de filme fotografico, que constituirá uma das bases da camara, através da qual far-se-á, o mais das vezes o exame microscopico (fig. 4, 1). Esta peça será presa à orelha do coelho por meio de três parafusos equidistantes. Os parafusos tem por base um anel da mesma dimensão (3,5 cms.) feito com filme radiografico e de 0,5 cms. de largura, (fig. 3, 2). Estas duas peças são coladas uma à outra.

A segunda parte da camara ou assoalho é constituida por três aneis de tamanhos diferentes, feitos de filme radiografico, colados uns aos outros e tais que o menor deles que é o superior tenha 1,5 cms. de diametro. Esta abertura será

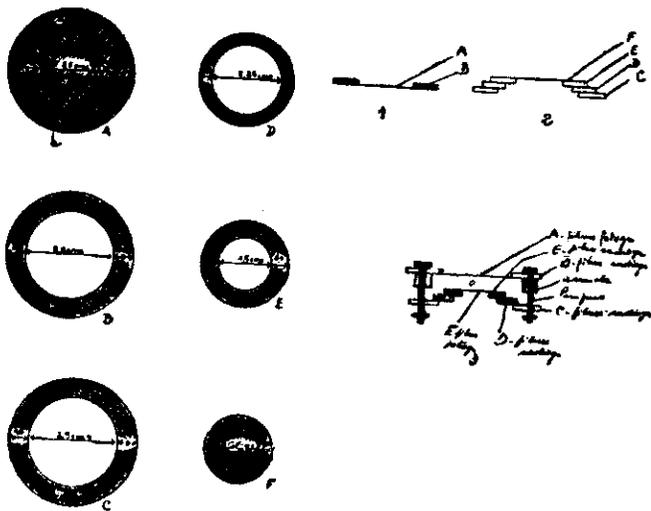


Fig. 4

Fig. 4 — Esquemas mostrando material, partes e dimensões utilizados em nossas experiências. A, peça de filme fotografico; a, pertuito para os parafusos. B, C, aneis de filme radiografico; D, E, aneis de filme radiografico; F, placa de filme fotografico. 1 e 2, justaposição das peças: em 1, teto em 2 assoalho; 3, camara montada vista em corte; O, espaço para o crescimento do tecido. O filme radiografico tem 1 mm de espessura e o fotografico tem 60 micra.

fechada por uma placa de filme fotografico, de diametro um pouco maior. A superficie superior desta placa servirá de assoalho à camara (fig. 4 — C, D, E, F, 1, 2 e 3).

Esta peça tem igualmente três orificios equidistantes que deverão coincidir com os da outra parte.

Essas duas peças deverão ser colocadas oportunamente e em tempos diferentes. A fig. 4,3 mostra-as em corte longitudinal e superpostas.

Este material assim como os parafusos e as respectivas polcas deverão ser esterilizados em resorcina a 6%, aliás, podem mesmo ser conservadas aí por longo tempo, sendo retiradas no momento do emprego e lavadas em agua fisiologica esterilizada.

Para instalação da camara, utilizei uma meza (como mostra a figura n.º 5) que possui no centro uma abertura, destinada a receber o dorso do coelho. Esta abertura garantirá ao animal uma posição comoda, permitindo sua permanencia durante horas. Esta meza, ainda, possui uma janela através da qual far-se-ão as observações microscopicas.

A instalação da camara é precedida de uma intervenção cirurgica, como se segue: depois de ter raspado bem os pelos de ambas as faces da orelha e as ter desinfetado com acido fenico a 2 %, o que se consegue mergulhando a orelha na solução durante 5 minutos, faz-se anestesia local com Scurocaina a 2 %, suficiente para manter a orelha insensivel durante a operação. A anestesia regional evita os riscos decorrentes da anestesia geral.

Preparado o campo operatorio, retira-se primeiramente um retalho de pele da face interna do pavilhão da orelha, de 1,5 cms. de diametro: em seguida retira-se igual porção da face externa procurando-se respeitar o mais possivel o pericondrio e o tecido conjuntivo subjacente com os seus vasos.

As duas feridas circulares devem ser coincidentes. No centro da ferida devemos ter a arteria central da orelha. Isto feito, volta-se a face interna para retirar um segmento de cartilagem equivalente às dimensões da ferida.

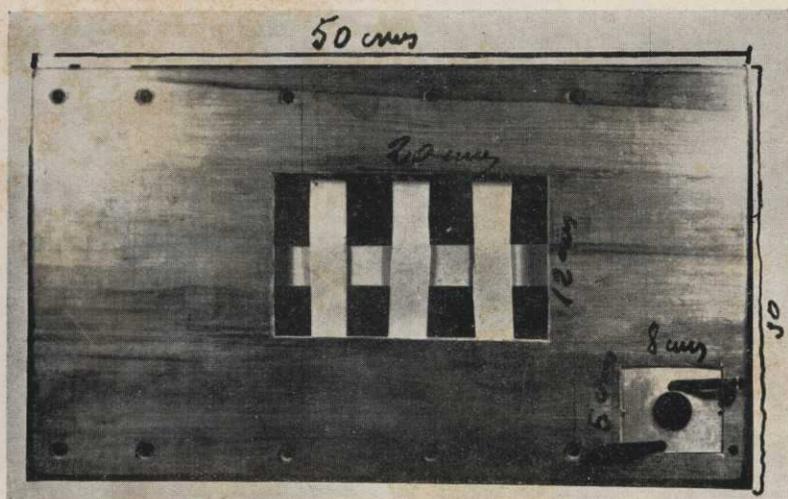


Fig. 5

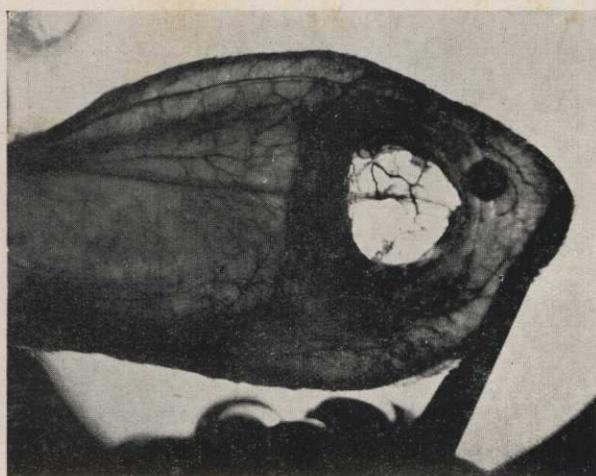


Fig. 6

Fig. 5 — Mesa utilizada durante o ato operatorio e exame microscopico.

Fig. 6 — Fotografia, um pouco menor que o tamanho natural, mostrando a camara na orelha, logo após a sua instalação.

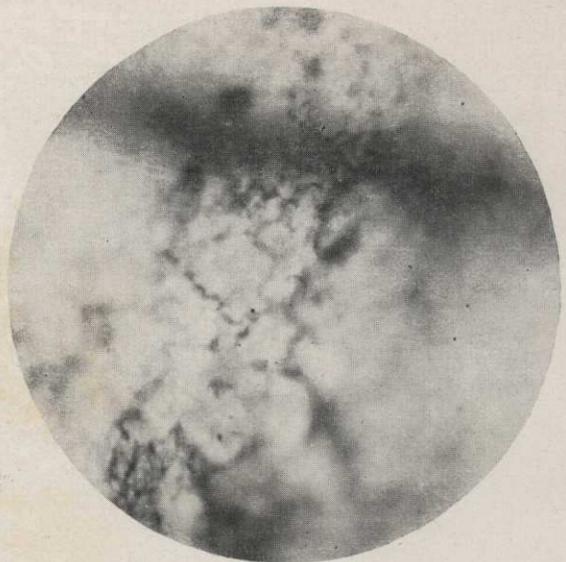


Fig. 7



Fig. 8

Fig. 7 — Microfotografia do tecido neoformado 8 dias depois de instalada a camara. x 80 Zeiss.

Fig. 8 — Microfotografia do tecido neoformado 12 dias depois de instalada a camara. x 80 Zeiss.

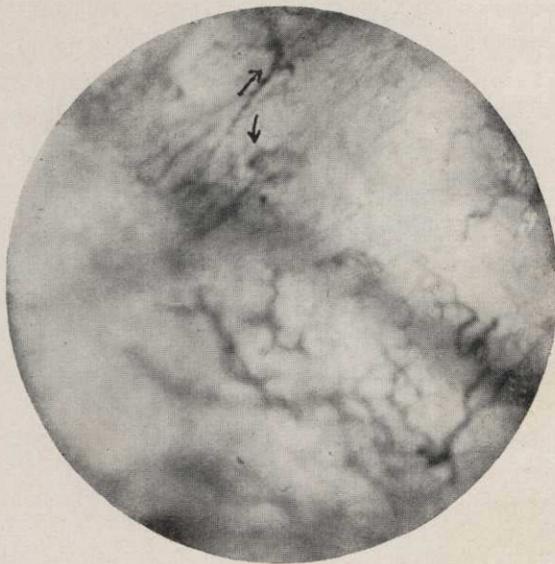


Fig. 9

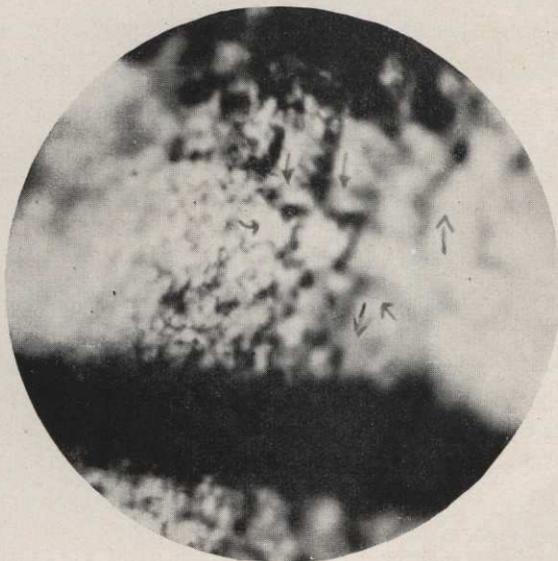


Fig. 10

Fig. 9 — Microfotografia mostrando o tecido neoformado 12 dias depois de instalada a camara. x 30 Zeiss.

Fig. 10 — Microfotografia do tecido neoformado na camara 12 dias depois de sua instalação, mostrando anastomose arterio-venosa. x 80 Zeiss.



Fig. 11

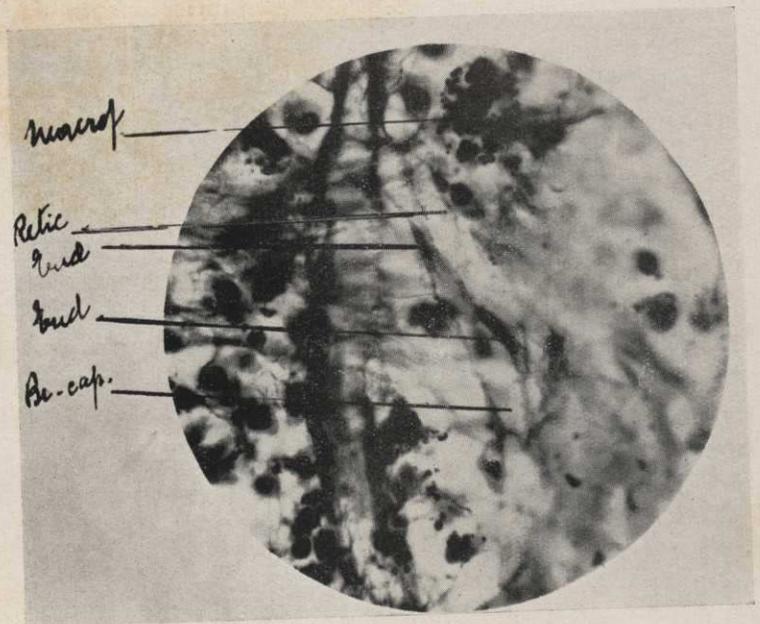


Fig. 12

Fig. 11 - Corte de tecido neoformado na camara. Bielschowsky-Maresch-Hematx. - Eos. x 80 Zeiss. Microfotografia mostrando a grande quantidade de reticulina. Cap: capilar neoformado, mostrando em Br. cap. brotos capilares. End: Endoteliocitos.

Fig. 12 - Corte de tecido neoformado na camara. Bielschowsky-Maresch-Hematx. - Eos. x 900 Zeis. Microfotografia mostrando um broto capilar, com os endoteliocitos (end), e bainha de reticulina (retic). Macrofagos (macrof) com hemacias e pigmento hemoglobínico.

Para tanto, deve-se fazer na cartilagem um corte paralelo à arteria central, afastado desta 1mm. aproximadamente; disseca-se cuidadosamente de dentro para fóra até retirada completa da porção cartilaginosa. Em seguida retira-se, com os mesmos cuidados a porção cartilaginosa do outro lado do vaso, tomando muito cuidado, para não cortar os vasos e principalmente a arteria central.

Desta maneira, restará apenas uma lamina de tecido conjuntivo, contendo no centro a arteria e alguns outros vasos. Isto pronto, procede-se à instalação da camara.

Par tal, justapõe-se as duas porções, uma em cada face da orelha, para em seguida passar os parafusos que atravessarão a orelha por orificios feitos oito dias antes, com o fim de evitar que os mesmos irrite a região e acabem por secciona-la.

No fim deste tempo os pertuitos já estão epitelizados e constituirão uma garantia para o bom funcionamento da camara.

A camara de Sandison-Clark instalada tem o aspeto que mostra a figura n.º 6.

Oito dias após a operação já se evidenciam na camara vasos neoformados, podendo-se distinguir veias e arterias assim como anastomoses arterio-venosas. As figuras 7, 8, 9 e 10, mostram varios aspectos microfotograficos, tomados numa mesma camara em dias diferentes.

Obtidas varias camaras em condições ótimas para trabalho submeti os vasos da camara em varios dias consecutivos à ação de varios agentes quimicos: adrenalina, histamina, eserina, acetilcolina, eserina mais acetilcolina, efedrina, dissolvidas em liquido de Locke, liquido cuja influencia eventual foi verificada ser negativa tanto à temperatura ambiente como a 22 e 38°C. A injeção da solução na camara era feita graças a introdução de uma agulha adatada à uma seringa, pelo bordo da camara.

As condições das experiencias são resumidas no quadro 1.

Diariamente, logo após a injeção de cada uma das substancias diretamente na camara, procurei verificar a existen-

QUADROS SINOTICOS

1						2				
1.	Art.	Veia	Cap.	AAV.	Veloc. sangu.	Art.	Veia	Cap.	AAV.	Veloc. sangu.
Locke simples .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Locke 38° C. . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Locke 22° C. . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Acetilcolina										
1 cc.=0,1 mg. 1/100	—	—	—	—	- da velocid.	—	—	—	—	- da velocid.
— 1/10	—	—	—	—	- da velocid.	—	—	—	—	- da velocid.
Eserina, sulfato										
1 cc.=0,1 mg. 1/100	—	—	—	—	- da velocid.	—	—	—	—	- da velocid.
— 1/10	—	—	—	—	- da velocid.	constr. pouco nitida	—	—	—	- da velocid.
Acetilcolina + Eserina — 1/100 .										
— 1/10 .	—	—	—	—	- da velocid.	—	—	—	—	- da velocid.
Adrenalina										
1 cc.=0,1 mg. 1/100	—	—	—	—	+ da velocid.	—	—	—	—	+ da velocid.
— 1/10	—	—	—	—	+ da velocid.	—	—	—	—	+ da velocid.
Histamina, dicloridrato.										
1 cc.=0,1 mg. 1/100	contr. pouco nitida	—	—	—	- da velocid.	—	—	—	—	- da velocid.
— 1/10	contração.	—	—	contr. p. nitida de segm/arter.	- da velocid.	constr. nitida	—	—	—	- da velocid.
Efedrina										
1 cc.=0,1 mg. 1/100	—	—	—	—	+ da velocid.	—	—	—	—	+ da velocid.
— 1/10	—	—	—	—	+ da velocid.	—	—	—	—	+

Repetido por varios dias consecutivos, em 5 coelhos. Tendo sido feito sempre a reação de Ehrlich para evidenciação de fibras nervosas nos vasos da camara com resultado sempre negativo.
Quantidade injetada 0,2cc.

cia de fibras nervosas nos vasos neoformados, por meio da injeção na veia marginal da orelha, de uma solução de azul de metileno a 2% na diluição de 1/200.

A injeção era feita sob certa pressão, para que o corante por meio das anastomoses, chegasse rapidamente aos vasos da camara.

Em todas as orelhas estudadas, em que as camaras tinham no maximo 55 dias a partir da data da instalação, a pesquisa de fibras nervosas resultou negativa. Foi sacrificado um dos coelhos e pesquisadas, no tecido da camara por meio de colorações especiais (Gross-Schultze, Cajal, Bielchowsky), neurofibrilas que tambem não foram encontradas

EVOLUÇÃO DA CAMARA, COMENTARIOS E DISCUSSÃO

Como já disse, oito dias após a instalação da camara ha aparecimento no tecido neoformado de numerosas alças capilares e de uma grande quantidade de tecido conjuntivo, cujas celulas se multiplicam ativamente e constantemente mudam de posição.

Frequentemente, entretanto, o desenvolvimento do tecido neoformado, sofre atrazo porque ha formação ou de pequenos abscessos, ou de pequenas hemorragias que inibem o crescimento dos vasos.

Com efeito, os vasos quasi não crescem nas proximidades dos pequenos abscessos, respeitando-as por assim dizer, e não se desenvolvendo senão depois de ter desaparecido por completo o fóco infeccioso. O mesmo se dá em relação aos pequenos hematomas, neoformando-se os vasos só depois de inteiramente fagocitados aqueles, quer por macrofagos do tecido neoformado, quer por celulas provenientes do sangue circulante.

Estes macrofagos depois de terem exgotado a sua capacidade fagocitaria ou se locomovem ou, o que se dá mais frequentemente, permanecem no lugar, como que preguiçosos até realizarem completamente a digestão da substancia englobada.

Podem-se encontrar com facilidade, nas proximidades do coagulo, macrofagos contendo no seu interior hemacias ou pigmento de origem hemoglobinica.

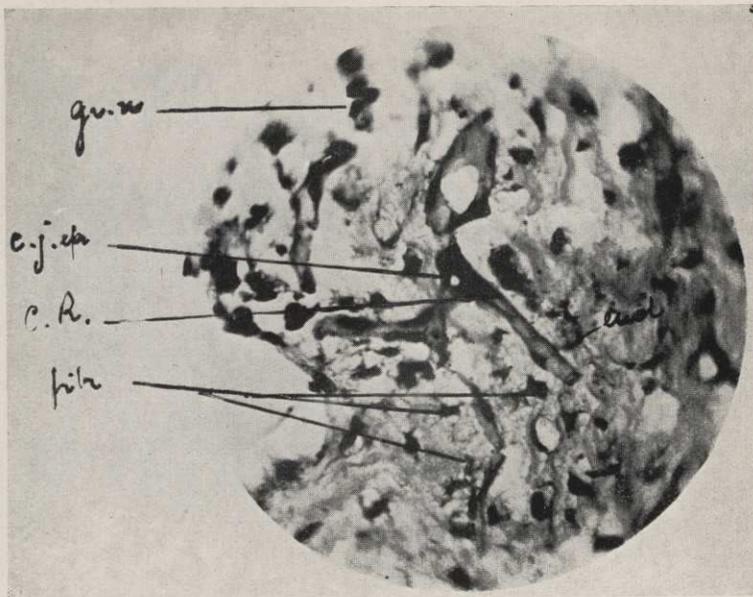


Fig. 13



Fig. 14

Fig. 13 — Corte de tecido neoforado na camara. Hem-Eos x 400 Zeiss. Veem-se os capilares com os endotelios (end), celulas justa endoteliaes (C. j. ep), celula de Rouget (c. R.), granulocito neutrofilo (g. n.) fibrocitos (fibr).

Fig. 14 — Corte de tecido neoforado na camara. Bielchowsky-Maresch-Hematx. Eos. x 900 Zeiss. Microfotografia mostrando um capilar e uma venula. Notar a grande quantidade de reticulina.

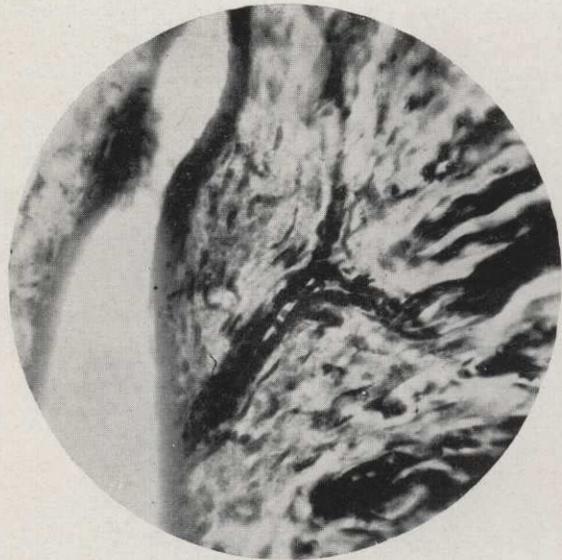


Fig. 15

Fig. 15 — Corte de tecido neoforado na camara. Wilder-Foot-Hematx. x 400 Zeiss. Mostrando uma arteria neoforada, da qual parte um broto com numerosas celulas justaendoteliaes.

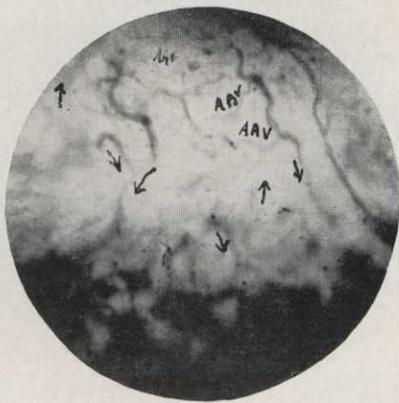


Fig. 16

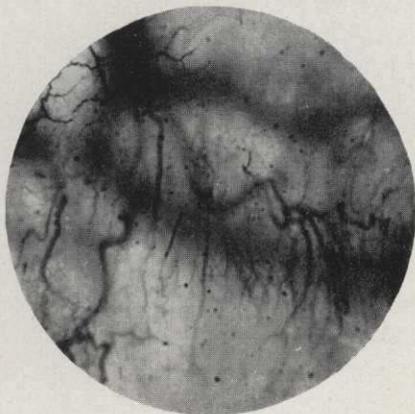


Fig. 17

Fig. 16 — Microfotografia do tecido da camara x 40 Zeiss. Mostrando anastomoses arteriovenosas permanentes e provisórias.

Fig 17 — Microfotografia do tecido da camara. x 20 Zeiss. Mostrando numerosas anastomoses arteriovenosas.



Fig. 18



Fig. 19

Fig. 18 — Microfotografia do tecido da camara. x 80 Zeiss. Mostrando anastomoses arteriovenosas, em A, anastomose arteriovenosa interrompida.

Fig. 19 — Microfotografia da fig. 16, ampliada 2 vezes. As setas indicam o sentido da corrente sanguinea e anastomoses arteriovenosas.

Dos vasos sanguíneos neoformados ha igualmente migração de outros tipos celulares, particularmente de leucócitos que ficam no tecido conjuntivo circunjacente.

Três dias após a operação, os capilares sanguíneos aparecem ou de brotos existentes nos vasos preexistentes, ou de brotos que se originam nos capilares ou ainda graças à multiplicação das células endoteliais. Interessante é notar que no tecido conjuntivo, muito rico em reticulina, como mostra a fig. 11, estes brotos capilares aparecem envoltos por uma camada de reticulina bastante desenvolvida, como mostram as figs. 12 e 14, sendo que, na figura 11, pode-se ver a porção terminal de um broto continuando, de um lado pelo citoplasma de um endoteliócito e do outro apenas pelas fibras de reticulina.

A estes capilares neoformados, que muito precocemente constituem uma rede, com numerosas anastomoses (figs. 7, 8, 9 e 10) se justapõem células conjuntivas que constituirão células justaendoteliais capazes de deslocamento e que, provavelmente, servirão para reforço da parede capilar, como quer Zweifach.

Outras células, entretanto, entram em mais íntimo contato com a parede capilar e abarcam-na — são as células de Rouget (fig. 13).

Os brotos ou as alças capilares podem não apresentar de um momento para outro, sangue circulante ou plasma, permanecendo vazios durante um tempo mais ou menos longo, até que por eles mais tarde, volte a circular sangue, ou então acabam por desaparecer devido à migração de suas células para o tecido circunvizinho.

Muitas vezes os capilares não apresentam sangue circulante mas pode-se com facilidade constatar o "plasma skinning".

As mais demoradas observações e com os maiores aumentos microscópicos, feitas durante vários dias, não evidenciam a contratilidade dos capilares, mesmo daqueles que possuíam células de Rouget evidenciadas pela coloração com azul de metileno, injetado na veia marginal da orelha.

Todas às vezes em que fiz injeção de azul de metileno, seguindo a tecnica de Ehrlich, não conseguí observar fibras amielinicas em relação com os vasos e nem mesmo no resto do tecido da camara, não as tendo visto, igualmente, em preparações histologicas do tecido da camara coradas especificamente.

Muito provavelmente a ausencia de fibras nervosas, seja a responsavel pela falta de contractilidade. E. R. Clark, E. L. Clark e Williams (1934) empregando a mesma tecnica constataram, quatro mesês depois da instalação da camara, o aparecimento de fibras amielinicas coincidindo com o inicio da contractilidade dos vasos arteriais, venosos e capilares. Foi-lhes impossivel demonstrar se se tratava de fibras simpaticas ou parasimpaticas.

As causas que segundo E. R. Clark, E. R. Clark e E. L. Clark e Sandison parecem contribuir para a neoformação mais intensa de capilares, são a velocidade e massa sanguinias que os fazem crescer e possivelmente a intensidade das trocas com os tecidos. Muitas vezes o diametro do capilar é muito fino para permitir a passagem de hemacias; entretanto, nestes brótos pode-se assistir ao "plasma skinning".

Estes capilares as vezes podem apresentar conexões com os linfaticos neoformados, mas, quasi sempre, não as apresentam. Os linfaticos neoformam-se por mecanismo semelhante.

Pude confirmar que é precisamente dos capilares sanguinios neoformados que se desenvolvem os vasos arteriais e venosos, muito cedo (10 dias depois da instalação da camara) graças à justaposição de celulas à sua parede e aparecimento posterior de fibras musculares lisas (fig. 15).

As causas que determinam o aparecimento ora de arteriolas, ora de venulas, são de ordem mecanica — a tração exercida sobre eles pelo tecido circunjacente, velocidade e massa sanguinia.

Estes vasos muito precocemente adquirem elasticidade e tonicidade; entretanto a contractilidade deles, que parecem não ser inervados, não foi observada.

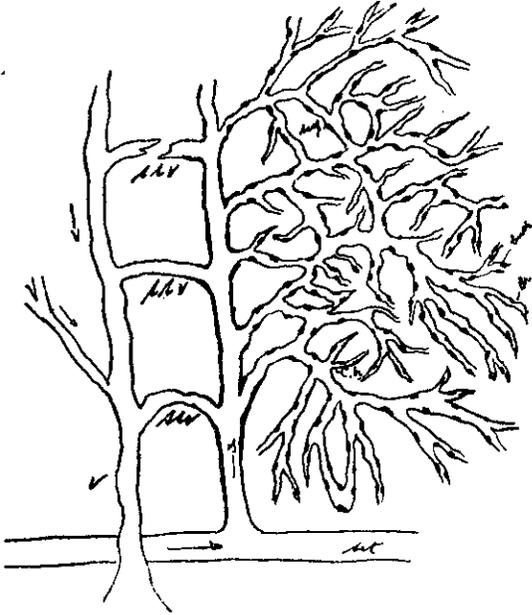


Fig. 20

Fig. 20 — Esquema mostrando o mecanismo de aparecimento de capilares por brotos, á partir de vasos preexistentes, de brotos de capilares neoformados e por multiplicação de células endoteliaes. Anastomoses permanentes e provisórias. Art, arteria central; V, veia; AAV, anastomoses arteriovenosas; end, endoteliocito.

Esta maneira de aparecimento dos vasos arteriais e venosos parece vir em apoio da hipótese de Thoma que admite ser seu aparecimento precedido pela formação de um plexo capilar indiferenciado, contrariamente a Hochstetter e Elze que sustentam desenvolverem-se as artérias e veias em lugares definidos, já predeterminados.

O fato, observado por E. R. Clark, W. J. Histchler, Kirby-Smith, Rex e Smith e por mim da possibilidade de uma transformação de um vaso arterial em formação numa veia e vice versa, assim como a involução de brotos capilares no mamífero, faz crer que o seu sistema circulatório é labil e que agentes externos mecânicos, químicos e estímulos térmicos podem determinar o tamponamento de um vaso, aparecimento de novos brotos e estabelecimento de uma circulação diferente da existente.

Com base nesta rede capilar, fazendo conexão entre artérias e veias, há estabelecimento de anastomoses arterio-venosas, muito numerosas e que se formam por um mecanismo igual ao da formação das artérias e veias, fato também confirmado por mim.

Estas anastomoses, que podem ser curtas ou longas, retas ou curvas, são muito numerosas como podemos ver nas figuras 9, 16, 17, 18, 19 e 20 (esquemática); apresentam um segmento arterial de estrutura semelhante à da artéria e um outro em conexão com a veia, de paredes mais finas, mais calibroso, mais flexuoso.

A parte central intermediária que segundo Vastarini-Cresi, é mais delgada e que atuaria como um esfínter, não foi possível constata-la "in vivo". Segundo Schumacher e Clara as células desta porção apresentam uma modificação epitelióide.

Como já se disse linhas atrás, estas anastomoses formam-se tendo por base as conexões capilares. Durante a formação de um vaso arterial de um lado e de outro o venoso, a partir de dois capilares que apresentam anastomoses entre si, por justaposição de células conjuntivas e aparecimento posterior de elementos musculares, podem re-

sultar A. A. V. por mecanismo igual desde que as anastomoses inter-capilares tenham servido de base à justaposição de células devido a condições inerentes à circulação neste território (fig. 19).

A natureza das células que se justapõem não foi evidenciada; parece entretanto que se trata de histiocitos, pois apresentam muitas vezes os caracteres de células adventíciais.

As anastomoses podem ser permanentes ou provisórias.

Estes se desfazem devido ao desaparecimento das fibras musculares lisas e migração para o tecido circunvizinho das células adventíciais e endoteliócitos. Muitas vezes o desaparecimento não é total e resta sempre um broto em conexão com a artéria ou veia, (fig. 16). A diminuição do fluxo sanguíneo parece ser o fator predominante no desaparecimento destas anastomoses.

As anastomoses permanentes também, segundo verifiquei não apresentam contratilidade, possivelmente devido à ausência de inervação.

Estas considerações dão uma ideia de como no mamífero adulto podem aparecer novas conexões vasculares sob influência de fatores mecânicos, físicos e químicos e possivelmente fisiológicos.

Segundo Grant estas anastomoses teriam duas importantes funções, — uma local constituindo a regulação da temperatura da parte exposta ao frio e outra geral de termoregulação do corpo, no seu todo auxiliando a difusão de calor pelo aumento ou diminuição do afluxo de sangue para a rede capilar.

Estas anastomoses seriam inervados por filetes simpáticos constritores, sofreriam constrição pela adrenalina e seriam dilatadas por estímulos mecânicos, excitação dos nervos sensitivos, pela histamina e acetilcolina. Isto é, as reações seriam essencialmente as mesmas que as das arteríolas.

Segundo Grant, as anastomoses sob a influência de agentes físicos e químicos se abrem e fecham (fig. 21 - 1)

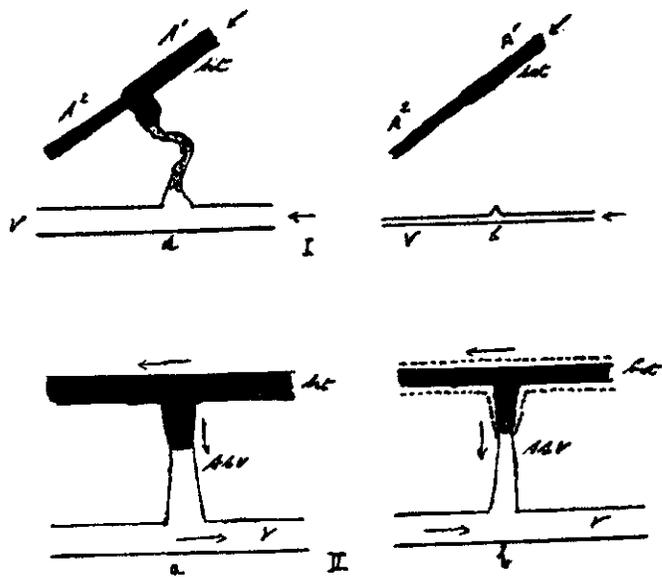


Fig. 21

Fig. 21 — I: esquema segundo Grant para demonstrar o mecanismo de abaixamento de temperatura do corpo. a, anastomose aberta, b, fechada; no primeiro caso diminuição do fluxo de sangue na rede capilar periférica, no segundo caso o inverso.

II: esquema mostrando o mecanismo de ação da histamina; em a antes da injeção na camara; em b, depois da injeção; determinando contração da parede arterial e do segmento arterial da anastomose. Art, arteria; V, veia; AAV, anastomose arteriovenosa.

fazendo diminuir ou aumentar o fluxo de sangue na rede capilar periferica. Seria por este mecanismo que haveria regulação da temperatura.

Nestas condições, isto é, numa camara em que os vasos arteriais, venosos e capilares não são inervados e procurando manter sempre as mesmas condições tecnicas, injetei diretamente no seu interior soluções de varias drogas, em concentração bastante para patentear os seus efeitos em animais de laboratorio em condições experimentais habituais.

Como as causas mais diversas podem determinar alterações circulatorias no coelho, procurei corrigir este inconveniente mantendo-o sempre a mesma posição, o que se consegue facilmente tendo-o amarrado à meza demonstrada na figura 5.

A fonte e intensidade luminosa eram sempre as mesmas, de modo que os efeitos provaveis da luz sobre os vasos eram tambem sempre os mesmos. Igualmente da temperatura da solução injetada não resultou nenhum efeito, pois que foi injetado liquido de Locke (veiculo utilizado para as drogas) à temperatura ambiente, a 22 e 38° C, não determinando modificação alguma nos vasos da camara.

Resta ainda o efeito da pressão do liquido na camara, mas procurei injetar sempre a mesma quantidade, isto é, de 0,2ccs. da solução.

Procedendo sempre com estes cuidados, injetei em varios dias consecutivos, 0,2ccs. da solução 1/100 (10 gamas) e 1/10 (100 gamas) de acetilcolina, sulfato de eserina, adrenalina, efedrina e dicloridrato de histamina e uma mistura de partes iguais da mesma solução de acetilcolina e eserina (quadro I).

Para todas as soluções obtive resultados negativos, isto é, não constatee ação direta sobre os vasos arteriais, venosos, capilares e anastomoses arterio-venosas, verificando apenas aumento da velocidade sanguinia se se tratava da efedrina e adrenalina e diminuição para as demais drogas.

Este aumento ou diminuição da velocidade parecem ser o fruto da absorpção rapida destas drogas e a ação sobre os outros vasos da orelha.

A única droga que teve ação nitida foi a histamina que provocou contração pouco acentuada na diluição de 1:100 e nitida 1:10. Esta ação também foi extensiva ao segmento arterial da anastomose arterio-venosa, fig. 21-II.

A eserina na diluição de 1:10 também provocou alguns **cl** vasos contração pouco nitida das arterias.

Esta ação constritora da histamina sobre as arterias é perfeitamente compreensível, pois ela age diretamente sobre a célula muscular, a falta de ação das demais drogas possivelmente é consequência da falta de inervação dos vasos.

Fiz igualmente a excitação farádica do simpático cervical (experiência de Cl. Bernard) em dois coelhos e constatei que a excitação provocava uma contração da arteria central em toda sua extensão, até o nível da camara, em cuja extensão e daí por diante, houve apenas uma diminuição do fluxo sanguíneo; uma tal contração era também visível e acentuada nas anastomoses arterio-venosas normais da orelha e nos vasos venosos. Logo depois de interrompida a excitação, seguia-se uma vasodilatação generalizada, exceção feita na região da camara.

A secção do simpático cervical em ambos casos determinou dilatação dos vasos da orelha, não havendo alteração nos vasos da camara.

A excitação do mesmo nervo do lado em que não havia camara na orelha, era seguida de uma vasocontração generalizada, havendo desaparecimento do fluxo sanguíneo na arteria central. A interrupção da excitação, assim como a secção do nervo, provocavam dilatação generalizada.

A observação microscópica dos vasos arteriais, venosos, capilares e anastomoses arterio-venosas na camara, não evidenciou nenhum efeito da excitação farádica nem da secção do nervo, o que vem a favor dos dados histológicos, isto é, confirma o achado da ausência de fibras nervosas nos vasos do tecido neoformado na camara até três meses após a sua instalação.

Do exposto resulta, o estudo da ação de varias drogas, sobre o comportamento dos capilares sem inervação, estudo que penso ter sido o primeiro a pôr em pratica, confirma a opinião de Tudor Jones, Michels, Bensley e Vimtrup e outros que trabalharam no mesmo sentido demonstrando que tais vasos só se contraem quando inervados, exceção feita à ação da histamina que age diretamente sobre as células musculares.

Antes de terminar quero renovar os meus melhores agradecimentos ao dr. Edgard Barrozo do Amaral, a quem devo a ideia do trabalho, orientação e auxilio direto na resolução das dificuldades surgidas.

Ao prof. R. Locchi que pôs a minha disposição a Biblioteca do prof. A. Bovero, sem o que teria sido impossivel a compilação bibliografica.

Ao prof. J. Ribeiro do Valle por me ter franqueado o Laboratorio de Farmacologia e que me forneceu as drogas utilizadas nas experiencias.

Ao dr. V. Chipiakoff, M. de Falco, muito obrigado, pelos inumeros favores que me prestaram durante a realização do presente trabalho.

Ao tecnico L. Coimbra a quem devo todas as microfotografias que ilustram o presente trabalho.

CONCLUSÕES

- I — Os capilares sanguíneos se neoforam de brotos dos vasos preexistentes, de brotos de outros capilares ou graças à multiplicação das células endoteliais de capilares preexistentes.
- II — Os vasos arteriais e venosos se formam tendo por base uma rede capilar preexistente, e a da justaposição de células às suas paredes e do aparecimento posterior de fibras musculares.
- III — As anastomoses arterio-venosas se formam por um mecanismo semelhante ao da formação de artérias e veias.
- IV — Não circulando sangue ou plasma por um vaso, ele pode permanecer íntegro por um tempo variável, até que por ele volte a circular novamente sangue ou plasma, ou então involue, devido à migração de suas células para o tecido circunjacente.
- V — Até três meses depois da instalação da câmara não foi possível evidenciar filetes nervosos, quer pela coloração vital com azul de metileno (técnica de Ehrlich) quer em preparações coradas especificamente.
- VI — As artérias, veias e capilares desprovidas de nervos não apresentam contratilidade.
- VII — O líquido de Locke à temperatura ambiente, a 22° e 38°C, adrenalina, acetilcolina, eserina, efedrina, acetilcolina mais eserina, dissolvidas no líquido de Locke não determinaram quaisquer variações no volume das artérias, veias, capilares e anastomoses arterio-venosas.

- VIII — A histamina dissolvida em liquido de Locke determinou contração das arterias e do segmento arterial das anastomoses arterio-venosas.
- IX — A excitação faradica do simpatico cervical não foi acompanhada de modificação alguma dos vasos neoformados na camara.
- X — Os abscessos e os coagulos sanguinios detêm o crescimento dos vasos sanguinios.
- XI — A labilidade do aparelho circulatorio, já entrevista de longa data é confirmado pelo estudo "in vivo".

ABSTRACT

The author after having written an historical abstract of the subject, shows how he studied the comportment of the capillaries and the arteriovenous anastomoses in the ear of a rabbit "in vivo" thanks to the introduction of a transparent chamber.

Having been inspired by the works of Sandison-Clark and their pupils who made use of the transparent chamber in fig. 1, 2 and 3.

Due to motives, independent of his desire, has was obliged to slightly modify the chamber and as be seen in fig. 4, instead of kodaloid, viscoloid and mica, radiographic and photographic films were used.

The author ascertained that 8 days after the installation of the chamber there appeared newly formed vessels on the same and after 10 days it was possible to verify the existence of arteriovenous anastomoses.

He verified that the blood capillaries newformed themselves, after separating the bud capillaries from the pre-existing vessels; the bud capillaries are newformed thanks to the multiplication of their endothelial cells. The reticulin, very abundant in the tissue adjoining the chamber, serves as a structure for the capillary. fig. 7, 8, 9, 10, 11, 12 and 20.

Having as a base this network of pre-existing capillaries, the arterial vessels and veins are newly formed thanks to

the close adaptation of the cells to their walls and the posterior appearance of muscular fibres. fig. 15.

The arteriovenous anastomoses newly formed by a similar mechanism, are now provisional now permanent. figs. 16, 17, 18, 19&20. Since no more blood or plasma circulates through the anastomose, these may completely disappear, thanks to the migration of their cells to the surrounding tissue, or there is a separation of the arterial segment from the venous and a migration of the cells of the intermediary zone, in this manner there remains a "reliquat" of anastomose which later may form again. fig. 16.

The same phenomenon is verified in relation to the capillaries, arteries and veins which, when deprived of blood or plasma, may remain entire for a variable time, or otherwise disappear by migration of their cells.

3 months after having installed the chamber the author did not succeed in showing the existence of nervous fibres either with the Ehrlich technique or with the especially dyed preparations (Gross-Schultze, Cajal, Bielschowsky). This seems to explain the lack of contractility of the capillaries, arteries, veins and arteriovenous anastomoses.

In various chambers, in which newly formed vessels are nerveless, the author studied the different modifications under the influence of epinephrine, ephedrin, eserine, acetylcholine, plus eserine and histamine dissolved in Locke liquid.

The quantities of the drugs injected were sufficient, under normal conditions, to manifest their effects,

The injection was given directly in the tissue of the chamber (0,2 cc.) which was possible by the passage of a needle and syringe adapted to this purpose on margin of the chamber.

The Locke liquid at encompassing temperature, at 22° and 38°C, did not have any influence upon the referred

vessels as well as the other drugs, not including the histamine, which provoked a contraction of the arteries and the arterial segment of the arteriovenous anastomoses, fig. 21-B, but as it is known, this drug has a direct influence on the muscular fibres.

The increase or decrease produced in the speed of the blood flow by this or that drug is possibly due to rapid absorption and action on the vessels of the ear existing outside the chamber.

All the results are outlined on table 1.

The faradic excitation of the sympathetic cervical nerve did not cause any modification upon the vessels of the chamber, although it provoked constriction of the segment of the central artery which leads to the chamber, as well as the other vessels of the ear.

This verification constitutes an element of the great value in proving that those vessels are not nerves.

The A. could confirm, in vivo, the discovery long proven, which corroborates the lability of the circulating system.

These researches made direct on the chamber, which vessels were subjected to the action to sympathicotonic and parasympathicotonic drugs served to demonstrate that these vessels, since they are nerveless, do not suffer any modifications in volume under the influence of exciting drugs and chemicals.

The A. finally declares that, as soon as enough time has elapsed for the formation of new nerves fibres, he hopes to be able to clarify the question.

BIBLIOGRAFIA

- Abell, R. G. and E. R. Clark** — 1932 — A method of studying the effects of chemicals upon living cells and tissues in the moat chamber, a transparent inserted in the rabbit's ear. — *Anat. Rec.* Vol.53-pag.121.
- Abell, R. G.** — 1936 — The activities of the living blood capillaries in relation to the absorption of urea. — *Anat. Rec.* Vol.67-pag.1.
- Bela Halpert** — 1930 — Arteriovenous communication between the right coronary and the coronary sinus. — *Heart.* Vol.15-pag.129.
- Best and Taylor** — 1937 — *Physiological basis of medical practice.* Wm. Wood Co.
- Bensley e Vimtrup** — 1928 — The nature of the Rouget cells of capillaries. — *Anat. Rec.*-Vol.39-pag.37.
- Bucher, H. K.** — 1936 — The independent control of the capillary circulation in a mammal — *Skandinav Arch of Physiolog.* Bd.73,51 — citado por B. Zweifach.
- Brown, M.** — 1937 — The occurrence of arteriovenous anastomoses on the tongue of the dog. — *Anat. Rec.*-Vol.69-pag.297.
- Brachet, A.** — 1935 — *Traité d'embryologie des vertébrés* — Masson e Cie-Paris.
- Clara, M.** — 1927 — Die arterio-venösen Anastomosen der Vögel und Säugetiere — *Erg.d.Ant.uEntw.* Bd. 27-S.265.
- Clark, E. R.** — 1912 — Further observations on living growing lymphatics; their relations to the mesenchyme cells. *Am.J.of Anat.*-Vol.13-pag.351.
- Clark, E. R.** — 1915 — Studies on the growth of blood vessels, by observation of living tadpole's and by experiments on chick embryos. *Anat. Rec.*-Vol.9-pag.67.

- Clark, E. R. — 1916 — A study of the reaction of mesenchyme cells in the tadpole's tail toward injected oil globules. *Anat.Rec.-Vol.11-pag.1.*
- Clark, E. R. — 1918 — Studies on the growth of blood vessels in the tails of the frog larva — by observation and experiment on the living animal — *Am.J.ofAnat.-Vol.23-pag.37.*
- Clark, E. R. — 1922 — Reactions of experimentally isolated lymphatics capillaries in the tails of amphibian larvae. — *Anat.Rec.-Vol.24-pag.181.*
- Clark, E. R. — 1924 — On the development of adventitial (Rouget) cells on the blood capillaries amphibian larvae — B. The relation of Rouget cells to capillary contractility. — *Anat. Rec.-Vol.27-pag.200.*
- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1918 — On the reaction of certain cells in the tadpole's tail toward vital dyes. — *Anat.Rec.-Vol.15-n.°5-pag.231.*
- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1922 — The reaction of living cells in the tadpole's tail toward starch, agar agar, gelatin and gum arabic. — *Anat.Rec.-Vol.24-pag.137.*
- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1925 — The development of adventitial (Rouget) cells on the blood capillaries of amphibian larvae. — *Am.J. Anat.-Vol.35-pag.239.*
- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1925 — The relation of Rouget cells to capillary contractility. — *Am.J. Anat.-Vol.35-pag.265.*
- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1926 — The fate of extruded erythrocytes: their removal by lymphatic capillaries and tissue phagocytes, as seen in living amphibian larvae. *Am.J.Anat.-Vol.38-pag.41.*
- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1927 — On the failure of endothelial cells even after desquamation, to be transformed into wandering cells, with observations on the nature of endothelium. *Anat.Rec.-Vol.36-n.°4-pag.357.*

- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1928 — The intravascular phagocytosis and erythrocytes. *Am.J.Anat.*-Vol. 41-pag.227.
- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1930 — Observations on the macrophages of living amphibian larvae. *Am. J.Anat.*-Vol.46-n.^o-pag.91.
- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1930 — Relation of monocytes of the tissue macrophages. *Am.J.Anat.*-Vol. 46-n.^o1-pag.149.
- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1934 — Observations on living arteriovenous anastomoses as seen in transparent chamber introduced into the rabbit's ear. *Am.J.Anat.*-Vol.54-n.^o2-pag.229.
- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1934 — The new formation of arteriovenous anastomoses in the rabbit's ear. *Am.J.Anat.*Vol.55-pag.407.
- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1935 — Observations on changes in blood vascular endothelium in the living animal. *Am.J.Anat.*-Vol.57-n.^o3-pag.385.
- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1937 — Observations on isolated lymphatic capillaries in the living mammal. *Am.J.Anat.*-Vol.62-n.^o1-pag.59.
- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1937 — Observations on living mammalian lymphatics capillaries their relation to the blood vessels. *Am.J.Anat.*-Vol.60-n.^o2-pag.255.
- Clark, E. R. and E. L. Clark — 1938 — Microscopic observations on new growth and medullation of peripheral nerves in the living mammal. *Anat.Rec.*-Vol.70-pag.14.
- Clark, E. R. — H. T. Kirby-Smith — R. O. Rex and R. G. Williams — 1930 — Recent modifications in the method of studying cells and tissues in transparent chambers inserted in the rabbit's ear. *Anat.Rec.*-Vol.46-47.
- Clark, E. R. — W. J. Hirschler — H. T. Kirby-Smith — R. O. Rex and J. H. Smith — 1931 — General observations on the ingrowth of new blood vessels into standardized chambers in the rabbit's ear, and the subsequent changes in the newly grown vessels over a period of month. *Anat.Rec.*-Vol.50-pag.129.

- Clark, E. R. — J. C. Sandison and H. C. Hou — 1931 — A new rabbit board for use in studying living tissues in transparent chambers introduced into the ear. *Anat.Rec.*-Vol.51-pag.169.
- Clark, E. R. — Clark E. L. — R. G. Abell — 1933 — Cytological studies on the new growth of blood capillaries in the living mammal. *Anat.Rec.*-Vol.55-pag.50.
- Clark, E. R. — Clark E. L. — Williams R. G. — 1934 — Microscopic observations in the living rabbit of the new growth of nerves and the establishment of nerve — controlled contractions of newly formed arterioles. *Am.J.Anat.*-Vol.55-pag.47.
- Clark, E. R. — Clark E. L. and R. O. Rex — 1936 — Observations on polymorphonuclear leucocytes in the living animal. *Am.J.Anat.*-Vol.59-pag.123.
- Celestino da Costa — 1938 — *Eléments d'embryologie* — Masson & Cie-Paris.
- Celestino da Costa — R. Chaves — 1937 — *Manual de Histologia* — J. Rodrigues & Cia. — Lisboa.
- Cowdry, E. V. — 1934 — *A textbook of Histology* — H. Kimpton-London.
- Dale — 1920 — *Capillary Poisons and shock* — Johns Hopk.Hosp. Bull.-Vol.31-pag.354.
- Dale, H. — 1934 — *Chemical ideas in Medicine and Biology* — Science.-Vol.80-pag.342.
- Ebbecke — 1923 — *Gefässreaktionen* — *Ergbn d. Physiolo.* — Vol.23-pag.401.
- Gaglio, G. — 1930 — *Trattato di Farmacologia e Terapia* — Società Editrice Vallardi.
- Grant, R. T. — 1929-31 — *Observations on direct communications between arteries and veins in the rabbit's ear.* Vol.15-pag.281.
- Grant, R. T. — 1930 — *Observations on local arterial reactions in the rabbit's ear.* *Heart*-Vol.15-pag.257.

- Grant, R. T. and Duckett Jones** — 1929-31 — The effect of histamine and of local injury on the blood vessels of the frog: a vasodilator substance in extracts of frog skin. *Heart.*-Vol.15-pag.339.
- Grant, R. T. and E. F. Blant** — 1929-31 — Observations on arteriovenous anastomoses in human skin and in the bird's foot with especial reference to the reaction to cold. *Heart.*-Vol.15-pag.385.
- Graner R. C. and J. C. Burst** — 1929 — Unusual location of glomus tumor. *Am.Med.Assoc.*-Vol.112-n.º18-pag.1806.
- Gerard** — 1895 — Sur l'existence de canaux anastomatiques arterio-veux. *Arc. de Physiol.* 5 em. series T.7-pag.597 — citado por E. R. Clark.
- Grosser, O.** — 1902 — Über arteriovenöse Anastomosen an der Extremitätenenden beim Menschen und der krallentragenden Säugetiere *Arch.p.mikr. Anat.*Bd.60,s.191.
- Harris, K.** — 1927-28 — Observations upon a histamine-like substance in skin extracts. *Heart.*-Vol.14-pag.161.
- Harris, K. and H. M. Marvin** — 1927 — The innervation of mammalian capillaries by vaso-constrictor sympathetic nerves. *Heart.*-Vol.14-pag.135.
- Julianelle, L. A. e G. Bishop** — 1936 — The formation and development of blood vessels in the sensitized cornea. *Am.J.Anat.*-Vol.58-pag.109.
- Krogh, A.** — 1929 — The anatomy and physiology of Capillaries. Yale University Press.
- Landis, E.** — 1937 — The passage of fluid through the capillary wall. *Am. Jour of the Med Science.* Vol. 193-pag.385.
- Levi, G.** — 1927 — *Istologia* — Unione Tipografico — Editrice Turinense.
- Lewis, T.** — 1926 — Observations upon the regulation of blood flow through the capillaries of the human skin. *Heart.*-Vol.13-pag.1.

- Lewis, T. — 1929-31 — Supplementary notes upon the reactions of the vessels of human skin to cold. *Heart.*-Vol.15-pag.351.
- Lewis, T. — Haynal — Kerr — E. Ster and E. Landis — 1929-31 — Observations upon the reactions of the vessels of human skin to cold. *Heart.*-Vol.15-pag.177.
- Lewis, T. — R. T. Grant and H. M. Marvin — 1927-28 — Vascular reactions of the skin to injury. The intervention of a chemical stimulus illustrated especially by the flare — The response to faradism. *Heart.*-Vol.14-pag.139.
- Lewis, T. — K. Harris e R. Grant — 1927-28 — Observations relating to the influence of the cutaneous nerves on various reactions of the cutaneous vessels. *Heart.*-Vol.14-pag.177.
- Lewis, T. — I. M. Harmer — 1927-28 — Vascular reactions of the skin injury Further evidence of the release of a histamine-like substance from the injured skin. *Heart.*-Vol.14-pag.19.
- Lovatt Evans C. — 1936 — Starlings principle's of human physiology.
- Mayer, S. — 1902 — Die Muscularisierung der capillaren Blutgefäße. *Anat. Anz.*Bd.21-s.442,citado por E. R. Clark e E. L. Clark.
- Mathias Duval — 1900 — Précis d'Histologie — Masson & Cie — Paris.
- Michels, A. Nicholas — 1935 — The plexus omentalis and its reactions to capillary innervations in the omentum of rabbit. *Am.J.Anat.*-Vol.57-n.º2.
- Maximow-Bloom — 1938 — A textbook of Histology — Saunders.
- Mougeot, M. A. — 1925 — La physiologie des capillaires d'après Krogh-Fasc.n.º4.
- Parker — 1923 — Are there Rouget cells on the blood vessels of invertebrates? *Anat.Rec.*-Vol.26-pag.303.
- Parker, H. Simer — 1934 — On the morphology of the omentum, with especial reference to its lymphatics. *Am.J.Anat.*-Vol.54-pag.205.

- Rouget** — 1873 — Mémoire sur le développement, la structure et les propriétés physiologiques des capillaires sanguines et lymphatiques. Arch. de Physiology norm.eopath.T.5-p.603 — citado por E. R. Clark.
- Rouget** — 1874 — Note sur les développement de la technique contractile des vaisseaux — Comptes rendus des Sciences de l'Acad. de Sciences — T.79-pag.559 — citado por E. R. Clark.
- Rouget** — 1879 — Sur la contractilité des capillaires sanguines. Comp. Rend. de l'Acad. de Sciences. Vol. 88-pag.916 — citado por Tudor Jones.
- Ranvier, L.** — 1900 — Les clasmotocytes — Arch.d'Anat.microsc. — T.3-pag.122 — citado por E. R. Clark.
- Sharpey — Schaffer** — 1934 — Essentials of Histology — Lea e Febiger-Philadelphia.
- Stöhr, Ph.** — 1933 — Lehrbuch der Histologie-Jena.
- Sandison, J. C.** — 1924 — A new method for the study of living growing tissues by the introduction of a transparent chamber in the rabbit's ear. Anat.Rec.-Vol.28-n.º4-pag.281.
- Sandison, J. C.** — 1928-29 — A method for the microscopic study of the growth of transplanted bone in the transparent chamber of the rabbit's ear. Anat.Rec.-Vol.40-pag.41.
- Sandison, J. C.** — 1928 — The transparent chamber of the rabbit's ear, living complete description of improved technique of construction and introduction and general account of growth and behavior of living cells and tissues as seen with the microscope. Am.J.Anat.-Vol.41-pag.447.
- Sandison, J. C.** — 1928 — Observations on the growth of blood vessels as seen in the transparent chamber introduced into the rabbit's ear. Am.J.Anat. Vol.41-pag.475.
- Sandison, J. C.** — 1931 — Observations on the circulating blood, adventicial (Rouget) and muscle cells, endothelium and macrophages in the transparent chamber of the rabbit's ear. Anat. Rec.-Vol.51-pag.355.

- Smith, F. — Peyton Rous — 1931 —** The gradient of vascular permeability. *Jour-Exp.Medicine.*-Vol. 54-pag.490.
- Schumacher, S. — 1915 —** Arterio-venöse Anastomosen in der Zehen der Vögel. *Arch.dermikr.Anat.Bd.* 87-s.309 — citado por E. R. Clark.
- Sucquet, J. P. — 1862 —** D'une circulation dirivative dans les membres e dans la tête chez l'homme — Paris. — citado por E. R. Clark.
- Tudor Jones — 1936 —** The structure and mode of inervation of capillary blood vessels. *Am.J.Anat.*-Vol.58-n.º1-pag.227.
- Vastarini-Cresi — 1902 —** Comunicazioni dirette tra le arterie e le vene (anastomose arteriovenose) nei mammiferi. *Mon.Zool.Ital.*-Vol.13-pag.136 — citado por E. R. Clark.
- Williams, R. G. — 1937 —** Microscopic studies of living thyroid follicles implanted in transparent chambers installed in the rabbit's ear. *Am.J.Anat.* Vol.62-n.º1-pag.1.
- Wislocki, G. B. — 1916 —** A new method for the study of the development of the lymphatic system. *Anat.Rec.*-Vol.11-pag.437.
- Woolard, H. H. — 1926 —** The innervation of blood vessels. *Heart*-Vol.13-pag.319.
- Zweifach, B. — 1934 —** A micromanipulative study of blood capillaries. *Anat.Rec.*-Vol.59-pag.83.
- Zweifach, B. — 1937 —** The structure and reactions of the small blood vessels in amphibia. *Am.J.ofAnat.* Vol.60-n.º3-pag.473.

- Hou, H. C. 1929 — Behavior of adrenal transplants in the transparent chamber inserted into the rabbit's ear. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. vol. 26 pag. 745.
- Kirby-Smith, H. T. — 1933 — Bone growth studies. A miniature bone fractured observed microscopically in a transparent chamber introduced into the rabbit's ear. Am. J. of Anat. vol. 53 pag. 377.
- Lusig, A., Rondoni, P., e Galeotti — 1932 — Tratatto di Patologia Generale. 8.^a ed. Soc. Edit. Vallardi. Milão.
- Wentsler, W. E. — 1936 — Microscopical study of the superficial cerebral vessels of the rabbit by means of a pemanently installed transparent cranial chamber. Anat. Rec. Vol. 66.
- Zintel, H. A. — 1936 — A new transparent chamber for exteriorizing a loop of intestin and its mesentery. Anat. Rec. Vol. 66.

ERRATA

pags.	linhas	onde se lê	deve-se ler
7	10	Dutrochet (1842) e Waller (1846)...	Dutrochet (1842) e Waller (1846) apud Lustig, Rondoni e Galeotti...
	13	em 1888 Cohnheim	em 1888 Cohnheim, apud Lustig, Rondoni e Galeotti,...
8	18	Harrisson em 1907	Harrisson em 1907, apud Maximow, estudava
13	29	e Müller em 1886	e Müller em 1886, apud Clark and Clark,...
14	1	serviu a Hoyer em 1877	serviu a Hoyer em 1877, apud Clark and Clark,...
15	22	No rim, Grösser em 1937	No rim, Gross em 1937, apud Best and Taylor,...
	29	os achados de Richard e Smith,	os achados de Richard e Smith, apud Best and Taylor,...
16	31	Stricker (1865) foi	Stricker (1865), apud Krogh, foi...
	33	Steinach e Hahn demonstraram	Steinach e Hahn, apud Harris and Marvin, demonstraram...
19	5	Leontowitsch, Grösser, Beale, Stöhr, descreveram	Leontowitsch, Grösser, Beale, Stöhr, apud Michels, descreveram...
27	11	Para tal, justapõe-se as	Para tal, justapoem-se as...
35	17	se justapõe células conjuntivas...	se justapoem células conjuntivas...
42	6	vasos contração pouco	casos contração pouco...