

CONDITORES

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

# FOLIA ANATOMICA VNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

MODERADORES

PROF. A. TAVARES DE SOUSA — PROF. A. SIMÕES DE CARVALHO  
PROF. ROGÉRIO S. C. TEIXEIRA

COLLABORANT

ALBANO DE A. SARAIVA, ARMANDO S. DE CARVALHO, IVAN BORN,  
MANUEL LUÍS MATOS-BEJA, L. M. QUINTINO ROGADO, M. J. XAVIER  
MORATO, M. J. RODRIGUES CORREIA, ROGÉRIO DOS SANTOS CAR-  
DOSO TEIXEIRA, J. J. P. DE LIMA, P. ALCANTARA, D. S. GARCIA,  
M. M. MARINI-ABREU, P. F. ROQUETE, M. F. SOARES, J. GOYRI  
O'NEILL, J. A. ESPERANÇA PINA, A. BENSABAT RENDAS

VOL. XLVII



1978-80

« IMPRENSA DE COIMBRA, L.<sup>DA</sup> »  
M C M L X X X I I

Sala .....

Est *M. J. Xavier*

Tab. ....

Sala .....

Est. *Manuel*

Tab. ....

CONDITORES

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

# FOLIA ANATOMICA VNIVERSITATIS CONIMBRIGENSIS

MODERATORES

PROF. A. TAVARES DE SOUSA — PROF. A. SIMÕES DE CARVALHO  
PROF. ROGÉRIO S. C. TEIXEIRA

COLLABORANT

ALBANO DE A. SARAIVA, ARMANDO S. DE CARVALHO, IVAN BORN,  
MANUEL LUÍS MATOS-BEJA, L. M. QUINTINO ROGADO, M. J. XAVIER  
MORATO, M. J. RODRIGUES CORREIA, ROGÉRIO DOS SANTOS CAR-  
DOSO TEIXEIRA, J. J. P. DE LIMA, P. ALCANTARA, D. S. GARCIA,  
M. M. MARINI-ABREU, P. F. ROQUETE, M. F. SOARES, J. GOYRI  
O'NEILL, J. A. ESPERANÇA PINA, A. BENSABAT RENDAS

VOL. XLVII



1978-80

« IMPRENSA DE COIMBRA, L.<sup>DA</sup> »  
M C M L X X I I





# SÍNDROME DE BLAND-WHITE-GARLAND

ORIGEM ANÓMALA DA ARTÉRIA CORONÁRIA CARDÍACA ESQUERDA  
NA ARTÉRIA PULMONAR

PRIMEIRO CASO DESCRITO EM PORTUGAL

ALBANO DE ANDRADE SARAIVA  
ARMANDO SIMÕES DE CARVALHO  
IVAN BORN  
MANUEL LUÍS MATOS-BEJA

## INTRODUÇÃO

As principais anomalias congénitas das artérias coronárias são representadas pela anomalia de origem da coronária esquerda a partir da artéria pulmonar, as anomalias de implantação na aorta e as fístulas congénitas entre as artérias coronárias e as cavidades cardiovasculares vizinhas. Com o desenvolvimento da arteriografia coronária, estas malformações passaram a ser detectadas com uma frequência crescente e a merecer especial atenção em consequência do risco de enfarte do miocárdio e de morte súbita, que justificam tentativas de correcção cirúrgica.

A origem anómala da artéria coronária esquerda a partir da artéria pulmonar, não obstante representar cerca de 0,2 a 0,5% das cardiopatias congénitas, é uma malformação bem conhecida sob o aspecto anatómico, fisiopatológico e clínico.

O prognóstico é bastante severo, pois só cerca de 15 a 20% das crianças portadoras desta anomalia atingem a idade de dois anos, após o que, a mortalidade espontânea diminui, alcançando alguns doentes uma idade bastante avançada.

O máximo de mortalidade verifica-se no decurso do primeiro ano de vida, exigindo esta entidade uma observação rigorosa e um esforço terapêutico essencialmente médico, já que o tratamento cirúrgico só dá resultados satisfatórios após os dois primeiros anos.

## RESUMO HISTÓRICO

BROOKS em 1886 descreveu o primeiro caso de origem anómala duma artéria coronária, a coronária direita, a partir do tronco da artéria pulmonar.

MAUD ABBOT observou em 1908, o primeiro caso de artéria coronária esquerda com origem anómala numa mulher de 60 anos.

ABRIKOSOFF fez em 1911 a descrição de um caso, numa criança de 5 meses e baseado nos trabalhos de MARTINS (1894), efectuados em embriões de animais, emitiu a teoria embriológica denominada de desvio septal para explicação da anomalia, contestada em 1956 por MACKENZELINER.

Foram BLAND, WHITE e GARLAND que em 1933 fizeram a primeira descrição clínica, radiológica, anatómica e sobretudo electrocardiográfica, permitindo o diagnóstico durante a vida do doente.

Sob o ponto de vista fisiopatológico BROOKS e ABBOT foram os autores da hipótese segundo a qual o fluxo sanguíneo na coronária com origem na artéria pulmonar, se fazia em contra-corrente, a partir da coronária com origem na aorta e através duma rede anastomótica intercoronária.

Esta hipótese não foi inicialmente tomada em consideração, porque os autores de então pensavam, que o fluxo sanguíneo na coronária com origem anómala se fazia a partir da artéria pulmonar.

O estudo de novos casos graças aos progressos das explorações endo-cavitárias permitiram precisar esta fisiopatologia.

Segundo GOULEY, existem dois tipos funcionais:

- O tipo adulto em que existem anastomoses entre as duas artérias coronárias e um «shunt» esquerdo-direito (coronária aórtica para a coronária pulmonar e artéria pulmonar).
- O tipo infantil em que não se evidencia nenhum «shunt» esquerdo-direito.

Em 1962, AGUSTSSON e GASUL ampliaram o conceito de GOULEY e admitiram que a diferença funcional entre os dois tipos precedentes depende do estado das anastomoses intercoronárias.

Sugeriram então que esta diferença da maior ou menor abundância de anastomoses intercoronárias poderia ser atribuída, não ao desenvolvimento duma circulação colateral de adaptação, mas sobretudo à diferente estrutura anatômica da rede coronária.

Assim seria possível explicar os casos relatados por SABISTON, NEILL e TAUSSIG em que existia um «shunt» esquerdo-direito numa criança de dois meses e meio. RUDOLPH observou o mesmo fenómeno numa criança de oito meses.

EDWARDS, em 1964, propôs um esquema fisiopatológico tomando em consideração as modificações anatômicas que surgem a nível do sistema coronário e as modificações circulatórias no sistema arterial pulmonar e coronário que surgem na passagem da vida fetal à vida autónoma.

Baseado nestes dados, considera:

Uma primeira fase em que a coronária esquerda com origem anómala a partir do tronco da artéria pulmonar é alimentada a partir deste mesmo tronco pulmonar (com efeito, segundo LUCAS as resistências pulmonares totais diminuem com o aumento da idade e da superfície corporal, atingindo os valores do adulto cerca dos quatro anos de idade).

A segunda fase situa-se no momento em que a circulação colateral é suficiente para que se estabeleça um «shunt» esquerdo-direito.

Entre ambas, existe uma fase de transição durante a qual a pressão de perfusão da coronária esquerda se situa permanentemente a um nível baixo. Esta fase corresponderia à revelação clínica (insuficiência cardíaca congestiva) entre as 6 semanas e os 13 meses de idade.

As publicações sucederam-se, cada vez mais pormenorizadas e completas, graças à difusão das explorações endo-cavitárias.

A mais importante parece ser a de WESSELHOEFT que em 1968 reuniu 140 casos descritos na literatura e 7 casos pessoais.

Actualmente encontram-se descritos entre 180 a 200 casos.

## DESCRIÇÃO DO NOSSO CASO PESSOAL

A criança SONIA S.P.B., nascida em 1/10/1979 em Aguiar da Beira, distrito da Guarda, foi internada em 6/12/1979 no Hospital Pediátrico de Coimbra, manifestando diminuição do murmúrio vesicular à direita, dispneia, frequência respiratória de 80/m, frequência cardíaca 120/m, palidez cutânea, ligeira hepatomegalia e ausência de cianose.

À auscultação cardíaca notava-se um sopro de grau 2-3/6.

A criança tinha nascido a termo após uma gravidez normal. Pesava ao nascer 3,750 Kg e chorou imediatamente.

O interrogatório da família permitiu concluir que a criança manifestava há semanas dificuldades na alimentação.

Feita uma teleradiografia do torax observou-se aumento da silhueta cardíaca, parecendo predominar o aumento do ventrículo esquerdo (Fig. 1).

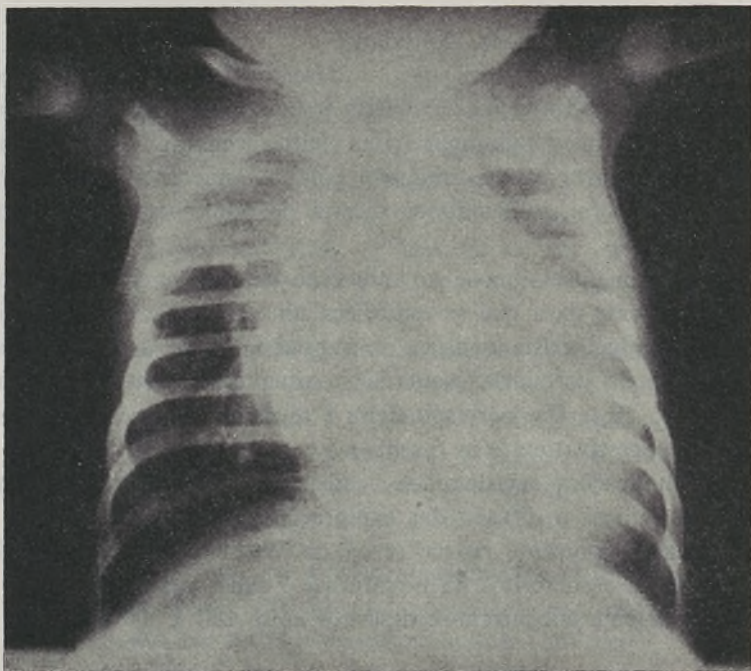


FIG. 1 — Teleradiografia do torax — Aumento da silhueta cardíaca.



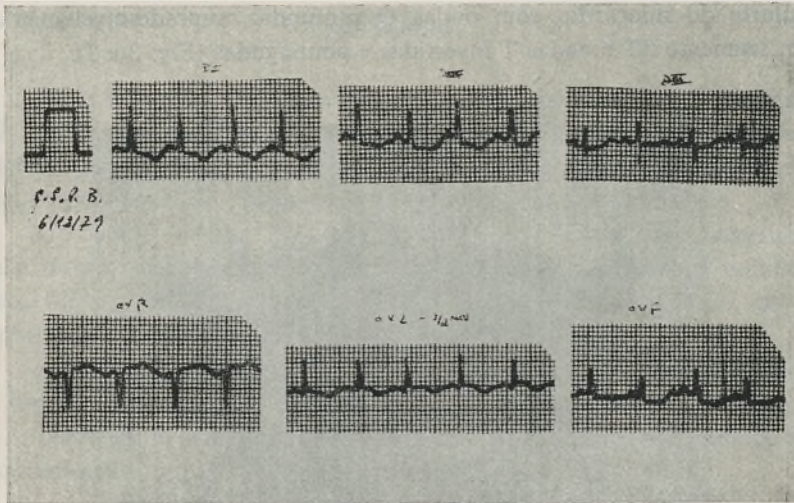


FIG. 2 — E.C.G. feito em 6/12/1979.

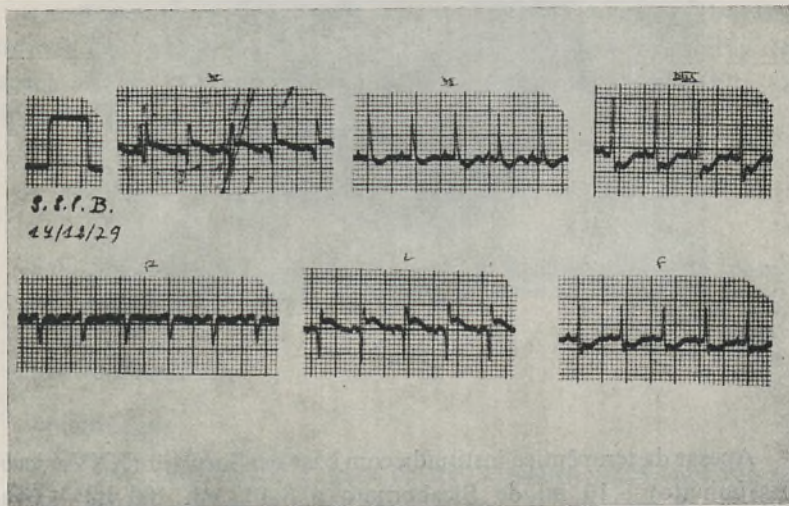


FIG. 3 — E.C.G. feito em 14/12/1979.

Feito o E.C.G. verificou-se em DI e aVL um aspecto típico de enfarte do miocárdio com ondas Q profundas, supradesnivelamento do segmento ST e ondas T invertidas e pontiagudas (Fig. 2 e 3).

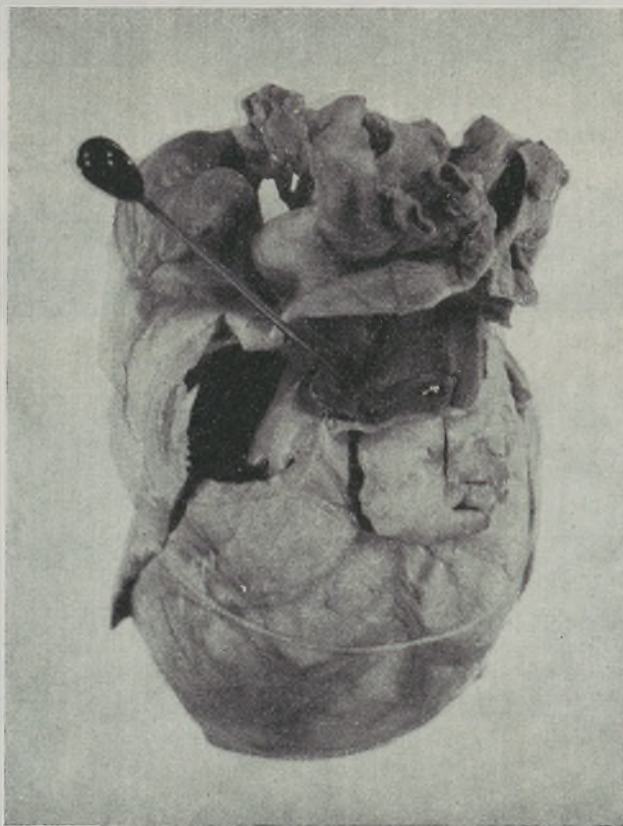


FIG. 4

Apesar da terapêutica instituída com base em Soro 401 (XXV microgotas/minuto) + 10 ml de Bicarbonato a 8,4% em 100 ml + Gluconato de Ca e O<sub>2</sub> em funil (2 l/m), digitálicos e antibióticos (ampicilina + gentamicina) a criança faleceu dias depois.

## AUTÓPSIA

Feita a autópsia encontraram-se o timo e os rins sem alterações. O fígado pesava 185 gr. (normal 140 gr.). O pulmão esquerdo apresentava aspectos de condensação e estava moderadamente colapsado, em consequência do aumento de volume do ventrículo esquerdo.

Coração — Pesava 70 gr. (normal 25 gr.); havia cardiomegalia. A artéria coronária esquerda tinha origem anómala na artéria pulmonar, 0,5 mm acima das sigmóides; a artéria coronária direita, pelo contrário, mostrava um início e trajecto normal (Fig. 4).

A abertura do coração, mostrou o ventrículo esquerdo dilatado e hipertrofiado (6 mm de espessura) (Fig. 5).

Não existia nenhuma outra anomalia no coração, nem qualquer comunicação entre as cavidades cardíacas.

## ESTUDO HISTOLÓGICO

Confirmou os dados clássicos: discreto espessamento sub-endocárdico e focos de edema intermuscular e faixas de fibrose jovem (Fig. 7). Aspecto reaccional de algumas miofibrilhas com hipertrofia (Fig. 8). Dilatação vascular.

## ESTUDO ANATÓMICO

Esta malformação é bastante bem conhecida, tanto do ponto de vista macroscópico como microscópico.

A — *No recém-nascido*

Macroscopia:

— O peso do coração é cerca de três a quatro vezes superior ao de um coração normal e há cardiomegalia. O aumento de volume e de peso fazem-se essencialmente à custa do ventrículo esquerdo cuja espessura atinge por vezes 10 a 15 mm.

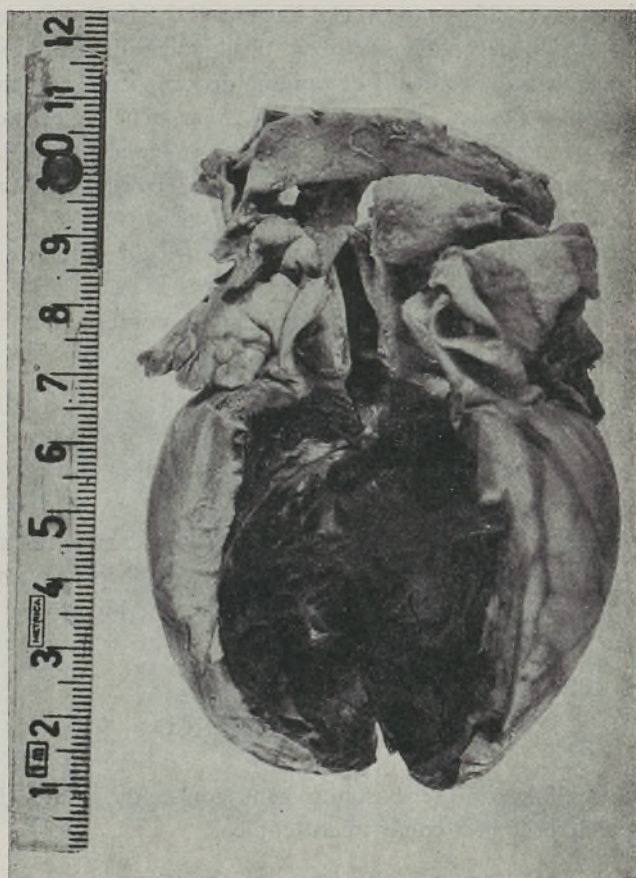


FIG. 5

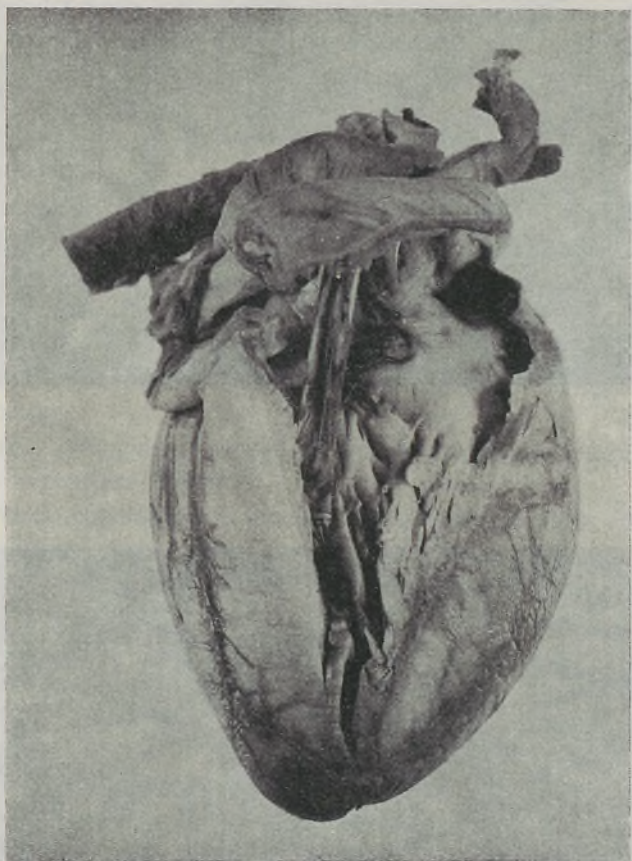


FIG. 6

Ventrículo Direito



FIG. 7

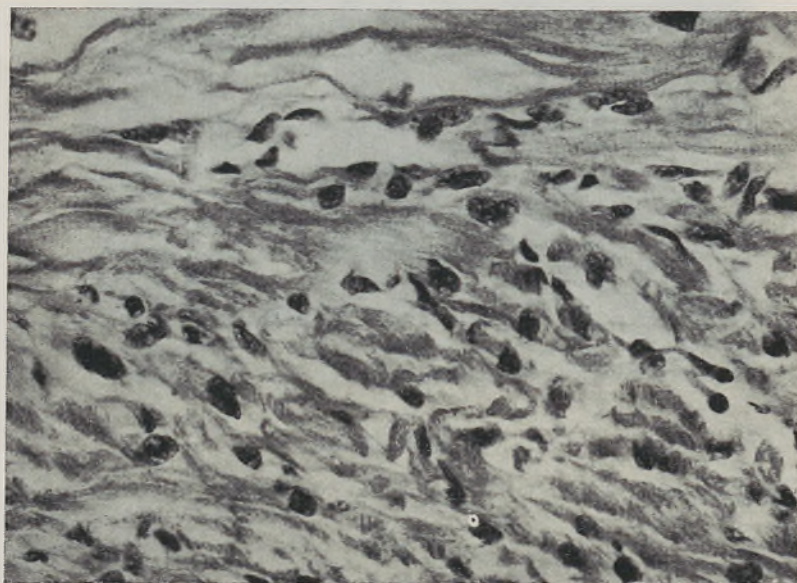


FIG. 8

— A nível das coronárias.

A coronária direita tem origem no seio de Valsalva anterior-direito; no caso do recém-nascido e de crianças jovens é moderadamente dilatada e não tem anomalias particulares na sua distribuição.

A coronária esquerda tem origem na artéria pulmonar, habitualmente a nível do seio de Valsalva posterior-esquerdo, mas por vezes, tem origem a um ou dois centímetros acima das valvas sigmóides pulmonares, por vezes mesmo a nível dum dos dois ramos de divisão da artéria pulmonar.

Encontram-se algumas vezes vasos anastomóticos bem desenvolvidos entre a coronária direita e a esquerda (WESSELHOEFT observou 3 casos, SABISTON, NEILL, TAUSSIG e RUDOLPH dois casos cada).

Habitualmente, estes vasos anastomóticos não são visíveis a olho nu, em virtude do seu pequeno calibre. Localizam-se com maior frequência no septo interventricular e na ponta, na zona sub-epicárdica.

Microscopia:

As lesões principais situam-se a nível do endocárdio e a nível do miocárdio ventricular esquerdo.

A nível do endocárdio, existe um espessamento de fibras elásticas e do colagéneo. Estas fibras espessas, dispostas horizontalmente, são bastante características de fibroelastose.

A nível do miocárdio as anomalias anatomo-patológicas são mais complexas.

Predomina a esclerose de intensidade variável, geralmente rica em colagéneo e fibras elásticas. É difusa a nível da parede ventricular esquerda.

As anomalias vasculares microscópicas são frequentes; são os seios vasculares. São cavidades de aspecto lacunar, de contorno sinuoso, de paredes delgadas revestidas por um endotélio introduzido entre os feixes musculares.

Estes seios formam uma rede de cavidades anastomóticas; alguns terminam directamente na cavidade ventricular. Pode pensar-se que estes seios desempenham o papel de vias supletivas entre a circulação coronária direita e esquerda.

Quanto às anastomoses intercoronárias encontram-se sobretudo no septo interventricular, na periferia da cavidade ventricular esquerda e na ponta, na zona sub-epicárdica.

Estas artérias têm um lumen estreito e uma parede espessa com uma camada interna composta de fibras circulares.

ABRIKOSOFF demonstrou que artérias do mesmo tipo são de natureza anastomótica e por isso se admite que a nível do miocárdio é por intermédio deste sistema anastomótico que nos estudos coronariográficos, a opacificação da coronária esquerda se segue à da coronária direita.

#### B — *No adulto*

Dum modo geral o aspecto morfológico é um pouco diferente.

A cardiomegalia é menos importante que no lactente. As zonas de enfarte do miocárdio recente ou antigo e a fibroelastose são muito menos frequentes.

O aspecto da rede coronária é diferente.

A coronária direita é anormalmente dilatada, podendo o seu diâmetro atingir por vezes 9 mm.

As anastomoses são particularmente bem visíveis macroscopicamente, tendo por vezes um verdadeiro aspecto angiomaso.

### ESTUDO FISIOPATOLÓGICO

O elemento dominante na anomalia de origem da coronária esquerda é representado pela anóxia miocárdica com as suas consequências:

Isquémia crónica do ventrículo esquerdo, com degenerescência das fibras miocárdicas, esclerose difusa e fibroelastose do endocárdio que são responsáveis em primeiro lugar pela cardiomegalia e pela insuficiência cardíaca.

EDWARDS, NADAS e TALNER, descreveram três fases na evolução da malformação:

— Durante a vida fetal, as duas coronárias recebem sangue igualmente saturado e sob uma pressão idêntica, não havendo sofrimento miocárdico.

— Após o nascimento, a coronária direita recebe sangue arterial proveniente da aorta, enquanto que a coronária esquerda é irrigada por sangue venoso insaturado. Contudo, continuando elevada a



pressão pulmonar, durante algum tempo, o vaso coronário é perfundido sob forte pressão.

— Progressivamente instalam-se perturbações em consequência da falta dum desenvolvimento satisfatório da circulação colateral. A isquémia crónica do ventrículo esquerdo condiciona o aparecimento de hipertrofia-dilatação sobre a qual se instala um acidente isquémico agudo, com enfarte, com subsequente insuficiência cardíaca congestiva e morte.

— Se as anastomoses e a circulação colateral se desenvolvem é possível a sobrevivência e o doente pode atingir a idade adulta. BAUE afirma que esta quarta fase é a de um síndrome de «vol coronaire» ou «coronary steal syndrome», com circulação contra-corrente na coronária esquerda.

Assim, actualmente pensa-se que a anóxia não está ligada à irrigação do ventrículo esquerdo por sangue insaturado e sob baixa pressão, mas à circulação a contra-corrente no vaso anómalo, fazendo curto-circuito nas arteríolas terminais que irrigam o ventrículo esquerdo. Esta teoria formulada em 1885 por BROOKS, defendida por EDWARDS e posteriormente por SABISTON é baseada na:

— Existência dum «shunt» esquerdo-direito demonstrado no caterismo pelo enriquecimento em oxigénio do sangue arterial pulmonar.

— A opacificação da coronária direita pela aortografia ou coronariografia selectiva, faz aparecer secundariamente a coronária esquerda enquanto que a angiografia pulmonar só excepcionalmente opacifica o vaso normal.

— O sangue que circula na coronária esquerda é oxigenado.

Assim se criou o conceito de dois tipos de malformação: um tipo infantil caracterizado por fracas anastomoses e um tipo adulto dominado por desenvolvidas anastomoses facilitando a circulação a contra-corrente, criando um «shunt» esquerdo-direito, uma espécie de fístula artério-venosa.

## CLÍNICA

Na forma infantil os sinais clínicos aparecem geralmente entre o segundo e o quarto mês. Em 60 observações, WESSELHOEFT, constatou a revelação clínica entre a 2.<sup>a</sup> e a 3.<sup>a</sup> semanas de vida em 12%

dos casos, em 20% entre a 4.<sup>a</sup> e a 8.<sup>a</sup> semanas, em 58% entre a 8.<sup>a</sup> e a 16.<sup>a</sup> semanas e somente em 10% dos casos após o 6.<sup>o</sup> mês.

Os sinais mais frequentes são:

- digestivos: náuseas e vômitos.
- crises de angor ou equivalentes: sobrevêm habitualmente na ingestão de alimentos; a criança recusa beber e torna-se pálida; a crise termina habitualmente em poucos minutos, muitas vezes com vômitos.
- respiratórios: dispneia, acessos de tosse e pneumopatia aguda febril.
- neurológicos: perda de conhecimento e convulsões.

Estes diversos sinais repetem-se com intensidade crescente, geralmente acompanhados de dispneia permanente.

O exame clínico revela frequentemente sopro sistólico de insuficiência mitral e manifestações de insuficiência cardíaca (taquicardia e hepatomegalia).

A radiografia torácica mostra habitualmente uma acentuada cardiomegalia dependente do ventrículo esquerdo. Alguns autores, entre os quais SABISTON têm assinalado um aspecto aneurismático desta cavidade.

O E.C.G. é um elemento fundamental de diagnóstico: o ritmo é sinusal, em 80% dos casos nota-se uma onda Q ampla, profunda em D1, aVL, V4 e V6, tradutora de necrose, associada a um supra-desenvolvimento do segmento ST (40% dos casos) e uma onda T negativa, pontiaguda e simétrica, na quase totalidade das observações.

## TRATAMENTO

As considerações fisiopatológicas precedentes condicionam em grande parte a atitude terapêutica.

— Tratamento médico: Não pode ser senão paliativo, recorrendo aos tonicardíacos e diuréticos.

— Tratamento cirúrgico: é o tratamento de escolha com o objectivo de suprimir a isquémia crónica do ventrículo esquerdo.

## CONCLUSÃO

Se a anomalia de origem da coronária esquerda a partir do tronco da artéria pulmonar é uma malformação rara (0,2 a 0,5% das cardiopatias congénitas) é a causa principal de enfarte do miocárdio do recém-nascido.

Em 80% dos casos segundo WESSELHOEFT, o seu diagnóstico é facilitado quando existe a tríade de BLAND, WHITE e GARLAND: crises de insuficiência cardíaca congestiva, aumento da silhueta cardíaca (fundamentalmente à custa das cavidades esquerdas) e sinais eléctricos de necrose miocárdica antero-lateral, predominantemente.

A evolução espontânea é particularmente desfavorável; na série de WESSELHOEFT, 30% de crianças faleceram no primeiro ano de vida, 7% no segundo ano e apenas 13% atingiram a adolescência ou a idade adulta.

A morte sobrevém frequentemente de modo súbito, resultante de grave perturbação do ritmo (fibrilhação ventricular) e de insuficiência cardíaca progressiva, refractária ao tratamento médico.

A par da forma do recém-nascido (a mais frequente), existe uma forma de adulto (mais rara — 20 a 30 casos descritos na literatura), resultante da evolução favorável da primeira.

O diagnóstico baseia-se essencialmente na aortografia supra-sigmoideia e na coronariografia selectiva direita que permite afirmar a ausência da coronária esquerda e demonstrar se, a partir duma coronária direita com origem normal, existe uma revascularização a contracorrente da coronária esquerda através duma rede anastomótica intercoronária.

Com esta técnica de estudo, EDWARDS, em 1964, propôs um esquema fisiopatológico tendo em consideração ao mesmo tempo as alterações que surgem a nível do sistema coronário e as modificações circulatórias no sistema pulmonar e coronário, que resultam da passagem da vida fetal para a vida autónoma:

— na primeira fase, a coronária esquerda com origem no tronco da artéria pulmonar é irrigada a partir da mesma artéria pulmonar.

— na segunda fase, o desenvolvimento da circulação colateral permite o estabelecimento dum «shunt» esquerdo-direito. Entre

estas duas fases, existe um período de transição em que a pressão de perfusão da coronária esquerda se mantém permanentemente baixa. Este período corresponde à fase de manifestação da sintomatologia clínica.

### *Formas do adulto*

Ao contrário da forma infantil, a sintomatologia no adulto é discreta e inespecífica: dores anginosas sem particularidades; sopro sistólico e insuficiência cardíaca, com ou sem arritmia completa.

O exame radiológico revela uma ligeira cardiomegalia por hipertrofia ventricular esquerda.

O electrocardiograma não apresenta sinais de necrose, mas de isquémia e de hipertrofia ventricular esquerda.

O diagnóstico definitivo é efectuado após a exploração hemodinâmica.

O cateterismo direito mostra a existência dum enriquecimento em oxigénio no tronco da artéria pulmonar.

A exploração das cavidades esquerdas engloba o estudo das pressões do ventrículo esquerdo e em particular o registo da pressão telediastólica, frequentemente elevada. A ventriculografia esquerda permite delimitar uma cavidade que pode apresentar anomalias segmentares de contracção.

A coronariografia é o exame fundamental. Habitualmente, no decorrer duma coronariografia, começa-se pela opacificação da coronária esquerda: a sua ausência a nível do seio anterior-esquerdo torna o exame negativo e é necessário opacificar a artéria coronária direita que dá a chave do diagnóstico.

Normalmente é um vaso volumoso, irregular, sinuoso, aparecendo, alguns segundos após a sua opacificação, a coronária esquerda visualizada através de múltiplas anastomoses.

As melhores incidências são a oblíqua anterior direita a 30° e a incidência transversa. Estas incidências permitem demonstrar que após a opacificação da coronária direita, o vaso esquerdo lança o produto de contraste na artéria pulmonar diluindo-se no fluxo ascendente deste vaso.

A evolução é mais longa do que na criança, mas são raros os casos que ultrapassam os 35 anos; existem contudo observações de doentes com idade superior a 60 anos.

A morte sobrevem por vezes, por insuficiência cardíaca irreversível, mas o risco de morte súbita, ameaça constantemente estes doentes, o que justifica o interesse pela terapêutica cirúrgica.

### RESUMO

Os autores, a propósito da descrição do primeiro caso de Síndrome de BLAND-WHITE-GARLAND descrito em *Portugal*, efectuaram uma revisão da bibliografia, tendo encontrado citados entre 180 a 200 casos.

### RÉSUMÉ

Les auteurs, à propos de la description du premier cas du Syndrome de BLAND-WHITE-GARLAND observé au *Portugal*, ont effectué une révision de la bibliographie ayant trouvé environ 180 à 200 cas.

### SUMMARY

The authors, with reference to the description of the first case of the Syndrome of BLAND-WHITE-GARLAND observed in *Portugal*, do a revision of the bibliography, having found between 180 and 200 cases.

*Trabalho realizado no Laboratório de Anatomia Normal Doutor Maximino Correia da Faculdade de Medicina de Coimbra.*

Director: Prof. Doutor Armando Simões  
de Carvalho

## BIBLIOGRAFIA

- ACAR S., CABROL., BACHELERIER P., POUGET P., VASILE N. et DURON F. — Implantation anormale d'une coronaire chez un malade de 53 ans, correction chirurgicale. Arch. Mal. Coeur et VX, 67, 10 Oct. 74 p. 1219-1225.
- BENSON P.A. — Anomalous aortic origin of coronary artery with sudden death. American Heart Journal, feb. 1970, 79, 2, 254-257.
- BLAND, WHITE et GARLAND. — Congenital anomalies of the coronary arteries: report of an unusual case associated with cardiac hypertrophy. Am. Heart J., 1933, 8, 787.
- BOISSIER A., BOUDEAUH et DUCELLIER J. — Cardiopathie congenitale mortelle avec anomalie probable de naissance de la coronaire gauche chez un nourrisson de 4 mois: syndrome de Bland, White et Garland. — Arch. Franç. Péd., dec. 1900, 17, 10, 1366-1373.
- BURCHELL H.B., BROWN A.L. — Anomalous origin of coronary artery from pulmonary artery. — American Heart Journal, march, 1962, 63, 3, 388-393.
- CASTEL Y., ROCHE J., LE FUR J.M., LEROY J.P. et BALOUET G. — Naissance anormale de l'artère coronaire. — Ann. Pédiat. (Sem. Hôp. Paris), 2 mai. 1972, 19, 5, 411-424.
- CORONE P. et coll. — Coronaire gauche anormale chez l'adulte. (Cas d'une jeune fille de 17 ans opérée avec succès). — Arch. Mal. Coeur, fév. 1966, 59; 2, 273-291.
- DAGONET Y. — Les anomalies de naissance des artères coronaires — Rapport d'une observation de coronaire gauche anormale. — Arch. Mal. Coeur, janv. 1952, 45, 1, 7-20.
- DOR X., RANAIVO F. et DIANE M. — A propos d'une coronaire gauche naissant de l'artère pulmonaire. — Ann. Pédiat. (Suppl. Sem. Hôp. Paris), 2 nov. 1964, 40, 47-11, 599-603.
- GAILLARD L., CAHEN P., DELPHIN D. et GREMILLET J. — Nouvelle observation de naissance anormale de l'artère coronaire gauche. — Sem. Hôp. Paris, 4 mars, 1958, 34, 11, 677-679.
- GOREZ A.P., AMADOR P.L., CORDON M.B. et GAMEZ S.A.B. — Anomalie d'origine de l'artère coronaire gauche; syndrome de Bland-White-Garland. — Rev. Espan. Cardiol., oct. 1962, 15, 4, 835-844.
- GUERIN F. — Anomalie de naissance de la coronaire gauche. — Rev. Praticien, 1er dec. 1964, 14, 31, 3973-3975.

- HOREAU J., ROBIN C. et NICOLAS G. — Deux nouvelles observations d'artère coronaire gauche anormale. — Arch. Mal. Coeur, jan. 1964, 57, 1, 82-90.
- JOKL E., MCCLELLAN et ROSS G.D. — Anomalie congénitale de l'artère coronaire gauche chez un jeune athlète. — Méd. Education Physique et Sport. — 1963, 37, 4, 237-241.
- LESBRE J.P., BERNASCONI P., HAZANE., QUIRET J.C. et DUBOISSET M. — Anomalie de naissance de la coronaire gauche à partir de l'artère pulmonaire traitée avec succès par pontage. Coeur et Médecine Interne XIV, 1, 1975.
- MEYNADIER A., GROLLEAU R. et PUECH P. — Coronaire gauche anormale naissant de l'artère pulmonaire. — Arch. Franç. Péd., aout-sept. 1967, 24, 7, 837-838.
- MONNET P. — Étude sur les anomalies de naissance des artères coronaires, et plus particulièrement, la naissance pulmonaire de la coronaire gauche chez le nourrisson. — Arch. Franç. Péd., 1954, 11, 9, 924-942.
- OGDEN S.A. — Origines insolites de l'artère coronaire gauche à partir de l'aorte. — Arch. Mal. Coeur, mars 1971, 64, 3, 423-430.
- RIBIERRE M. et LE TAN VIN H. — A propos de 2 observations d'anomalie de naissance de l'artère coronaire gauche. — Sem. Hôp. Paris, 22 mai 1955, 31, 31/3, 1796/P. 148-1804/P.
- RICHARD S. — Anomalie de naissance de l'artère coronaire gauche (2 observations). — Thèse LYON, 1953.
- SARROUY C., VAI LLAUD S.C., SABATINI R. et PINCON S. — Les anomalies d'origine des artères coronaires. A propos d'une nouvelle conception embryologique. — Maroc méd., fév. 1966, 45, 488, 91-96.
- SENARA et coll. — Cardiopathie congénitale associant une hypertrophie ventriculaire gauche à des signes électriques d'anoxie myocardique. — Arch. Franç. Péd., 1959, 16, 275.





## ACTION DES RADIATIONS IONISANTES DANS LES OEUFS EMBRYONNÉS DE POULE

L. M. QUINTINO ROGADO

M. J. XAVIER MORATO

M. J. RODRIGUES CORREIA

### IV — CONGESTION, OEDEME ET LÉSIONS HEMORRAGIQUES

Dans ce travail on ne décrit que des phénomènes microscopiques généraux et relativement banaux observés chez des embryons de Poulet soumis à l'action des radiations ionisantes, dans les conditions décrites dans des travaux antérieurs. Ce sont des phénomènes de congestion, d'oedème et des lésions hémorragiques. Ils seront décrits séparément, mais en réalité souvent ils sont simultanés.

Un caractère particulièrement intéressant des lésions provoquées dans le système nerveux embryonnaire par les radiations ionisantes est leur bilatéralité et symétrie. Une telle symétrie doit être sûrement en rapport avec la propre symétrie de la différenciation même des phénomènes réparateurs (Figs. 1, 2, 3 et 10).

On sait qu'une des premières réactions biologiques à l'irradiation est la congestion et souvent on l'observe chez des embryons très avancés. Elle est très intense dans le mésenchyme qui entoure les vésicules cérébrales et les ébauches de la rétine, mais elle peut aussi se trouver dans des territoires très éloignés.

Congestion et hémorragie coexistent fréquemment et on les reconnaît facilement à vue d'oeil ou à la loupe. En dehors du système nerveux, l'hémorragie siège dans des territoires électifs. C'est, par exemple, ce qui arrive dans les extrémités des ébauches des membres où l'hémorragie est la cause d'anomalies qui ne deviennent apparentes que plus tard.

Dans le système nerveux central, on trouve des hémorragies focales dans la substance blanche et grise (Fig. 4) aussi bien que dans les ganglions cérébro-rachidiens. Mais celles qui le plus ont attiré notre attention ce furent les hémorragies intraventriculaires et leurs mécanismes probables.

Dans une phase précoce, la désagrégation massive des parois ventriculaires explique l'expulsion du sang vers les cavités ventriculaires (Fig. 5); dans une phase plus tardive, un certain nombre d'images histologiques suggère la possibilité de ruptures vasculaires en conséquence, disons, de la dissection des capillaires de la paroi interne des vésicules cérébrales. Les capillaires sanguins existant dans la paroi d'une vésicule cérébrale où les phénomènes réparateurs ne se sont pas encore amorcés ou le sont insuffisamment, peuvent originer des «proéminences vasculaires» qui font hernie dans l'intérieur de la cavité (Figs. 6 et 7). En effet, des capillaires réduits à son endothélium presque libres dans la cavité ventriculaire pourront se déchirer et expliquer de nouvelles hémorragies.

En ce qui concerne l'oedème, il est très évident, même macroscopiquement, dans beaucoup d'exemplaires. Mais, outre cet oedème sous-cutané, au microscope on a l'occasion d'observer des lésions oedémateuses même dans l'intimité des tissus et des organes. Dans le système nerveux central, comme partout, l'oedème se manifeste par la dissociation des éléments cellulaires dont l'importance dépend de la nature du territoire, de sa structure et du temps découlé après l'irradiation (Figs. 8 et 9).

Parfois, l'oedème provoque la formation de cavités, surtout quand il est accompagné de destructions cellulaires; d'autres fois il dissocie les cellules, mais elles maintiennent leurs connexions (Figs. 11 et 12).

## RESUMO

Descrevem-se as lesões edematosas, congestivas e hemorrágicas observadas nos embriões de Pinto irradiados. Estuda-se o mecanismo especial das hemorragias intraventriculares.

## RÉSUMÉ

On décrit des lésions oedémateuses, congestives et hémorragiques observées chez des embryons de Poulet irradiés. On étudie le mécanisme spécial des hémorragies intraventriculaires.

## SUMMARY

Edematous, congestive and hemorrhagic lesions observed in Chicken embryos irradiated are described. The special mechanism of intraventricular hemorrhages is studied.

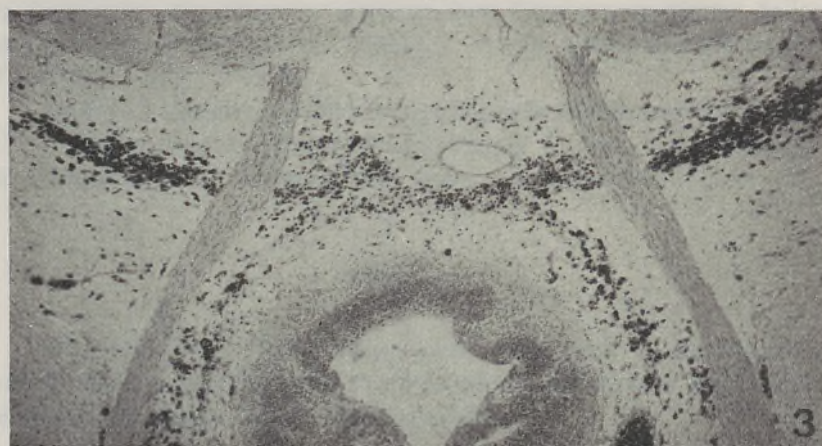
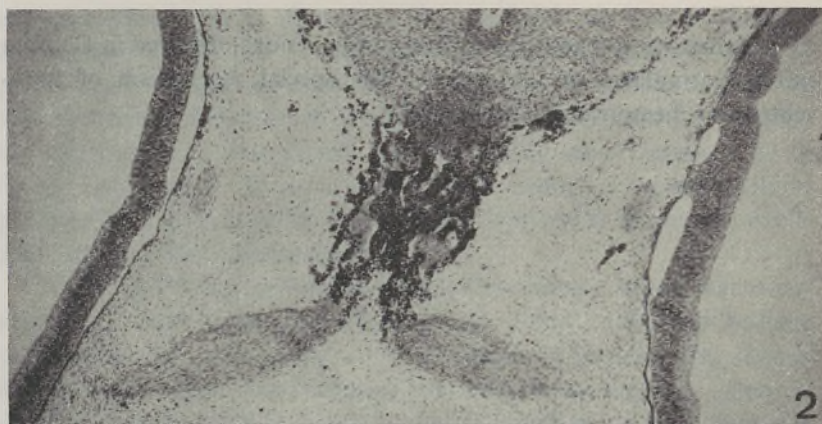
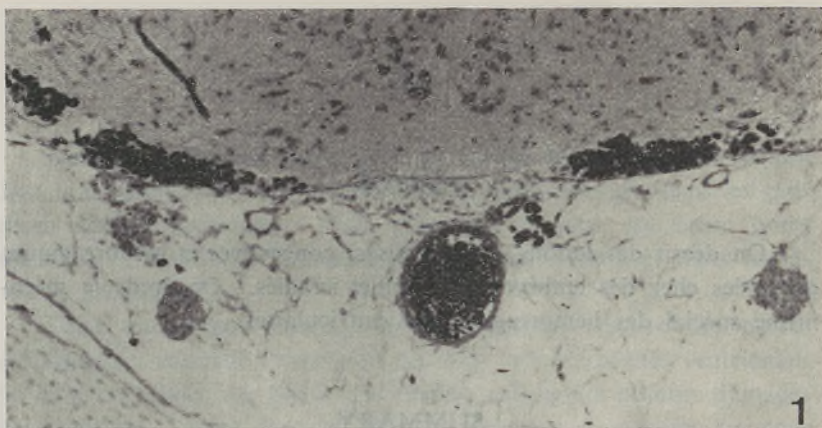


FIG. 1 — Embryon de Poulet à l'onzième jour d'incubation, irradié au quatrième jour (1000 rads-Cobalt <sup>60</sup>). Congestion de la paroi du myelencéphale et du mésenchyme.

FIG. 2 — Embryon au septième jour, irradié au cinquième jour (1020 rads-Rayons X). Congestion et hémorragie au niveau du chiasma optique.

FIG. 3 — Même embryon de la figure 2. Congestion et hémorragie du mésenchyme au niveau de l'émergence du nerf moteur oculaire commun.

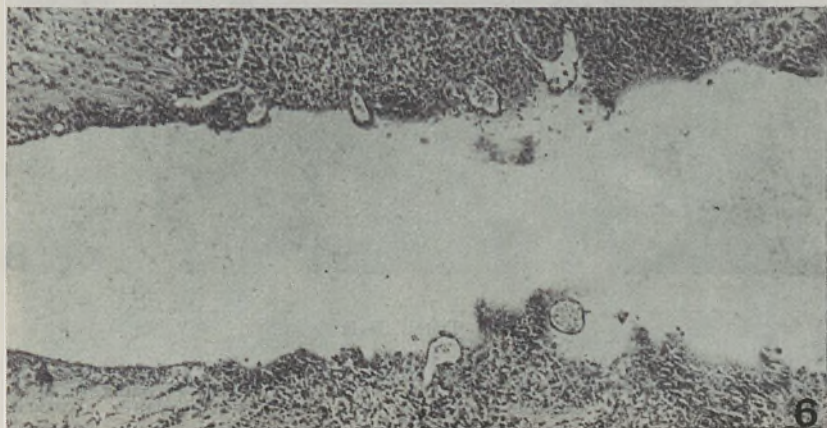
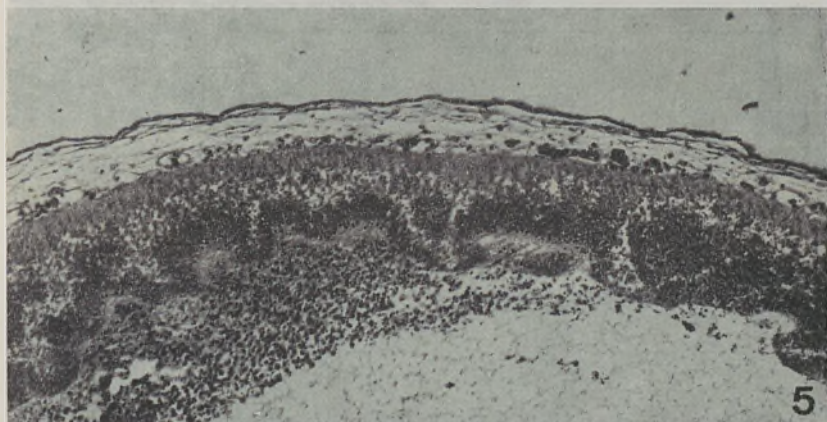
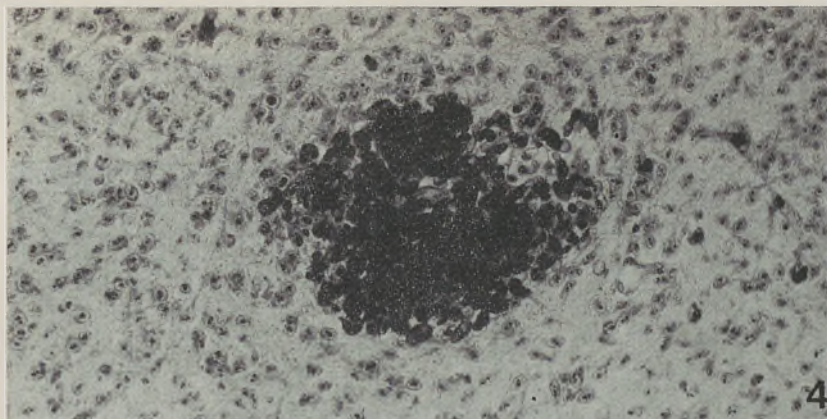


FIG. 4 — Même embryon de la figure 1. Hémorragie dans la substance grise.

FIG. 5 — Embryon au septième jour d'incubation, irradié au cinquième jour. (1020 rads-Rayons X). Congestion, oedème, ébauche de rosettes, dans la paroi du mésencéphale. Hémorragie intraventriculaire.

FIG. 6 — Même embryon de la figure 2. Proéminences capillaires dans la paroi du troisième ventricule.

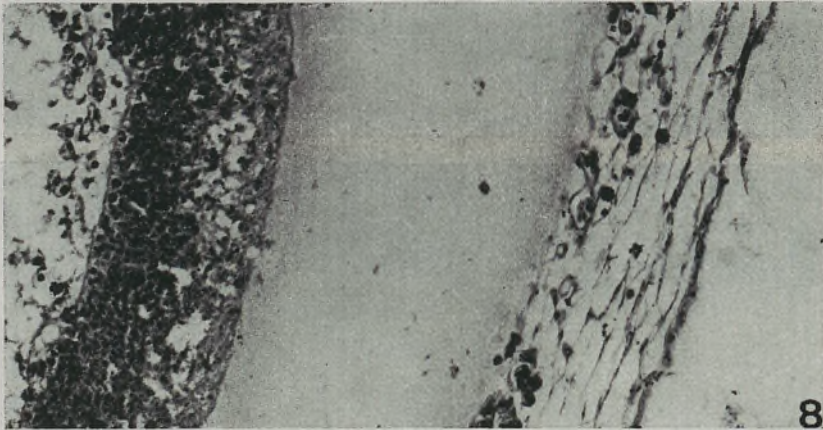
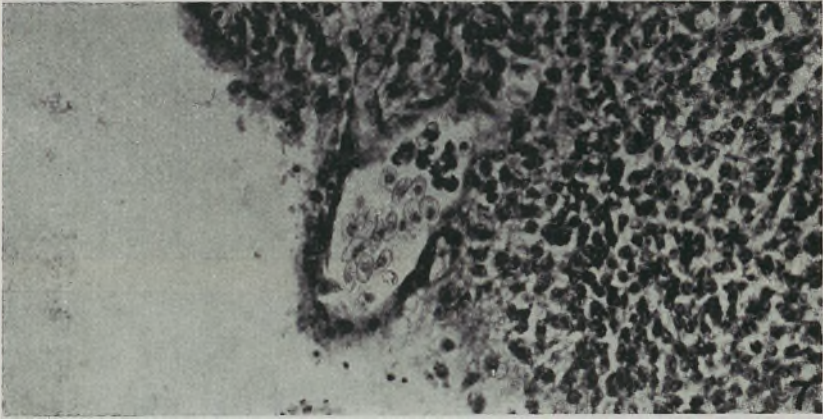


FIG. 7 — Détail de la fig. 6.

FIG. 8 — Embryon au septième jour d'incubation. Irradié au cinquième jour (1020 rads-Rayons X). Oedème très intense, intra — et périventriculaire. Dissociation des tissus.

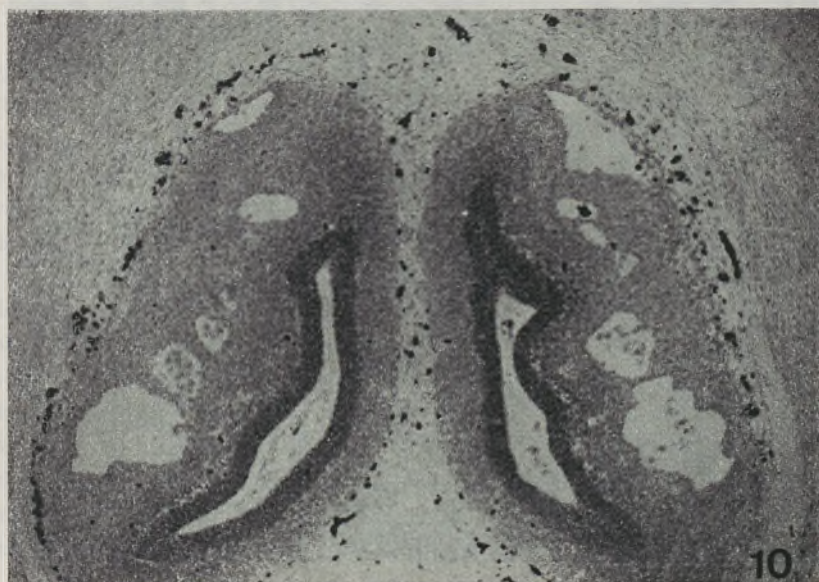
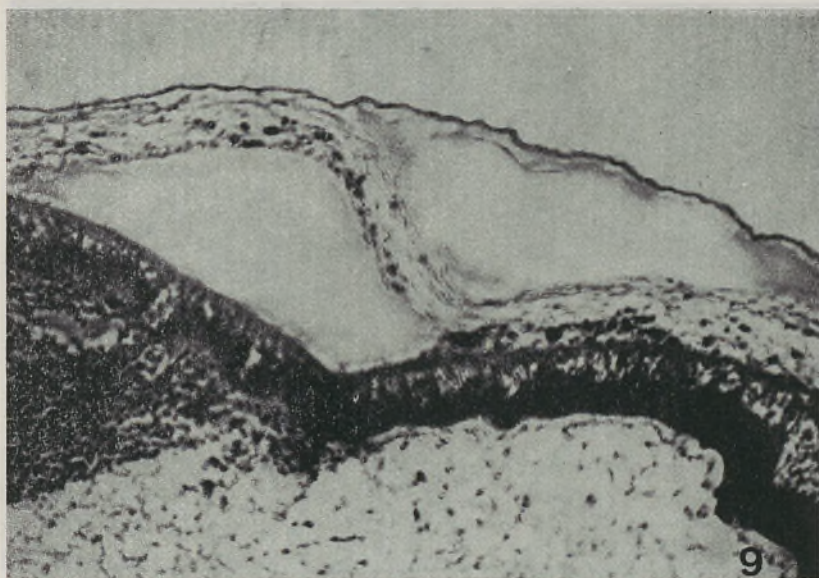


FIG. 9 — Même embryon de la figure antérieure. Oedème et formation de cavités contenant du transsudat.

FIG. 10 — Même embryon des figures 2 et 3. Destruction cellulaire et oedème de la paroi du télencéphale. Remarquer la symétrie des lésions.

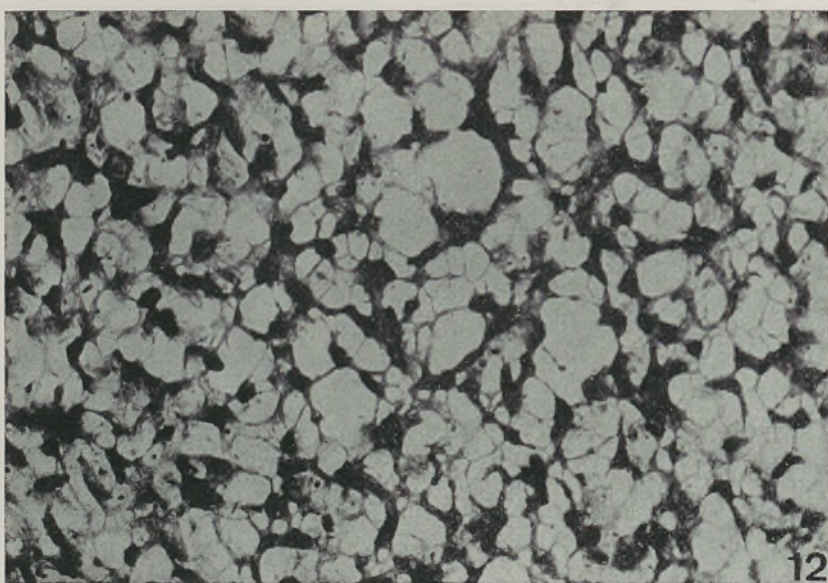
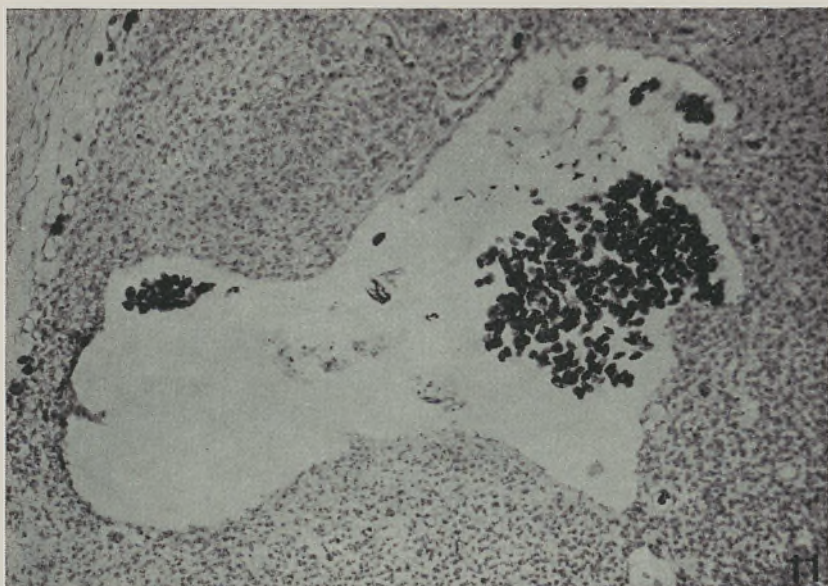


FIG. 11 — Détail des lésions télencéphaliques de l'embryon de la figure antérieure.  
Destruction cellulaire, oedème et hémorragie.

FIG. 12 — Même embryon des figures 8 et 9. Oedème interstitiel du parenchyme  
nerveux.



## V — PHÉNOMÈNES DE PHAGOCYTOSE OBSERVÉS DANS LES VENTRICULES CÉRÉBRAUX

Dans la paroi des vésicules cérébrales des embryons irradiés, vers l'époque de sa récupération, il y a des territoires dépourvus d'épithélium épendymaire. Dans ces territoires, le revêtement est très irrégulier; on y trouve des cellules nerveuses et d'autres plus petites qu'on considère de nature névroglie; rarement, le revêtement est constitué par des cellules aplaties qui, dans l'ensemble, présentent la structure d'un épithélium pavimenteux. Les capillaires sanguins peuvent faire prééminence dans la cavité ventriculaire.

Là, où le contour de la paroi est irrégulier, de petites cellules se détachent, isolées ou en groupes et tombent dans la cavité ventriculaire (Fig. 1). Dans un grand nombre de cas, ce phénomène peut être occasionnel, mais dans d'autres on dirait qu'il s'agit d'une migration provoquée par un tactisme; cette dernière hypothèse est d'autant plus vraisemblable que les cellules détachées peuvent se conduire comme des macrophages (Fig. 2).

En effet, chez les embryons irradiés les plus âgés, on observe, dans les hémorragies intraventriculaires de nombreuses images de phagocytose des érythrocytes. Les macrophages phagocytent un nombre variable de globules rouges dont le noyau devient progressivement pycnotique. Le noyau du macrophage est comprimé et déplacé vers la périphérie de la cellule (Figs. 3, 4, 5 et 7). Les phénomènes phagocytaires peuvent aussi avoir lieu à la surface du ventricule: des cellules incluses dans la paroi phagocytent des globules rouges probablement préalablement tombés dans la cavité (Fig. 6).

Ce qu'on sait de la physiologie des différentes variétés de névroglie nous mène à admettre que les macrophages représentent des éléments de la microglie, lesquels présentent des propriétés phagocytaires déjà

en époques précoces du développement. D'autre part, nous nous demandons si l'irradiation ne jouera pas un rôle stimulant sur l'activité phagocytaire de la microglie.

### RESUMO

Em embriões de Pinto irradiados em que se observaram grandes hemorragias intraventriculares, é muito evidente a fagocitose dos eritrocitos por células emigradas das paredes dos ventrículos. Admitiu-se que estes macrófagos tivessem origem na microglia.

### RÉSUMÉ

Chez des embryons de Poulet irradiés chez lesquels existent de grandes hémorragies intraventriculaires, on a observé une phagocytose très évidente des globules rouges par des cellules émigrées des parois des ventricules; en ce qui concerne la nature de ces macrophages, on admet qu'ils correspondent à des éléments de la microglie.

### SUMMARY

In irradiated Chicken embryos in which there were great intraventricular hemorrhage, the red blood cells were phagocyted by cells migrated from the ventricular walls; the AA. admit these macrophages to be elements of microglia.

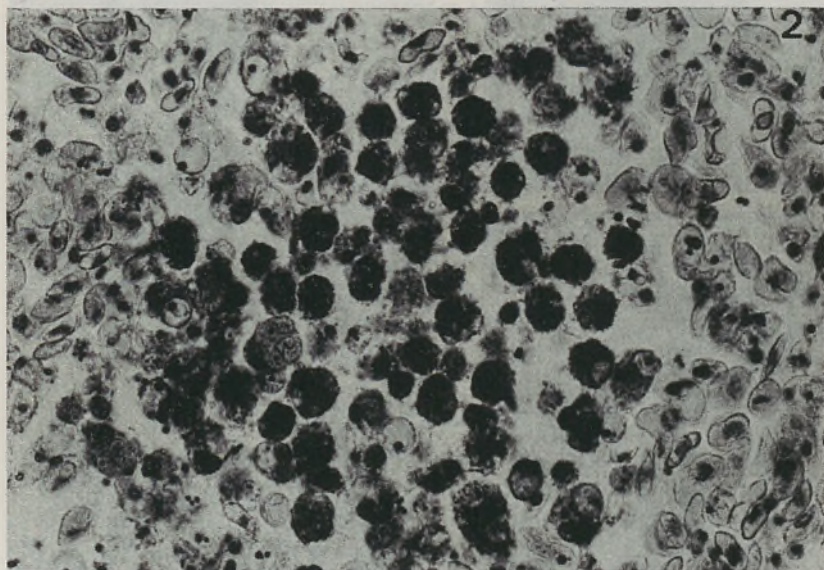
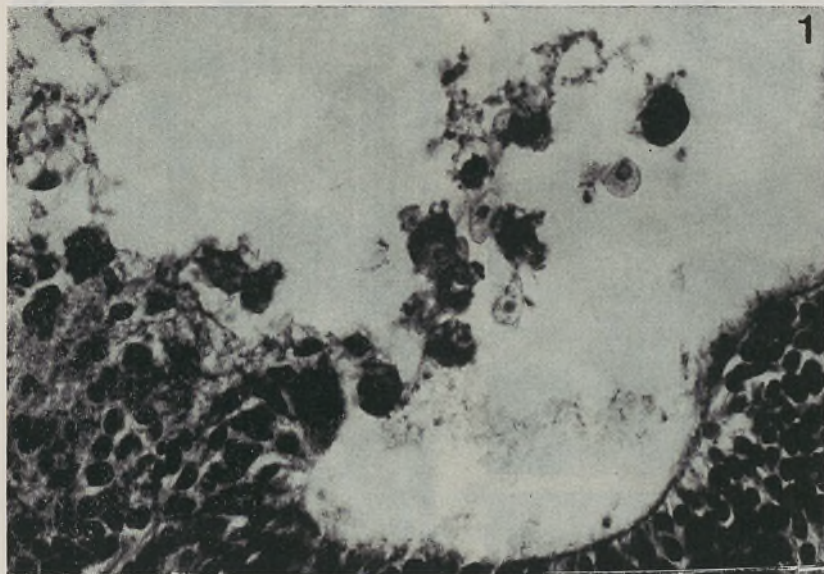
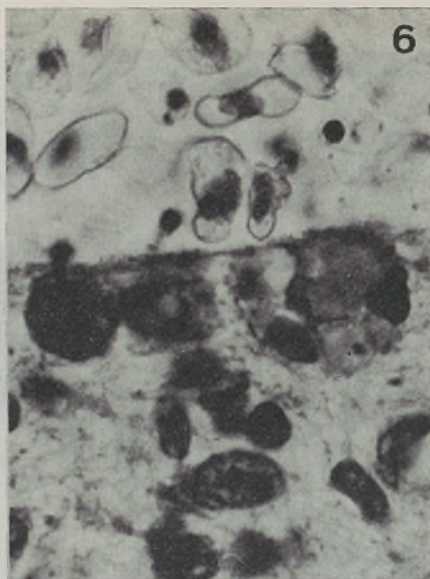


FIG. 1 — Embryon de Poulet à l'onzième jour d'incubation, irradié au quatrième jour (1000 rads-Cobalt <sup>60</sup>). Un groupe de cellules histiocytaires se détache de la paroi ventriculaire.

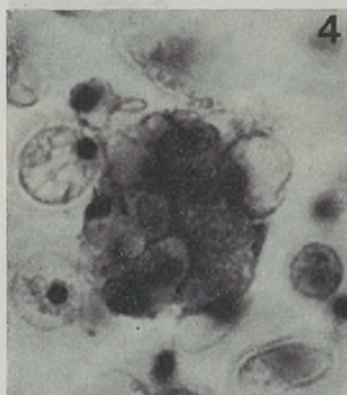
FIG. 2 — Idem. Un groupe de macrophages ayant phagocyté des érythrocytes, libres dans la cavité ventriculaire.



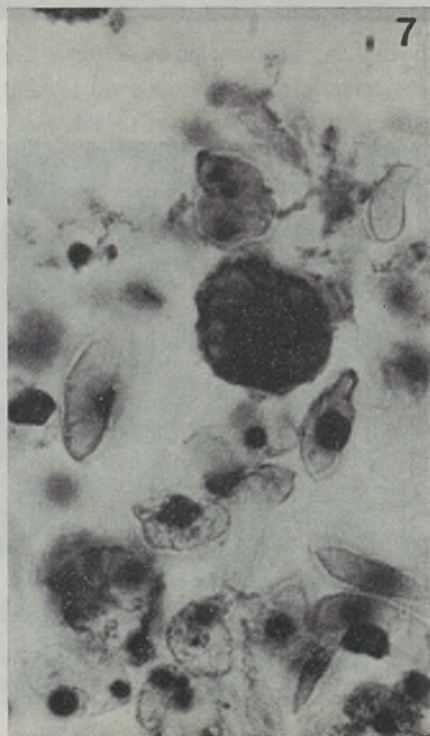
3



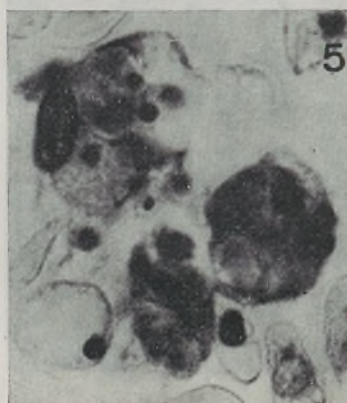
6



4



7



5

FIG. 3 — Embryon au huitième jour d'incubation, irradié au cinquième jour (1020 rads-Rayons X). Image de deux macrophages libres dans la cavité ventriculaire.

FIG. 4, 5 et 7 — Embryon de la fig. 1 et 2. Images de phagocytose dans la cavité ventriculaire.

FIG. 6 — Idem. À la surface de la paroi ventriculaire, on observe des macrophages ayant phagocité des érythrocytes.

## VI — SIGNIFICATION MORPHOLOGIE DES ROSETTES DÉVELOPPÉES DANS LE SYSTÈME NERVEUX CENTRAL ET DANS LA RÉTINE — RÉVUE GÉNÉRALE

1. *Généralités* — L'existence de rosettes cellulaires dans le système nerveux central et dans la rétine chez des foetus de Mammifères et en particulier chez des foetus humains irradiés est connue depuis 1931, d'après les observations de Goldstein et Weber. Ces formations pathologiques provoquées par les radiations ionisantes ont été souvent observées par Hicks et ses collaborateurs (1951-1961). Aussi Jacobs et Brizee (1965) et Brizee et Jacob (1966) les ont encore détecté dans les hémisphères cérébraux, chez le Rat. On doit aussi considérer très importante l'observation de Rugh et Skaredoff (1965). Ces auteurs ont décrit des rosettes dans la rétine d'un foetus humain dont la mère a été injectée avec du Chlorambucil au cours du premier mois de la grossesse et qui a avorté vers la fin du troisième mois. Cette observation démontre la relation très étroite entre le résultat de l'action des radiations ionisantes et celle des substances cytostatiques.

D'autre part, on doit donner le juste relief à la description faite par Reese et Straatsma (1958) d'une affection congénitale de la rétine, accompagnée d'une cécité bilatérale, et morphologiquement caractérisée par l'existence de rosettes. Celles-ci proviennent d'invaginations de l'espace supra-rétinien. Leur contour est constitué par des cônes et bâtonnets. Reese a nommé cette maladie dysplasie rétinienne.

Nous voudrions encore ajouter qu'il nous a beaucoup frappé la connaissance de l'existence de rosettes cellulaires dans certaines tumeurs du système nerveux central, comme les gliomes (rosettes de Wintersstein, 1897) et dans les neuro-épithéliomes de la muqueuse olfactive. Flexner, déjà en 1891, avait aussi décrit des rosettes dans les rétinoblastomes.

Devant ces connaissances, nous nous sommes posés la question suivante: quel rapport y aura-t-il entre ces différentes rosettes cellulaires?

Tout d'abord, il faudra analyser en détail les conditions de nos expériences et aussi l'histogénèse des rosettes dont la différenciation est déclenchée par les radiations ionisantes.

2. *Matériel et méthodes* — Après une période d'essais préliminaires on a choisi comme norme expérimentale l'irradiation des oeufs de Poule au cinquième jour d'incubation avec des doses aux environs de 1000 rads.

L'hétérogénéité de l'oeuf et de ses enveloppes et surtout l'excentricité de l'embryon imposent des règles très exactes conduisant à la connaissance du côté de l'oeuf où se trouve l'embryon.

Dans ce but l'oeuf se maintient immobile dans les 24 heures qui précèdent l'irradiation. Ce détail est très important; dans les expériences préliminaires on a trouvé une grande différence de résultats suivant le côté de l'oeuf qu'on avait irradié, ce qui est en accord avec la loi de proportionalité inverse au carré des distances. L'étude la carte 91 du Vol. I des «Cartes d'Isodose de Champ Simple» publiées par l'Agence Internationale d'Énergie Atomique démontre que dans l'accélérateur de particules de Van de Graaf, première source d'irradiation employée dans nos expériences, dans les conditions que nous avons choisies, une distance de 5 cm fait baisser la dose absorbée d'à peu près 30%. Or, 5 cm est le diamètre moyen des oeufs subissant l'irradiation.

Après l'irradiation, les oeufs sont de nouveau placés dans l'étuve. L'incubation est ultérieurement interrompue à des temps variables et les embryons sont alors prélevés, observés et fixés.

3. *Résultats généraux* — Les altérations macroscopiques sont d'autant plus importantes que l'embryon est plus jeune et la dose d'irradiation absorbée est plus grande.

Les anomalies morphologiques générales sont très évidentes: nanisme, oedème, malformations des membres, extériorisation des viscères, micrognatisme. En outre, même avec des doses inférieures à 1000 rads aucun embryon ne s'est montré viable et aucun n'a réussi

à briser la coque de l'oeuf. Et même, quand la date de l'éclosion étant arrivée, l'oeuf était artificiellement ouvert, le petit poussin mourait quelques minutes après.

Avec l'emploi de doses sous-léthales (1000 r ou moins), il y a une période de latence au cours de laquelle on n'arrive pas à distinguer les embryons irradiés et les témoins. Après, il y a une phase de lésions très graves avec désagrégation nucléaire et destruction cellulaire (Fig. 10). Finalement, une phase de réparation survient. On observe une intense prolifération et les tissus acquièrent une structure définitive qui peut être typique ou atypique (Figs. 5 et 15), mais toujours organisée.

4. *Histogénèse des rosettes* — Dans le système nerveux central et dans la rétine, on observe à côté d'une différenciation conduisant à une structure normale, l'existence de formations pathologiques caractéristiques, décrites par deux de nous (Morato e Correia), en 1969. Ce sont les rosettes cellulaires. Il s'agit de formations rondes ou arrondies dont la paroi est constituée par des cellules agglomérées parfois radialement autour d'une cavité centrale. Le revêtement interne de ces cavités est constitué par un épithélium cylindrique avec des cadres cimentaires ou Kittleisten. Dans cet épithélium les mitoses sont très nombreuses (Figs. 1, 2, 3 et 4).

Les rosettes se trouvent dans tout le système nerveux central, depuis le télencéphale (Fig. 4) jusqu'à l'extrémité de la moelle épinière (Fig. 6). Dans tous ces territoires le mécanisme de leur histogénèse est le même, toujours aux dépens de la paroi des cavités ventriculaires ou épendymaires.

Des territoires où l'on observe un grand nombre de figures de mitose viennent à se déprimer et constituent de petites fossettes. Les bords de ces formations, croissent, s'approchent et finalement viennent à se fusionner (Figs. 1 et 2). De cette manière, la petite fossette se transforme dans une rosette. Au début, ces formations se trouvent à la surface de la cavité ventriculaire (Figs. 1, 2 et 3), mais on en trouve fréquemment dans la profondeur, dans l'épaisseur du tissu (Fig. 5). Cette migration des rosettes est le résultat des proliférations de la surface ventriculaire et desquelles résultent des tissus qui s'interposent entre les rosettes et l'épithélium épendymaire qui leur a donné origine.

Ces formations existent aussi dans la rétine des embryons irradiés; leur mécanisme histogénétique est égal à celui des rosettes de l'axe nerveux. Elles aussi débutent par de petites fossettes de la couche des cônes et bâtonnets et dont la concavité regarde la couche pigmentaire (Figs. 11 et 12). Comme dans l'axe nerveux, la fusion des bords des fossettes les transforme en rosettes (Figs. 13 et 14). Pour l'interprétation convenable de ces phénomènes on doit se rappeler que, du point de vue embryologique, l'espace supra-rétinien est le représentant de la cavité des ventricules cérébraux. La réaction de la rétine est tout à fait pareille à celle de l'axe nerveux.

5. *Discussion* — Deux de nous (Morato et Correia) avons déjà, en 1970, mis en doute l'homologie entre les rosettes tumorales et celles que nous venons de décrire (Fig. 16).

En effet, une révision récente et prolongée des milliers de coupes en série de notre collection a démontré que les images en rosette observées dans la rétine et dans le système nerveux central embryonnaire, résultants de l'action des radiations ionisantes, sont des fausses rosettes. Leur aspect morphologique est différent suivant la direction de la coupe. Il s'agit plutôt de formations tubulaires qui résultent de l'invagination et ultérieure soudure des bords de longues gouttières différenciées à la surface épendymaire des cavités ventriculaires ou dans la surface proprement rétinienne de l'espace supra-rétinien. La fausse image en rosette représente la coupe transversale de ces formations tubulaires. D'autre part, on a aussi vérifié que ces tubes s'anastomosent (Figs. 7, 8 et 9).

Quand on compare ces structures avec celles qu'on trouve dans les néoplasies on ne vérifie pas une vraie homologie. Dans le dernier cas, il nous paraît évident que les rosettes ne se différencient pas en rapport avec une surface, mais plutôt en plein tissu tumoral. Au contraire, nous admettons que l'histogénèse des lésions de dysplasie rétinienne de Reese et Straatsma est identique à celle des lésions obtenues dans la rétine embryonnaire soumise à l'action des radiations ionisantes. Dans les deux cas les lésions se caractérisent par des sillons ou gouttières invaginées et anastomosées dont la surface est constituée par la couche des cônes et bâtonnets. Quand la rétine est complètement décollée leur coupes tangentielles montrent des images parfaitement superposables (Figs. 17 et 18).



S'agira-t-il d'une simple coincidence ou a-t-on affaire à une importante relation pathogénique?

En ce qui concerne la réaction de tout le système nerveux central à l'action des radiations ionisantes, on est frappé par sa constance et sa spécificité. Elle se caractérise par la différenciation et l'ultérieure fermeture de gouttières cellulaires développées aux dépens du revêtement des cavités épendymaires. Par hypothèse, on pourrait admettre qu'il s'agirait d'une véritable «évocation» de la différenciation de la gouttière neurale. Le remaniement très profond subi par le tissu nerveux préalablement soumis à l'action des radiations aurait libéré des gènes réprimés et les cellules auraient acquis à nouveau des potentialités biologiques lui appartenant au début du développement embryonnaire. En effet, il ne s'agit que d'une hypothèse, mais elle trouve son bien-fondé, par exemple, dans nos observations sur les migrations anormales chez des embryons irradiés aussi bien que dans celles de Rita Levi-Montalcini, laquelle a observé le retour des cellules de la moelle surrénale à des cellules nerveuses sous l'action du facteur de croissance des nerfs (GNF).

Les auteurs remercient les Docteurs Mário Vilhena et leurs collaborateurs Gomes da Silva et Horácio de Matos, du Service de Radothérapie de l'Institut Portugais d' Oncologie, de leur très aimable collaboration dans l'irradiation des oeufs par le cobalt<sup>60</sup>.

## RESUMO

Os AA. fazem um resumo histórico acerca da existência de rosetas no sistema nervoso e retina de embriões irradiados, bem como em tumores do sistema nervoso e globo ocular humanos. Referem também a existência duma afecção congénita da retina (Reese e Straatsma) designada displasia retiniana. A imagem histológica desta afecção é idêntica àquela que eles próprios observaram nos embriões de Pinto irradiados.

Descrevem o material e os métodos empregados. Citam os resultados gerais observados: nanismo, edema, malformações dos membros, exteriorização das vísceras e micrognatismo.

Descrevem em pormenor a histogénese das rosetas.

Dão a conhecer os resultados das suas observações mais recentes, os quais demonstram que as chamadas rosetas representam apenas cortes transversais de formações tubulares anastomosadas. Concluem que estas pseudo-rosetas não são comparáveis às que se encontram nos tumores nervosos, mas consideram-nas homólogas das que foram observadas na displasia retiniana e perguntam se, neste último caso, se tratará duma simples coincidência ou se haverá entre as duas situações uma íntima relação patogénica.

Por último chamam a atenção para a constância e especificidade da reacção de todo o sistema nervoso central à acção das radiações ionisantes: diferenciação e ulterior encerramento de goteiras celulares desenvolvidas à custa do revestimento das cavidades endimárias. Por hipótese, admitem que possa tratar-se duma verdadeira «evocação» da diferenciação da goteira neural.

#### SUMMARY

The Authors make a historical résumé on the existence of «rosettes» in the cerebral nervous system and retina of irradiated embryos, as well as in human tumours of the central nervous system and of the eyes.

They also refer the existence of a congenital disease (retinal dysplasia of Reese and Straatsma) whose histological picture is similar to that they observed in the irradiated Chicken embryos.

They describe the material and methods they used.

They mention general results obtained; they may be summarized as follows: dwarfism, oedema, limbs malformations, exteriorization of viscera and micrognatism.

They describe, afterwards, in detail the «rosettes» histogenesis.

The results of their most recent observations demonstrate that the so called «rosettes» merely represent transversal cuts of tubular formations sometimes anastomosed.

They conclude that these pseudo-rosettes are not comparable to those found in nervous tumors but they regard them as homologous

to those observed by Reese and coll. in the dysplasia of the retina. They ask if, in this last case, we are dealing with a mere coincidence or if there is an intimate pathogenic relation between both situations.

At last they call attention to the constancy and specificity of, the reaction on the whole central nervous system under the action of ionizing radiations: differentiation following transformation in tubes of cellular grooves developed from the ependymal surface. They admit, as hypothesis, that one might be dealing with a real «evocation» of the neural tube differentiation.

### BIBLIOGRAFIA

- BRIZZEE, K. R., JACOBS, A. L. et BENCH, J. C. — Effects of fractionated X — irradiation on fetal cerebral hemisphere. *Excerpta Medica, Nuclear Medicine, Sec. XXIII*, t. 3, 1287, 1966.
- BRIZZEE, K. R., JACOBS, L. A. et BENCH, C. J. — Histologic effects of total body X irradiation in various dose fractionation patterns on fetal cerebral hemisphere. *Radiation Res.*, 31, 415-429, 1967.
- D'AGOSTINO, A. N. et BRIZZEE, K. R. — Radiation necrosis and repair in rat fetal cerebral hemisphere. *Arch. Neurol.*, 15, 615-628, 1967.
- GOLDSTEIN, I. et WEXLER, D. — Rosette formation in the eyes of irradiated human embryos. *Arch. Ophth.*, 5, 591-600, 1931.
- HICKS, S. P. — Radiation as an experimental tool in mammalian developmental neurology. *Phys. Rev.*, 38, 337-356, 1958.
- HICKS, S. P. et D'AMATO, C. J. — How to design and build abnormal brains using radiation during developmental. In FIELD, W. S., DESMOND, M. M. (eds.): *Disorders of the developing nervous system*. Springfield, III: CHARLES C. THOMAS, Publisher, 1961.
- HICKS, S. P. et D'AMATO, C. J. — Malformations and regeneration of the mammalian retina following experimental radiation. In MACHAUX, L. et FELD, M. (eds.): *Coll. Int. Malform. Congenitale de l'Encéphale*, Paris, 1963.
- HICKS, S. P., D'AMATO, C. J. et LAWE, M. J. — The development of the mammalian nervous system. I. Malformations of the brain, especially the cerebral cortex induced in rats by radiation. II. Some mechanisms of the malformations of the cortex. *J. Comp. Neurol.*, 113, 435-470, 1959.
- HICKS, S. P. et LEIGH, R. C. — Time-intensity factors in radiation responses. *Arch. Path.*, 61, 226-238, 1956.
- INGALS, T. H., TEDESCHI, C. G. et HALPERN, M. M. — Congenital malformations of the eye induced in mice by material anoxia. *Am. J. Ophth.*, 35, 311-329, 1952.

- LEVI — MONTALCINI, R. et CALISSANO, P. — Les facteurs de croissance du nerf. Pour la Science, n° 22, pags. 12-21, Agosto, 1979.
- MORATO, M. J. X. et CORREIA, M. J. R. — La formation de rosettes cellulaires dans le système nerveux central d'embryons de poulet soumis à l'action des rayons X. Bull. Ass. Anat., 54<sup>o</sup> Congrès, Sofia, 1969, n.º 145, 294-299.
- MORATO, M. J. X. et CORREIA, M. J. R. — Acção das radiações ionizantes nos ovos embrionados de Galinha. II. Formação de rosetas celulares no sistema nervoso central e na retina. J. Soc. Ciênc. Med. Lisboa., CXXXIII, 710, 1 969.
- MORATO, M. J. X. et CORREIA, M. J. R. — Acção das radiações ionizantes nos ovos embrionados de Galinha. I. Observações preliminares. J. Soc. Ciênc. Méd. Lisboa, 133, 691, 1969.
- MORATO, M. J. X. et CORREIA, M. J. R. — Réactions du système nerveux embryonnaire des oiseaux aux rayons X. Arch. Port. Sci. Biol., 17, 87-93, 1970.
- MORATO, M. J. X. et CORREIA, M. J. R. — La différenciation de rosettes dans le système nerveux central chez l'embryon de Poulet soumis à l'action des rayons X. C.R. Soc. Biol., 164, 218, 1970.
- MORATO, M. J. X., ROGADO, L. Q. et CORREIA, M. J. R. — Acção das radiações ionizantes nos ovos embrionados de galinha. III. Reacção específica do núcleo mesencéfálico do nervo trigémio. J. Soc. Cien. Med., 140, 277-291, 1976.
- REESE, A. B. and STRAATSMA, B. R. — Retinal dysplasia. Amer. J. Ophth., 45, 199-211, 1958.
- ROIZIN, L., RUGH, R. et KAUFMAN, M. A. — Effects of ionizing radiation on the rat embryo central nervous system at the cellular and intercellular levels. Response of the nervous system to ionizing radiation. Second International Symposium, Boston, Little, Brouen and Company (eds.), 1964.
- ROIZIN, L., RUGH, R. et RAUFMAN, M. A. — Irradiation effects upon fetal central nervous system of *Macacus rhesus*. Effects on lisosomas. Acta Radiol., 5, 161-176, 1966.
- RUGH, R. — Histological effects on the embryo following X-radiation. J. Morphol., 85, 843-501, 1949.
- RUGH, R. — The use of ionizing radiations to determine the progression of differentiation of mammalian retina. Anat. Rec., 154, 485, 1967.
- RUGH, R. and SKAREDOF, L. — Radiations and radiomimetic chlorambucil and fetal retina. Arch. Ophth., 74, 382-393, 1965.
- RUGH, R. et WOLFF, J. — Réparation of fetal eye following radiation insult. Arch. Ophthalm., 54, 351-359, 1955.
- RUGH, R. et WOLFF, J. — Repair of the fetal retina following X-irradiation insult. Belgium: First Cong. Int. Soc. Neurol., 184-194, 1957.
- TANSLEY, K. — The formation of rosettes in the rat retina. Brit. J. Ophth., 17, 321-336, 1933.

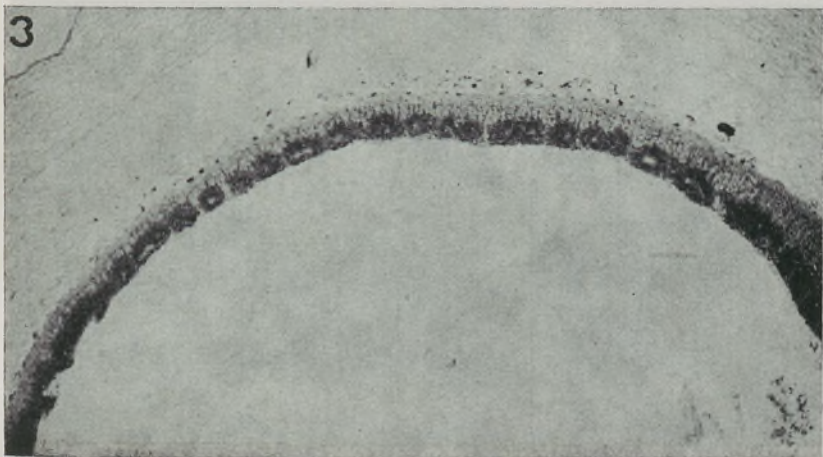
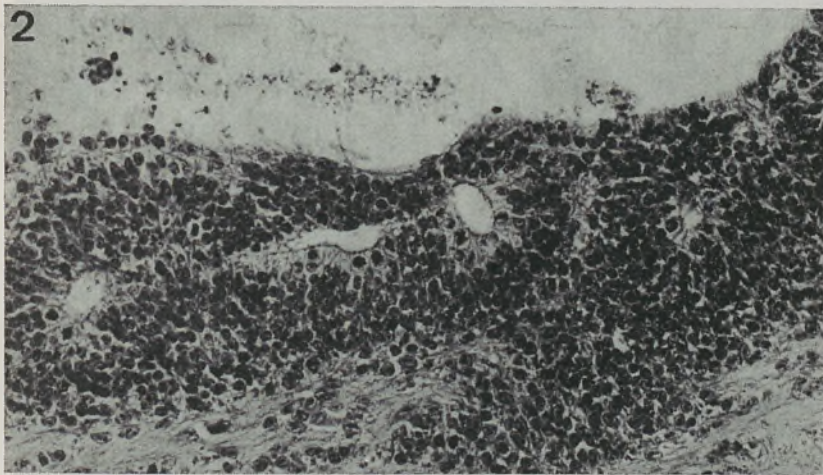
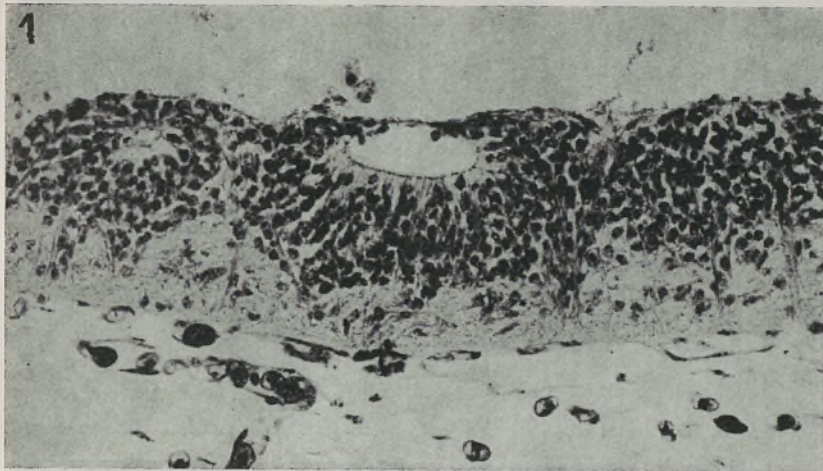


FIG. 1 — Embryon de Poulet au huitième jour d'incubation, irradié au cinquième jour (1020 rads-Rayons X). Début de la différenciation d'images en rosette dans le toit des lobes optiques.

FIG. 2 — Même ambryon de la fig. 1. Étape plus avancée de la différenciation des rosettes. Remarquer les nombreuses mitoses dans les cellules qui revêtent leur contour intérieur.

FIG. 3 — Idem. Ensemble de rosettes dans le toit des lobes optiques.

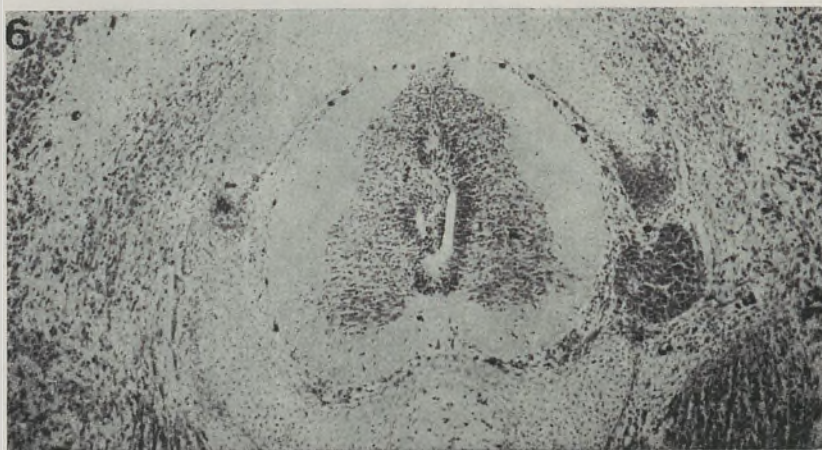
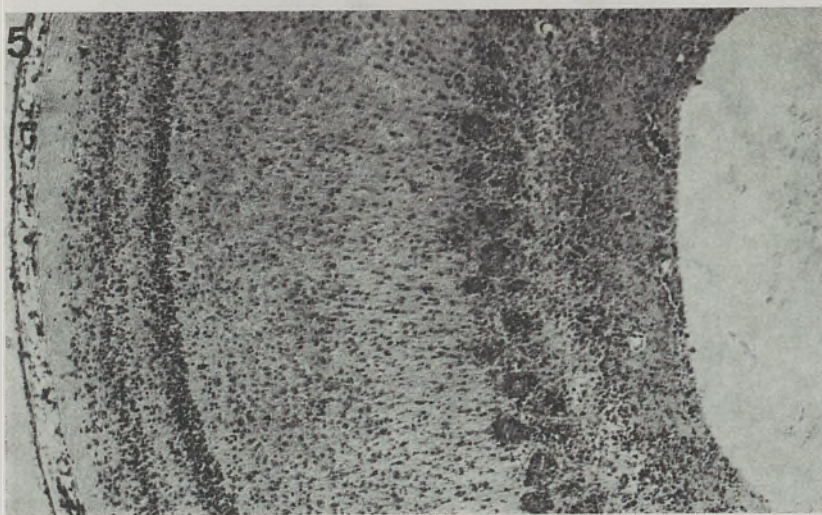


FIG. 4 — Idem. Ensemble de rosettes localisées symétriquement dans les parois du télencéphale.

FIG. 5 — Embryon à l'onzième jour d'incubation (1000 rads-Cobalt<sup>60</sup>). Paroi des lobes optiques. Fase de réparation: stratification du cortex; situation profonde des rosettes.

FIG. 6 — Même embryon de la fig. 1. Coupe transversale de la moelle épinière où l'on observe quelques rosettes développées aux dépens de la paroi du canal de l'épendyme.

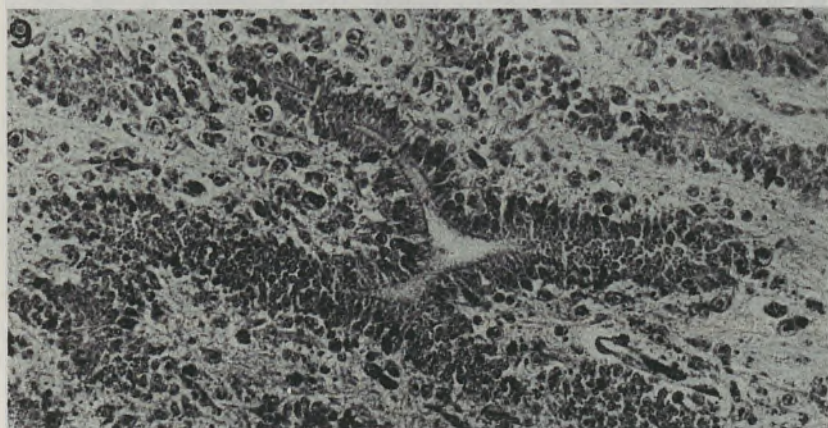
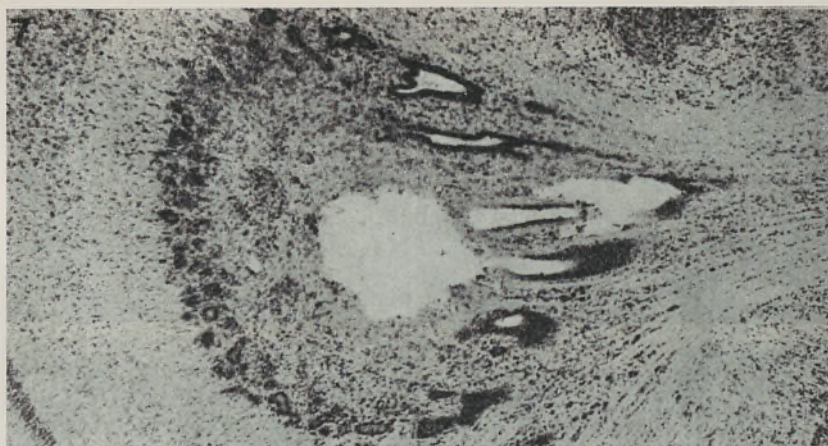


FIG. 7 — Embryon de la fig. 5. Dans la couche superficielle de la paroi des lobes optiques, les rosettes se présentent sous une forme circulaire; vers la profondeur, on remarque leur forme tubulaire.

FIG. 8 — Idem. Détail d'une coupe très proche de celle de la figure antérieure.

FIG. 9 — Idem. Coupe longitudinale de formations tubulaires anastomosées.

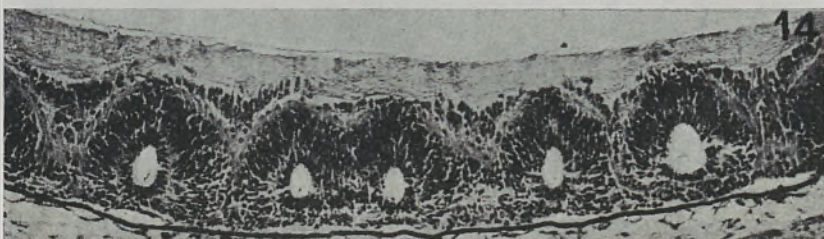
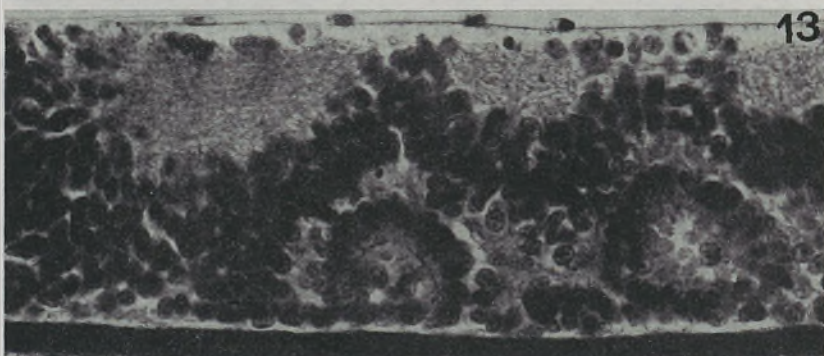
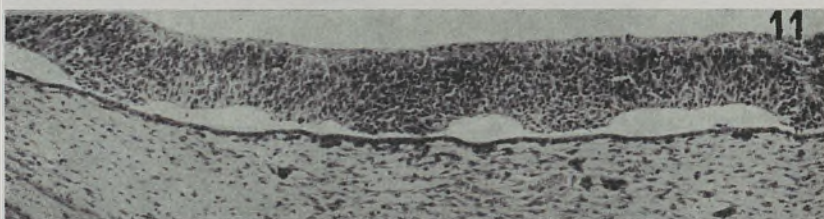
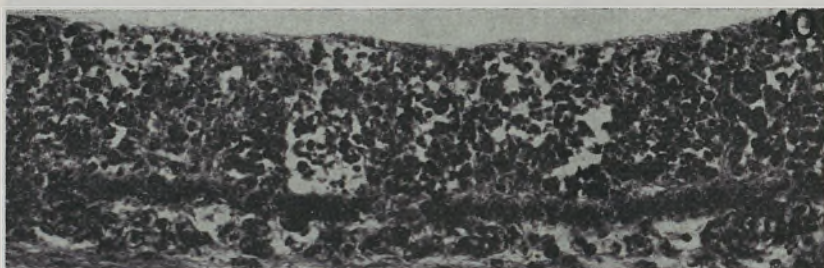


Fig. 9 — 14. — Same (Tata) from same in front of cells of the first anterior layer. Fig. 9 — 14. — Same (Tata) from same in front of cells of the first anterior layer. Fig. 9 — 14. — Same (Tata) from same in front of cells of the first anterior layer.





FIG. 10 — Embryon au sixième jour d'incubation, irradié au cinquième (1020 rads-Rayons X). Lésions précoces de la rétine. Désagrégation cellulaire très accentuée.

FIG. 11 — Embryon au septième jour d'incubation, irradié au cinquième jour (1020 rads-Rayons X). Début de la différenciation des rosettes rétinienne.

FIG. 12 — Embryon au seizième jour d'incubation, irradié au cinquième jour, du côté opposé à l'embryon (1005 rads-Rayons X). Un autre aspect du début de la différenciation des rosettes au niveau de la rétine.

FIG. 13 — Embryon au quatorzième jour d'incubation, irradié au cinquième jour (1005 rads-Rayons X). La différenciation de rosettes aux dépens de la couche nerveuse de l'espace supra-rétinien est plus avancée.

FIG. 14 — Embryon au dixième jour d'incubation, irradié au cinquième jour (1120 rads-Rayons X). Les rosettes rétinienne sont complètement développées.

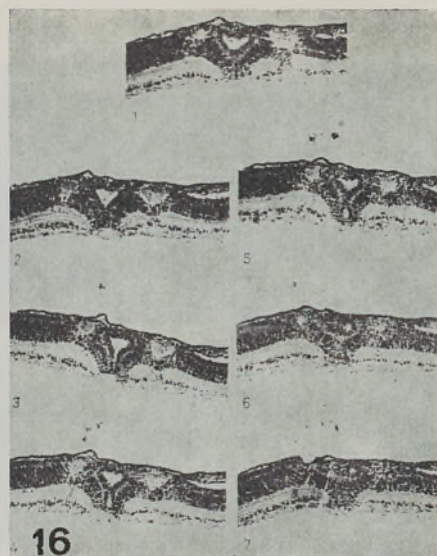
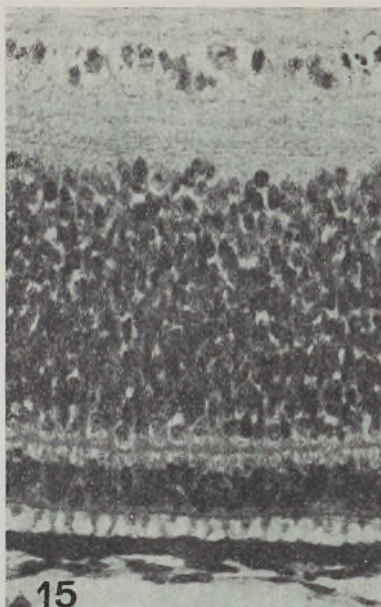


FIG. 15 — Embryon au quatorzième jour d'incubation, irradié au cinquième jour, du côté opposé à l'embryon (1005 rads-Rayons X). Dans ce territoire la réparation de la rétine est complète.

FIG. 16 — Embryon au seizième jour d'incubation, irradié au cinquième jour (1105 rads-Rayons X). Coupes sériées de la rétine. On vérifie indiscutablement que les dites rosettes ne sont que des coupes transversales de longues formations tubulaires.

FIG. 17 — Image histologique des lésions de displasie rétinienne (Reese).

FIG. 18 — Embryon au douzième jour d'incubation, irradié au cinquième jour. La rétine est totalement décollée. La figure correspond à une coupe tangentielle. L'image histologique est vraiment identique à celle de la figure 17.

## VII — MIGRATIONS CELLULAIRES ET FIBRILLAIRES ANOMALES DANS LE SYSTÈME NERVEUX CENTRAL

Dans un travail antérieur nous avons décrit un phénomène observé chez des embryons de *Gallus gallus* soumis aux rayons X ou radiation gamma, lequel était représenté par la migration dans le mésenchyme des cellules du noyau mésencéphalique du nerf trijumeau.

Une telle réaction migratoire ne semble correspondre à une activité orientée; tout se passe comme s'il s'agissait d'une véritable libération. En effet, les cellules du noyau mésencéphalique du nerf trijumeau sont considérées comme des cellules nerveuses sensorielles ganglionnaires, lesquelles, au contraire de leurs congénères, n'émigrent pas par la crête neurale et restent incluses dans le tronc cérébral. Chez les Oiseaux, ce noyau occupe, dans le toit du mésencéphale, la portion mince et médiane qui fait l'union entre les deux lobes optiques. Nous avons admis, par hypothèse, que cette inclusion intra-neurale normale de cellules à nature ganglionnaire traduirait une répression de leurs gènes; la migration de ces cellules resulterait d'un effet des-réprésser provoqué par les radiations. Le fait que ce phénomène n'avait pas jusqu'alors été observé que dans ces cellules était très favorable à cette hypothèse.

Les observations rapportées dans cette note nous mènent à une réflexion sur la validité de l'hypothèse citée.

Elles ont été faites sur un embryon de Poule prélevé à l'onzième jour et qui avait été irradié au quatrième jour de l'incubation (1000 rads-rays gamma).

On a observé les lésions habituelles dans ces conditions: les formations improprement appelées «rosettes», lesquelles s'originent aux dépens d'invaginations tubulaires de la paroi intérieure des cavités ventriculaires et du canal médullaire. Des lésions semblables existent aussi dans la rétine. Nous nous abstenons de les décrire ici.

Outre les lésions citées ci-dessus, nous avons eu l'occasion d'observer, dans le lobe optique droit de cet embryon, de véritables ruptures de la membrane basale du système nerveux embryonnaire; à travers ces solutions de continuité, les éléments du système nerveux, des cellules et des fibres ou des fibres seulement, sont sorties dans le mésenchyme avoisinant l'axe nerveux (Figs. 1 à 5). Quelques cellules ont un cytoplasme très réduit et peuvent être considérées de nature névroglie (Figs. 1, 2 et 3); dans d'autres cas, leur nature véritablement nerveuse ne peut être mise en doute (Figs. 3 et 4).

L'émigration de fibres nerveuses a aussi été observée. Dans quelques territoires, l'émergence des fibres présente une image histologique semblable à celle de l'émergence des racines nerveuses motrices et comme celle-ci accompagnée par de la migration de cellules névrogliales, les futures cellules de Schwann (Fig. 5). Dans quelques endroits, les formations migratoires sont exclusivement constituées par des agglomérations cellulaires (Fig. 2). Dans ce cas, un appauvrissement localisé des cellules du cortex du lobe optique peut avoir lieu, ce qu'il semble démontrer que la migration des cellules s'est faite en ensemble, à partir de territoires limités de la paroi de la vésicule cérébrale (Fig. 1). D'autres fois, l'altération de la stratification du cortex du mésencéphale est la conséquence de l'existence de fibres nerveuses ectopiques (Fig. 6).

Nous avons aussi eu l'occasion de trouver dans la paroi du même lobe optique des fibres nerveuses ramifiées et anastomosées qui se perdent en plein tissu conjonctif (Fig. 7 et 8).

De l'ensemble de ces observations une conclusion peut se dégager: que les phénomènes migratoires des cellules du noyau mésencéphalique du nerf trijumeau observés dans le système nerveux embryonnaire irradié ne sont pas exclusifs de ces cellules; on pourra donc se demander si l'on doit abandonner l'hypothèse précédemment formulée pour expliquer le phénomène. Au contraire, suivant notre avis, nous admettons qu'il faudra la généraliser.

Par son action sur la chromatine, les radiations provoqueront des altérations du programme génétique orienteur de la différenciation normale des tissus. En ce qui concerne la migration anormale des fibres nerveuses, on ne sait pas à quelle hypothèse se rallier. Malgré la connaissance de l'existence de facteurs chimiques capables de stimuler la croissance des fibres nerveuses (*Nerve Growth Factor*) nous trouvons

qu'il est plus prudent ne pas les invoquer pour expliquer cette croissance anarchique d'un certain nombre de fibres nerveuses embryonnaires irradiées. On décrit le phénomène sans en essayer une explication.

D'autre part, en ce qui concerne autant les cellules que les fibres, la réaction migratoire n'est pas généralisée; il faudrait donc en expliquer les localisations, ce qui, à ce moment, est tout à fait impossible. Mais, il nous semble qu'on ne devra pas oublier la possibilité de la lésion primaire siéger sur la membrane basale, comme il nous a été suggéré par David-Ferreira (1).

Pour terminer, nous voudrions attirer l'attention sur le caractère exceptionnel des migrations anormales des cellules et des fibres, décrites dans cette note, en comparaison avec la grande fréquence de la migration des cellules du noyau mésencéphalique du nerf trijumeau, chez les embryons irradiés.

#### RESUMO

Descrevem-se migrações anômalas de células e de fibras, na parede do lobo óptico direito de um embrião de Galinha com onze dias de incubação que havia sido irradiado (1000 rads) ao quarto dia.

A propósito da migração das células do núcleo mesencefálico do trigêmio descrita em trabalho anterior, havia-se aceitado, por hipótese, que a referida migração representava um fenómeno de des-repressão. As observações agora apresentadas não obrigam a rejeitar essa hipótese, antes a generalizá-la, tanto mais que as migrações aqui descritas são raras e as das células do núcleo mesencefálico do nervo trigêmio muito frequentes. Por outro lado, parece impossível encontrar uma explicação para a sua topografia.

---

(1) Communication personnelle.

## RÉSUMÉ

On décrit des migrations anormales de cellules et de fibres nerveuses dans la paroi du lobe optique droit chez un embryon de Poule à l'onzième jour d'incubation et qui avait été irradié (1000 rads) au quatrième jour.

À propos de la migration des cellules du noyau mésencéphalique du nerf trijumeau décrite dans un travail antérieur, on avait accepté par hypothèse qu'il s'agirait d'un phénomène de des-répression.

Les observations rapportées ici ne nous mènent pas à écarter cette hypothèse, mais plutôt à en accepter la généralisation, d'autant plus que les migrations décrites dans cette note sont très rares et celles des cellules du noyau mésencéphalique du nerf trijumeau sont, au contraire, très fréquentes. D'autre part, on ne trouve pas facilement une explication pour leur topographie.

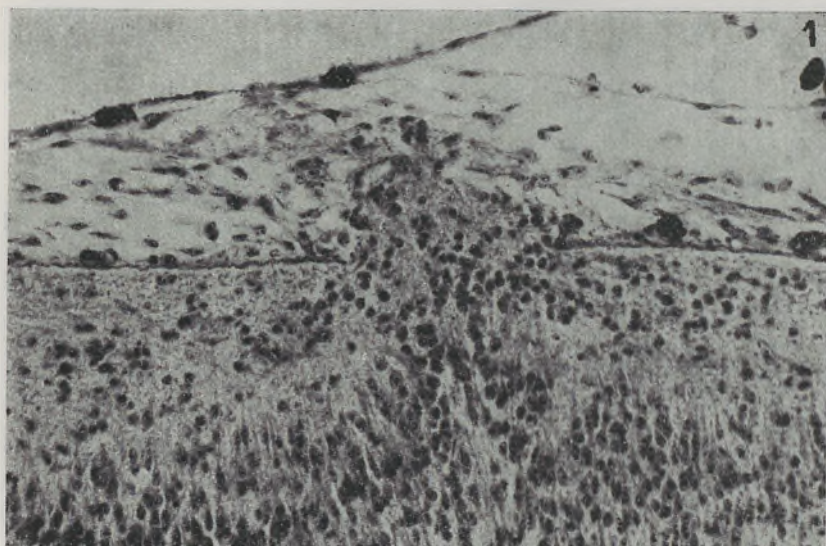
## SUMMARY

On the eleventh day of incubation, abnormal migrations of nervous cells and fibers are described in the right optic lobe wall of a Chicken embryo which had been irradiated (1000 rads) on the fourth day.

In a previous paper it had been hypothetically accepted that the abnormal migration of the cells of mesencephalic nucleus of the trigeminal nerve caused by the ionizing radiations, meant a derepression phenomenon.

The observations reported here, by no means compel to reject that hypothesis, instead, it turns out to be generalized, once that the migrations described here are rare and those dealing with the cells of the mesencephalic nucleus of the trigeminal nerve are constant.

On the other hand it seems quite uneasy to explain their topography.



Embryon de Poulet à l'onzième jour d'incubation, irradié au quatrième jour (1000 rads-Cobalt<sup>60</sup>). Paroi du mésencéphale (lobes optiques).

FIG. 1 — Interruption de la membrane basale. Irruption d'éléments cellulaires et fibres nerveuses, à travers les couches superficielles du cortex.

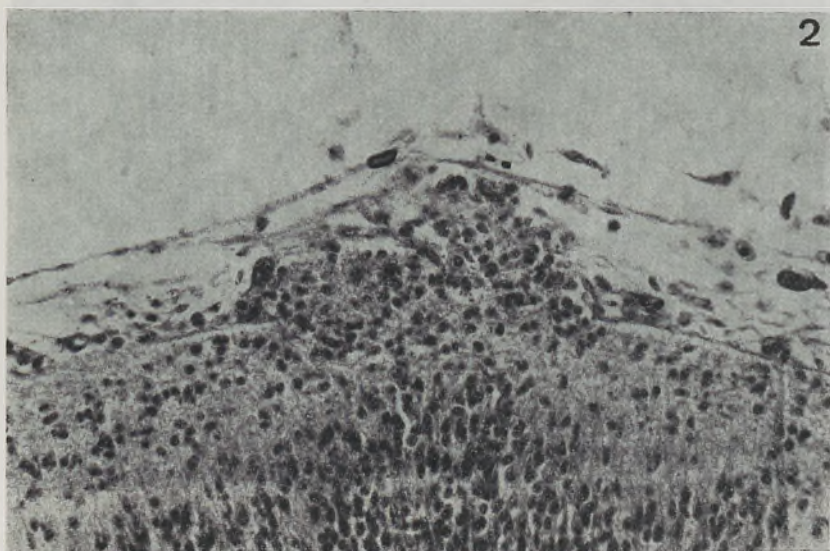


FIG. 2 — Un autre aspect du phénomène représenté dans la Fig. 1.



FIG. 3 — Migration à prédominance de fibres et de quelques cellules nerveuses.  
La membrane basale est interrompue dans deux endroits.

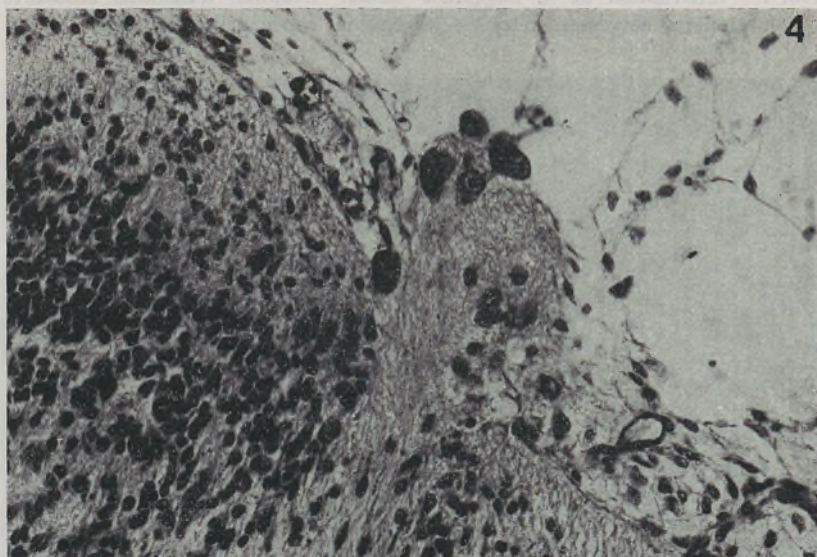


FIG. 4 — Un autre aspect du phénomène représenté dans la fig. 3.



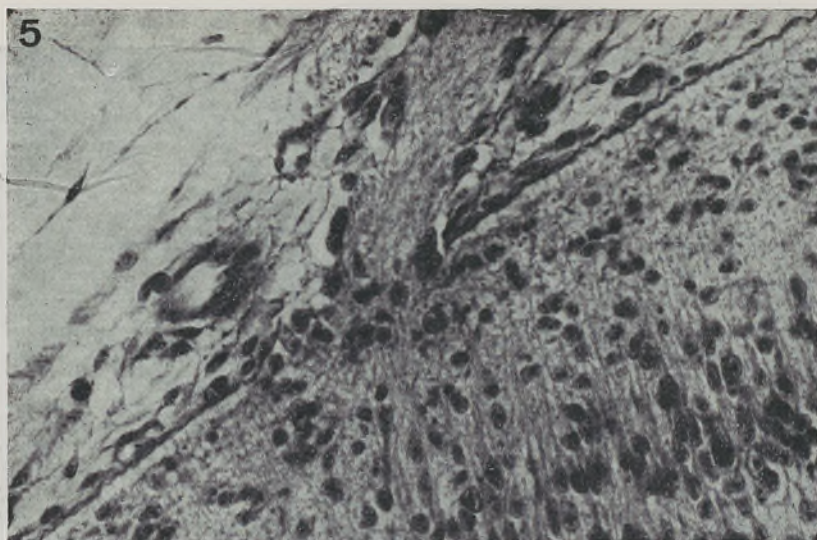


FIG. 5 — Migration de fibres nerveuses et de quelques cellules. Image pareille à celle de l'émergence d'une racine motrice.

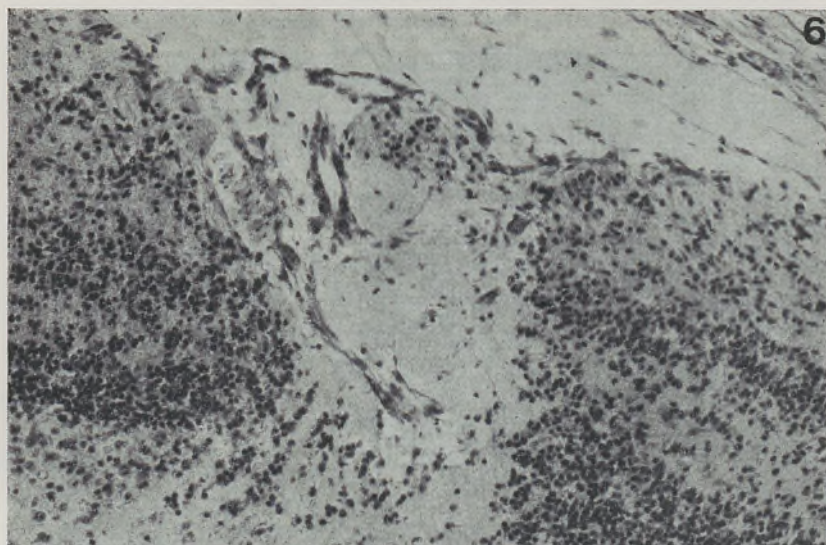


FIG. 6 — Interruption de la stratification du cortex mésencéphalique par des fibres nerveuses ectopiques.

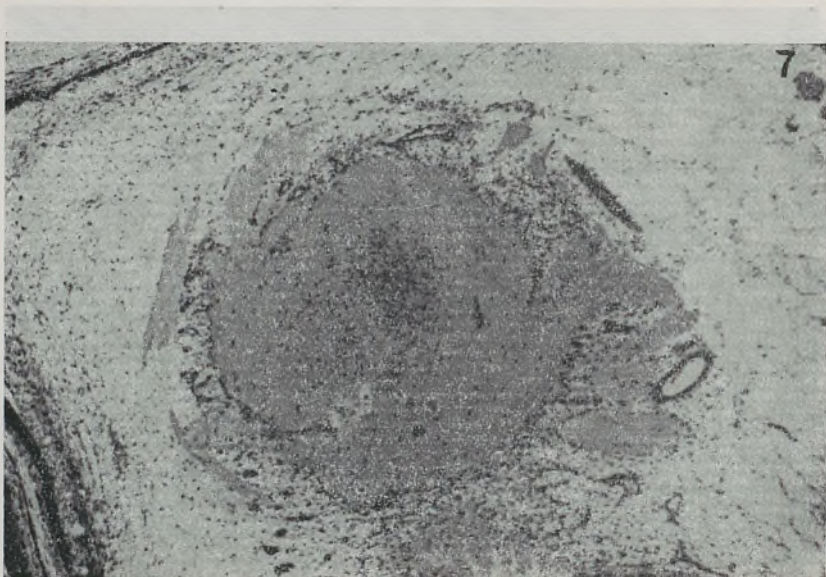


FIG. 7 — Coupe superficielle du lobe optique droit. Migration irrégulière des fibres nerveuses.



FIG. 8 — Coupe plus profonde que celle de la Fig. 7. Un autre aspect de la migration ectopique de fibres nerveuses à disposition plexiforme.

# MORPHOLOGY OF INTERCELLULAR BRIDGES BETWEEN DEVELOPING GERM CELLS IN THE GOLDEN HAMSTER (*Mesocricetus auratus*)

ROGÉRIO DOS SANTOS CARDOSO TEIXEIRA

*Key words.* Intercellular bridges. Germ cells. Electron microscopy. Hamster ovaries.

*ABSTRACT.* This work describes the intercellular bridges between oogonia and between early oocytes at different stages of meiotic prophase for the golden hamster. The intercellular bridges are only observed in the oogonia, the leptotene, the zygotene and the pachytene stages. They are characterized by presenting the following components: a plasma membrane (unit-membrane) which is continuous with the cellular membranes of both the germ cells; b) an intercellular fibrillar dense band, 30 to 70 nm thick, lying directly beneath the limiting membrane of the bridge, and c) the cytoplasmic with mitochondria, endoplasmic reticulum, free ribosomes, elements of Golgi apparatus and microtubules. The presence of these cytoplasmic organelles within bridges suggest that these connections may provide a means for transfer organelles from one germ cell to another as well as for the synchronization of meiotic events.

## INTRODUCTION

The golden hamster ovary has been studied at the ultrastructural level (Austin, 1965; Odor, 1965; Hadek, 1966; Weakley, 1966; Szollosi, 1967; Longo, 1974); but the occurrence of intercellular bridges between germ cells has been shown only in a single micrograph by

Weakley, 1967. The significance of these bridges in the ovary has been briefly commented upon only by Zamboni, 1968 and Ruby et al., 1969. These authors suggest that bridges between developing germ cells, may provide a method for their synchronous development. They further suggest that those germ cells which do not lose their intercellular connections are destined to degenerate.

This work defines more precisely the ultrastructural organization of intercellular bridges between oogonia and between early oocytes at different stages of meiotic prophase and is an attempt to further clarify their function in the golden hamster.

## MATERIALS AND METHODS

For light and electron microscopic studies ovaries were removed from fetuses at 14 and 15 days postfertilization, and from newborn animals at 24 hours intervals during the first week of postnatal life. A total of 20 litters were processed. Ovaries were cut into small fragments and prefixed (at 4.° C) for one hour in 3% glutaraldehyde in 0.1M phosphate buffer at pH 7.3, then washed four times in phosphate buffer, and postfixed in buffered 2% osmium tetroxide for two hours (at 4.°C). Specimens were dehydrated in a graded series of ethanol, embedded in Epon 812 (Luft, 1961) after two changes in propylene oxide. The blocks were then trimmed in a LKB Pyramitome and sectioned in a LKB Ultratome.

Thick (1  $\mu$ ) sections of the Epon 812 embedded tissue were placed on glass slides, warmed on a hot plate, and stained with 1% toluidine blue (pH8-10), for the purposes of orientation and studied by light microscopy.

Thin sections were mounted on grids and stained with uranyl acetate (Watson, 1958) and lead citrate (Reynolds, 1963).

All micrographs were taken with a Siemens Elmiskop 101 Electron Microscope.

## RESULTS

The oogonia at interphase were observed in fetal days 14 and 15. The nucleus of oogonia contains the nuclear envelope, the nucleoplasm, the chromatin and the nucleolus. The intercellular bridges were observed between two interphase oogonae (figs. 1, 2, 3 and 4).

The inset in fig. 1 is a light micrograph of an Epon 812 section through an ovary taken from a 14 day embryo, and the electron micrograph represents an intercellular bridge connecting two interphase oogonia. Boundaries of the bridge (B) are continuous with the plasma membranes (M) of the connected cells. Notice that the dense border of the bridge does not extend beneath the oogonia plasmalema.

The electron micrograph in fig. 2 shows an intercellular bridge that contains a mitochondrion (M), free ribosomes (R) and vesicular elements (V). The electron micrograph in fig. 3 shows an oogonia connected to two adjacent oogonae by two intercellular bridges.

The electron micrograph in fig. 4 shows a transverse section of an intercellular bridge between two oogonae. Microtubules pass through the confines of the bridge (T).

Between the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> postnatal days oocytes at the leptotene stage were 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). Intercellular bridges were also observed between two oocytes (figs. 5, 6, 7 and 8).

The inset in fig. 5 is a photomicrograph of a section of an ovary illustrating numerous oocytes in leptotene stage. The electron micrograph shows an intercellular bridge in tangential section (B).

In the electron micrographs in figs. 6 and 7 an intercellular bridge connecting two oocytes can be observed.

Fig. 8 shows an electron micrograph of an intercellular bridge in tangential section. Microtubules (T) and free ribosomes (R) can be observed within its confines.

Between the 3<sup>rd</sup> and 5<sup>th</sup> postnatal days oocytes at the zygotene stage and intercellular bridges were observed (figs. 9, 10, 11 and 12). The nucleus contains paired chromosomal threads (zygotene chromosomes).

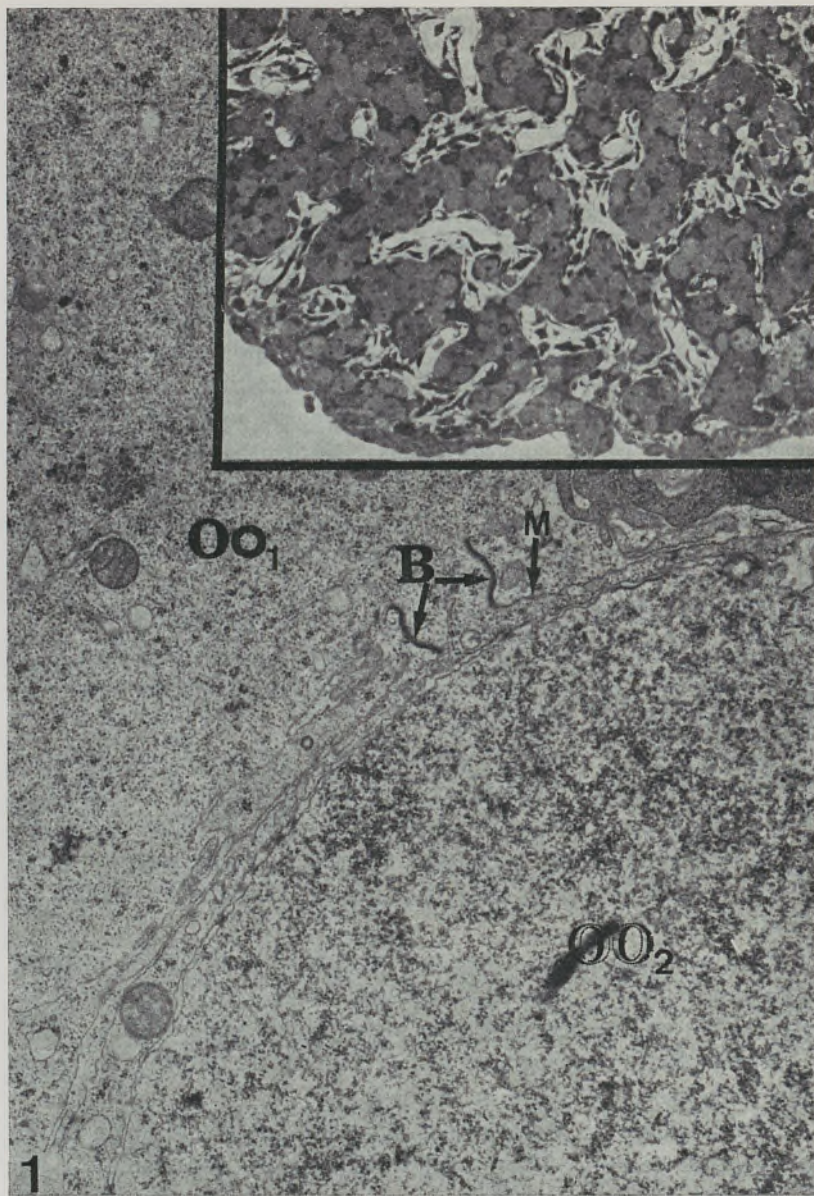


FIG. 1. Fetal day 14. Electron micrograph of an intercellular bridge between two interphase oogonae (OO<sup>1</sup> and OO<sup>2</sup>). Boundaries of the bridge (B) are continuous with plasma membranes (M) of the connected cells. Note that the dense border of the bridges does not extend beyond the oogonia plasmalemma. Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon<sub>812</sub>.  $\times 18,000$ .

*The inset is a light micrograph of an Epon 812 section through a fetus taken from a 14 days old embryo. Toluidine blue stain.  $\times 347$ .*

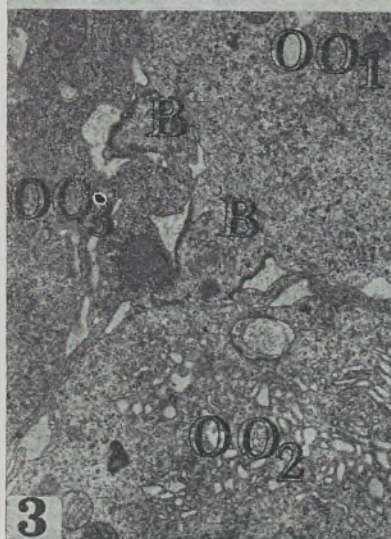
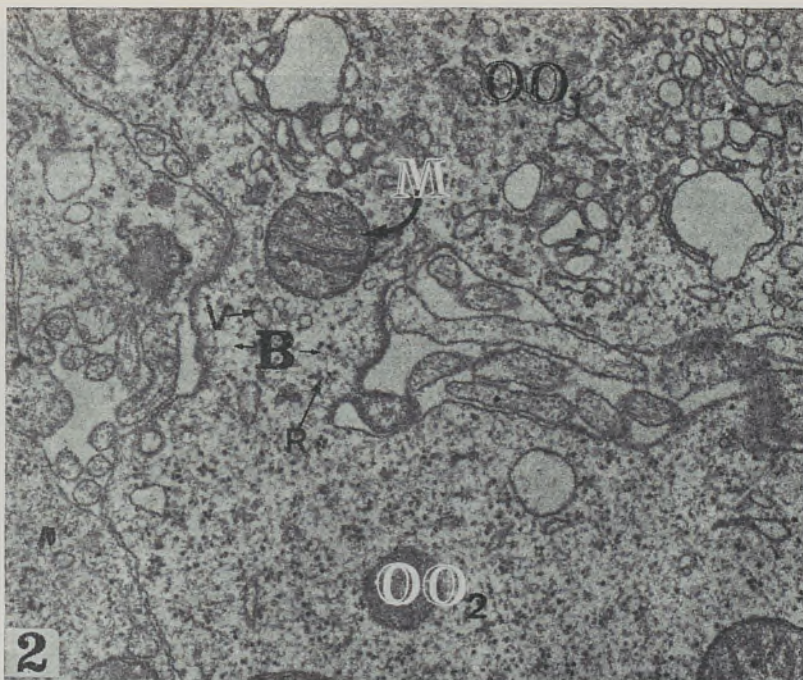


FIG. 2. Fetal day 15. An intercellular bridge (B) connecting two interphase oogonia ( $OO^1$  and  $OO^1$ ). This bridge contains a mitochondrion (M), free ribosomes (R) and vesicles (V). Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times 33,000$ .

FIG. 3. Fetal day 15. One oogonia ( $OO_1$ ) connected to two adjacent oogonia ( $OO_2$  and  $OO_3$ ) by two intercellular bridges (B). Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times 21,000$ .

FIG. 4. Fetal day 15. Transverse section of an intercellular bridge between two oogonia ( $OO_1$  and  $OO_2$ ). Microtubules (T) pass through the confines of the bridge. Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times 24,000$ .

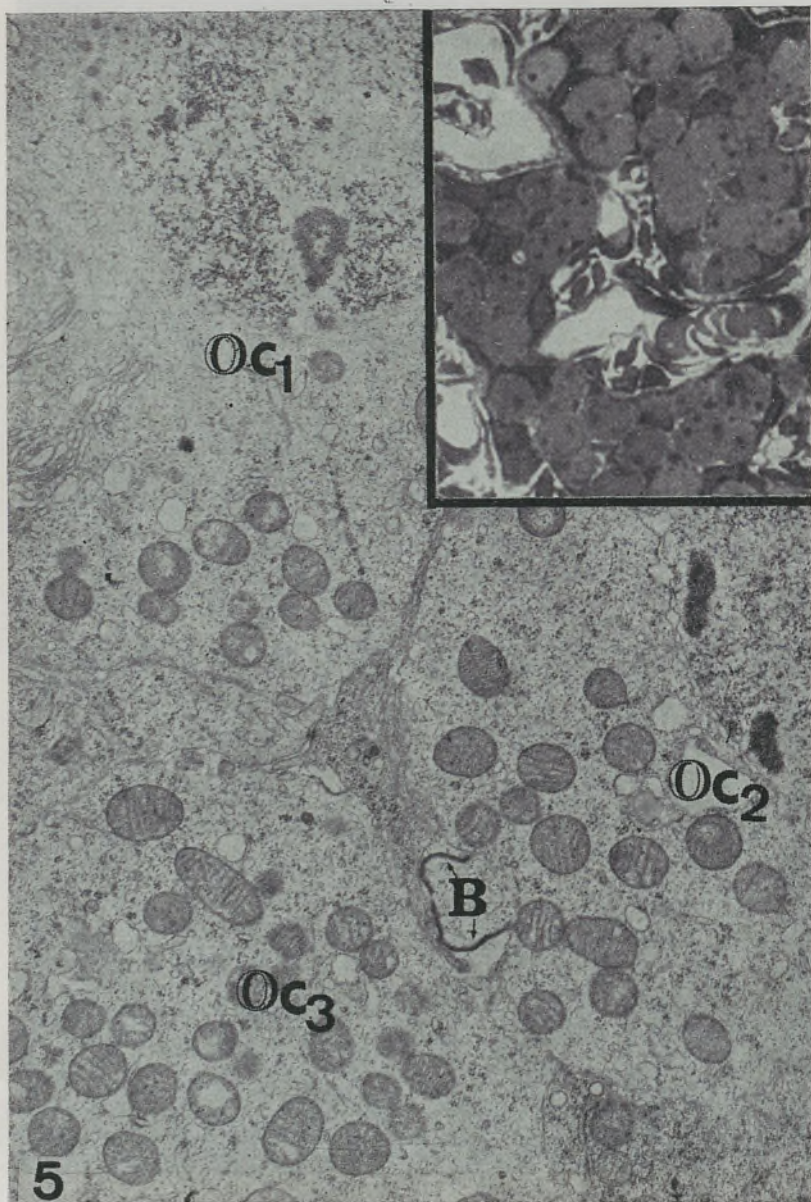


FIG. 5. Postnatal day 1. Electron micrograph of an intercellular bridge observed in tangential section (B). Oc, oocyte. Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times 18,000$ .

The inset is a photomicrograph of a section of an ovary illustrating numerous oocytes (Oc) in leptotene stage. Toluidine blue stain.  $\times 800$ .



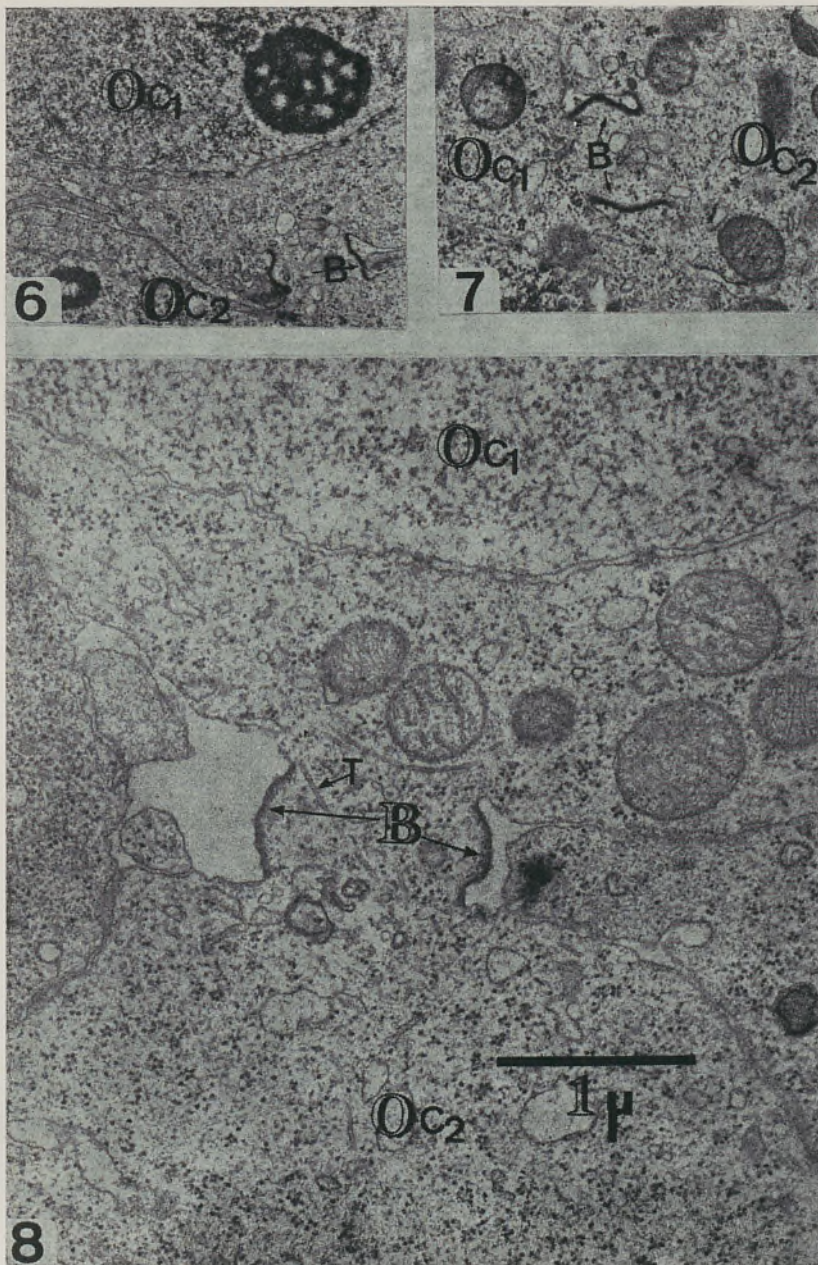


FIG. 6. Postnatal day 2. Two oocytes (Oc<sub>1</sub> and Oc<sub>2</sub>) connected by an intercellular bridge (B). Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times 18,000$ .

FIG. 7. Postnatal day 2. An intercellular bridge (B) connecting two oocytes (Oc<sub>1</sub> and Oc<sub>2</sub>). Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times 21,000$ .

FIG. 8. Postnatal day 2. Electron micrograph of an intercellular bridge observed in tangential section (B). Microtubules (T) and free ribosomes (R) are observed within its confines. Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times 30,000$ .

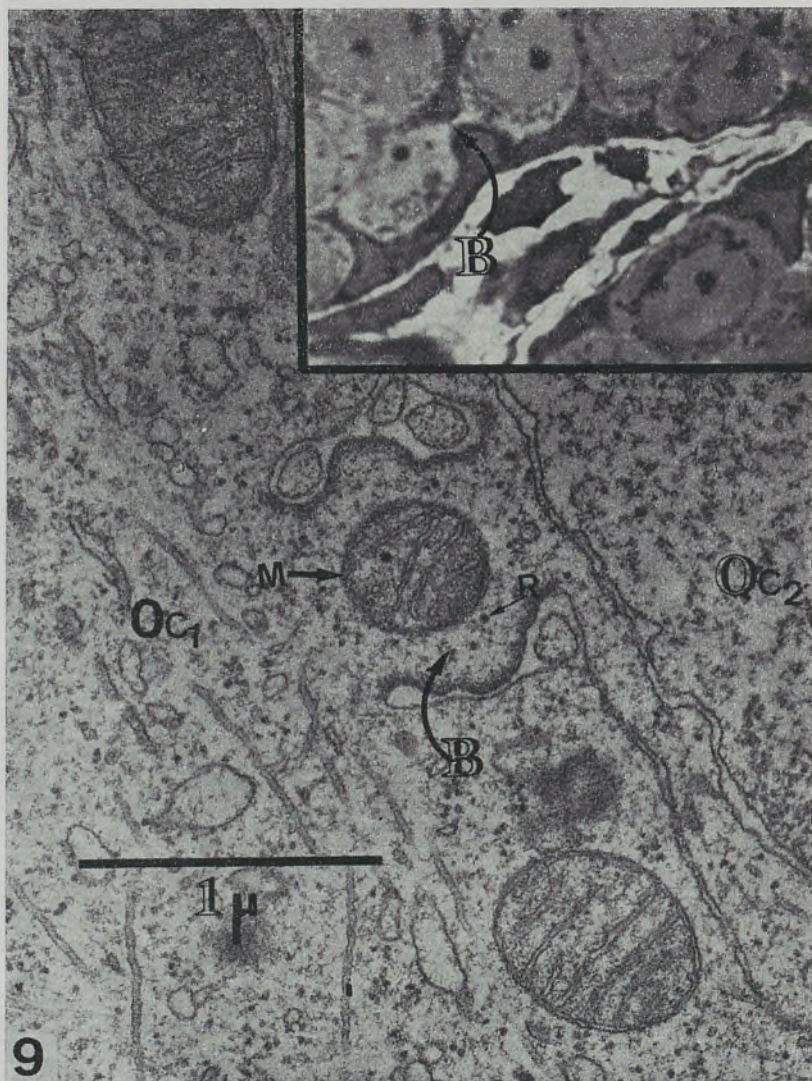


FIG. 9. Postnatal day 3. Electron micrograph of an intercellular bridge between two oocytes (Oc<sub>1</sub> and Oc<sub>2</sub>). This bridge contains a mitochondrion (M) and free ribosomes (R). Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times 48,000$ .

The inset is a photomicrograph of a section of an ovary illustrating oocytes zygote stages. Toluidine blue stain.  $\times 1,120$ .

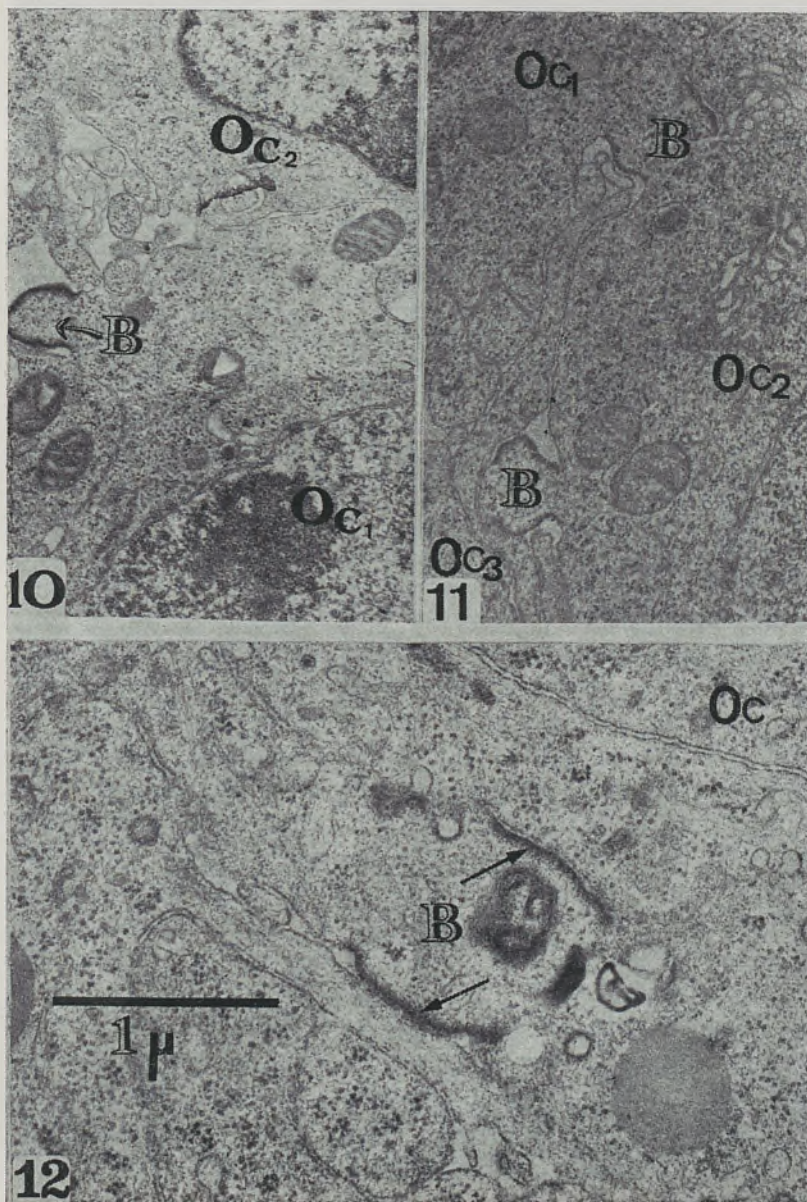


FIG. 10. Postnatal day 4. Bridge (B) connecting two meiotic oocytes ( $Oc_1$  and  $Oc_2$ ).  
Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times 48,000$ .

FIG. 11. Postnatal day 4. An oocyte ( $Oc_2$ ) connected to two adjacent oocytes  
( $Oc_1$ ,  $Oc_3$ ) by two intercellular bridges (B). Glutaraldehyde-osmium tetroxide.  
Epon 812.  $\times 21,000$ .

FIG. 12. Postnatal day 4. Ooplasm from a single oocyte ( $Oc^1$ ) surrounds an inter-  
cellular bridge (B). Note the band of electron dense material only beneath the plasma  
membrane of the bridge (arrows). Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times$   
 $\times 36,000$ .

The inset in fig. 9 is a photomicrograph of a section of an ovary illustrating oocytes zygote stages. The electron micrograph shows an intercellular bridge between two oocytes. This bridge contains a mitochondrion (M) and free ribosomes.

The electron micrograph in fig. 10 shows a bridge connecting two oocytes. Mitochondrion (M) happens to be passing from one cell to the other.

The electron micrograph in fig. 11 shows an oocyte connected to two adjacent oocytes by two intercellular bridges, and the electron micrograph in fig. 12 shows ooplasm from a single oocyte that surrounds an intercellular bridge (B). Note that the band of electron dense material lies only beneath the plasma membrane of the bridge (arrows).

Between the 4<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> postnatal days, oocytes at the pachytene stage and intercellular bridges were observed (figs. 13, 14, 15, 16 and 17). The nucleus contains synaptonemal complexes ending at the inner nuclear membrane.

The inset in fig. 13 shows a photomicrograph of a section of an ovary illustrating oocytes in the pachytene stage of meiotic prophase. The electron micrograph in the same figure shows an intercellular bridge (B) between two oocytes. The electron dense material inside the plasma membrane of the bridge is 30-70 nm thick (arrows). This material does not extend beyond the boundaries of the membrane of the bridge between both oocytes (see arrows).

The electron micrograph in fig. 14 shows an intercellular bridge bounded by a unit-membrane as well (arrows). The electron dense material inside the plasma membrane of the bridge is 30-70 thick (E). This bridge contains vesicles (V), free ribosomes (R) and microtubules (T).

Each of the electron micrographs in figs. 15 and 16 show an intercellular bridge connecting two meiotic oocytes and fig. 17 shows an intercellular bridge in tangential section.

## DISCUSSION

The frequency with which I found intercellular bridges in hamster ovaries (between 70-80%) of the germ cells studies make me think that their number is very high and that they form a large net of inter-

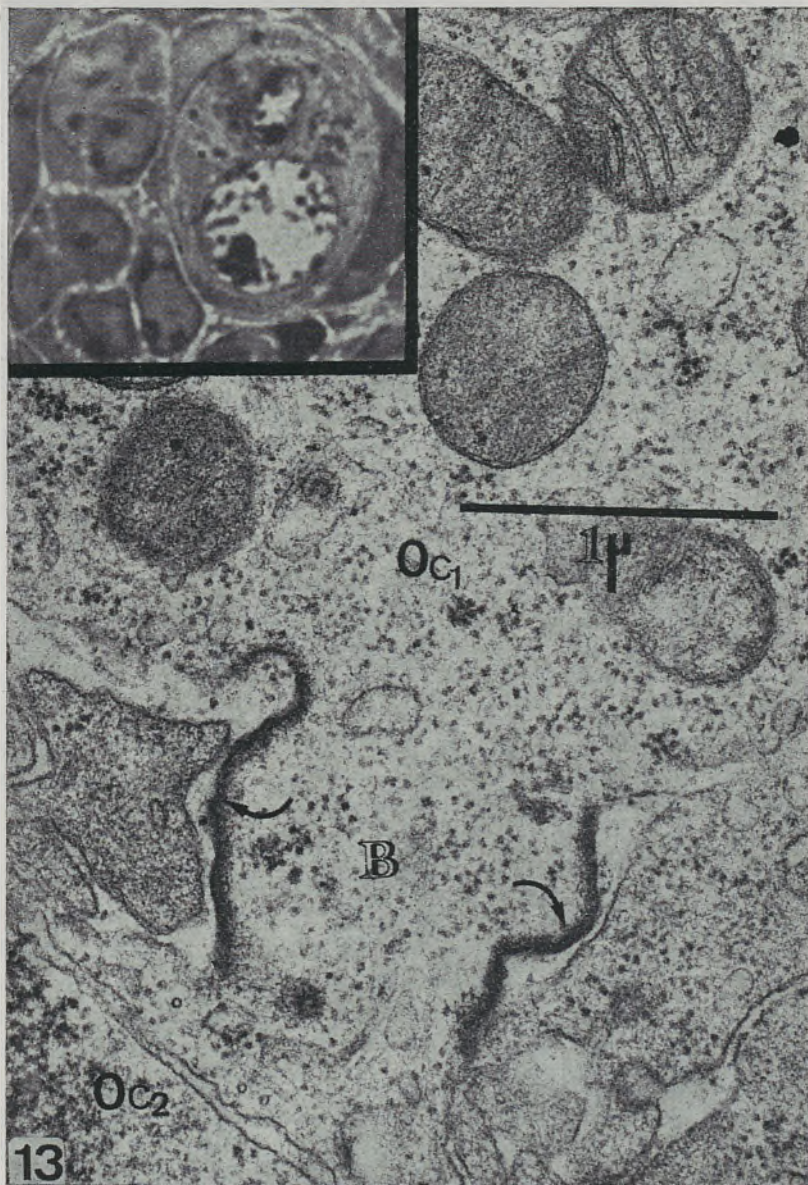


FIG. 13. Postnatal day 5. Electron micrograph of an intercellular bridge (B) between two oocytes (Oc<sub>1</sub> and Oc<sub>2</sub>). The electron dense material inside the plasma membrane of bridge is 30-70 nm thick (arrows). This material does not extend beyond the oocyte cell membrane (arrows). Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times 52,000$ .

The inset is a photomicrograph of a section of an ovary illustrating oocytes (Oc) in the pachytene stage of meiotic prophase. Toluidine blue stain.  $\times 1,100$ .

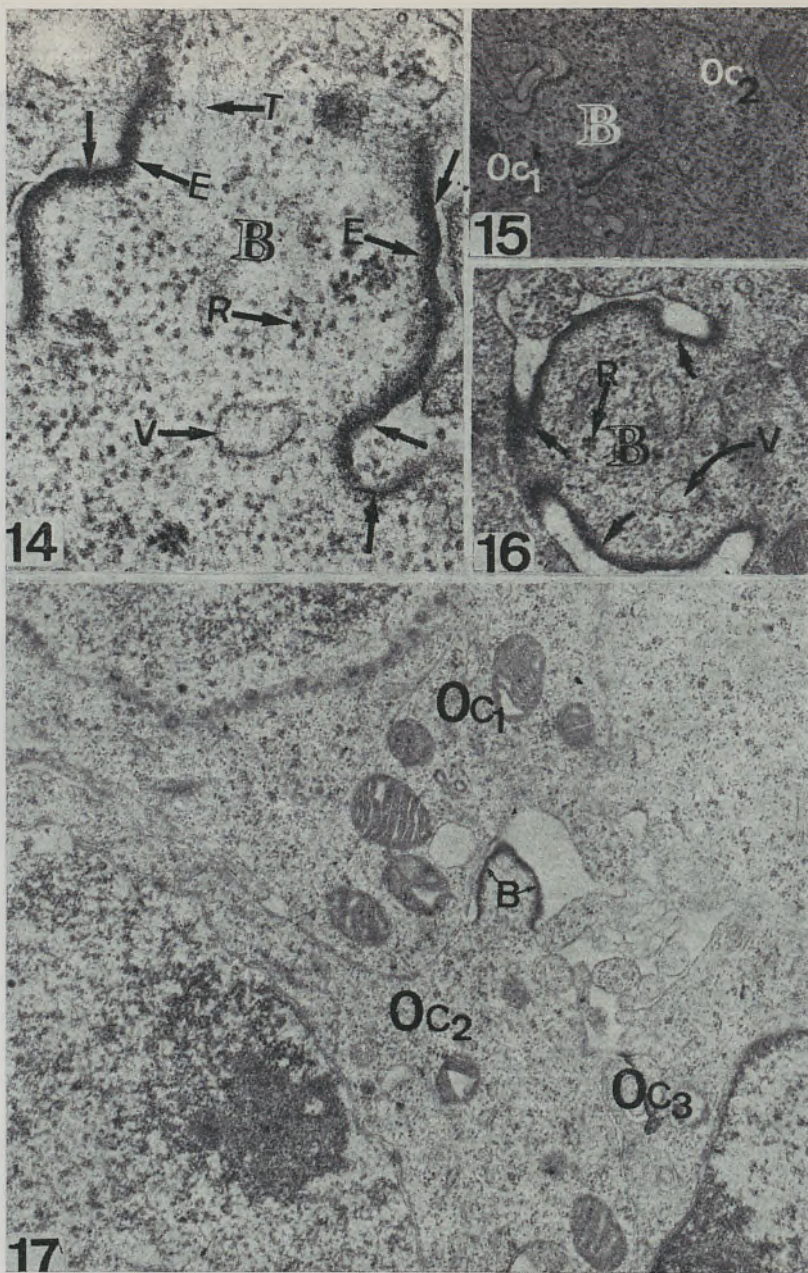


FIG. 14. Postnatal day 6. An intercellular bridge (M) bounded by a unit-membrane (arrows). The electron dense material inside the plasma membrane of the bridge is 30-70 nm thick (B). This bridge contains a vesicle (V), free ribosomes (R) and microtubules (T). Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times 52,000$ .

FIG. 15. Postnatal day 6. Bridge (B) connecting two meiotic oocytes ( $Oc_1$ ,  $Oc_2$ ). Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times 21,000$ .

FIG. 16. Postnatal day 6. Intercellular bridge (B) with ribosomes (R) and vesicles (V). The electron dense material inside the plasma membrane of the bridge is 30-70 nm thick (arrows). Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times 36,000$ .

FIG. 17. Postnatal day 6. Electron micrograph of an intercellular bridge (B) observed in tangential section. Glutaraldehyde-osmium tetroxide. Epon 812.  $\times 21,000$ .

cellular bridges. Therefore the existence of a differentiation of the germ cells in multiple groups is obvious.

The ubiquitous nature (Beaumont et al., 1962; Borum, 1961; Ioannou, 1964; Nagano, 1961; Peters et al., 1970; Ruby et al., 1970) of intercellular bridges is reflected on their structural resemblance independently from the class or species in which they were found.

This morphological similarity is also evident in the spermatogenesis, since intercellular bridges were also found in spermatogenic cells.

This present work supports the suggestion made by Fawcett, 1961, that intercellular bridges may be originated by incomplete cytokinesis of mitotically active germ cells. The fact of having observed microtubules in the cytoplasm of the bridges made me reach the conclusion that intercellular bridges are in fact the product of a sequence of mitotic divisions characterized by incomplete separation of daughter cells. In fact, in a normal mitosis, the cellular body in the end of anaphase presents a constriction or a contractile ring, responsible for the accomplishment of the cytokinesis. In the hamster and probably in other mammals, the two daughter cells, in telophase, are joined for some time by a cylindrical cytoplasmic formation designed in electron microscopy as intercellular bridge. Incomplete cell separation, repeating itself at each mitotic division, originates the constitution of cell clusters.

Studies of the mitosis ultrastructure (Schroeder, 1970), demonstrated that in anaphase cortical microfilaments 3-7 nm long contribute to a transitory cellular organelle, the contractile ring, which appears to be responsible for the completion of cytokinesis. Therefore I conclude that this dense material, which can clearly be observed in the internal wall of the lateral membrane of intercellular bridges (figs. 1-17) derives from the contractile ring.

From a functional point of view, the presence in the cytoplasm of intercellular bridges of a certain population of materials and organelles (figs. 1-17) made me want to suggest that the bridges should be used as channels to transfer substances, genetical information, and organelles between the connected germ cells. The change of materials and information among connected cells contributes to the existence of a synchronized type of cellular differentiation, which appears during the multiplication period of the oogonia and in the beginning of the meiotic prophase.

My suggestion is similar to the hypothesis made by Fawcett, 1961, related to intercellular bridges of spermatogenetic cells. Those cells are also differentiated in a group on account of the presence of intercellular bridges.

Other Authors (Borum, 1961; Ioannou, 1964) support that intercellular bridges are responsible for the degeneration of germ cells in the first stages of oogenesis. It is usually accepted for most of the mammals, after the migration of primordial cells for the sketch of the future gonad that oogonia divide by mitosis and from a certain moment of animal development on the mitosis ceases, the oogonia population ceases to grow and the stock of germ cells is accomplished. Meanwhile some germ cells come to disappear by degeneration, while others don't. The mechanisms by which some germ cells manage to escape degeneration, while the majority don't wasn't grasped yet.

It seems to me that an explanation of this phenomenon could be the accomplishment of cell division.

The intercellular bridges in the hamster ovary, which connected two or more germ cells, are frequently seen prior to the diplotene stage. Although these connections exist in various forms, they all possess a common characteristic. In general, they are laterally bound by a tri-laminar unit-membrane, which is continuous with the cellular membranes of both germ cells (figs. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 and 17). An intercellular dense band 30 to 70 nm thick lies directly beneath the limiting membrane of the bridge (figs. 12, 13 and 14). This dense material extends along the full length of the connection, but rarely continues beyond the cellular membrane of the germ cell (figs. 1-17). The ooplasm in the bridges is similar to that of the connected germ cells, but it occasionally appears somewhat lighter (figs. 1-17). The dense border limiting the bridges allows them to be easily identified (figs. 1-17). Cytoplasmic organelles have been observed within the intercellular bridges, including free ribosomes (figs. 1-17), vesicles (figs. 2, 8, 14 and 16), microtubules (figs. 4, 8 and 14) and mitochondria (figs. 2, 9 and 10).



## REFERENCES

- AUSTIN, C.R.: Cortical granules in hamster eggs. *Exptl. Cell Res.* 10: 535-540 (1956).
- BEAUMONT, H.M. and Mandl, A.M.: A quantitative and cytological study of oogonia and oocytes in foetal and neonatal rat. *Proc. Roy. Soc. Biol.* 7: 155-557 (1962).
- BORUM, K.: Oogenesis in the mouse. A study of the meiotic prophase. *Exptl. Cell Res.* 24: 495-507 (1961).
- FAWCETT, D.W.: Intercellular bridges. *Exptl. Cell Res., Suppl.* 8: 174-187 (1961).
- HADÉK, R.: Cytoplasmic whorls in the golden hamster oocyte. *J. Cell Sci.* 1: 281-282 (1961).
- IOANNOU, J.M.: Oogenesis in the guinea pig. *J. Embryol. Exp. Morph.* 12: 673-691 (1964).
- LONGO, F.: An ultrastructural analysis of spontaneous activation of hamster eggs aged in vivo. *Anat. Rec.* 179: 27-56 (1974).
- LUFT, J.H.: Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9: 409-414 (1961).
- NAGANO, T.: The structure of cytoplasmic bridges in dividing spermatocytes of the rooster. *Anat. Rec.* 141: 73-79 (1961).
- ODOR, D.L.: The ultrastructure of unilaminar follicles of the hamster ovary. *Am J. Anat.* 116: 493-522 (1965).
- PETERS, H.: Migration of gonocytes into the mammalian gonad and their differentiation. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lon.* 259: 91-101 (1970).
- REYNOLDS, E.S.: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17: 208-212 (1963).
- RUBY, J.R.; Dyer, R.F. and Skalko, R. G.: The occurrence of intercellular bridges during oogenesis in the mouse. *J. Morph.* 127: 307-340 (1969).
- RUBY, J.R.; Dyer, R.G.; Skalko, R.G. and Volpe, E.P.: Intercellular bridges between germ cells in developing ovary of the tadpole, *Rana pipiens*. *Anat. Rec.* 167: 1-10 (1970).
- SCHROEDER, T.E.: The contractile ring. I. Fine structure of dividing mammals (Hela) cells and the effects of cytochalasin. *Z. Zellforsch.* 109: 431-449 (1970).

- SZOLLOSI, D.: Development of cortical granules and the cortical reaction in rat and hamster eggs. *Anat. Rec.* 159: 431-446 (1967).
- TEIXEIRA, R.S.C.: A ovogénese no *Mesocricetus auratus*. Estudo citológico ao Microscópio Electrónico. Ph. D. thesis, University of Coimbra. Portugal (1973).
- WATSON, M.L.: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4: 475-478 (1958).
- WEAKLEY, B.S.: Light and electron microscopy of developing germ cells and follicle cells in the ovary of the golden hamster. *J. Anat.* 101: 435-459 (1967).
- ZAMBONI, L. and Gondos, B.: Intercellular bridges and synchronization of germ cell differentiation during oogenesis in the rabbit. *J. Cell Biol.* 36: 276-282 (1968).

## SCINTIGRAPHY OF THE LYMPHATIC NODES OF THE EFFERENTS OF THE DOG'S HEART\*

J. J. P. DE LIMA  
P. ALCANTARA  
D. S. GARCIA  
H. M. MACEDO

The lymphatics of the dog's heart are known to drain through the tracheobronchial and cranial mediastinal lymph nodes (1) Fig. 1).

In this paper it has been demonstrated that the external visualization of the lymphatic nodes of the heart of the dog is possible by radioisotopes using scanning techniques. This procedure allows not only a morphological study but also a dynamic evaluation of the lymphatic drainage of the organ. This type of study can be of interest in pathological situations such as hydropericardium, pericarditis as well as fibroplasia of the organ.

---

\* Work carried out in the «Laboratório de Radioisótopos — Universidade de Lourenço Marques — Moçambique» in 1974.

(1) MILLER, M.E., G.C. CHRISTENSEN & H.E. EVANS — Anatomy of the dog (1968) Saunders, 440-443.

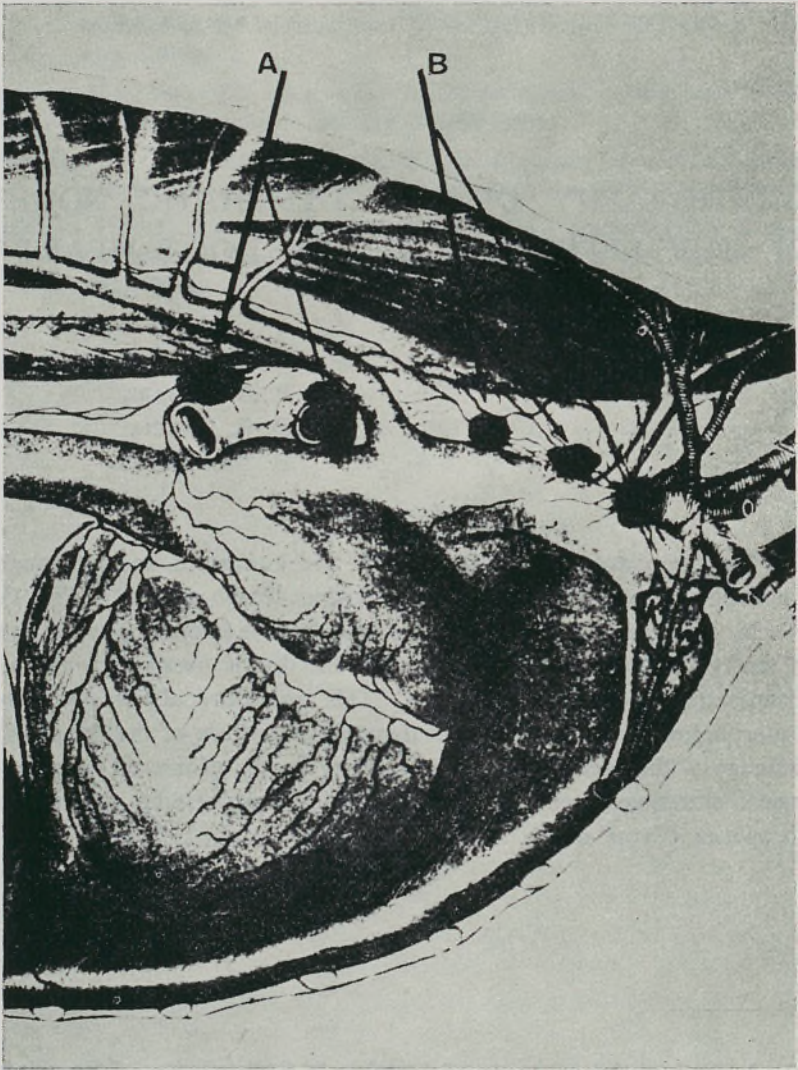


FIG. 1 — *A* — Tracheobronchial lymph nodes. *B* — Cranial mediastinal lymph nodes.

## METHODS AND MATERIALS

Using a specially designed needle (Fig. 2) an intrapericardial injection of 230-250  $\mu\text{C}$  of  $\text{I}^{131}\text{-RISA}$  was done near the apex of the heart.

In studies performed in animals without hydropericardium the intrapericardial injection needs to be done carefully since the radioactive product can either be injected in the myocardium or into the pleural cavity.

When the product is injected into the pericardial sac diffusion through the sac is rapid but lymph node uptake is slow.

When the injection is done in the myocardium, scintigraphic visualization was demonstrated rapidly, and there was a rapid transport from the original and localized injection site to the draining nodes.

To confirm the results obtained in the previous experiment another technique was done, in another group of animals.

A polyethelene catheter, one mm in diameter, was introduced into the pericardial sac through a thoracotomy. The proximal end of the catheter was sutured to the pericardium and the other end was sutured to the skin lateral to the sternum.

A similar dose of 200-250  $\mu\text{C}$  of  $\text{I}^{131}\text{-RISA}$  in 0.5 ml or normal saline solution was injected through the catheter and immediately flushed with one ml of saline.

In two animals lesions were experimentally induced by the intrapericardial injection of one ml of talcum powder suspension in the first dog and 0.5 ml of a *Staphylococcus aureus* culture in the second dog.

Thoracotomies were performed in order to ensure the accuracy of the injection.

After three days  $\text{I}^{131}$  RISA was injected through the catheter and a scintigraphic image was immediately recorded on each animal.

In both the catheterized and injected animals occasional leakage occurred, and was demonstrated scintigraphically.

When leakage occurred the drug was absorbed by the diaphragmatic lymphatics. In the non leaking catheterized animals mediastinal and tracheobronchial lymphatic drainage was visualized. The rate of drug movement to lymph nodes was slower in the catheterized animals than in the injected animals. In all animals scanning was done at approximately two, six and nine hours after the initial injection of the  $\text{I}^{131}\text{-RISA}$ .

A Picker Magnascanner III with a 3556-A Colour Printer and a focussed collimator was used throughout the experiment.

All the animals studied were first radiographed in right lateral recumbency and subsequently scanned while in the same position. This procedure allowed superimposition of the radiographic and scintigraphic images.

In order to achieve better visualization of the superimposed images photoscanning was occasionally used.

## RESULTS

In eight normal dogs the scintigraphic visualization of the efferent lymph nodes of the heart was demonstrated. In six of them the injection of the tracer was carried out with the needle as shown Fig. 2. The others were injected through the catheter.

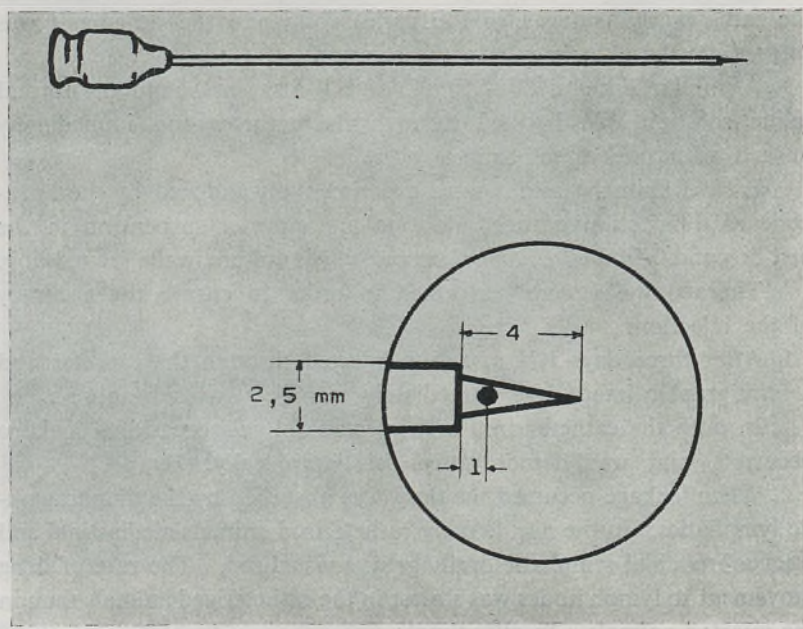


FIG. 2 — Needle used for intrapericardial injection.

Fig. 3 was obtained from a normal dog where the tracer was apparently injected in the pericardial sac. A small amount of product having leaked out was absorbed later by the lymphatics of the diaphragm.

In Fig. 4 the tracer was probably injected in the myocardium which would explain the limited spread of the radioactivity and its faster migration to the draining nodes.

Fig. 5 shows the scannings obtained from a normal dog in which the tracer was injected through a catheter previously inserted in the pericardial cavity. The images obtained respectively 30 minutes and 6 hours after the injection show that the migration of the tracer is extremely slow and do not allow the visualization of the efferent lymph nodes.

When 0.5 ml. of a culture of *Staphylococcus aureus* was injected in the pericardial sac of a normal dog through a catheter and 200  $\mu$ F of  $I^{131}$  — R I S A were injected through the same catheter five hours later the scanning two hours after the injection showed a markedly increased migration of the tracer (Fig. 6).

The intrapericardial injection of a talcum powder suspension twenty days previous to the test markedly increased lymph drainage from the heart even when the tracer was injected in the myocardium, fig. 7.

### CONCLUSIONS

The scintigraphic visualization of the efferent lymph nodes of the heart is possible by means of myocardial injection of  $I^{131}$ -RISA.

When this tracer is injected in the pericardial sac lymph drainage is too slow to allow visualization of those nodes.

Experimentally induced lesions of the pericardium significantly modified the dynamics of the lymph flow from the heart as shown by this method.

The initial work demonstrates that the method provides information on the dynamics of the efferent lymph flow of the dog's heart.

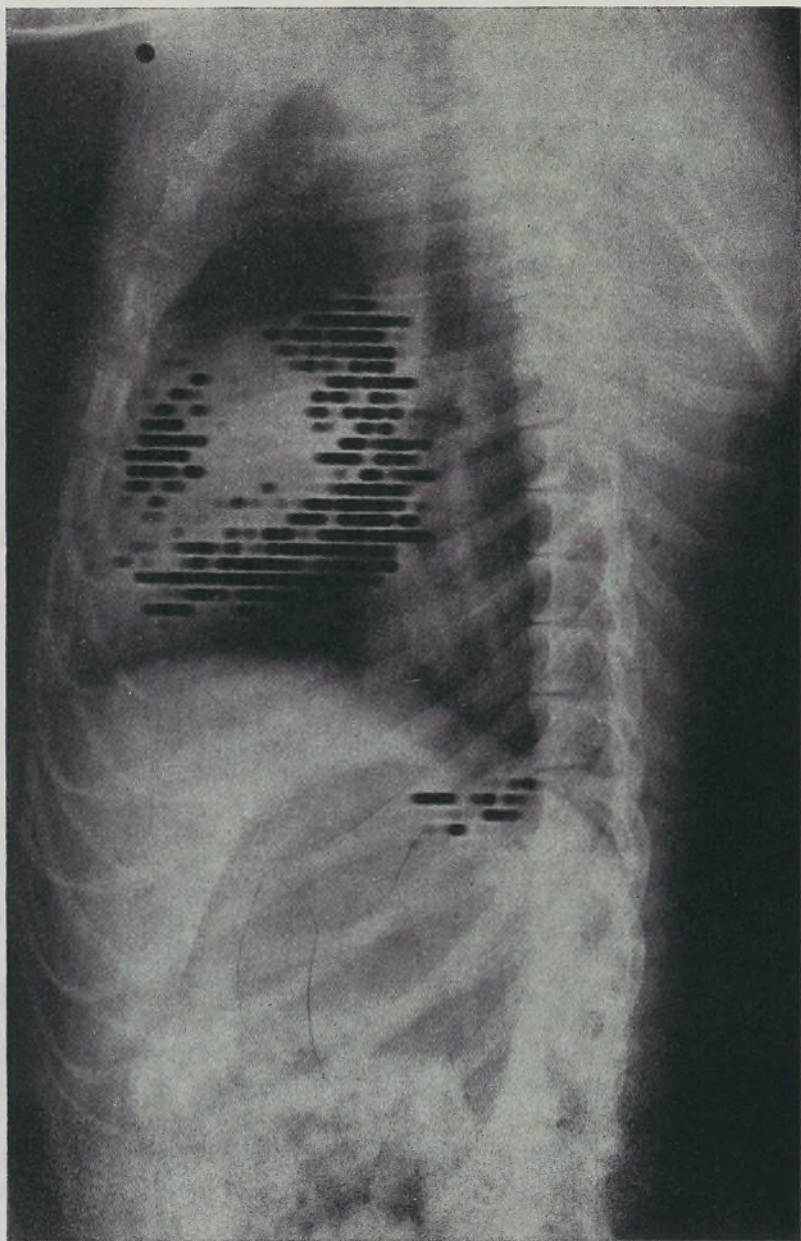


FIG. 3 — Scan six hours after intrapericardial injection of  $200\ \mu\text{C}$  of  $\text{I}^{131}$  RISA in a normal dog.



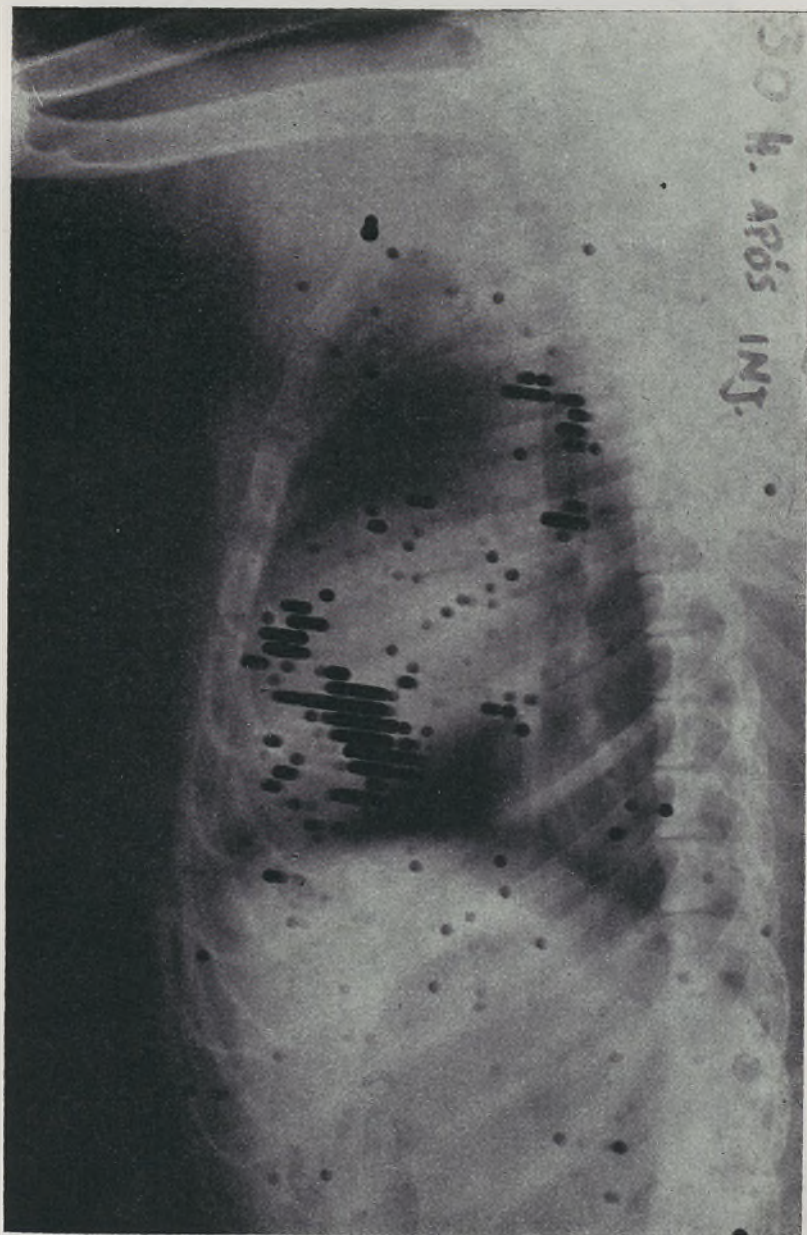


FIG. 4— Scan 30 min after injection, probably in the myocardium, of 200  $\mu$ C of  $^{131}\text{I}$  RISA in a normal dog.

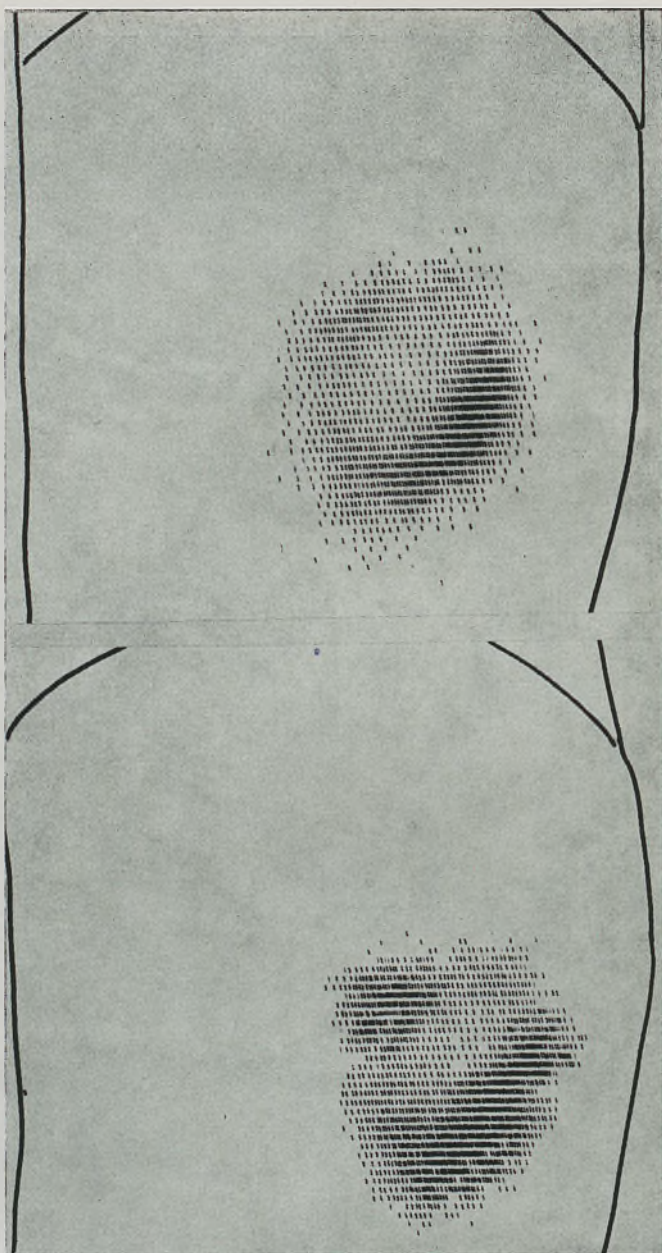


FIG. 5 — Thirty minutes and six hours scans obtained after injection of  $250 \mu\text{C}$  of  $I^{131}$  RISA through a catheter previously inserted in the pericardial cavity of a normal dog.

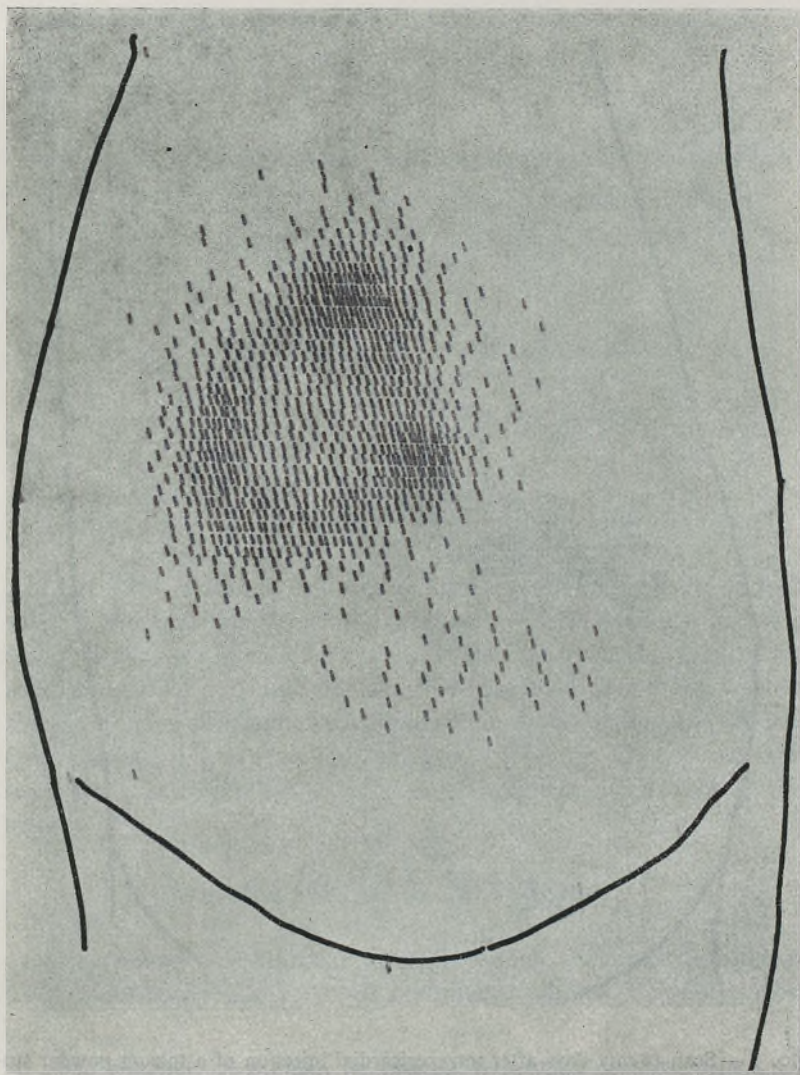


FIG. 6—Scan after injection through a catheter of 0,5 ml. of a culture of *Staphylococcus aureus* in the pericardial sac of a normal dog and 200  $\mu$ C of  $I^{131}$  RISA injected five hours later through the same catheter. The scan was done two hours after the tracer injection.

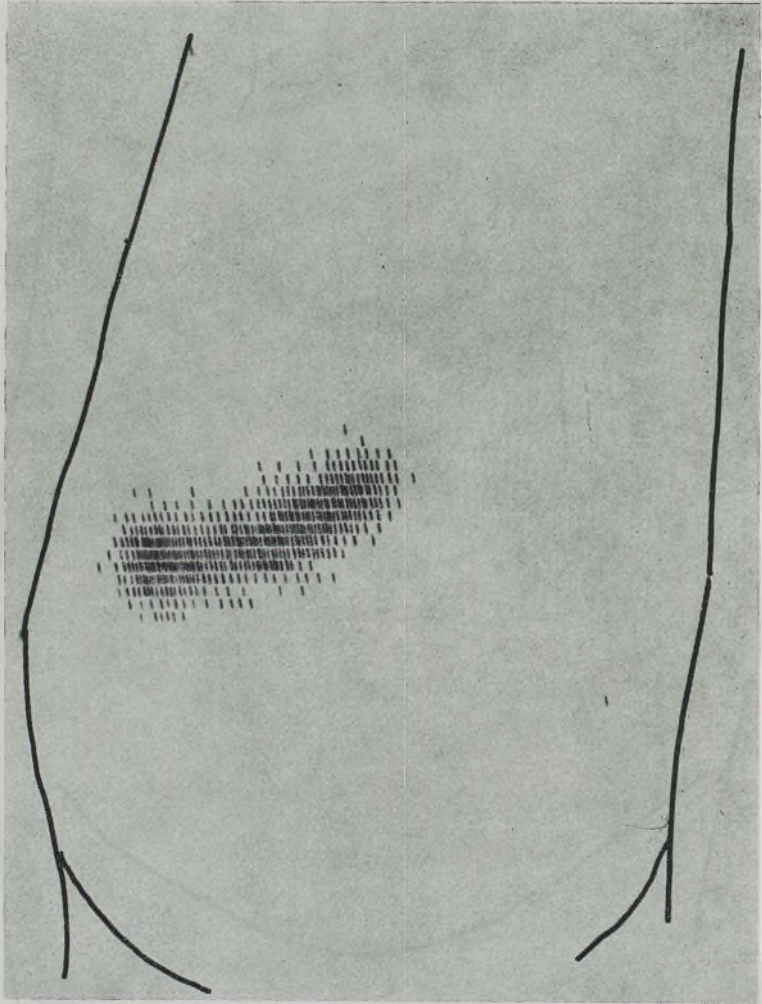


FIG. 7 — Scan twenty days after intrapericardial injection of a talcum powder suspension. Injection of  $200\ \mu\text{C}$  of  $\text{I}^{131}$  RISA was performed five hours before the scanning.

# VASCULARIZAÇÃO ARTERIAL DO CÓRTEX CEREBELOSO DO CANIS FAMILIARIS ESTUDO PRELIMINAR

M. M. MARINI-ABREU (\*)

P. F. ROQUETE (\*\*)

M. F. SOARES (\*\*\*)

## INTRODUÇÃO

Em 1969, por um de nós foi apresentado um extenso trabalho sobre o fluxo sanguíneo intra-cerebeloso no Homem (1), propondo-se então prosseguir com idênticas investigações noutros agrupamentos zoológicos, o que foi iniciado em 1971 nas Aves (2), depois nos Peixes (3), e mais recentemente nalguns Mamíferos, começando-se pelos Quirópteros (4) e agora nos Canídeos. É destes últimos que apresentaremos os resultados sobre a ângio-arquitectonia do córtex cerebeloso.

## MATERIAL E MÉTODOS

Nas nossas investigações utilizámos como material de estudo o *Canis familiaris*, sendo todos os espécimens adultos, dos dois sexos e

---

(\*) Professor do Instituto de Ciências Biomédicas de «Abel Salazar» da Universidade do Porto. PORTUGAL.

(\*\*) Assistente do Instituto de Ciências Biomédicas de «Abel Salazar» da Universidade do Porto. PORTUGAL.

(\*\*\*) Chefe de Serviços de Cirurgia Experimental do Instituto de Ciências Biomédicas de «Abel Salazar» da Universidade do Porto. PORTUGAL.

sem raça definida. Num total foram sacrificados 6 animais: 4 machos e 2 fêmeas.

O método de estudo que empregámos, foi o da diafanização de cortes de congelação com a espessura de 150 a 500 micras, após o preenchimento do sistema arterial do cerebelo com uma solução de tinta da China gelatinada a 5%. Procedemos da seguinte maneira:

1 — Anestesia do animal a sacrificar com Pentothal, na dose de 40 mgr./Kgr. de pêso, injectado por via endovenosa;

2 — Uma vez feita a anestesia, morte do cão por anemia aguda, por secção da aorta abdominal;

3 — Seguidamente, lavagem prolongada do encéfalo com soro fisiológico aquecido a 37°C., a baixa pressão, através das artérias carótidas primitivas;

4 — Feita a lavagem, injeção duma solução de tinta da China (1 parte de tinta da China, para 2 partes de água destilada) gelatinada a 5%;

5 — Decapitação do animal, seguida da permanência da sua cabeça em câmara frigorífica, durante 24 horas;

6 — Abertura da caixa craniana e extracção do encéfalo, seguida de fixação da peça em formol salgado (água destilada 830 cc, sal comum 20 gr., formol do comércio 150 cc), durante uma semana;

7 — Após este tempo, separação do cerebelo das restantes partes do encéfalo, seguida de cortes de congelação pelo processo habitual; diafanização dos mesmos e sua montagem entre lâmina e lamela, para observação e estudo.

Depois de assim procedermos, alguns dos cortes foram submetidos à técnica de coloração de KLÜVER-BARRERA, nos moldes por um de nós já ensaiado (5), para o estudo da relação entre o ângio-arquitectonia com a mielo e cito-arquitectonia do córtex cerebeloso do cão.

## RESULTADOS

Como no cerebelo humano, a vascularização do córtex cerebeloso do *Canis familiaris* é muito rica, densa, podendo também nele destrincharem-se 3 tipos fundamentais de vasos arteriulares corticais — *vasos curtos*, *vasos médios* e *vasos longos* — que igualmente encontrámos e

descrevemos no córtex do cerebelo humano. Todas estas arteríolas desprendem-se da rede arterial pia-materiana peri-cerebelosa, descrevendo dum modo geral uma pequena e ligeira curva, antes de entrarem na massa nervosa (Fig. 2).

Os *vasos curtos*, numerosíssimos e de calibre muito fino em relação ao dos outros tipos de arteríolas corticais, penetram quase sempre



FIG. 1 — Vascularização arterial do córtex cerebeloso do *Canis familiaris*; seu aspecto geral. 1 — Vaso cortical curto; 2 — Vaso cortical médio; 3 — Vaso cortical longo, típico; 4 — Vaso cortical do «sistema vascular de tipo transversal» de Pfeifer.

perpendicularmente ao córtex, distribuindo-se pela sua primeira camada celular. Ao percorrerem o estrato, os vasos curtos ramificam-se a diferentes níveis da camada, dum modo penicilado, chegando mesmo alguns a arborizarem-se junto da camada das células de PURKINJE (Fig. 1, 2). As finíssimas ramificações que as arteríolas curtas emitem, anastomo-

sam-se com vasos similares vizinhos e com as colaterais que os vasos corticais médios e longos dão ao estrato molecular, resultando daí uma rede capilar de malhas abertas e alongadas no sentido radial, em relação à lâmina celular (Fig. 1, 2, 8).

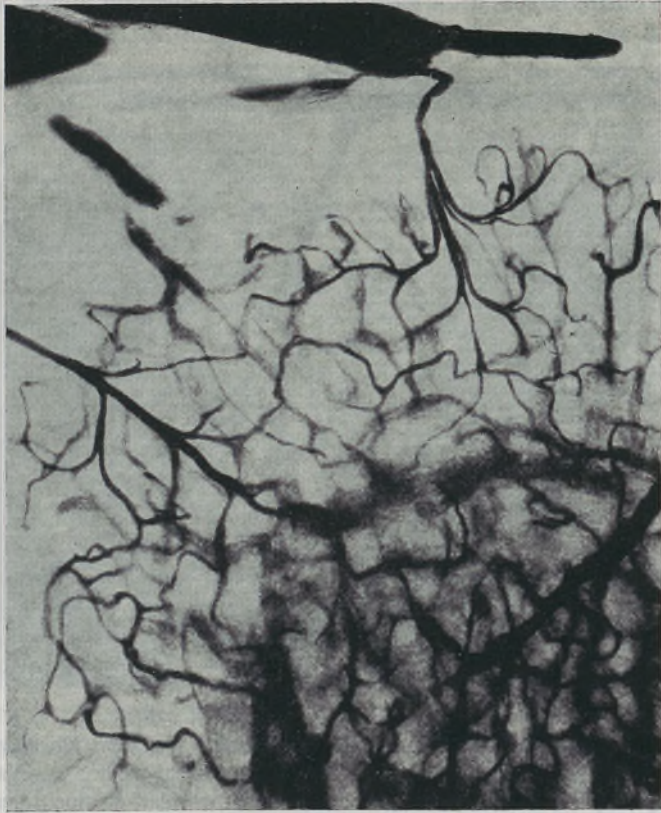


FIG. 2 — Vasos corticais curtos ramificando-se em «pinçel».

Quanto aos *vasos médios*, muito menos numerosos, mas de maior calibre do que os vasos corticais precedentes, quase sempre penetram perpendicularmente à superfície do córtex, e dirigem-se à camada média que dum modo predominante irrigam. De trajecto rectilíneo, estas



arteríolas ao passarem pelo estrato molecular, cedem-lhe algumas colaterais que se anastomosam por convergência, topo-a-topo e transversalmente com as ramificações dos vasos curtos. Ao chegarem à camada purkinjiana do córtex, as arteríolas médias ramificam-se geralmente em *T*, e por vezes em *Y*, correndo os dois ramos da divisão paralelamente à fiada das células de PURKINJE (Fig. 1, 3). Destes

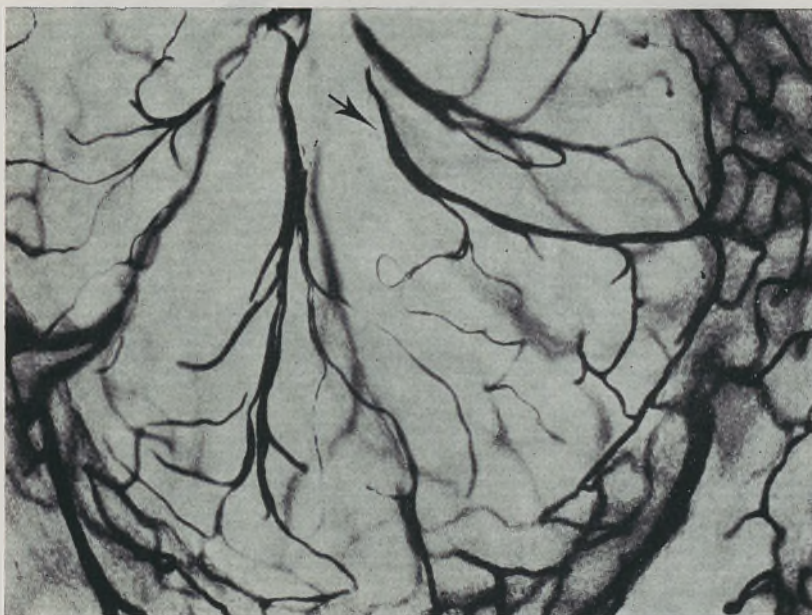


FIG. 3 — Vaso cortical médio bifurcando-se em *T* ao nível da camada das células de Purkinje (→).

ramos da bifurcação, desprendem-se finíssimas colaterais que se destinam não só ao próprio estrato celular, mas também às camadas superficial e profunda do córtex, onde penetram, ajudando aí a formar os seus retículos capilares.

Contrariamente ao que observámos no cerebello humano, onde comparativamente os vasos médios em *T* nos pareceram ser mais numerosos do que no cerebello do cão, não se nos afigurou existir uma rede

vascular própria do estrato médio do córtex cerebeloso do cão, que PERRIA (6) e CONIGHI (7) descreveram no Homem com o nome de plano vascular purkinjiano e de rede purkinjiana, respectivamente, e que também um de nós observou. É possível que com outros métodos



FIG. 4 — Aspecto típico de vasos corticais longos, ramificando-se no estrato granuloso.

de estudo, no cerebello do *Canis familiaris* seja também observável esta rede. Futuros estudos esclarecer-nos-ão.

Relativamente aos *vasos corticais longos*, também muito menos numerosos do que os vasos curtos, mas de calibre superior, praticamente idêntico ao dos vasos médios, atravessam perpendicularmente a camada molecular e a das células de PURKINJE, para se dirigirem ao estrato dos

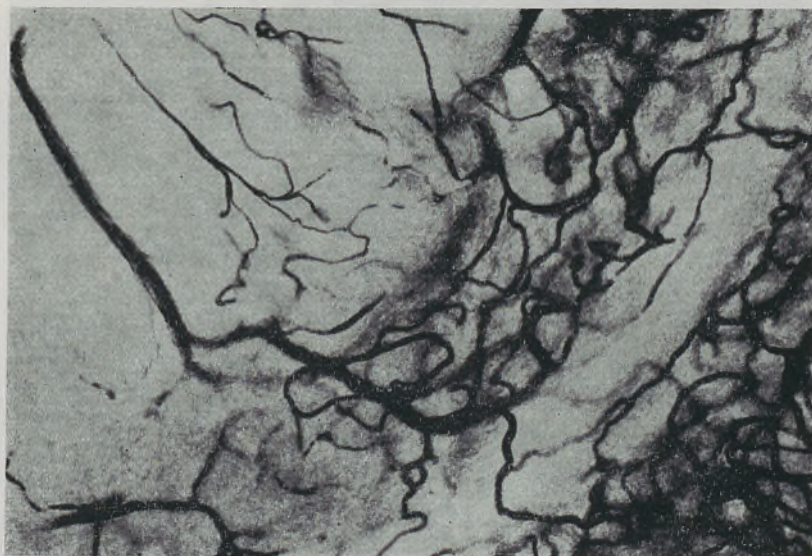


FIG. 5 — Tipo de vaso cortical pertencente ao «sistema vascular de tipo transversal» descrito por PFEIFER.

grãos (Fig. 1, 4). Estas arteríolas ao passarem por aqueles dois estratos, cedem-lhes finas colaterais.

Já em pleno estrato granuloso, as arteríolas longas ramificam-se exuberantemente, anastomosando-se os seus ramos colaterais e terminais com vasos similares vizinhos e com os pré-capilares que as arteríolas médias dão ao estrato. De todo este emaranhado de elementos vasculares resulta um retículo de malhas apertadas de formas poligonais, e por vezes ovalares, que aprisionam no seu interior vários

grãos (Fig. 7). A rede capilar do estrato profundo do córtex anastomosa-se com o retículo da camada superficial, através da camada das células de PURKINJE, assim como com a rede capilar da substância branca sub-cortical (Fig. 1, 6, 7).

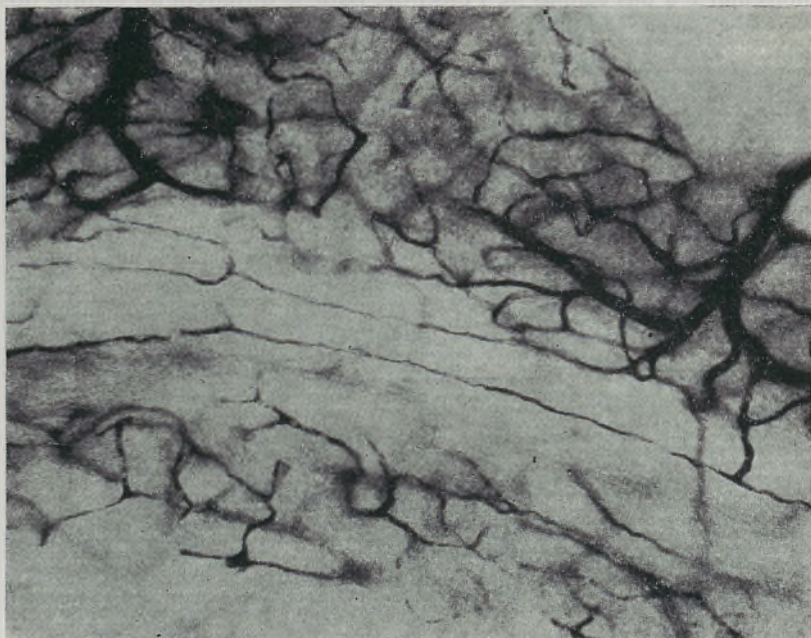


FIG. 6 — Vasos corticais longos cedendo colaterais á substância branca sub-cortical.

Ainda como particularidade morfológica dos vasos corticais longos, verificámos que um certo número deles, embora reduzido, se comportava da maneira como acima foi descrita, mas ao mesmo tempo gozando da circunstância de alguns dos seus ramos colaterais e terminais ultrapassarem o estrato granuloso e a camada branca sub-cortical, para irrigarem a profundidade do córtex da lâmina ou da lamela do lado oposto (Fig. 1, 5). Este tipo de arteríolas que não observámos no cerebelo humano, mas citado por PFEIFER (8), pertenceria a uma moda-

lidade do sistema vascular a que o Autor chamou: «sistema vascular de tipo transversal».

Também outros vasos longos, mas em número bastante escasso, depois de se ramificarem no estrato dos grãos, algumas das suas colaterais, ou alguns dos seus ramos terminais, vão à substância branca sub-cortical, onde se bifurcam em *T*. Os ramos divergentes desta

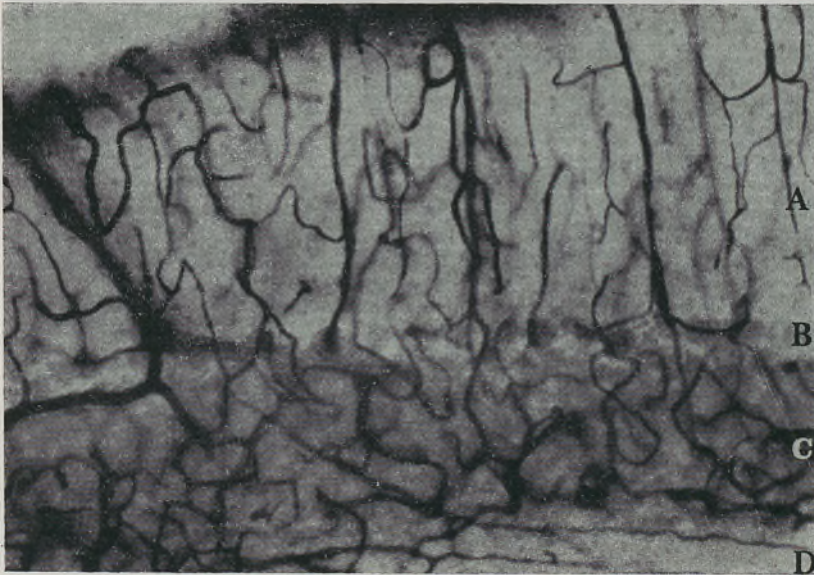


FIG. 7 — Aspecto geral dos retículos capilares do córtex cerebeloso (corte corado pela técnica de coloração de Klüver-Barrera). Notar a ausência dum plano vascular purkinjiano individualizado. A — Estrato molecular; B — Estrato das células de Purkinje; C — Estrato granuloso; D — Substância branca subcortical.

bifurcação correm paralelamente às fibras nervosas (Fig. 6). Estas arteríolas fazem-nos lembrar umas que encontramos e descrevemos no córtex cerebeloso humano, com o nome de *vasos extra-longos*.

A densidade vascular da camada profunda é mais rica, mais densa, do que a da camada molecular (Fig. 1, 7). Facto idêntico se passa em relação ao cerebello do Homem.

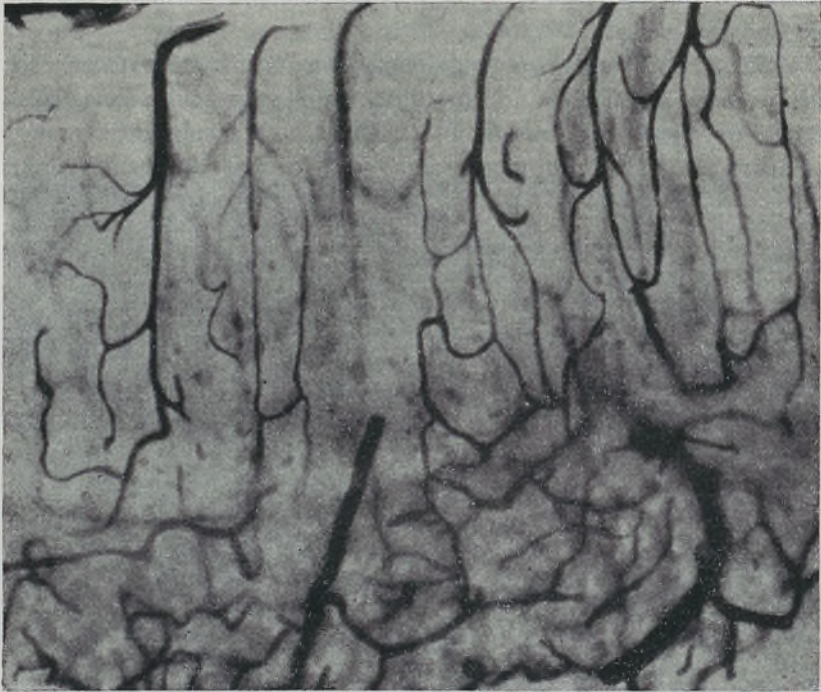


FIG. 8 — Rede capilar do estrato molecular (coloração de Klüver-Barrera). Notar na forma das suas malhas, que são predominantemente rectangulares.

### COMENTÁRIOS

Embora o presente trabalho sobre a irrigação arterial do córtex cerebeloso do *Canis familiaris* seja preliminar, exigindo assim novas pesquisas, com o emprego doutros métodos, podemos no entanto desde já dizer que é muito semelhante à do córtex cerebeloso humano, onde também encontramos os 3 tipos fundamentais de arteríolas corticais: os *vasos curtos*, os *vasos médios* e os *vasos longos*.

Da mesma forma, tanto no cerebelo do cão, como no do Homem, os retículos capilares dos estratos superficial e profundo do córtex são

morfologicamente idênticos, não tendo nós contudo encontrado na primeira espécie um retículo individualizado para a camada cortical média, que PERRIA, CONIGHI e um de nós observou e descreveu no cerebelo humano. É possível que com novas investigações e outros métodos de estudo, o possamos vir a evidenciar.

Quanto às diferenças morfológicas entre as redes capilares do estrato molecular e do estrato granuloso do córtex, são explicáveis pelo arranjo cito e mielo-arquitectónico dos mesmos. Efectivamente, uma maior densidade celular e uma pobreza de fibras nervosas condiciona um retículo denso, de malhas apertadas, do tipo poligonal ou ovalar, tal como se verifica na camada profunda do córtex cerebeloso, tanto do *Canis familiaris*, como do Homem. Já na camada superficial ou molecular, uma pobreza de neurónios associada a uma riqueza de fibras, determina um retículo de malhas mais largas, predominantemente de forma rectangular, muito semelhante no seu aspecto geral à rede vascular que é visível ao nível da substância branca do cerebelo, contígua ao córtex.

Contrariamente ao que vimos no cerebelo humano, no cerebelo do cão verificámos a existência de arteríolas corticais que identificámos como pertencentes aos vasos do «sistema vascular de tipo transversal» de PFEIFER.

## RESUMO E CONCLUSÕES

Os Autores estudam a vascularização arterial do córtex cerebeloso do *Canis familiaris* em cortes de congelação, com a espessura de 150 a 500 micras, feitos após o preenchimento das artérias do cerebelo com uma solução de tinta da China gelatinada a 5%. Alguns cortes foram submetidos à técnica de coloração de KLÜVER-BARRERA.

Depois dos seus estudos, os Autores chegam à conclusão que a nutrição do córtex cerebeloso do cão é muito semelhante à do córtex do cerebelo humano, no que respeita ao número, trajecto e camada cortical a que se destinam as arteríolas corticais.

Contrariamente ao que um dos Autores verificou no Homem, no córtex cerebeloso do cão observou-se um «sistema vascular de tipo transversal» descrito por PFEIFER, isto é, a presença de vasos corticais

que depois de penetrarem no córtex da lâmina ou da lamela, que vasculariza, atravessam toda a sua espessura, para chegarem à substância branca sub-cortical que também ultrapassam, para irem à substância cinzenta periférica do lado oposto. Aqui, estes vasos arteriolares arborizam-se finamente na camada profunda ou granulosa do córtex.

#### SUMMARY AND CONCLUSIONS

The AA study the arterial vascularization of the cerebellar cortex in the *Canis familiaris* in sections of 150 to 500  $\mu$ m, after fulfilment of the cerebellum arteries with a gel China ink solution at 5%. Some sections were submitted to the staining technique of Klüver-Barrera.

After studying them, the AA came to the conclusion that the cerebellar cortex supply in the Dog is, generally speaking, very similar to the one in Man, specially in what concerns the number, course and cortical layer.

Unlike what one of the authors has observed in Man, in the Dog's cerebellar cortex there is a «transversal-type circulation» described by Pfeifer: there is the presence of arteriolar vessels which, after penetrating the cortical lamina, where they give off fine colateral vessels, cross all its thickness to reach the sub-cortical white matter, which they also overpass in order to reach the peripheral gray matter of the opposite side. These vessels ramify themselves finely in the deep layer of the cortex.



## BIBLIOGRAFIA

- 1 — MARINI-ABREU, M.M. — Contribuição para o estudo da vascularização arterial do cerebello, Tése. Lourenço Marques, 1969.
- 2 — MARINI-ABREU, M.M. — Contribuição para o estudo da vascularização do cerebello das Aves. Estudo de Anatomia Comparativa. — Rev. Ciênc. Méd., Lourenço Marques, 4 (1): 1-32, 1971.
- 3 — MARINI-ABREU, M.M. e GUERRA-PEREIRA, M.L. — Contribuição para o estudo da vascularização do cerebello dos Seláceos (Gén. Carcharinus). — Rev. Ciênc. Méd., Lourenço Marques, 7 (1): 49-60, 1974.
- 4 — MARINI-ABREU, M.M. — Vascularização arterial do córtex cerebeloso dos Quirópteros. — Arq. Anat. Antrop., Inst. Antrop. Prof. Souza Marques, Rio Jan. — Brasil, 4 e 5: 77-88, 1979/1980.
- 5 — BAIROS, V.F. e MARINI-ABREU, M.M. — Associação de métodos para o estudo da ângio, cito e mieloarquitectonia do Sistema Nervoso. — Rev. Ciênc. Méd., Lourenço Marques, 7 (2): 365-372, 1974.
- 6 — PERRIA, L. — La vascolarizzazione del cervelletto dell'uomo. L'angioarchitettura e i suoi rapporti con la cito-mieloarchitettura. — Riv. Pat. nerv. ment., 58 (1): 1-68, 1941.
- 7 — CONIGHI, R. — Studi sull'angioarchitettura dell'encefalo. Riv. di Freniat. Med. Leg. delle Alien. Ment., 46: 411-427, 1922.
- 8 — PFEIFER, R.A. — Grundlegende Untersuchungen für Angioarchitektur des Menschlichen Gehirns. Springer. Berlin, 1930.



## TENTATIVA DE SISTEMATIZAÇÃO DAS ARTÉRIAS PLACENTÁRIAS HUMANAS

Autores: J. GOYRI O'NEILL \*\*

J. A. ESPERANÇA PINA \*\*\*

A. BENSABAT RENDAS \*\*\*\*

### INTRODUÇÃO

O presente estudo inicia-se com a revisão dos trabalhos dos autores que têm estudado a placenta humana.

*Shordania*, em 1929, denominou as artérias que percorrem a face corial da placenta humana de artérias alanto-coriais e classificou o seu tipo de distribuição em DISPERSO e MARGINAL, referindo que, no primeiro, as artérias após abandonarem o cordão se dividem dicotomicamente até à periferia com diminuição progressiva do calibre dos vasos, caracterizando o segundo pelo facto de a divisão dicotómica se fazer apenas uma vez, progredindo os seus ramos sem diminuição apreciável de calibre dos mesmos até à periferia da placenta.

---

\* Trabalho realizado no Departamento de Anatomia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa.

\*\* Assistente de Anatomia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa.

\*\*\* Professor Catedrático de Anatomia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa

\*\*\*\* Professor Extraordinário de Fisiopatologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa.

*Barghava*, em 1974, refere que as artérias na face corial da placenta apresentavam divisões dicotômicas na maior parte da sua extensão, considerando que essa disposição se faz segundo três tipos, que descreve em função da inserção do pedículo.

No primeiro, as artérias junto ao pedículo cruzam por cima as veias, no entanto, à periferia essa situação é invertida uma vez que, à periferia, a artéria passa sob a veia. Descreve também a tortuosidade dos vasos, classificando-a em MODERADA, ACENTUADA e MUITO ACENTUADA, facto que pensamos dever-se ao produto injectado, pois, por experiência própria, sabemos que este produto apresenta um coeficiente de retracção bastante elevado, quando comparado com outros, nomeadamente com as resinas acrílicas.

Mereceu-nos ainda atenção o seu trabalho sobre a dissociação artério-venosa que quantifica e classifica, baseado num número elevado de casos.

*Kai Krohn*, em 1970, utilizando a técnica radiográfica em 36 casos, define as artérias alanto-coriais como um ramo de artérias umbilicais que percorrem a face fetal da placenta entre o corion e o âmnios.

*Philipe*, em 1974, classifica além da forma da placenta e inserção do pedículo, a distribuição dos vasos em estudo de distribuição vascular das artérias.

*Spaszkowy*, em 1978, resume os dados dos tipos de anastomose existente entre as duas artérias umbilicais ou entre uma destas e um ramo de divisão da outra, fazendo a correlação dos seus resultados com os dos autores que o precederam.

## MATERIAL E MÉTODOS DE ESTUDO

Utilizámos para este trabalho 63 placentas humanas de gravidez normal, de idade gestacional compreendida entre a 37.<sup>a</sup> e a 42.<sup>a</sup> semanas, provenientes de partos eutócicos, cujo peso oscilava entre 450 a 510 gr., sem membranas e com 15 cm de cordão.

Para o estudo macroscópico da distribuição vascular da placenta utilizámos as técnicas de Corrosão-Fluorescência em 100 dos casos, e ainda a técnica de radiologia em 20 dos casos.

Após a dequitação da placenta, num espaço que mediou entre as 12 a 48 horas, procedemos ao cateterismo da veia umbilical com um tubo de polietileno de calibre adequado, para lavagem do leito vascular com soro fisiológico a 37.º. Seguidamente, fizemos o cateterismo das artérias do cordão em 53 casos, e injectámos simultaneamente as artérias e a veia, com uma resina comercialmente conhecida por «PERSPEX TENSOL», corada diferentemente para as artérias e veia, a uma pressão constante de cerca de 60 mm Hg.

As artérias foram injectadas com «PERSPEX TENSOL» a que se adicionou produto fluorescente verde em 38 casos, em 14 dos casos com «PERSPEX TENSOL» a que se adicionou produto fluorescente azul, e, num dos casos, com «PERSPEX TENSOL» de cor vermelha.

Processada a corrosão com ácido clorídrico, que demorou cerca de 24 a 48 horas, as peças foram observadas e fotografadas sob luz de wood.

Nos 10 casos em que utilizámos a técnica Radiológica, procedemos à injeção das artérias com sulfato de bário em suspensão coloidal, «MICROPAQUE», numa diluição a 50% sob controle radioscópico, e com a pressão de injeção anteriormente referida.

Quando se verificava o completo preenchimento de todo o órgão, sem se verificar rotura ou transvasamento, eram realizadas radiografias com incidência perpendicular à face corial da placenta.

## OBSERVAÇÕES

No estudo da vascularização arterial da placenta observámos em relação ao trajecto das artérias umbilicais do cordão que, quando estas existem em número de duas, facto que se observa em 94,7% dos casos, caminham paralelamente entre si, descrevendo por vezes um enrolamento em espiral à volta da veia, mas mantendo-se sempre, no entanto, paralelas entre si.

Na porção inicial do cordão, as artérias apresentam uma «anastomose» entre si em 98,4% dos casos, sendo esta «anastomose» habitualmente transversal. Após o que, as artérias umbilicais se dirigem para a face corial da placenta, originando frequentemente, por divisão dicotómica, as artérias alanto-coriais. As artérias resultantes da

divisão das artérias alanto-coriais denominam-se de artérias alanto-coriais 2º ordem originando estas, por divisões sucessivas ao longo do seu trajecto, artérias de menor calibre, que se dirigem, cada uma delas, para um cotilédone contribuindo para a constituição da unidade cotiledonária (Fig. 1).



FIG. 1 — Placenta humana observada pela face fetal com injeção vascular das artérias. Estão referenciadas as artérias alanto-coriais (x) e as artérias coriais (y).

Ao correlacionar o tipo de distribuição arterial com o tipo de inserção do pedicelo, encontrámos os seguintes valores:

No *Tipo Central* (17 casos), cada uma das artérias umbilicais (C) divide-se em duas ou mais artérias alanto-coriais (X), dividindo-se estas em duas, três ou quatro artérias alanto-coriais 2º ordem (Y), segundo um modo de distribuição radiário.

Em 8 casos (12,6%), as duas artérias umbilicais (C) dividem-se respectivamente em duas artérias alanto-coriais (X), cada uma das quais origina duas artérias 2º Ordem (Y), daí resultando um padrão de vascularização arterial (Fig. 2) que podemos classificar de

$$C2 X_2^2 Y_{2,2}^{2,2}$$

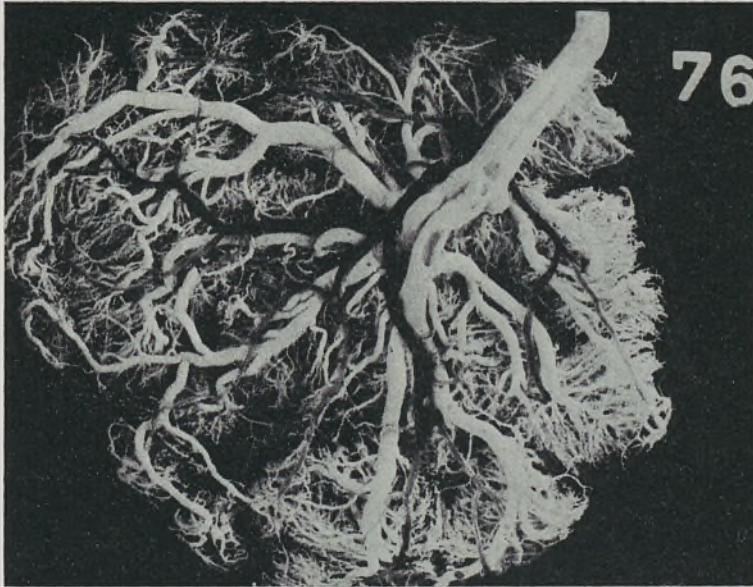


FIG. 2 — Placenta humana observada pela face fetal, as artérias escuro, a veia claro.

$$\text{Padrão } C2 X_2^2 Y_{2,2}^{2,2}$$

Em 6 casos (9,5%) observámos que as duas artérias umbilicais (C) originavam, sem sofrer divisão dicotómica, as artérias alanto-coriais (X). Destas, apenas uma se ramificava, originando quatro artérias coriais, o que nós sistematizámos como:

$$C2 X_1^1 Y^4$$

Em 2 casos (3,2%) não havia nenhuma artéria que pelo seu trajecto pudessemos classificar de alanto-corial, pois que uma das artérias

umbilicais (C) sofria divisão dicotômica para originar duas artérias coriais (Y), enquanto que a outra artéria umbilical originava, pela sua divisão, três artérias coriais, sendo o padrão de:

$$C2 X_0^0 Y_3^2$$



FIG. 3 — Placenta humana, observada pela face fetal Artérias escuro, veia claro.  
Padrão  $C2 X_1^1 Y_3^2$

Num caso (1,6%) enquanto uma das artérias umbilicais (C) originava duas artérias alanto-coriais (X), a outra dividia-se em três artérias alanto-coriais, não tendo sido possível neste caso descrever artérias coriais devido a dificuldades no preenchimento do molde vascular.

No *Tipo Marginal*, (9 casos), as artérias apresentam uma disposição diferente da que se verifica nas placentas de Tipo Central. As



artérias, não se dispendo de um modo radiário na face corial da placenta, apresentam um trajecto paralelo entre si ao percorrerem esta face desde a inserção do películo até à periferia, o que condiciona a inexistência de ramos arteriais que sejam posteriores ao pedículo.

Em 4 casos (6,3%), as artérias sofrem sucessivas divisões dicotómicas, assim cada uma das artérias umbilicais (C) divide-se dicotomicamente em duas artérias alanto-coriais (X), cada uma das quais se divide também dicotomicamente, originando duas artérias coriais (Y). O padrão mais frequentemente encontrado nas placentas de Tipo Marginal foi pois o de

$$C2 X_2^2 Y_{2,2}^{2,2}$$

Em 2 casos (3,2%), uma das artérias umbilicais (C) originava directamente duas artérias coriais (Y), enquanto a outra artéria umbilical se dividia em duas artérias alanto-coriais (X), originando depois, cada uma destas, duas artérias coriais, segundo o padrão

$$C2 X_2^0 Y_{2,2}^2$$

Em 3 casos (4,8%), as artérias alanto-coriais (X) eram em número de duas e sucediam-se às artérias umbilicais (C) sem que estas sofressem divisão. As artérias coriais (Y) eram em número de cinco, sendo duas delas ramos de divisão de uma artéria alanto-corial, e as restantes três ramos de divisão da outra artéria alanto-corial:

$$C2 X_1^1 Y_5^2$$

No *Tipo Intermédio*, (37 casos), as artérias têm um tipo de distribuição na face corial da placenta em tudo semelhante ao das veias, emitindo ramos que progridem para diante e vão distribuir-se a todo o órgão, e outros que se dirigem para trás, indo irrigar os cotilédones que têm uma situação posterior em relação ao pedículo

Em 14 casos (22,2%) a divisão das artérias é ainda dicotómica, originando-se as quatro artérias alanto-coriais (X) da divisão dicotómica das duas artérias umbilicais (C), e as oito artérias coriais da divi-

são dicotômica de cada uma das artérias alanto-coriais. Este padrão foi também o mais frequente no Tipo Intermédio:

$$C_2 X_2^2 Y_{2,2}^{2,2}$$

Em 7 casos (11,1%), cada uma das artérias umbilicais (C) originava, sem se dividir, mas pelo prolongamento do seu trajecto na placa corial, a respectiva artéria alanto-corial (X), a qual se dividia dicotomicamente em duas artérias coriais (Y).

$$C_2 X_1^1 Y_2^2$$

Em 4 casos (6,3%), encontrámos apenas uma artéria umbilical (C), a qual se dividia em duas artérias alanto-coriais (X), e cada uma destas em duas artérias coriais (Y).

$$C_1 X_2 Y_2^2$$

Em 6 casos (9,5%), as duas artérias umbilicais (C) seguiam-se às artérias alanto-coriais (X), em número de quatro, das quais três se dividiam dicotomicamente em artérias coriais (Y), enquanto uma não se dividia

$$C_2 X_2^2 Y_{2,2}^{1,2}$$

Em 6 casos (9,5%), as duas artérias umbilicais (C) originam quatro artérias alanto-coriais (X), das quais uma se divide tricotomicamente em três artérias coriais (Y), sofrendo as restantes divisões dicotómicas.

$$C_2 X_2^2 Y_{2,3}^{2,2}$$

## CONCLUSÕES

Os autores, após uma breve revisão dos autores que os precederam no estudo da vascularização arterial da placenta, apresentaram os resultados obtidos a partir de um estudo realizado em 63 placentas, provenientes de gestações normais, partos eutócitos, recém-nascidos normais, sem qualquer tipo de malformação congénita.

Fizeram uma tentativa de sistematização das artérias na face corial da placenta, tendo-as classificado segundo o seu trajecto, direcção e ramos de origem, em artérias alanto-coriais (X) que se seguiam às artérias umbilicais (C) e originavam as artérias coriais (Y), que iriam depois originar, pela sua divisão, artérias cotiledonárias. Relacionaram ainda o tipo de inserção do pedículo com a distribuição arterial.

As artérias umbilicais são em número de duas, em 94,7% dos casos. Nos casos em que havia apenas uma artéria umbilical, não encontraram qualquer anomalia ou insuficiência placentar, nem foi descrita qualquer malformação no recém-nascido.

Em 50,6% dos casos, as artérias umbilicais sofrem divisão dicotómica, originando as artérias alanto-coriais, e apenas em 21,3% dos casos as artérias alanto-coriais se sucedem às artérias umbilicais sem que estas sofram divisão.

O tipo de distribuição arterial mais frequente foi:

$C_2 X_2^2 Y_{2,2}^2$  em 8 casos no Tipo Central (12,6%), em 4 casos no Tipo Marginal (6,3%), e em 14 casos (22,2%) no Tipo Intermédio.

## RESUMÉE

Les auteurs ont étudié la vascularization artérielle du placenta, et, après une brève revision des auteurs qui ont étudié le placenta au point de vue circulatoire, ils présentent le résultat d'une étude accompli en 63 placentes de gestations à terme, accouchement normal et nouveaux-nés normaux.

Les auteurs ont classifié les artères de la face chorionique du placenta, en considerant son traject, direction et vaisseaux d'origine: les artères allanto-choriales que s'originent dans les artères ombilicales, et les artères choriales que originent après sa division les artères cotyledonaires. Ils ont fait le rapport entre le type d'insertion du pedicule et la distribution artérielle.

Les artères ombilicales sont en nombre de deux en 94,7% des cas. Dans les cas avec une seule artère ombilical, le placenta ne présentait

aucun anomalie ou insuffisance placentaire, et le nouveau-né était normal.

En 50,6% des cas, les artères ombilicales se divisent dichotomiquement, en originant les artères allanto-choriales, et seulement en 21,3% des cas les artères allanto-choriales s'originent directement des artères ombilicales.

Le type de distribution artérielle le plus fréquent a été:

$C_2 X_2^2 Y_{2,2}^{2,2}$  en 8 cas dans le Type Central (12,6%), en 4 cas dans le Type Marginal (6,3%), et en 14 cas (22,2%) dans le Type Intermédiaire.

### SUMMARY

After a brief revision of other authors that had previously studied the arterial vascularization of the placenta, the authors presented the results from a study accomplished in 63 full terms placentas, from normal pregnancies and eutocic labours, with normal newborn children, presenting no congenital malformations.

An attempt was made in order to classify the arteries of the corial face of the placenta as to their trajet, direction and branches of origin: the alanto-chorionic arteries follow the umbilical arteries which the type of insertion of the vascular pedicle with the arterial vascularization.

The umbilical arteries are two in number, in 94,7% of the cases.

In 5,3% of the cases, there was only one umbilical artery, there was no insufficiency or placental anomaly or was described any malformation in the newborn infant.

In 50,6% of the cases, the umbilical arteries suffer a dicotomic division originating the alanto-chorionic arteries and, only in 21,3% of the cases, the alanto-chorionic arteries follow the umbilical arteries without division.

The most frequent type of arterial vascularization was

$C_2 X_2^2 Y_{2,2}^{2,2}$  in 8 cases in Central Type (10,6%), in 4 cases in the Marginal Type (5,6%) and in 14 cases in the Intermediate Type (18,6%).

## BIBLIOGRAFIA

- ALADJEN, S.: «Studies in placental circulation: Vascular area of the terminal villus in normal and abnormal pregnancies». *Am. J. Obstet. Gynecol.* 107: 88-92, 1970.
- ALBUQUERQUE, E.: «Placenta», Faculdade de Medicina de Lisboa (1971).
- ARTS, N. F.: «Investigations on the vascular system of the placenta». *Am. J. Obstet. Gynecol.* 82: 147-166, (1961).
- BARONE, A. ALBANESE, B. PELLICANO, A. COBELIS, G. ASPETTI: «Anatomici di colchi vascolari con neoprene nella placenta umana». *Arch. Obstet. Gynecol.* 69: 631-7, 1964.
- BHARGAVA, I.; RAJA P. T. K.: «Foetal blood vessels on the chorial surface of the human placenta in abnormal pregnancy and development». *Experientia*, 25: 520-522, 1969
- BHARGAVA, I.; RAJA P. T. K.: «Primary division ratio of umbilical arteries and vein of the human placenta in abnormal states of pregnancy and development». *Experientia*: 25: 8-835, 1969.
- BHARGAVA, I.; RAJA, P. T. K.: «Arterio Venous dissociation on the chorial surface of the human placenta in abnormal states of pregnancy and development». *Experientia*: 25/8: 833-34 (1969).
- BHARGAVA, I.; RAJA, P. T. K.: «An anatomical study of foetal blood vessels on the chorial surface of the human placenta». *Acta Anat.* 75: 13-26 (1970).
- BHARGAVA, I.; RAJA, P. T. K.: «An anatomical study of the foetal blood vessels on the chorial surface of the human placenta. II. In abnormalities of development». *Acta Anat.*: 76: 299-312 (1970).
- BØE, F.: «Studies on the vascularization of the human placenta». *Acta Obstet. Gynaecol. Scand. Suppl. S. 32*: 1-92 (1953).
- GRAWFORD, J. M.: «The foetal placental circulation. The gross anatomy». *J. Obstet. Gynaecol. Br. E.* 63: 87-90 (1956).
- ESPERANÇA PINA, J. A.: «A investigação anatomo-funcional em angiologia e as substâncias fluorescentes» Lisboa (1972).
- FRIED, ANDREW M.: «Distribution of the bulk of the normal placenta». *Am. J. Obstet. Gynaecol.* November (1978).
- FUKUDA, S.; MATSUOKA, O.: «The measurement of the placenta, umbilical cord and components of amniotic fluid in beagle dogs». *Exp. Anim.* 28 (1): 69-73 (1979).

- RAMSEY, E. M.: «Venous drainage of the placenta of the rhesus monkey». *Carnegie Contrib. Embriol.* 35: 151-173 (1954).
- RAMSEY, E. M.; DONNER, M. W.: «Placental vasculature and circulation» Saunders 1-92 (1980).
- ROUSSEAU, P.; J. Y. GILLET; P. MULLER; J. G. KORITKE: «Étude des relations vasculaires foeto-maternelles sur placenta humain in situ». *Revue Française Gynéc.* 67: 12 (1972).
- SANTOS FERREIRA, A; ESPERANÇA PINA, J. A.: «Uma nova substância Perspex-Tensol utilizada na técnica injeção-corrosão». *Arq. Anat. Antrop.* 34: 261 (1965).
- SNOECK, J.: «Le placenta humain». Masson, & Cia. (1958).
- SUTTON, D.: «Arterial placentography». *Br. Journal Radiol.*, 47: 71-72 (1974).
- SZPAKOWSKY, M.: «Morphology of arterial anastomosis in the human placenta». *Folio Morphol.* (Warsow), 33: 1 (1974).
- TEASDALE, F.: «Functional significance of the zonal morphologic differences in the normal human placenta». *Am. J. Obstet. Gynaecol.* April: 773-781 (1978).
- WILKIN, P.: «Pathologie du placenta». Masson (1965).

## TÉCNICA DE INJECCÃO VASCULAR EM ATMOSFERA RAREFEITA (\*)

J. GOYRI O'NEILL (\*\*)

J. A. ESPERANÇA PINA (\*\*\*)

### INTRODUÇÃO

Pensamos que qualquer técnica de injeccão vascular deve ser adequada ao tipo de circulação do órgão a estudar e aos objectivos que nos propomos alcançar.

Temos usado até agora o método de fluxo pulsátil através de um mecanismo que permite variar o gradiente de pressão, criando condições semelhantes às fisiológicas, entre um máximo que pretende aproximar-se da pressão sistólica e um mínimo que se assemelhará à pressão diastólica. Os opositores deste método põem como objecção principal para além de outras o facto de que o comportamento da parede vascular «in vitro» é necessariamente diferente da resistência da mesma «in vivo». Tentámos, nalguns casos, reduzir o gradiente diferencial aproximando-o tanto quanto possível do valor médio de pressão, de molde a condicionar uma injeccão uniforme, tal como se tivéssemos usado o método de fluxo contínuo.

---

(\*) Trabalho realizado no Departamento de Anatomia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa.

(\*\*) Assistente de Anatomia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa.

(\*\*\*) Professor Catedrático e Director do Departamento de Anatomia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa.

Embora a estas técnicas de injeção, pulsáteis ou de fluxo contínuo, estejam inerentes vantagens e desvantagens, devemos também considerar o conteúdo dos próprios vasos a injectar.

Alguns autores não pretendem fazer lavagem prévia do sistema vascular por considerarem que iriam alterar a sua morfologia, particularmente dos vasos de pequeno calibre, e iriam deparar com coágulos sanguíneos que lhes dificultarão a injeção, enquanto que os autores que defendem a lavagem prévia, terão de haver-se com a desvantagem que pode representar o facto de os solutos de injeção serem miscíveis com os próprios produtos de lavagem.

Se fizermos lavagem prévia, o produto a injectar pode ser ou não miscível com os produtos de lavagem. No primeiro caso, a concentração do produto diminui, o que representa desvantagem sobretudo para a técnica radiológica, pois então a concentração do produto radiopaco diminui consequentemente. Quando o produto de injeção não é miscível com o produto de lavagem este é empurrado até aos capilares e, se injectarmos dois sistemas vasculares simultaneamente as anastomoses podem ficar preenchidas por coágulos ou ar, o que vai condicionar, após o processamento dos órgãos para técnicas histológicas ou radiológicas, que as estruturas mais finas não sejam evidenciadas.

Pensámos então ultrapassar o problema, fazendo uma injeção em atmosfera rarefeita, com escurvamento por vácuo no interior dos vasos acompanhada de descompressão na superfície externa do órgão. Assim, os sistemas vasculares facilmente colapsáveis, readquirem, quando sujeitos a uma pressão de 20 mmHg, para que não haja excitação do órgão, os contornos que apresentavam «in vivo», dependentes da distribuição das suas fibras elásticas e musculares.

Tornava-se também necessário criar condições para uma injeção de dois ou mesmo três sistemas vasculares.

## TÉCNICA DE INJEÇÃO

O sistema de injeção é representado por uma calote cilíndrica em aço, com diâmetro interior de 60 cm, e com 0,5 cm de espessura. Esta calote é coberta superior por uma placa de material acrílico trans-



parente, ajustada com quatro parafusos. A base deste sistema de injeção é uma calote esférica da mesma espessura e perfurada na porção central por um tubo de aço, o qual irá permitir a rotação de um prato no interior da câmara, onde é colocado o órgão a ser injectado. (Fig. 1).

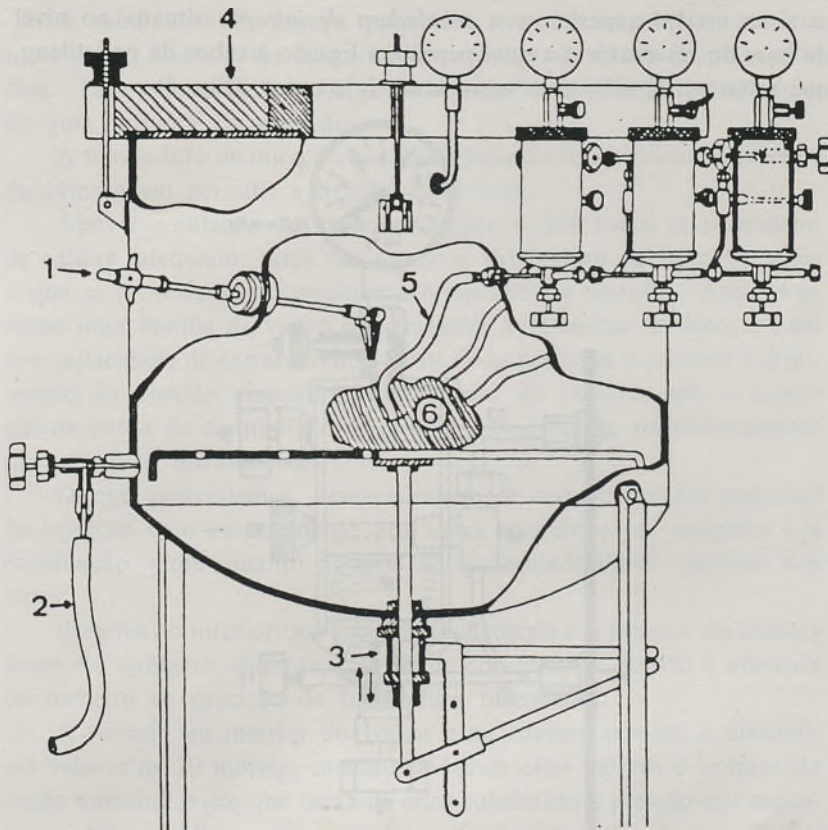


FIG. 1

- 1 — Pinça mecânica
- 2 — Ligação bomba vacuo
- 3 — Placa porta órgão
- 4 — Tapa de observação (transparente)
- 5 — Tubo para canulação
- 6 — Órgão

Três pinças mecânicas de comando exterior, são montadas neste equipamento a meio da calote, formando entre si ângulos de  $60^\circ$  e dotadas de grande amplitude de movimentos. Entre duas das pinças, na superfície exterior da câmara, existem três mecanismos iguais de injeção que consistem num pequeno reservatório cilíndrico, em conexão com a câmara através de duas tubuladuras. A *tubuladura de escape* que se situa no 1/4 superior, e a *tubuladura de injeção* situada ao nível da base do reservatório a qual permite a ligação a tubos de polietileno, que estão em ligação com vasos a ser injectados. (Fig. 2)

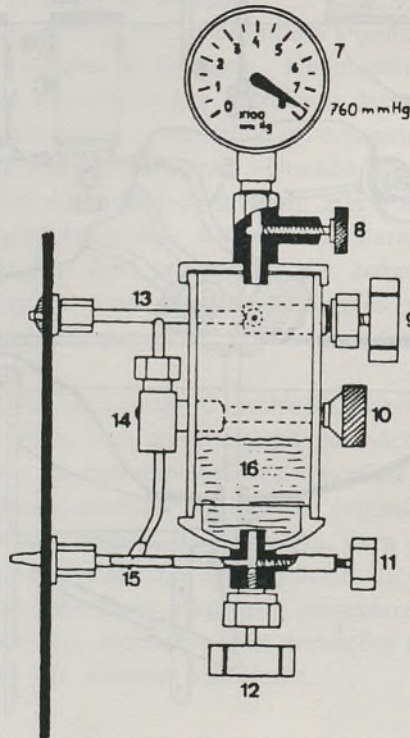


FIG. 2

- |                          |                           |
|--------------------------|---------------------------|
| 7 — Vacuometro           | 12 — Torneira de limpeza  |
| 8 — Válvula de controle  | 13 — Tubuladura de escape |
| 9 — Torneira de precisão | 14 — » intermédia         |
| 10 — » » »               | 15 — » injeção-escape     |
| 11 — » » »               | 16 — Líquido injeção      |

Os circuitos são abertos ou fechados por torneiras de precisão, comunicando as duas tubuladuras entre si, por intermédio de uma terceira a *tubuladura intermédia* que permite, quando necessário, igualar as pressões, as quais são controladas através de manómetros. Estes reservatórios têm ainda a particularidade de serem independentes entre si e também da própria câmara.

A tubuladura de escape permite a comunicação entre a parte superior do reservatório cilíndrico e a câmara de vácuo propriamente dita. Esta comunicação pode ser interrompida através de interposição de uma torneira de precisão.

A tubuladura de injeção que liga a base do reservatório ao interior da câmara vai permitir a ligação entre estes.

Após a canulação dos troncos vasculares com tubos de polietileno de calibre adequado, estes são ligados à tubuladura de injeção, após o que se procede ao encerramento hermético da câmara. Acciona-se então uma bomba de vácuo que trabalha num banho de óleo, a qual tem capacidade de extracção de 6 litros de ar por hora a provoca a diminuição da pressão atmosférica no interior da câmara, com a consequente perda de compressão do órgão a qual ocorre simultaneamente na superfície intravascular.

O que pretendemos, essencialmente, é criar condições especiais de injeção com esvaziamento dos vasos sanguíneos de coágulos e a diminuição tanto quanto possível da quantidade de ar existente nos vasos.

Para isso o interior dos tubos de polietileno e o interior da câmara ficam em contacto, durante a perda de compressão, devido à abertura da torneira de precisão da tubuladura intermédia.

A pressão no interior dos vasos e na câmara começa a diminuir até valores de 20 mmHg; quando se atinge estes valores o volume do órgão aumenta, visto que deixa de estar submetido à pressão que suportava. No que diz respeito aos vasos facilmente colapsáveis, como o sistema venoso, é notável a forma que adquirem tornando-se semelhantes a vasos «in vivo».

O produto a ser injectado é introduzido no reservatório cilíndrico sendo este uma solução gelatinosa que foi aquecida a uma temperatura constante de 37°C e à qual se juntaram produtos fluorescentes. Para procedermos à injeção do produto, devemos igualar as pressões entre

a câmara de vácuo e o interior do cilindro, depois deste ter sido hermeticamente encerrado.

A abertura da tubuladura de escape permite pôr em comunicação o interior do cilindro com a pressão na câmara de vácuo e a pressão no interior dos vasos, ficando os três circuitos com igual pressão (Fig. 3).

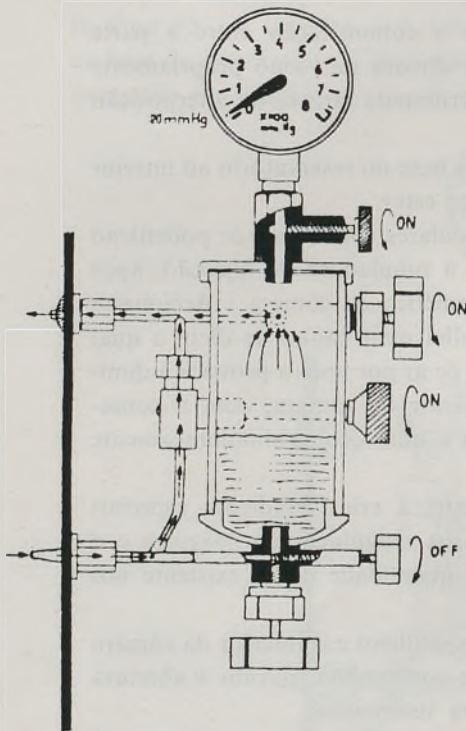


FIG. 3

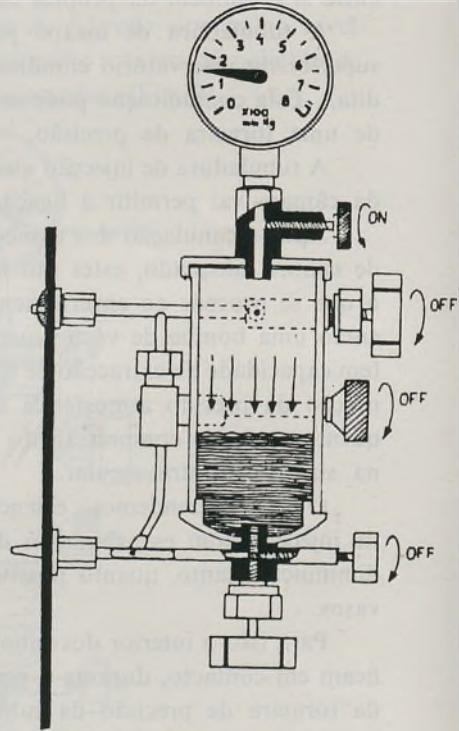


FIG. 4

A fase de compressão obtém-se fechando a torneira da tubuladura de escape e tubuladura intermédia, regulando depois a pressão na superfície do líquido por meio de vacuómetro que permite aumentar gradualmente a pressão, até aos níveis desejados da pressão arterial ou venosa. (Fig. 4).

A fase de injeção, obtém-se abrindo cuidadosamente a torneira de precisão da tubuladura de injeção, próximo da base do reserva-

tório, que permite a passagem do produto a pressão e débito sempre constantes.

O produto passa através de toda a tubuladura de injeção, penetra nos tubos, após o que flui para o interior dos vasos, perfundindo completamente os órgãos (Fig. 5).

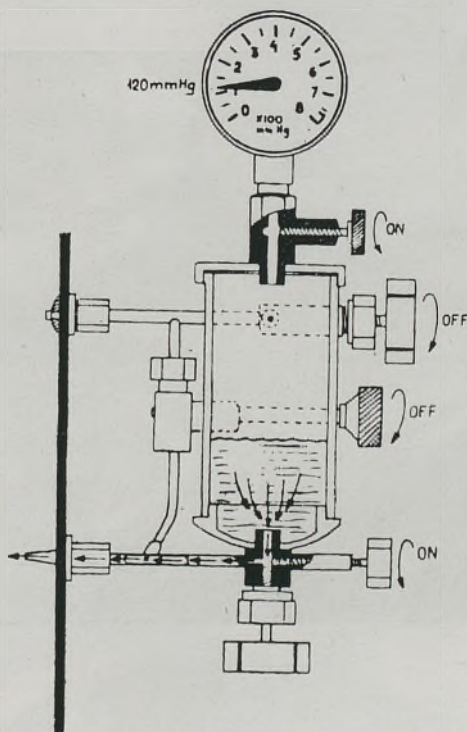


FIG. 5

## RESULTADOS

Os vasos foram injectados com gelatina e produtos fluorescentes de cores diferentes a uma pressão de 120 mmHg no sistema arterial, sendo num dos casos a artéria coronária direita injectada com pigmento de cor verde e a esquerda com pigmento de cor vermelha.

Noutros casos foram injectados o sistema arterial com uma pressão de 120 mm Hg e o sistema venoso com uma pressão de 20 mm Hg.

Pudemos observar, com a ajuda de lupa estereoscópica, após diafanização, o preenchimento venoso do apêndice auricular esquerdo com a visualização dos vasos, mostrando, divisões em ramos cada vez mais finos, não sendo observáveis quaisquer distorção ou interrupção, por artefactos, durante todo o seu trajecto. (Fig. 6).



FIG. 6

Usando a mesma técnica, podemos observar na face endocárdica do ventrículo esquerdo no seu terço médio, mais precisamente ao nível de um pilar de segunda ordem mostrando o trajecto de um vaso arterial com um calibre compreendido entre 200 a 300  $\mu$ , que é bem visualizado desde a sua origem até à sua terminação. (Fig. 7).

Noutro caso pudemos observar na superfície subepicárdica, artérias calibre e veias de calibre médio, das quais partem vasos muito delgados os quais até agora têm sido de difícil identificação por outras técnicas de injeção. (Fig. 8).

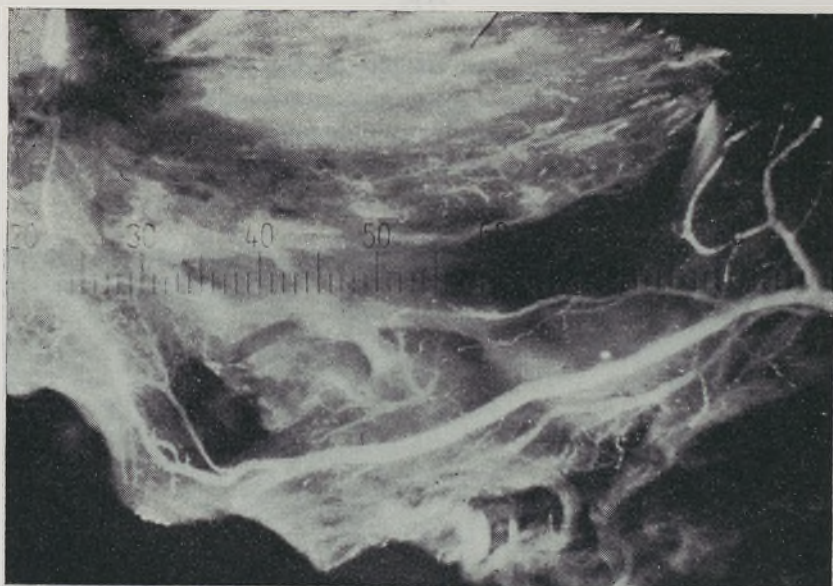


FIG. 7



FIG. 8

Pudemos observar ao microscópio de fluorescência, com uma ampliação de  $12,8\times$ , um corte histológico em congelação diafanizado, situado no  $1/3$  médio do septo interventricular, onde se assinala o preenchimento dos vasos intramiocárdios, sendo de notar também o regular trajecto dos ramos colaterais que se originam na arteriola (Fig. 9).

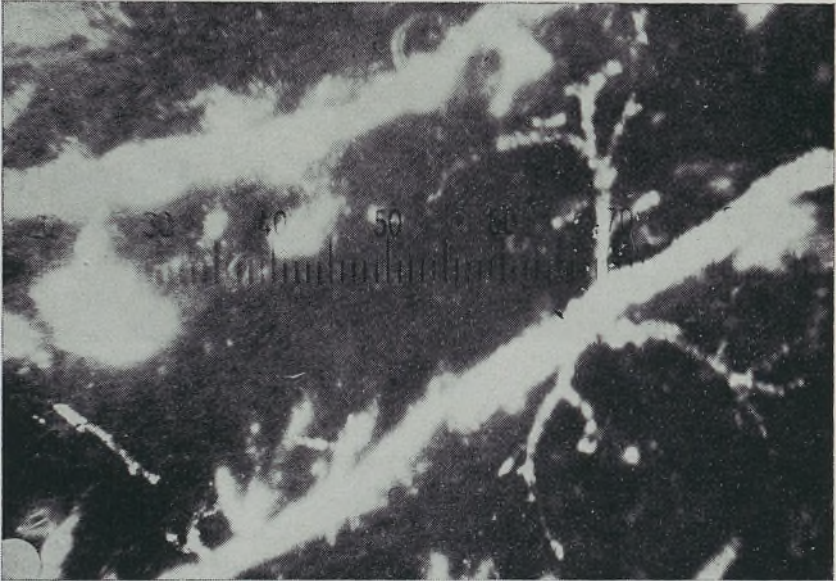


FIG. 9

### CONCLUSÕES

Os autores verificaram que os artefactos resultantes da utilização de técnicas de injeção vascular com fluxos pulsáteis ou contínuos, com lavagem vascular prévia, puderam ser parcialmente eliminados se a injeção vascular se realizar em atmosfera rarefeita, com prévio escurvamento vascular, por abaixamento de pressão extravascular a qual deforma e colapsa os vasos.

Para isso, idealizámos uma câmara em aço com a forma de uma calote cilíndrica, com três dispositivos de injeção vascular, colocados



no seu exterior, e que após cateterismo do vaso e ligação a estes sistemas permitem a limpeza vascular do sangue, ar e coágulos existentes e a injeção simultânea de dois ou mais sistema, cuja pressão de injeção e débito são controladas manometricamente.

A observação dos resultados e a sua comparação com os obtidos através de outras técnicas mostraram que existe um melhor preenchimento vascular com a concentração homogênea do produto de injeção, mesmo nos vasos de pequeno calibre, e evidenciaram vasos do mesmo tipo ou vasos de tipos diferentes, que não seriam passíveis de observação com as técnicas habitualmente utilizadas.

### RESUMÉE

Les auteurs ont verifié que l'injection vasculaire en vacum aurait de grandes avantages sur les techniques classiques. Ils ont fait construire un appareil en acier avec la forme d'une calotte cylindrique avec trois dispositifs d'injection vasculaire à son extérieure et que après le catheterisme du vaisseau et liaison au système possibilite: la nettoyage vasculaire de sang, air et caillots et injection simultané de plusieurs systèmes avec la pression d'injection et débil controlés manovétriquement.

L'observation des resultats obtenus avec les theniques anterieurs ont démontré qu'il y a un meilleure remplissage vasculaire même dans les vaisseaux plus fins.

### SUMMARY

The autors verified that the artifacts obtained with the utilization of thecnics of vascular injection using pulsatile or continous flux, with previous vascular washing could be eliminated with vascular injection in rarefied atmosphere with previous emptying of the vessels by lowering of the extravascular pressure that colapses the vessels.

So they idealized a cammera made of steel with the shape of a cylindric calotte with three injection devices in its exterior and that after catheterism of the vessels and their binding to theses systems, allow:

The vascular emptying from blood, air and clothes and the simultaneous injection of more than one system, with the injection pressure and debit with manometric controle.

From the examination of the results and their comparation with those obtained with other thecnics the authors concluded that is a better vascular filling with this thecnic with homogeneous concentration of the injection product even in the thinner vessels, what has not been possible to observe with the others thecnics previously used.

#### BIBLIOGRAFIA

- BELLON, P. — Revision anatomica del sistema arterial. Técnica, Buenos Aires, 1934.
- CHAVES, C. M. — A technique for experimental cannulation of the renal, testicular and cardiac lymphatics. *Surgery*, 56: 421, 1966.
- DAVIES, D. A. — On the preservation of insects by drying in vacuum, *Entomologist*, 87: 138/41, 1954.
- ESPERANÇA PINA J. A. — A injeção vascular em angiologia e as substâncias fluorescentes. Perspectiva de sua aplicação clinica — Prova complementar de Doutoramento apresentada à F.M.L., 1-87, Lisboa, 1972.
- TOMPSETT, D. H. — Anatomical thecniques, ed. Livingstone, Edimburg and London, 1970.

## VASCULARIZAÇÃO ARTERIAL DO CÓRTEX CEREBELOSO DOS QUIRÓPTEROS \*

M. M. MARINI-ABREU (\*\*)

### INTRODUÇÃO

Em 1971, no trabalho «*Contribuição para o estudo da vascularização do cerebello das Aves. Estudo de Anatomia Comparada*» (1), afirmámos:

— Em todas as espécies que estudámos, os vasos corticais, numerosíssimos, penetram perpendicularmente à superfície do córtex e em trajecto sinuoso, helicoidal, acabam por se perder no estrato granuloso;

— É interessante realçar a particularidade helicoidal destes vasos, parecendo-nos que tal facto se deve interpretar como tratando-se dum sistema de segurança, isto é, de vaso-regulação intrínseca, incumbido de atenuar a diástole arterial, nefasta sem dúvida para um tecido tão delicado como o nervoso, permitindo deste modo que o sangue, embora fluindo abundantemente, lhe chegue com uma pressão constante e sem pulsações apreciáveis. Na espécie humana, muito raramente vimos os vasos que irrigam o córtex cerebeloso tomarem o aspecto helicoidal;

---

\* Também publicado nos Arq. Anat. Antrop. do Inst. Antrop. Prof. Souza Marques, Vol. IV e V, 1979/1980, Rio de Janeiro. BRASIL.

\*\* Professor do Instituto de Ciências Biomédicas de «Abel Salazar» da Universidade do Porto. Largo Prof. Abel Salazar, 2 4000 — Porto. PORTUGAL.

(1) Comunicação apresentada no 8.º Congresso Brasileiro de Anatomia (Pelotas, BRASIL — 27 a 31 Julho, 1971).

— Contrariamente ao que se observa no Homem, os vasos arteriais que nutrem o córtex cerebeloso das Aves, revestem-se duma única forma, isto é, de um único tipo.

Mais tarde, em 1974, no 6.º Congresso da Sociedade Anatómica da África Austral (Luanda, ANGOLA — 6 a 12 de Abril, 1974), a propósito do trabalho «*Contribuição para o estudo da vascularização do cerebelo dos Seláceos (Gén. Carcharinus)*» foi levantada a questão sobre o trajecto e forma dos vasos corticais destes peixes, que são dum único tipo como nas Aves, mas de trajecto rectilíneo como no Homem, pondo-se então a hipótese do tipo helicoidal dos elementos arteriais do córtex cerebeloso das Aves poder corresponder a uma adaptação ao seu modo de locomoção, isto é, ao voo. Na altura, propôsêmo-nos verificar a hipótese, em Mamíferos voadores.

## MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo utilizámos 6 exemplares (4 machos e 2 fêmeas) da espécie *Epomophorus wahlbergi* (SUNDEVALL, 1846), Megaquiróptero abundante em África, de regímen frugívoro, que se pode deslocar em voo verdadeiro à procura de alimentos até 50 km do seu habitat normal.

Imediatamente após a captura dos animais, o cerebelo era extraído por abertura da caixa craniana e fixado numa solução de formol a 15% e salgada a 2% (83 cc de água, 15 cc de formol do comércio e 2 gr. de sal comum), para estudo dos seus vasos, pela técnica de PICKWORTH modificada por FAZIO.

## RESULTADOS

A mielo e cito-arquitectonia do córtex cerebeloso dos Quirópteros não é diferente da do córtex das Aves e de outros Mamíferos, incluindo o Homem, dispondo-se as suas células em 3 camadas: uma externa ou molecular, pobre em células e rica em fibras nervosas, uma média constituída por células volumosas dispostas regularmente numa fiada, as células de PURKINJE, e uma camada interna ou granulosa, rica em pequenas células, mas pobre em fibras.

Tal como no cerebello humano, das Aves e dos Seláceos, as artérias que irrigam o cerebello do *Epomophorus wahlbergi* remificam-se dicotomicamente em superfície e, anastomosando-se entre si, formam uma delicada rede peri-cerebelosa, donde partem os vasos que penetram nos sulcos do cerebello. Destes elementos arteriais, ao longo de todo o seu trajecto pelos *sulci cerebelli*, nascem finíssimas arteríolas, as

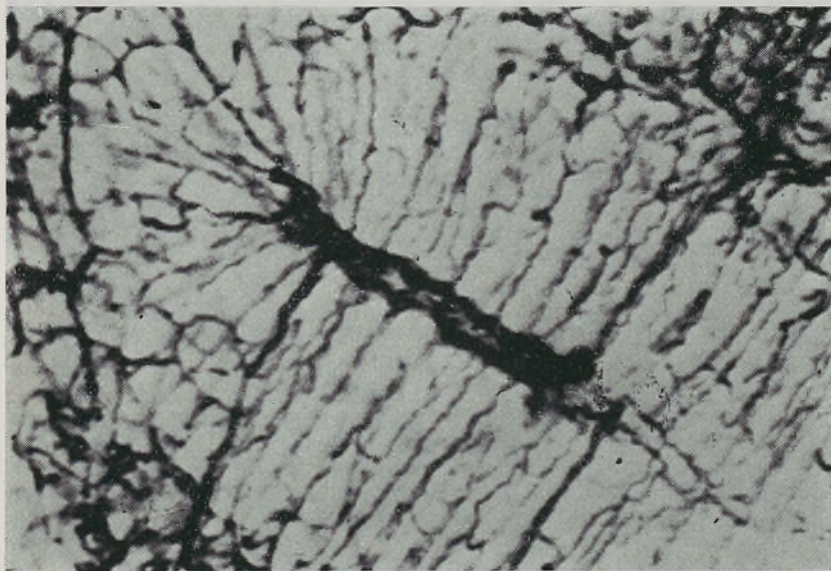


FIG. 1 — *Epomophorus wahlbergi*. Predomínio de artérias corticais curtas cerebelosas. Retículo capilar da camada externa (PICKWORTH-FAZIO).

*artérias corticais*, que penetram na massa nervosa lado a lado, apresentando a quase totalidade delas um trajecto sinuoso, helicoidal (Fig. 1, 2). Neste particular, estas arteríolas assemelham-se muito aos vasos corticais das Aves (Fig. 3), afastando-se dos do Homem e dos Seláceos, cujo trajecto é rectilíneo (Fig. 4, 5).

Como no cerebello humano, as artérias corticais do *Epomophorus wahlbergi* são de 3 tipos, — *artérias curtas*, *médias* e *longas*, — cujo destino é dirigirem-se fundamentalmente: as primeiras para a camada

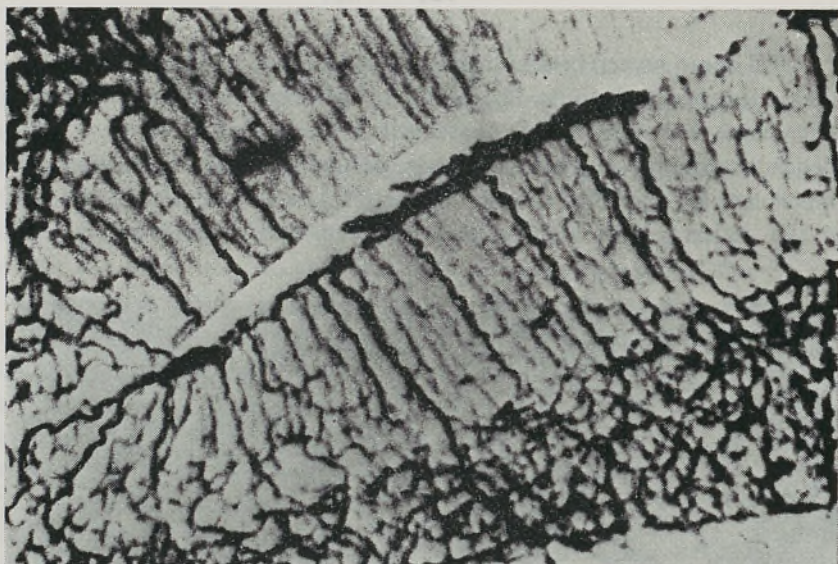


FIG. 2 — *Epomophorus wahlbergi*. Artérias corticais cerebelosas de trajecto helicoidal (PICKWORTH-FAZIO).



FIG. 3 — Cerebelo de *Gallus domesticus*. Artérias corticais dum só tipo e de trajecto marcadamente helicoidal (PICKWORTH-FAZIO).

externa do córtex, as segundas para a média e as terceiras para a camada interna. As artérias corticais médias e longas ao percorrerem a camada molecular, raramente lhe cedem colaterais. Neste estrato, os vasos corticais curtos anastomosam-se entre si e com as colaterais das arteríolas médias e longas formam um retículo capilar de malhas abertas e de forma predominantemente rectangular (Fig. 1), de eixo maior

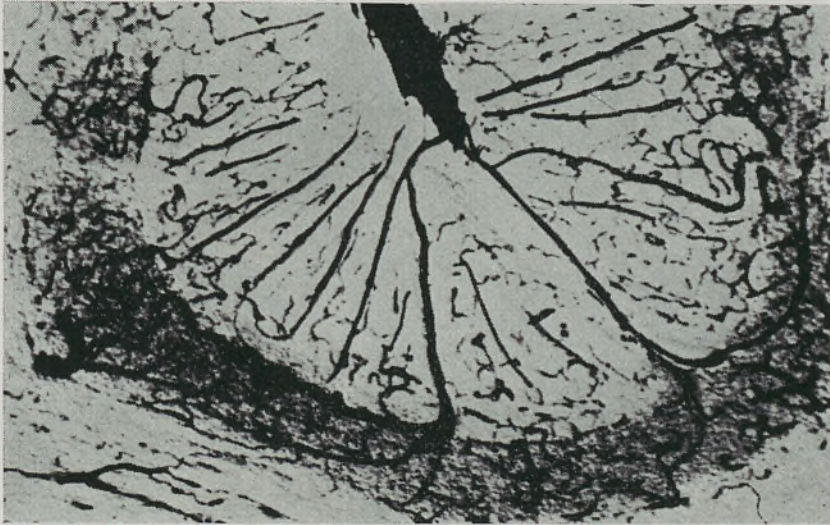


FIG. 4 — Artérias corticais do cerebello humano (PICKWORTH-FAZIO).

orientado, por via de regra, perpendicularmente à superfície do córtex. Numericamente as artérias corticais curtas prevalecem sobre as médias e estas, sobre as longas.

No estrato das células de PURKINJE, as arteríolas corticais médias, juntamente com as colaterais que lhe dão as artérias corticais longas e ainda as terminais das curtas, formam uma *rede vascular purkinjiana*, tal como se observa no cerebello humano, mas não no das Aves e Seláceos, onde na verdade não é possível distinguir um plano vascular purkinjiano nítido e individualizando. No córtex cerebeloso destes animais, ao contrário do que se passa no Homem e no Megaquiróptero estudado, não foi possível distinguir quaisquer *vasos principais* (arté-

rias curtas, médias e longas), mas sim dum só tipo que atravessam toda a espessura do córtex que irrigam.

No estrato dos grãos do córtex cerebeloso do *Epomophorus wahlbergi* (Fig. 2) os vasos longos arborizam-se, resultando das anastomoses que se estabelecem uma rede capilar de malhas cerradas, irregularmente poligonais, cuja orientação é difícil precisar, tal como no cere-



FIG. 5 — Cerebelo de *Carcharinus* spp. Artérias corticais dum só tipo, de trajecto rectilíneo (PICKWORTH-FAZIO).

belo humano. As redes capilares das três camadas do cortex cerebeloso da espécie estudada ligam-se entre si, e a rede do estrato granuloso, com o retículo capilar da substância branca subjacente.

GUERRA-PEREIRA estudando a irrigação do cerebelo dos Ruminantes domésticos (boi, cabra e carneiro) pela técnica de PICKWORTH-FAZIO, descreveu também 3 tipos de artérias corticais — curtas, médias e longas — que diz, terem trajecto rectilíneo.

Relativamente ainda à vascularização arterial do córtex cerebeloso do *Epomophorus wahlbergi*, pela primeira vez, observámos vasos



arteriais que, depois de penetrarem no córtex e o atravessarem, chegam à substância branca da lâmina ou da lamela que ultrapassam, para irem à substância cinzenta periférica do lado oposto à entrada, onde se ramificam (Fig. 6). Segundo PFEIFER, estes elementos arteriais seriam

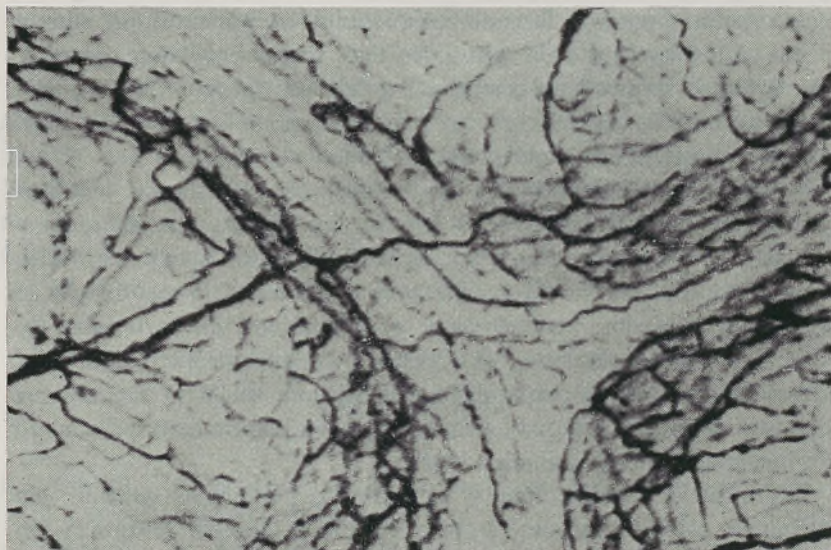


FIG. 6 — Artéria cortical do tipo descrito por PFEIFER, do cerebello de *Epomophorus wahlbergi* (PICKWORTH-FAZIO).

bastante característicos da circulação do cerebello, à qual chamou «circulação do tipo transversal». Tanto no Homem, como nas Aves e Seláceos, nunca encontramos vasos deste tipo.

### COMENTÁRIOS

Resumidamente podemos dizer que o ângio-arquitectonia do cortex cerebeloso do *Epomophorus wahlbergi* é idêntica à do Homem, se exceptuarmos a característica helicoidal dos seus elementos.

Neste particular, as artérias corticais do *Megaquiróptero* estudado são semelhantes às arteríolas que observámos no córtex cerebeloso das Aves, mas diferindo delas relativamente ao polimorfismo. Na realidade, enquanto que no *Epomophorus wahlbergi* é possível distinguir 3 tipos de arteríolas corticais — artérias curtas, médias e longas — nas Aves foi impossível, fazendo-se representar os elementos que nutrem o seu córtex cerebeloso por um único tipo, todos semelhantes entre si. O mesmo se verificou no cerebelo dos Seláceos (género *Carcharinus*), embora nestes peixes, tal como na espécie humana, o trajecto das arteríolas corticais seja marcadamente rectilíneo.

Apoiados nos estudos de De VRIESE, não encontramos qualquer justificação essencial relativa ao arranjo das artérias que abordam o encéfalo destes agrupamentos zoológicos, isto é, do sistema carotídeo e vertebral, que pudesse fazer supôr uma modificação da vaso-regulação extrínseca e, assim, condicionasse a sinuosidade das arteríolas do córtex cerebeloso observada nas Aves e no *Megaquiróptero* estudado. Deste modo, esta particularidade representaria de facto um sistema de vaso-regulação intrínseca, condicionada ou determinada pelo modo de locomoção destes animais, o vôo.

Contudo, julgamos ainda prematuro e arriscado concluir em definitivo sobre o assunto, transformando a hipótese levantada em realidade, pois no nosso entender há que aprofundar estas investigações, estudando a vascularização arterial do córtex cerebeloso doutras Aves e Quirópteros, sobretudo empregando outras técnicas e métodos de observação, para além dos que utilizámos. Deste modo, acreditamos poder chegar-se a uma conclusão definitiva.

Com este trabalho, pretendemos apenas dar a conhecer as nossas investigações e talvez prestar um pequeno contributo, embora deixando ainda a questão em aberto.

## RESUMO

O Autor estuda a irrigação do córtex cerebeloso do *Epomophorus wahlbergi*, *Megaquiróptero* abundante em África, estabelecendo relações entre os seus vasos arteriais e os observados no Homem, Aves e Seláceos, no intuito de poder precisar se o trajecto helicoidal que os mesmos

apresentam, tal como nas Aves, poderá corresponder a um mecanismo de vaso-regulação intrínseca, condicionado pelo voo.

A técnica de estudo utilizada, foi a de PICKWORTH modificada por FAZIO.

#### SUMMARY

The author studies the cerebellar cortex irrigation of the *Epomophurus wahlbergi* (Chiroptera), abundant in Africa. He establishes the relationship between its arterial vessels and those observed in Man, Birds and Selachii in order to determine whether the helicoidal course they present corresponds to an intrinsic vasoregulation mechanism conditioned by the flight, as it happens in birds.

The PICKWORTH technique modified by FAZIO was used.

#### BIBLIOGRAFIA

- De VRIESE, B. — Sur la signification morphologique des artères cérébrales. Arch. Biol., 21: 357-457, 1904.
- DORST, M.J. — Les Mammifères. In: Etres Vivants. Vegetaux et Animaux. Clartés: 4440-4470, 1958.
- FAZIO, I. — La circolazione arteriosa della corteccia cerebellare. Studio comparativo. Riv. Pat. nerv. ment., 51 (1): 125-136, 1938.
- GRASSÉ, Pierre — P. — Traité de Zoologie. Anatomie, Systématique, Biologie, Tomo XVI (Fasc. IV) e Tomo XVII (Fasc. I, II), Masson et C.::, Édit. Paris 1972 e 1955.
- GUERRA-PEREIRA, M-L. — Arterial Blood Supply, of the Cerebellum of cattle, Sheep and Goats — Tese. Pretória, 1972.
- KAPPERS, C.U., CARL HUBER, G. and CAROLINE, E. — The Comparative Anatomy of the Nervous System of Vertebrates, Including Man. N. York, The Mac-Millan Comp., N. York, Boston, London, Toronto, 1936.
- MARINI-ABREU, M.M. — Contribuição para o estudo da vascularização arterial do cerebelo. Tese. Lourenço Marques, 1969.
- MARINI-ABREU, M.M. — Contribuição para o estudo da vascularização do cerebelo das Aves. Estudo de Anatomia Comparada. Rev. Ciênc. Méd., Lourenço Marques, 4 (1): 132, 1971.

- MARINI-ABREU, M.M. — Contribuição para o estudo da vascularização do cerebelo dos Seláceos (Gén. *Carcharinus*). Rev. Ciênc. Méd., Lourenço Marques, 7 (1), 1974.
- PFEIFER, R.A. — Grundlegende Untersuchungen für Angioarchitektonik des Menschlichen Gehirns. Springer, Berlin, 1930.
- PICKWORTH, F.A. — A new method of study of the brain capillaries and its application to the regional localisation of mental disorder. J. Anat., 69: 62, 1934
- RAMÓN y CAJAL, S. — Histologie du Système nerveux de l'homme et des Vertèbres. A. Maloine, Édit., Paris 1909-1911.

# A PROPÓSITO DA VASCULARIZAÇÃO ARTERIAL DA RETINA DOS SELÁCEOS (GÉNERO CARCHARINUS) \*

M. M. MARINI-ABREU \*\*

## INTRODUÇÃO

Por acharmos curiosas as imagens que observámos dos vasos que nutrem a retina dos Seláceos do género *Carcharinus* que utilizámos para o estudo da irrigação do cerebello destes peixes (1974), resolvemos apresentá-las neste trabalho.

Embora os globos oculares sejam semelhantes em toda a série dos Vertebrados adultos, talvez convenha fazer um apanhado de algumas das características anátomo-fisiológicas dos olhos dos Selachii, para uma melhor interpretação da vascularização da retina destes peixes.

Nos Elasmobranchii, exceptuando alguns géneros, os olhos são bastante volumosos, de forma elipsoidal, e situados lateralmente na cabeça. Os olhos das espécies do género *Carcharinus* não se afastam desta descrição genérica.

Do ponto de vista fisiológico, segundo VERRIER e FRANZ, os Seláceos têm uma visão fortemente hipermetrope, 10 a 14 dioptrias, tendo de acordo com o último Autor uma acomodação positiva, por acção dum córtex contractil da pseudo-campânula, que determina uma projecção do cristalino para a córnea. Contrariamente, os Teleósteos

---

\* Também publicado nos Arq. Anat. Antrop. do Inst. Antrop. Prof. Souza Marques, Vol. IV e V, Anos IV e V, 1979/1980, Rio de Janeiro. BRASIL.

\*\* Professor do Instituto de Ciências Biomédicas de «Abel Salazar» da Universidade do Porto. Largo Prof. Abel Salazar, 2 4000 — Porto. PORTUGAL.

são peixes míopes, de  $-6$  a  $-13$  dioptrias, com uma acomodação negativa.

No género *Carcharinus*, as suas espécies têm um campo visual binocular, embora menos extenso do que o doutros Elasmobranchii, cujos olhos se situam dorsalmente, como nas Raias.

Como membranas envolventes dos olhos dos Seláceos, e dos Peixes em geral, perifericamente temos a córnea, que é de forma oval e cujos diâmetros horizontal e vertical são praticamente idênticos. A córnea é fina e transparente na sua parte central, sendo mais espessa e opaca na periferia; o epitélio corneano é de espessura variável, consoante as espécies. A córnea continua-se com a parte fibrosa da esclerótica.

Esta túnica envolvente do olho, fibrosa e vascular, está revestida por uma lâmina cartilaginosa — a cartilagem escleral — mais ou menos espessa, e geralmente contínua dos bordos da córnea até ao nervo óptico. A espessura total da esclerótica varia com as espécies, sendo geralmente o seu máximo ao nível do polo posterior do olho.

Relativamente à coróide, a lâmina vítrea e a cório-capilar são constantes. Quase sempre um tapete coróideu — *tapetum lucidum* — ocupa os  $2/3$  superiores do fundo do olho e é formado por células chatas com cristais guanídicos, misturadas de melanoblastos. Em numerosas espécies de Seláceos, as células guanóforas são oblíquas em relação à superfície da coróide.

A camada vâsculo-conjuntiva da coróide pode apresentar aspectos variáveis, consoante as espécies; as veias predominam no entrelaçado vascular que a constitui.

A superfície exterior da coróide, convexa, corresponde em toda a sua extensão à superfície interior da esclerótica; a superfície interior, côncava, está em relação com a retina, sobre a qual se molda.

Nos Seláceos adultos, só a úvea é vascular, existindo duas artérias: uma ântero-interna que irriga a coróide, e outra ventral, para a íris. No embrião, um vaso arterial penetra pela fenda embrionária, circunscrive-se ao soalho do olho, e envia ramificações à retina. Este vaso desaparece no decurso do desenvolvimento do peixe, para unicamente restar um seu vestígio no adulto, que vasculariza a pseudo-campânula, quando existe. A coróide propriamente dita comporta-se assim como um envólucro vascular e nutritivo da retina, cujas células visuais se voltam para ela. Desta forma, se constitui uma rede capilar

de contacto assente na membrana cório-capilar da coróide que assegura a actividade nutritiva e funcional da túnica retiniana. Nos Seláceos adultos, a retina é pois invascular. Já nos Teleósteos existe uma membrana vascular hialo-retiniana. Nos Vertebrados Superiores adultos, os vasos hialo-retinianos do embrião desaparecem e desenvolve-se uma rede intra-retiniana que tem origem nos vasos do nervo óptico. A vascularização intra-retiniana é uma característica exclusiva dos Mamíferos.

O corpo ciliar, intermediário à coróide propriamente dita e à iris, estende-se da *ora retinae* à raiz da iris. Por vezes, separa-se da camada esclero-corneana até ao nível da *ora retinae*, donde resulta um espaço que seria o equivalente do espaço de Fontana dos Vertebrados Superiores. O folheto anterior do corpo ciliar, pigmentado, continua-se com o epitélio da retina. O seu folheto mesodérmico médio, não é mais do que uma camada da úvea vascular; o folheto posterior, não pigmentado, continua a retina visual e segrega, como formação exoplástica, o aparelho vítreo e fibrilar (zónula), suspensor do cristalino. O corpo ciliar é plissado radialmente. A pseudo-campânula, pequeno órgão pigmentado que se prende directamente à cápsula do cristalino e que emana dos processos ciliares, falta nalguns Seláceos, como no *Carcharinus* spp.

A iris que continha o segmento mais anterior da membrana vascular do olho, nos Seláceos é geralmente fina e extensa. A camada mesodérmica mediana da iris é constituída por fibras conjuntivas, células pigmentadas de pequeno tamanho e por melanoblastos volumosos, de prolongamentos numerosos e entrelaçados. Os seus vasos são variáveis em número, segundo as espécies. A musculatura da iris é de origem epitelial. No *Carcharinus* spp., a pupila é de forma ovalar; noutros géneros de Elasmobrancos pode ser arredondada ou em fenda como no *Scyllium* spp., com um opérculo superior. As Raias têm pupilas operculadas, de opérculo inteiro.

Segundo CARRÉRE, nas pupilas operculadas o esfíncter está sobretudo desenvolvido em torno das duas comissuras da fenda pupilar. Em volta das pupilas ovulares ou circulares, o esfíncter adopta a forma dum anel muscular completo. Os elementos do esfíncter são células musculares lisas pigmentadas, de origem epitelial. A reacção da

iris dos Seláceos far-se-ia directa e exclusivamente sob a influência da luz, isto é, sem reflexo retino-iridiano.

Relativamente à retina dos Elasmobrancos do género *Carcharinus*, não conserva qualquer traço da fenda fetal.

O epitélio retiniano não é pigmentado e está formado por células chatas ou cúbicas, geralmente desprovidas de prolongamentos.

A retina nervosa destes peixes é constituída por bastonetes, em geral longos e finos. Em certas espécies podem-se encontrar cones, porém habitualmente em pequeno número.

A papila óptica do *Carcharinus* spp. é algo achatada, de bordos convexos; é invascular (ROCHON-DUVIGNEAUD). A coróide, por altura da travessia do nervo óptico, apresenta uma verdadeira lacuna e não existe lâmina crivada. Ao nível da papila não existe retina, correspondendo assim a uma região cega. O nervo óptico é fino, estando o seu eixo ocupado por uma coluna de pequenas células. A sua estrutura é muito primitiva e não é penetrado nem pela mesoderme, nem por vasos (ROCHON-DUVIGNEAUD).

Das artérias destinadas a irrigar a órbita e globo ocular dos Seláceos, a artéria oftálmica é a responsável pela formação do plexo coróide, imprópriamente chamado glândula coroidéia, espécie de rede admirabilis. Esta artéria tem a sua origem na artéria pseudo-branquial eferente, antes ou depois da sua entrada no crânio (Seláceos e Teleósteos), podendo também nascer da artéria carótida interna.

## MATERIAL E MÉTODOS

Em 1974, tivemos a oportunidade de estudar a vascularização do cerebelo dos Seláceos do género *Carcharinus*, pela técnica de PICK-WORTH modificada por FAZIO, tendo-se também na altura injectado dois espécimens com uma solução dum pigmento vermelho (Super Tintalac-Coral, ROBBIALAC), gelatinada a 5%. A injeção foi feita pela artéria aorta dorsal mediana, injectando-se o produto em sentido cranial.

Depois de assim procedermos e após algumas horas de permanência da cabeça dos tubarões na geleira, fizemos a extracção do encéfalo dos animais sacrificados e à enucleação dos seus globos oculares.



Seguidamente, o material colhido foi fixado em formol a 10%, durante uma semana.

Apos ter decorrido este tempo de fixação, os olhos foram então submetidos à técnica de diafanização proposta por POULHÉS, e depois mergulhados em resina poliéster não catalizada (Rhodhester 1507 LS-RHÓNE-POULENC, Paris), durante um dia. Antes porém do banho de resina, com uma tesoura de ramos finos, fizemos a extracção da córnea transparente, cortando-se a esclerótica um pouco para além da circunferência ou limbo córneo. Em seguida, retirámos o cristalino e esvaziámos o corpo vítreo, pondo-se a descoberto a superfície interior da retina. O corpo vítreo dos Seláceos, avascular, não adere à retina, destacando-se da mesma com facilidade. Os vasos foram então fotografados à lupa estereoscópica.

## RESULTADOS

A artéria responsável pela actividade nutritiva e funcional da retina na espécie de Seláceos estudada, penetra no globo ocular lateralmente à palila óptica (Fig. 1), e, de imediato, divide-se em dois ramos divergentes: um anterior ou cranial e outro posterior ou caudal. O ramo caudal, de maior comprimento, mas sensivelmente de igual calibre ao do cranial, passa por baixo da papila óptica, no seu trajecto rectilíneo para trás.

Tanto do ramo caudal como do ramo cranial, os vasos pelo lado ventral emitem, a intervalos bastante regulares, curtas colaterais que, rapidamente, se ramificam em V, dando imagens de aspecto caliciforme: os *cálices primários* (Fig. 2).

Por sua vez, cada um dos ramos destes cálices pode de novo bifurcar-se, também em V, dando *cálices secundários*, e os ramos destes bifurcando-se ainda, porém mais raramente, dão *cálices terciários* (Figs. 2, 3). Tanto os ramos dos cálices primários, como dos secundários e terciários são terminais. Dirigem-se rectilínea e paralelamente uns aos outros para a periferia da córnea, sobre o seu soalho ou porção ventral, que irriga até à *ora retinae*. Por vezes, entre os ramos dos cálices primários estabelecem-se anastomoses transversais entre si ou entre os ramos dos cálices vizinhos (Figs. 2, 3, 4). Estas anastomoses

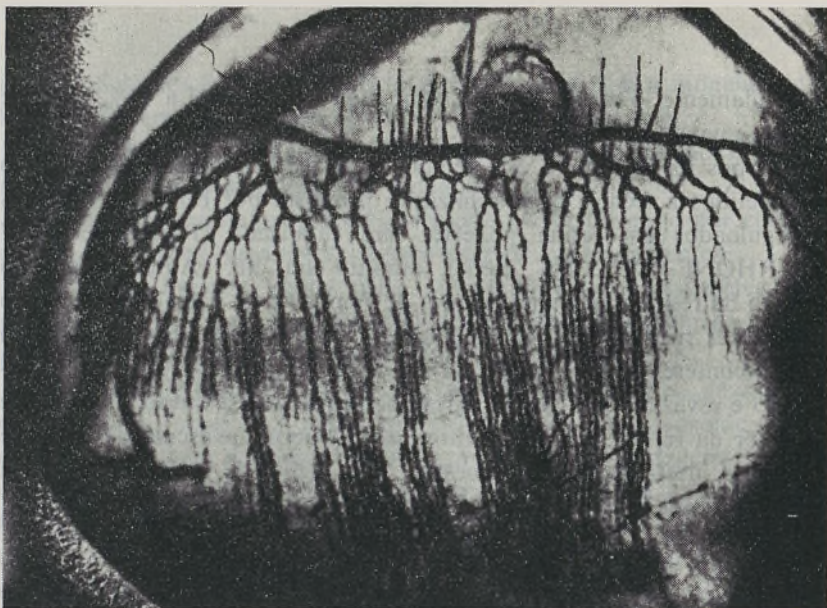


FIG. 1 — Ramos caudal e cranial da artéria oftálmica (O.E.)



FIG. 2 — Imagens de aspecto caliciforme das colaterais dos ramos caudal e cranial



FIG. 3 — Cálices primários (1), secundários (2) e terciários (3). Pormenor da Fig. 2

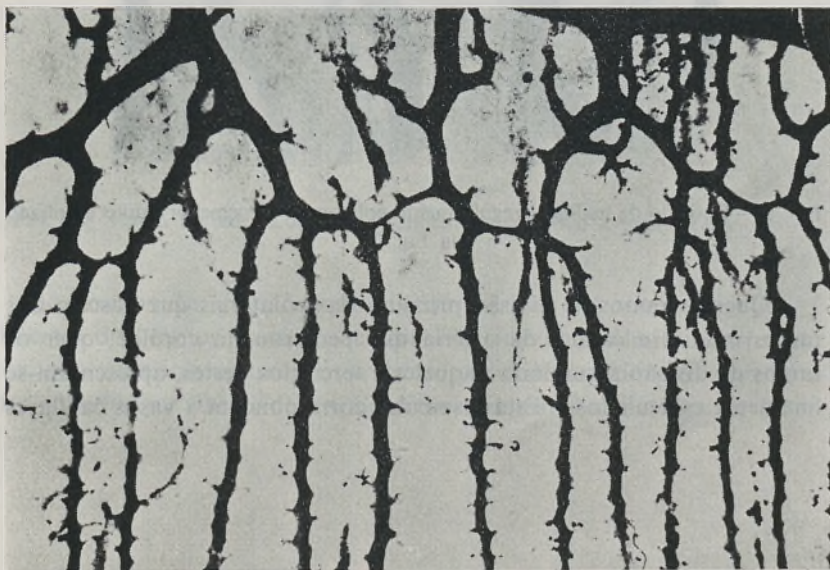


FIG. 4 — Aspecto espiculado dos ramos dos cálices

são raras. Entre os ramos dos cálices secundários e terciários, não observámos vasos anastomóticos.

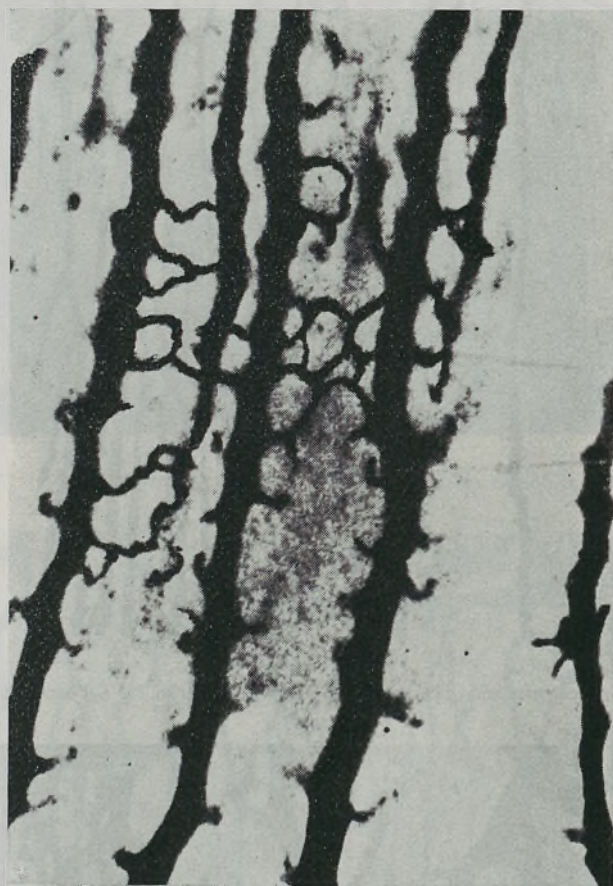


FIG. 5 — Reticulo de malhas irregularmente poligonais. Pormenor muito ampliado da Fig. 2

Quer os ramos de divisão primária das colaterais que nascem dos ramos cranial e caudal da artéria que penetrou na coróide, quer os ramos de divisão secundária daqueles e terciários destes, apresentam-se finamente espiculados. Estas espiculas correspondem a vasos capilares

(Fig. 4). Estes capilares anastomosando-se, formam um retículo de malhas irregularmente poligonais (Fig. 5).



FIG. 6 — Ramo caudal. Colateral ascendente envolvendo a papila óptica

Dos ramos de divisão primária ou, menos habitualmente, das colaterais dos ramos caudal e cranial da artéria oftálmica, partem finos vasos arteriolares que, em tracto recorrente, se dirigem para a parte superior ou dorsal da coróide, onde se distribuem (Figs. 1, 2).

Um incompleto preenchimento destes vasos pela solução injectada, não nos permitiu seguir todo o seu trajecto e modo de distribuição. No entanto, quer-nos parecer que a parte dorsal da coróide possui uma densidade vascular menor do que a sua parte inferior ou ventral que assim seria mais fina e ricamente irrigada do que aquela, e, possivelmente, mais foto-sensível.

O ramo posterior ou caudal no momento em que passa sob a papila óptica, dá um ramo ascendente bem individualizado e de certo calibre que envolve a papila à maneira de um vaso coronário (Figs. 1, 6).

### COMENTÁRIOS

Passados 5 anos destas observações, resolvemos agora publicá-las.

De acordo com o que dissemos na introdução àcerca do modo como é nutrida a retina dos Seláceos, as imagens vasculares que obtivemos, interpretamo-las como sendo de vasos arteriais da coróide, assentes na sua membrana cório-capilar, e que asseguram a actividade nutritiva e funcional da retina. Na realidade, a túnica nervosa do olho dos Elasmobranchii é invascular, ao contrário da dos Vertebrados Superiores que possui uma rede arterial própria, intra-retiniana.

Mas posteriormente a estas observações (1978), na dúvida das imagens obtidas em 1974 não corresponderem de facto a vasos arteriais, por não familiarizados com os mesmos nos Peixes, para contra prova, resolvemos injectar com uma solução de tinta da China gelatinada a 20%, por via venosa (seio cardinal anterior), dois exemplares de *Scyllium canicula*, Seláceo abundante na costa portuguesa, dada a impossibilidade de o fazer em *Carcharinus* spp., frequente na costa Moçambicana. Os olhos daqueles peixes foram enucleados, fixados e diafanizados nos mesmos moldes que os de *Carcharinus* spp., pondo-se a descoberto a vascularização coroideia cujos vasos fotografámos (Figs. 7, 8, 9). Pelas imagens obtidas, notámos que estes vasos são morfológicamente diferentes dos observados na coróide de *Carcharinus* spp., apresentando-se com características das veias coroideanas, *vasa*

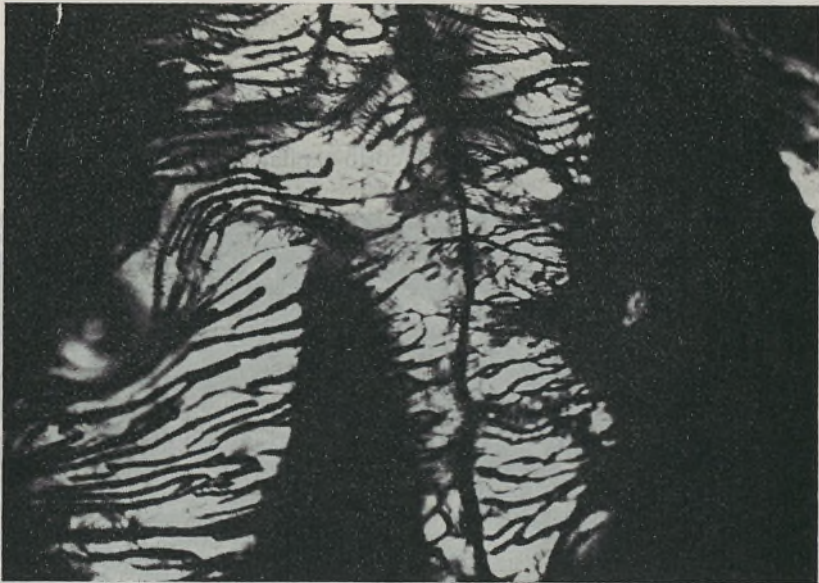


FIG. 7—*Vasa vorticosa* do olho de *Scyllium canicula* (O.E.)



FIG. 8—*Scyllium canicula*. *Vasa vorticosa* (pormenor da Fig. 7)

*vorticosa*. Concluímos assim, que os vasos fotografados nos olhos dos espécimens do género *Carcharinus* estudados, correspondem efectivamente a artérias da membrana cório-capilar da úvea destes peixes.



FIG. 9 — Outro aspecto de *vasa vorticosa* de *Scyllium canicula* (pormenor da Fig. 7)

### RESUMO

O Autor estuda a vascularização arterial da retina dos Seláceos do género *Carcharinus* pela técnica da diafanização, utilizando para visualizar os vasos a injeção duma solução dum pigmento Vermelho, gelatinada a 5%. A injeção foi feita pela artéria aorta dorsal mediana, injectando-se a solução no sentido carnial.

O Autor verifica que a artéria que também é responsável pela irrigação da retina, a artéria oftálmica, na camada sub-retiniana da coróide — camada vvascula-conjuntiva — se divide em dois ramos: um anterior ou cranial e outro posterior ou caudal. Destes dois ramos, partem curtas colaterais que se ramificam em «cálice», distribuindo-se principalmente pela parte inferior ou ventral da coróide. Este facto



deverá estar de acordo com a vascularização do tipo rudimentar da retina destes peixes, a qual recebe a sua nutrição dos vasos da membrana cório-capilar da úvea, contrariamente ao que se passa nos Vertebrados Superiores, e só neles, cuja retina possui uma irrigação própria, intra-retiniana.

A parte superior ou dorsal da retina de *Carcharinus* spp. estudado é menos vascularizada que a sua parte ventral, o que poderá levar a supôr que esta seja menos foto-sensível do que aquela.

### SUMMARY

The author studies the arterial vascularization of Selachii retina (*Charcharinus* Gen.) by the diaphanization technique. It consists of injecting a red stained gel solution (5%) through the dorsal aorta in a cranial direction.

He observed that the ophtalmic artery also responsible for the irrigation of the retina subdivides into two branches, cranial and caudal, in the subretinal layer of the choroid — vasculo-connective layer. These branches give off short collateral ramificatios which in turn result in very fina branches with a caliciform aspect, spreading over the inferior or ventral part of the choroid. This fact conforms to the rudimentary type of vascularization of the retina in fishes. It is supplied by the vessels of the uvea choriocapillary membrane, unlike the Mammalian whose retina has an intra-retinal vascularization.

The dorsal part of *Carcharinus* spp. retina studied, is less vascularized than the ventral one, which suggests that it is less photo-sensitive.

### BIBLIOGRAFIA

- BARNETT, C.H. — The structure and fonction of choroidal gland of Teleostean. — Jour. of Anat., vol. 85, 2.<sup>a</sup> pat.: 113-119, 1951.
- CARRÉRE, L. — Les muscles de l'iris chez les Sélaciens. Thèse. Fac. Méd. Montpellier. 1923.
- CHANTON, R. e PANIEL, J. — Anatomie es Physiologie Animales. G. Doin et C.í.; Paris. 1962.

- FAZIO, C. — Rilieve sopra un nuovo metodo per lo studio della rete vasale del sistema nervoso in condizioni normali e patologiche. — Riv. Pat. nerv. e ment., 51 (1): 125, 1938.
- FRANZ, V. — Zur Anatomie, Histologie und funktionellen Gestaltung des Sela- chierauges. — Jena. Zeitschr. Naturwiss., 40: 697-840, 1905.
- FRANZ, V. — Die Akkomodation der Selachierauges und seine Abblendungsap- paratenebst Befunden an der Retina. — Zool. Jahrb., Abst. f. allg. Zool., und Physiol. d. Tiere., 49: 323-462, 1931.
- GRASSÉ, Pierre-P. — Traité de Zoologie. Anatomie, Systématique, Biologie. Tomo XIII, Fasc. II e III. Masson et C. i.; Édité., Paris. 1948-1949.
- MARINI-ABREU, M.M. — Contribuição para o estudo da vascularização do cerebelo dos Seláceos (Gén. Carcharinus). — Rev. Ciênc. Méd., Lourenço Mar- ques, 7 (1): 49-60, 1974.
- PICKWORTH, F.A. — A new method of study of the brain capillaries and its appli- cation to the regional localisation of mental disorder. — J. Anat., 69: 62, 1934.
- POULHÈS, J. — Presentation de pièces anatomiques traitées par la méthode de dia- phannisation es inclusion en matière plastique transparente. — Compt. Rend. Assoc. Anat., 49<sup>ème</sup>. Réunion (Madrid, 6-10, 1964) 129: 1934, 1964.
- ROCHON-DUVIGNEAUD, A. — Les yeux et la vision des Vertébrés. Masson, Édité., Paris. 1934.
- ROCHON-DUVIGNEAUD, A. — In GRASSÉ, Pierre-P.
- ROCHON-DUVIGNEAUD, A. e VERRIER, M.L. — Poches séreuses de l'oeil et de l'orbite des Téléostéens. — C. R. Ac. Sc., 184: 539-542, 1927.
- TESTUT, L. e LатарJET, A. — Traité d'Anatomie Humaine. Tomo III 9<sup>ème</sup>. Ed., G. Doin et C<sup>ie</sup>; Édité., Paris. 1949.
- VERRIER, M.L. — Recherches sur les yeux et la vision des Poissons. — Bull. Biol. France et Belg., Suppl. 11, 1928.
- VERRIER, M.L. — Contribution à l'étude de la vision chez les Sélaciens. — Ann. Sc. Nat., Zool., 8 (13): 5-39, 1930.

## INDEX

VOLUME XLVII — 1978 a 1980

SARAIVA (ALBANO DE A.), CARVALHO (ARMANDO S. DE), BORN (IVAN) e BEJA (MANUEL LUÍS MATOS) — <i>Síndrome de Bland-White-Garland</i> .....	N 1
ROGADO (L. M. QUINTINO), MORATO (M. J. XAVIER) e CORREIA M. J. RODRIGUES — <i>Action des radiations ionisantes dans les oeufs embryonnés de poule</i> .....	N 2
TEIXEIRA (ROGÉRIO DOS SANTOS CARDOSO) — <i>Morphology of Intercellular Bridges Between Developing Germ Cells in the Golden Hamster (Mesocricetus auratus)</i> .....	N 3
LIMA (J. J. P. DE), ALCANTARA (P.), GARCIA (D. S.) e MACEDO (H. M.) — <i>Scintigraphy of the Lymphatic Nodes of the Efferents of the Dog's Heart</i> .....	N 4
ABREU (M. M. MARINI), ROQUETE (P. F.) e SOARES (M. F.) — <i>Vascularização Arterial do Córtex Cerebeloso do Canis Familiaris—Estudo Preliminar</i> .....	N 5
O'NEILL (J. GOYRI), PINA (J. A. ESPERANÇA) e RENDAS (A. BENSABAT) — <i>Tentativa de Sistematização das Artérias Placentárias Humanas</i> .....	N 6
O'NEILL (J. GOYRI) e PINA (J. A. ESPERANÇA) — <i>Técnica de Injecção Vascular em Atmosfera Rarefeita</i> .....	N 7
ABREU (M. M. MARINI) — <i>Vascularização Arterial do Córtex Cerebeloso dos Quirópteros</i> .....	N 8
— — <i>A Propósito da Vascularização Arterial da Retina dos Seláceos (Género Carcharinus)</i> .....	N 9





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. A. SIMÕES DE CARVALHO

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. A. Simões de Carvalho, Laboratório de Anatomia Normal Doutor Maximino Correia, Faculdade de Medicina, Coimbra, Portugal.