

*Instituto de Neurocirurgia de Pôrto Alegre da F.M.P.A. — Diretor:
Prof. Elyseu Paglioli*

*Instituto de Anatomia da Faculdade de Medicina de Pôrto Alegre
Diretor: Prof. Tauphick Saadi*

**PESQUISAS SÔBRE ENXÊRTOS DE SISTEMA NERVOSO
CENTRAL. (NO CÃO): 1º)**

**OBSERVAÇÕES MORFOLÓGICAS SÔBRE ENXÊRTOS NA
MEDULA ESPINAL DORSO-LOMBAR (*)**

M. KRIMBERG
P. CONTU
T. SAADI

Partindo de observações clínicas, onde as mesmas nos mostram muitas vêzes alterações da continuidade medular, devido a traumas e tumores, principalmente, resolvemos estudar a possibilidade de como se comportam enxêrtos medulares, admitindo-se a probabilidade da regeneração nervosa no sistema nervoso central, como muitos trabalhos o demonstram (1).

A análise da literatura nos revelou que, apesar de escassas, importantes são as contribuições dos trabalhos sôbre enxêrtos de sistema nervoso central e de medula espinal em particular —

Segundo *Lockart* (2), *Schirres* (3) parece ser o primeiro autor que transplantou medula de cão na medula humana.

Woolsey, *Minckler*, *Rezende* e *Klemme* (4) referem um caso muito interessante em um paciente que teve a medula torácica seccionada em um acidente: um segmento medular retirado de uma autópsia, fixado durante 12 dias em formalina a 10%, esterilizado e conservado em álcool a 70º e sucessivamente em água destilada e solução salina, foi enxertado na região lombar

(*) Trabalho realizado no Departamento de Neuro-Anatomia com auxílio da Fundação Rockefeller.

do paciente e o enxêrto teve boa preservação durante vários meses restabelecendo-se a vascularização e permitindo uma demonstrável regeneração de fibras nervosas.

Glees (5), em um estudo especial sôbre enxêrto cerebral, analisa cuidadosamente a adaptação de enxêrtos de outros tecidos no tecido nervoso do gato, observando que o tecido epitelial é aquêlê mais tolerado, adaptando-se bem e favorecendo a regeneração de fibras nervosas.

Crouse Gail (6) faz um interessante estudo sôbre a adaptação e tolerância dos enxêrtos por parte do sistema nervoso. Utilizando fragmentos embrionais de ratos de 11-20 dias (intestino, pancreas, rins, fígado, ovário, testículos e extremidades), que foram injetados no hemisfério cerebral direito de ratos de 4-12 dias de idade, estudou o comportamento dêstes enxêrtos e num período de 3 até 99 dias depois da operação. Demonstrou-se que o cérebro de ratos é um lugar favorável para o desenvolvimento e a diferenciação de tecidos embrionários, com exceção do fígado e do rim; observou-se freqüentes erosões e cavidades no tecido nervoso, no local do enxêrto, como também uma boa vascularização que chegou a estabelecer conexões entre os vasos do enxêrto e os vasos cerebrais.

Grouse Gail (7) em outro trabalho executou 134 homo-enxêrtos de estômago de ratos em cérebros de ratos que foram sacrificados 25 dias após a operação, para estudar a potência antigênica, que é progressivamente menor no período da gestação e nos primeiros dias de vida.

Estas observações, especialmente as de Glees (5) que afirma que a tolerância e adaptabilidade dos enxêrtos de outros tecidos por parte do sistema nervoso é excelente, nos orientaram nas possibilidades maiores que deveriam ter os homo-enxêrtos de tecido nervoso e, pelos motivos expostos, preliminarmente escolhemos a medula espinal como campo das nossas experiências, que, referidas prêviamente em precedente nota (8), aquí passamos a expôr com maiores detalhes.

MATERIAL E MÉTODOS

Usamos, como animal de experiência, o cão, pela facilidade de aquisição e pela possibilidade de escolha de exemplares da mesma raça, pêso e idade.

Utilizamos 8 cães, divididos em 4 lotes, A, B, C, D, como a tabela nº 1 demonstra.

Lote	Cão nº	Sexo	Pêso	Operado em	Sacrificado em	Outras obs.
A	1	♂	12 kg	11.1.60	12.2.60	
	2	♂	12 kg	11.1.60		morreu em 28.1.60
B	3	♀	9 kg	26.1.60	26.2.60	
	5	♀	8,5kg	26.1.60		morreu em 3.2.60
C	13	♀	13 kg	28.1.60	13.3.60	
	15	♂	13 kg	28.1.60		morreu após operação
D	11	♀	13 kg	9.2.60		morreu durante operação
	12	♀	11,5kg	9.2.60	13.3.60	

A técnica operatória por nós executada para êstes enxêrtos é sucintamente descrita da seguinte maneira:

1) em dois cães, após a anestesia, geralmente com tiobarbiturato, na dose de 30 mg. por quilo de pêso, executa-se laminectomia de duas vértebras na região dorsal inferior ou na região dorso-lombar, depois da incisão da pele num comprimento de aproximadamente 8 cm., fixação sucessiva da musculatura das goteiras com afastadores autoestáticos;

2) depois da incisão longitudinal da dura, localizam-se as raízes nervosas que são cortadas e a medula espinal é congelada superficialmente com gás carbônico, aumentando assim a sua consistência;

3) inicialmente secciona-se um segmento medular de comprimento de 10 a 15 mm. no primeiro cão; o segmento medular é logo colocado em uma cápsula de Petry com sôro fisiológico a temperatura ambiente, repetindo-se logo após a mesma operação no segundo cão;

4) o segmento medular do primeiro cão é enxertado na medula do segundo cão e o segmento medular do segundo cão é enxertado na medula do primeiro. Note-se que os enxêrtos sempre são colocados respeitando a orientação anatômica da medula;

5) nenhuma sutura é feita entre o enxêrto e os côtos medulares e a dura também não é suturada. Protege-se o enxêrto com Gelfoan colocado no espaço subdural, e suturam-se os planos musculares com pontos separados e a pele com sutura contínua.

6) Não foram praticadas transfusões sangüíneas.

7) A intervenção leva mais ou menos duas horas, e os cães, colocados em temperatura ambiente aquecida e submetidos a antibióticoterapia, apresentaram paralisia flácida dos segmentos pos-

teriores e incontinência esfinteriana; nas primeiras 72 horas do post-operatório os cães mostraram-se apáticos, posteriormente mais vivazes, procurando alimentar-se melhor e interessando-se mais pelo meio ambiente.

Dos oito cães operados; dois morreram, o cão nº 11 durante a intervenção e o cão nº 15 logo depois; quatro cães foram sacrificados para verificar o comportamento do enxerto, exatamente os cães nº 1 e 3, com 30 dias; o cão nº 12 com 32 dias e o nº 13 com 44 dias de post-operatório; outros dois morreram, o nº 2 com 17 dias de post-operatório e o nº 5, com 7 dias, mas foi possível a verificação da continuidade macroscópica do enxerto.

Os cães, nº 1, nº 3, nº 12 e nº 13, destinados também a estudos microscópicos, foram fixados com o método de fixação in vivo, utilizando como fixador uma solução de formalina a 10%.

OBSERVAÇÕES PRÓPRIAS

Passamos à exposição dos nossos resultados com a descrição das observações baseadas na cronologia post-operatória.

Cão nº 5 (com 7 dias de post-operatório). A continuidade macroscópica do enxerto com os côtos proximal e distal da medula é estabelecida por proliferação conetiva: as partes de contato principiam a ter evidenciáveis estrangulamentos.

Nos segmentos para cima e para baixo o espaço subaracnoidal como também o canal espinhal estão ocupados por um derrame sangüíneo. Os gânglios espinais aparecem levemente hipertrofiados e as raízes posteriores estão já aderentes a área enxertada.

Com um corte longitudinal verifica-se a continuidade do enxerto também na área central, mas o enxerto, sobretudo nas suas áreas de contato, apresenta numerosas vacuolizações.

O material fixado em formalina a 10% não foi utilizado para estudos microscópicos.

Cão nº 2 (com 17 dias de post-operatório). A continuidade macroscópica do enxerto é completa e a proliferação conetiva, partindo das meninges dos côtos proximal e distal, cobre toda a área látero-posterior do enxerto, onde as raízes posteriores estão já aderentes; os gânglios espinais correspondentes aparecem hipertrofiados.

Ac nível dos côtos proximal e distal evidencia-se um leve estrangulamento e no espaço subaracnoidal e no canal espinhal é visível um grande derrame sangüíneo.

O corte longitudinal revela a existência de uma grande vacuolização na área de contato do enxerto com o côto proximal da medula.

O material fixado em formalina a 10% não foi utilizado para estudos microscópicos.

Cão nº 1 (com 30 dias de post-operatório). A continuidade macroscópica do enxerto é completa, com intensa proliferação conetival na parte látero-posterior (fig. 1): as raízes posteriores e anteriores são aderentes e os glânglios espinais hipertróficos.

Nos pontos de contato proximal e distal, pela redução da área enxertada, aparecem bem evidentes os estrangulamentos.

No espaço subaracnoidal dos segmentos acima e abaixo da área enxertada é evidente um derrame sangüíneo (fig. 2): Também no canal espinhal acima do coto proximal da medula aparece um derrame sangüíneo (fig. 2 A) enquanto que o canal espinhal, abaixo do coto distal, aparece dilatado mas sem traços de derrame (fig. 2 B).

Cortando longitudinalmente a área enxertada, é bem evidente a continuidade do enxerto que nas regiões látero-posteriores apresenta uma espessa escara de tecido conjuntivo; nas áreas proximal e distal do enxerto são visíveis pequenas vacuolizações que, na área proximal, aparecem ainda mais dilatadas, com derrame sangüíneo que se prolonga dentro do canal espinhal (fig. 3).

O material fixado foi reservado para estudos microscópicos.

Cão nº 3 (com 30 dias de post-operatório). A continuidade anatômica entre os cotos proximal e distal com a área do enxerto é bem evidenciável e uma escara conetival volumosa cobre completamente a face látero-posterior. As raízes anteriores e posteriores são aderentes a área enxertada e os glânglios espinais aparecem hipertróficos. Evidentes também os estrangulamentos ao nível dos cotos proximal e distal (fig. 4).

No espaço subaracnoidal, para cima e para baixo da área enxertada, é visível um leve derrame sangüíneo, enquanto o canal espinhal apresenta-se normal.

O corte longitudinal da área enxertada apresenta as mesmas características encontradas no enxerto do cão nº 1.

O material fixado foi reservado para estudos microscópicos.

Cão nº 12 (com 32 dias de post-operatório). A continuidade entre o enxerto e os cotos proximal e distal da medula é bem evidente com formação de estrangulamento, mas a escara conetival na região látero-posterior é pouco extensa. As raízes dos nervos espinais alcançam a área enxertada, penetrando dentro da escara; aí os glânglios apresentam-se levemente hipertróficos (fig. 5).

A peça não foi cortada longitudinalmente, mas fixada e incluída em celoidina para estudos microscópicos.

Cão nº 13 (com 44 dias de post-operatório). A continuidade anatômica não se apresenta tão completa como nos casos precedentes (fig. 6).

O enxerto na área de contato com o coto proximal da medula apresenta, na face látero-posterior da direita, uma descontinuidade cavitária que contribui para evidenciar mais o estrangulamento.

lamente situado a este nível. Na área de contato com o coto distal é visível na face posterior um amplo enfossamento. As raízes dos nervos espinais apresentam gânglios hipertróficos cujas raízes penetram na área do enxerto.

Processo de fixação e inclusão idêntica ao cão nº 12.

CONSIDERAÇÕES

Queremos fazer algumas considerações sobre os resultados da nossa pesquisa de enxertos homólogos cruzados na medula espinal dorso-lombar do cão.

Em verdade, o resultado sobre a adaptação e possibilidade de restabelecer uma aparente continuidade anatômica era esperado ou pelo menos almejado, considerando os dados bibliográficos que apesar de escassos, são bastantes eloqüentes. Se o tecido nervoso é um tecido que se adapta bastante satisfatoriamente a enxertos de outros tecidos, maior probabilidade de adaptação tem um enxerto de tecido nervoso em tecido nervoso e ainda maiores seriam as possibilidades de sucesso executando enxertos homólogos cruzados de medula espinal dorso-lombar, isto é, um enxerto com as mesmas características morfológicas e estruturais.

Não queremos que esta primeira consideração venha menosprezar a importância da nossa pesquisa a qual se revelou de difícil execução, sobretudo pelos obstáculos encontrados no lado técnico.

Lógicamente o método operatório tem grande importância e achamos básico para os resultados dos estudos que estamos executando. Ressentiu-se nosso trabalho operatório de adequado instrumental, donde julgamos que, atendidos estes requisitos, seja possível evitar acidentes que possam de certa maneira prejudicar os resultados, sobretudo as hemorragias freqüentes e abundantes e que nós não pudemos compensar com transfusões. Pensamos que, quanto mais perfeito for o método operatório, melhores serão as condições gerais dos animais e conseqüentemente mais objetivas as análises dos resultados.

Considerando que a finalidade principal de nossas pesquisas é criar condições mais favoráveis para a regeneração de fibras nervosas e assim estabelecer uma continuidade anatômica como base essencial para eventual restabelecimento funcional, insistimos em dizer que o aprimoramento das técnicas operatórias é basilar para a obtenção de resultados mais satisfatórios.

Outro aspecto muito interessante que merece estudo ulterior, é o comportamento da área de enxerto e dos segmentos situados acima e abaixo da mesma. A área do enxerto se reduz ligeiramente de volume e esta redução nos interessa sobretudo nas extremidades proximal e distal do enxerto, onde se dá um leve estrangulamento.

Parece que a falta inicial de vascularização do segmento enxertado e das regiões de contato, ligadas também a fatores degenerativos do tecido nervoso e proliferativos do conectivo, possa ser considerada como a causa determinante d'êste fenômeno.

Sem dúvida a aplicação de uma técnica operatória mais conservadora na altura da pia madre, o que estamos estudando atentamente, nos possibilitará dar uma resposta mais clara a êste problema que, segundo as nossas opiniões, representa um dos pontos fundamentais na análise da adaptação do enxerto e assim também da regeneração das fibras nervosas.

Certamente o número de casos é pequeno para estudo macroscópico, mas desejamos desde já declarar que nossa intenção inicial era só verificar-se se estabelecia continuidade do enxerto e sobretudo tolerância em relação ao mesmo. Aachamos não merecer grande consideração o fato de se ter verificado a mortalidade de um exemplar de cada lote, acidente que nos parece casual e não imputável a incompatibilidade do enxerto.

A continuidade macroscópica do enxerto foi constatada nos 6 casos e com uma cronologia post-operatória bastante regular: no cão número 5 com 7 dias, no cão nº 2 com 17 dias, nos cães números 1 e 3 com 30 dias, no cão nº 12 com 32 dias e no nº 13 com 44 dias.

Aparentemente a continuidade externa foi estabelecida pela proliferação dos envoltórios meníngeos. Lamentamos não ter podido executar os exames microscópicos nos cães de nº 5 e nº 2, que por haverem falecido à noite, durante estação quente, não achamos prudente utilizar métodos especiais, como os da impregnação e que dão bons resultados só em materiais frescos ou fixados in vivo. Teria sido de fato muito interessante verificar se a continuidade inicial era estabelecida só pelo tecido conjuntivo ou se já nos primeiros dias de post-operatório as fibras descendentes e ascendentes estavam em regeneração.

Foi possível porém observar as raízes posteriores já aderentes à área enxertada desde o 7º dia de post-operatório e os gânglios espinais dos respectivos segmentos hipertróficos. Esta hipertrofia macroscópica é aliás visível em todos os casos, sendo, no entanto, mais evidente ainda no cão com 44 dias de post-operatório.

Os neurônios sensitivos primários parecem possuir aquilo que Marinesco e De Castro (9) chamam de irritabilidade formadora ou plástica, já bastante conhecida nos estudos sobre a regeneração do sistema nervoso periférico; não podemos porém dizer se esta hipertrofia dos gânglios e das raízes posteriores seja devida exclusivamente à regeneração de fibras sensitivas. Foi sempre possível diferenciar a raiz motora que aparece menor que a sensitiva, aderente ao tecido conjuntivo, mas macroscopicamente de-

limitável, o que faz suspeitar que também através dela estejam em ato fenômenos de degeneração de fibras motoras somáticas e viscerais.

E' bastante conhecido um trabalho de Terni (10) que, estudando a degeneração da cauda de répteis, encontrou hipertróficos os gânglios que davam a inervação sensitiva e as células motoras que innervam os músculos.

Não podemos ainda tirar conclusões, mas seria interessante considerar a hipótese de que a hipertrofia das raízes sensitivas possa também ser causada pela passagem de fibras não sensitivas.

Sem dúvida porém só observações microscópicas e fisiológicas em animais com maior cronologia post-operatória poderão dar uma resposta mais clara as nossas dúvidas.

CONCLUSÕES

Baseados em nossas observações chegamos as seguintes conclusões:

1º) Utilizando 8 cães, divididos em 4 lotes, A. — B. — C. — D., executamos enxertos cruzados de segmentos medulares, de comprimento de 10-15 mm, de medula espinal dorso-lombar.

2º) Um cão do lote D morreu durante a operação e um do lote C após a operação.

3º) Nos restantes 6 cães foi constatada a continuidade macroscópica do enxerto com um post-operatório, de 7, 17, 30, 32 e 44 dias.

4º) A área do enxerto em todos os casos aparece ligeiramente reduzida de volume, sobretudo nos pontos de contato superior e inferior, onde se dá um leve estrangulamento.

5º) A escara conetival que se constitui na área enxertada é mais desenvolvida na região látero-posterior.

6º) As raízes posteriores correspondentes aderem a área enxertada desde o 7º dia de post-operatório e os respectivos gânglios espinais aparecem hipertróficos.

7º) No cão com 44 dias de post-operatório, na superfície externa da área enxertada, onde se observam os estrangulamentos, são evidentes formações cavitárias.

8º) Em geral com cortes longitudinais são visíveis, dentro do enxerto, áreas de vacuolização.

RESUMO

Os autores realizaram em cães enxertos cruzados de medula espinal dorso-lombar, verificando em 6 animais com 7, 17, 30, 32 e 44 dias de post-operatório a existência de continuidade morfológica entre os segmentos proximal e distal da medula espinal, continuidade estabelecida por proliferação conetival bem evidenciável na região látero-posterior. As raízes posteriores aderem

a área enxertada e os respectivos gânglios espinais aparecem hipertroficados.

SUMMARY

A study was done by the authors in dogs in which crossed transplants of the dorso-lumbar spinal cord were effected. In six animals sacrificed at the 7th, 17th, 30th, 32th and 44th post-operative day there was morphologic continuity between the proximal and distal segments of the spinal cord; this continuity was established by connective tissue proliferation, more marked in the posterolateral area. The posterior roots adhere to the transplanted area and the regional spinal ganglia are hypertrophic.

BIBLIOGRAFIA

- 1) WINDLE, W. F. — Regeneration in the central nervous system.
Ch. Thomas, Springfield, 1955.
- 2) LOCKHART, W. S. — Evidence of structural and functional regeneration of the central nervous system in man. — Regeneration in the central nervous system.
Ch. Thomas, Springfield, 1955.
- 3) SCHIRRES — citado por Lockhart (2)
- 4) WOOLSEY, D., MINKLER, J., REZENDE, N. and KLEMME, R. — Human spinal cord transplant. *Exper. Med. and Surg.*, vol. 2, 93-102, 1944.
- 5) CROUSE GAIL, S. — Differentiation of intracerebral implants of rudiments from rat and mouse embryos in young rats.
Anatomical Record, vol. 126, nº 3, 369-394, 1956.
- 6) CROUSE GAIL, S. — The effect of variation in the age of the donor on homologous grafts in the brain of the rat. *Anatomical Record*, vol. 135, nº 3, 215-224, 1959.
- 7) GLEES, P. — Studies of cortical regeneration with special reference to cerebral implants.
Regeneration in the central nervous system, 94-III, Ch. Thomas, Springfield, 1955.
- 8) KRIMBERG, M., CONTU, P., e SAADI, T. — Enxerto de medula em cães (nota prévia).
Rev. Ass. Med. Rio Grande do Sul, vol. IV, nº 4, 123-126, 1960.
- 9) MARINESCO e DE CASTRO — citados por Levi G. *Trattato di Istologia*, vol. II, 885-891, 1954.
- 10) TERNI, T. — Sulla correlazione fra ampiezza dei territori di innervazione e grandezza delle cellule gangliari. Ricerche sui gangli spinali che innervano la coda rigenerata nei Sauri.
Arch. Ital. Anat. vol. 17, 507-543, 1920.



FIG. 1

CÃO N° 1 — Enxêrto fotografado depois da retirada do canal raquidiano: são bem visíveis as raízes aderentes ao enxêrto e o gânglio espinal hipertrófico.

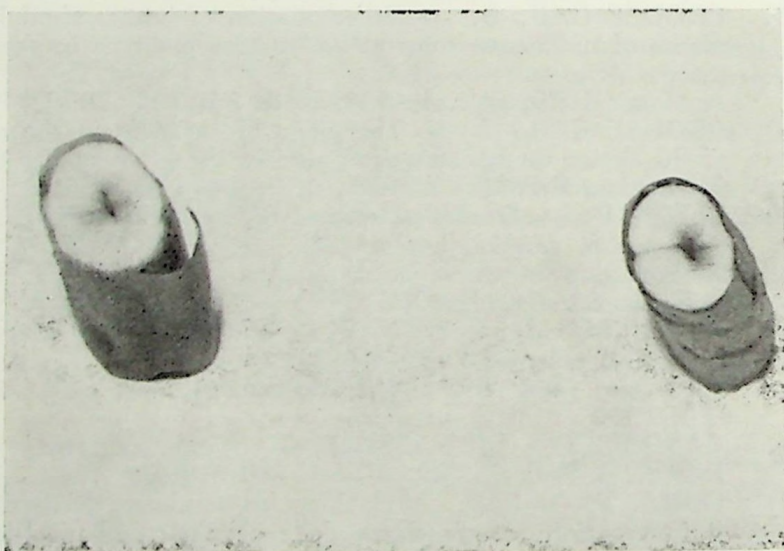


FIG. 2

CÃO N° 1 — Corte transversal de medula espinal 2 cm. acima (A) e 2 cm. abaixo (B) do enxêrto; em A vê-se o canal endimário com derrame sanguíneo.

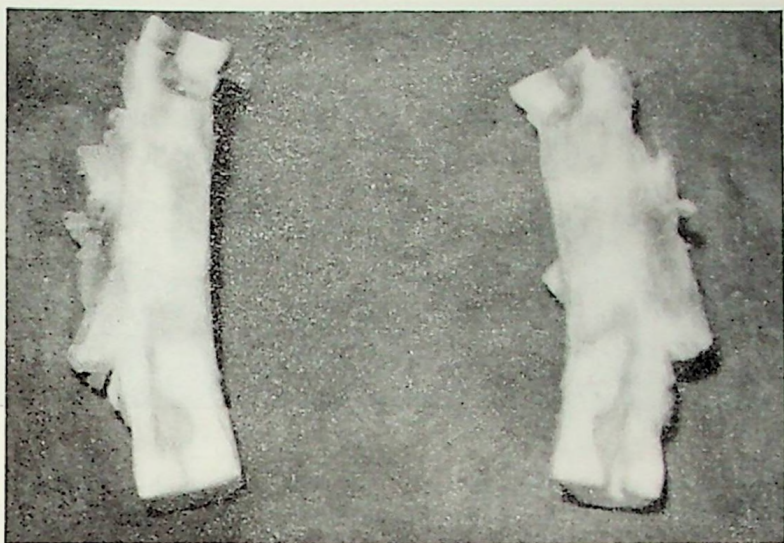


FIG. 3

CÃO Nº 1 — O segmento enxertado cortado longitudinalmente.

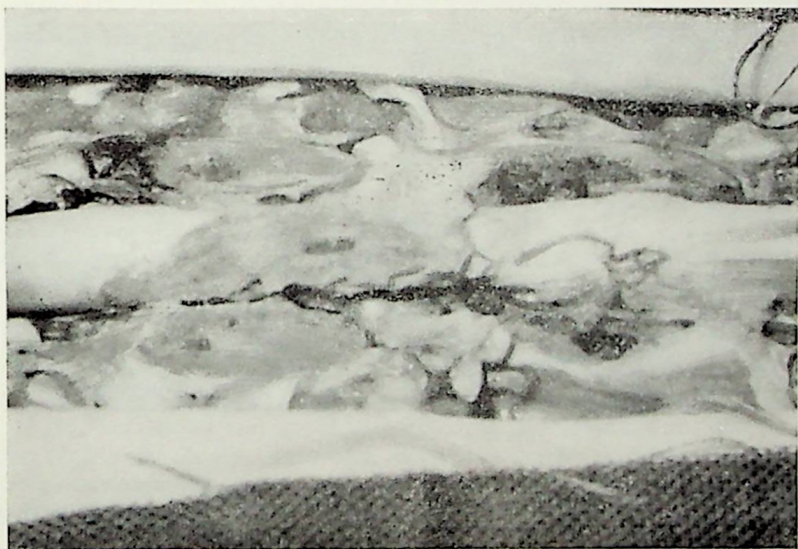


FIG. 4

CÃO Nº 3 — Aspecto do enxerto no canal raquidiano: é visível na face posterior uma volumosa escara conetival.

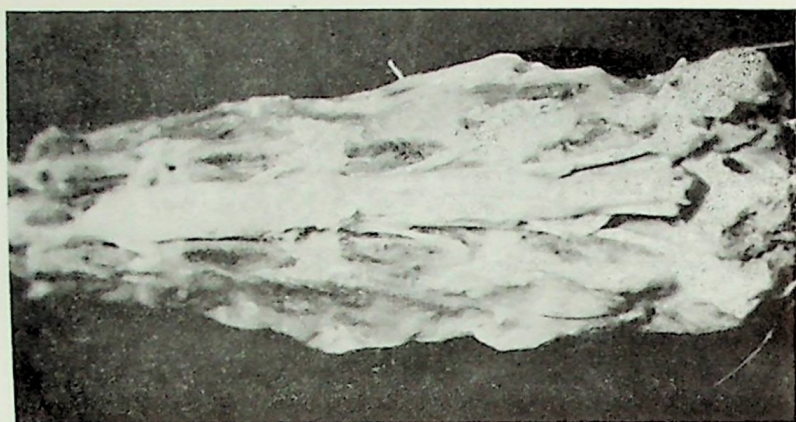


FIG. 5

CÃO N° 12 — Aspecto do enxerto no canal raquidiano: são bem visíveis os estrangulamentos ao nível do contato com os côtos proximal e distal da medula.

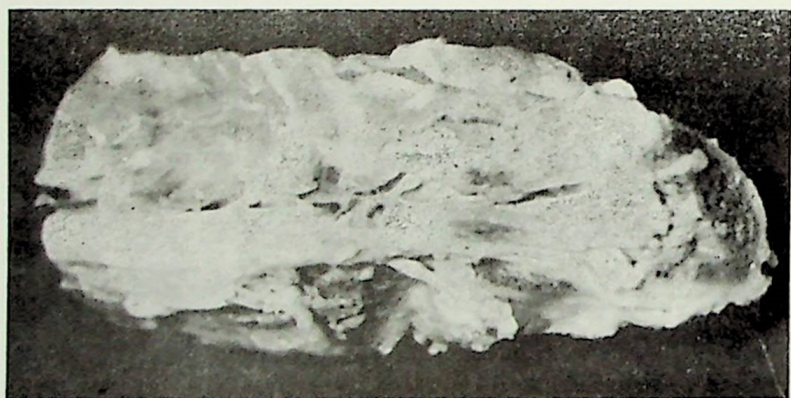


FIG. 6

CÃO N° 13 — Aspecto do enxerto no canal raquidiano: são bem visíveis os estrangulamentos acentuados pela presença de cavidades nas superfícies lateral e posterior.