

*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): 2ª) OBSERVAÇÕES HISTOLÓGICAS
SÔBRE A REGENERAÇÃO DE FIBRAS ATRAVÉS ENXÊRTOS
NA MEDULA ESPINAL DORSO-LOMBAR. (*)**

P. CONTU
M. KRIMBERG
T. SAADI

Continuando nossas observações sôbre enxêrtos na medula espinal dorso-lombar do cão, procuramos verificar o que se passa ao nível do enxêrto, porções distal e proximal do segmento medular, dado que havia uma secção anatômica em que as superfícies de corte podiam ser invadidas por proliferação conjuntival, tal como acontece no sistema nervoso periférico, onde podem constituir uma barreira a regeneração da fibra nervosa.

A necessidade de ver qual a capacidade regenerativa nestas condições experimentais levou-nos a não usar de início certas substâncias, como o piromen, a cortisona, a tripsina e outras, que parecem ter influências notáveis na regeneração; estamos, porém, com pesquisas em andamento, com a finalidade principal de considerar a ação local, sobretudo da tripsina.

Nas notas precedentes (1, 2) vimos quais as possibilidades da regeneração, quando colocamos o enxêrto, afim de restabelecer a continuidade morfológica, a tolerância e a capacidade regenerativa das fibras ascendentes e descendentes.

Nêste trabalho relatamos por extenso os resultados das nossas observações, que constam de estudo microscópico com o uso cuidadoso de vários métodos.

Estamos longe de possuir dados que nos permitam, no presente, emitir hipóteses definidas, mesmo porque o nosso trabalho está em andamento, porém algumas observações merecem ser divulgadas.

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

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Um assunto tão complexo, como o da regeneração no sistema nervoso central, pareceria, a primeira vista, assunto novo e na realidade, pelo menos por parte dos tratadistas, nota-se uma certa indecisão quanto a afirmativa se existe ou não regeneração a este nível.

Na verdade, uma análise cuidadosa da bibliografia nos demonstra que, desde o século passado, numerosos pesquisadores se dedicaram ao assunto com resultados animadores e conclusões bastante positivas que ficaram relegadas ao esquecimento durante muito tempo.

Só durante e sobretudo após a segunda guerra mundial é que o assunto voltou a atualidade e mereceu maior atenção.

Lógicamente, como todos os estudos experimentais do sistema nervoso central não podem ser executados diretamente no homem, considerando sobretudo a especial biologia do tecido nervoso, a maioria dos trabalhos são de ordem comparativa. Por isso, a nossa exposição bibliográfica seguirá uma ordem de revisão ligada a filogênese, dando especial atenção aos trabalhos sobre a regeneração da medula espinal em mamíferos e no homem e apresentaremos os nossos achados bibliográficos, nem sempre em ordem cronológica, relatando antes a bibliografia das publicações especiais e no final a das obras gerais.

Sobre a regeneração do sistema nervoso central dos peixes existem vários trabalhos e citamos um de Koppányi (3) que refere os resultados obtidos na medula espinal de teleostes como satisfatórios, chegando a observar, porém, que o tecido conjuntivo representa um obstáculo ao crescimento das fibras, tendo também dificuldades em estabelecer a percentagem das fibras regeneradas.

São mais numerosas as contribuições na regeneração do sistema nervoso central de anfíbios.

Lewis (4) demonstrou que a remoção de uma pequena porção de placa neural traz consigo grande poder regenerativo, quando cortada e enxertada em lugares diferentes, regenerando também as pequenas áreas removidas. Removendo em "*Rana palustris*" a parte anterior da placa neural, constatou que, dentro de alguns limites, a regeneração era completa.

Mc Creight (5) estudou a regeneração da medula espinal da cauda de *Diemyctylus* v., constatando a diferenciação da neuroglia e dos neuroblastos a partir do epêndima e o desenvolvimento da camada fibrosa marginal; na área da cortex cerebral a regeneração é tão completa que não apresenta discontinuidade.

Terni (6) trabalhando em caudas larvais de "*Amblystoma* m." que regeneram em 20-30 dias, estudou a potência regenerativa eupolar e heteropolar, encontrando-as qualitativamente idênti-

cas, enquanto são diferentes quantitativamente, porque o comprimento absoluto da medula eurenegerada se reduz progressivamente e o da medula hetero-regenerada aumenta.

Kiorsis e Droin (7), estudando a regeneração da cauda de larvas de salamandra chegam a conclusão que há dois componentes que devem ser analisados: a) os órgãos axiais, coluna vertebral, medula espinal, gânglios e músculos regeneram quando a medula está presente e, na sua ausência, nenhum destes órgãos regenera; b) o conjuntivo e a epiderme que o recobre regeneram mesmo na ausência da medula. Os dois autores aceitam o conceito de *Locatelli* (8) que considera a medula indispensável à regeneração caudal porque ela permite a regeneração dos gânglios espinais que agem secundariamente sobre os tecidos; isto porque os autores constataram que, quando a medula espinal está ausente ao nível da amputação, os gânglios espinais estão presentes e mandam fibras nervosas no conjuntivo regenerado. Não é pela ausência dos gânglios espinais e sim pela ausência da medula que se dá a regeneração caudal atípica.

Piatt (9) em um trabalho recente, com ampla revisão bibliográfica, estuda a regeneração do sistema nervoso central dos anfíbios, com referência especial aos embriões, considerando a regeneração da medula após a amputação, na larva e nos adultos; conclui que o sistema nervoso central dos anfíbios, provavelmente possui capacidade regenerativa maior que em outros vertebrados.

O problema da regeneração do sistema nervoso central dos répteis é bem sintetizado em um recente trabalho de *Hamburger* (10): este autor refere-se a *Sgobbo* (11) que sustentou que a regeneração da cauda nos répteis não continha medula espinal e gânglio espinal, mas meramente um filamento epitelial. *Stefanelli* (12), *Marotta* (13) e *Zannone* (14) investigaram na "lacerta" e na "tarantula" o fenômeno da regeneração da cauda, achando que a regeneração da medula não está completamente ausente; constataram outrossim que, depois da amputação, o epêndima começa a proliferar e células indiferenciadas migram para o canal central regenerado onde constituem, primeiramente, uma camada e em seguida uma outra camada radiada que cresce em direção à secção do corte. Dois a três meses após a amputação são encontradas notáveis modificações regressivas neste tubo com desaparecimento gradual das fibras. O início da regeneração é comparável ao observado na regeneração da cauda dos urodolos e a degeneração secundária também foi observada. A involução é provavelmente devida à falta de nervos para estabelecer conexões periféricas.

Terni (15) estudando a regeneração da cauda dos "sáurios", achou que a inervação sensorial da cauda regenerada era provida pelos 3 últimos pares de gânglios espinais que apresenta-

vam células hipertróficas e o mesmo fenômeno foi observado nas células motoras que inervam os músculos da cauda.

Muito estudada também a regeneração no S.N.C. das aves e, logicamente pela facilidade de obter material embrionário, a maioria das pesquisas versam sobre a regeneração em embriões.

Citamos o interessante trabalho de *Rhines e Windle* (16) que fizeram secções na porção mesencefálica e mielencefálica de embriões de 17 somitos, constatando, em alguns casos, que a brecha entre os níveis do oculomotor e do troclear foi atravessada por um fascículo descendente do feixe longitudinal medial que alcançou a parte terminal da parte posterior da secção através uma ponte de tecido cerebral; após a entrada na parte inferior do corte o fascículo misturou suas fibras com as fibras ascendentes do fascículo mediano lateral. Emergência de fibras do sistema nervoso central na superfície mesenquimal foi encontrada em 28 dos 47 embriões operados.

Clearwaters (17) seccionou a medula ao nível da asa em embriões de 2, 3, 4, 5 dias e, em alguns pintos, depois do nascimento. Nos animais mais jovens os dois côtos da medula são juntos por fibras longitudinais arquiadas nas porções terminais; a continuidade da medula era sempre restaurada e o tecido cicatricial foi encontrado em alguns embriões com 5 dias de operação. Alguns animais que se erguiam depois do nascimento não demonstravam fraqueza. Foi notado que o restabelecimento do tecido embrionário deve ter ocorrido, envolvendo assim as fibras que, ao tempo da operação, estavam em diferenciação. Pintos operados após o nascimento apresentavam formação cicatricial mas nada de regeneração. O autor termina dizendo que a análise dêste problema deve ser continuada.

Hamburger (10), discutindo a regeneração no S.N.C. diz que é necessário distinguir a regeneração do tecido nervoso e dos feixes de fibras seccionadas. O sucesso na regeneração do tecido nervoso depende de um número de fatores aos quais deve-se dar cuidadosa consideração na avaliação dos resultados. Por exemplo, em estágio mais jovem é de se esperar que a regeneração seja melhor que em estágio adulto. A regeneração no neurônio só pode acontecer, provavelmente, enquanto persiste a capacidade de proliferação: a atividade mitótica termina relativamente cedo no desenvolvimento normal, mas a possibilidade de um reavivamento em estágios posteriores e em condições especiais não foi considerada atentamente. Uma regeneração completa foi encontrada só em embriões muito jovens de aves, em estágios precedentes ao aparecimento da placa medular. Cita *Williams* (18) achar, na medula de aves jovens, uma remarcada capacidade de reconstituição, indepedente de qualquer cronologia.

A parte bibliográfica que mais nos interessa é relacionada com a regeneração do S.N.C. nos mamíferos e no homem.

Brown-Sequard (19) é o primeiro autor que admitiu a regeneração na medula espinal humana; já precedentemente (20) notou o retôrno da sensibilidade e parcialmente da motilidade de uma cobaia com medula espinal seccionada; por outro lado o estudo histológico revelou numerosas fibras meduladas passando através da cicatriz.

Gowers (21), descrevendo um paciente com traumatismo da medula torácica média, afirma que é difícil provar ou conceber no homem o poder regenerativo das fibras nervosas medulares.

Stroebe (22) seccionando a medula em coelhos, descreve finas fibras nervosas que passam através do tecido cicatricial, estabelecendo assim continuidade nervosa.

Vitzov (23), trabalhando no macaco, observou o retôrno da visão depois secção das fibras nervosas do lobo occipital.

Worcester (24) descreve o caso de uma mulher adulta, que apresentando em vida evidentes alterações nervosas sensitivas e paraestésicas revelou, na autópsia, evidentes sinais de regeneração no mesencéfalo. O autor conclue dizendo que fibras do sistema nervoso central podem regenerar mas não no sentido de restauração da estrutura original ou da função.

Nageotte (25) estudando a medula espinal em casos de tabe dorsal demonstrou a presença de finas fibras nervosas no tecido conjuntivo da escara, manifestando a própria convicção de que estas fibras provenientes das fibras radiculares anteriores representam uma tentativa de regeneração.

Stewart e Harte (26) referem o caso de uma mulher com a medula seccionada por um tiro de espingarda, cujos cotos foram reunidos cirurgicamente no Hospital de Pensylvania em 1901, com evidente recuperação parcial da função motora e sensitiva, que posteriormente gradualmente desapareceram. A autópsia, feita 24 anos depois, revelou densa cicatrização colágena com osso metaplástico que estrangulava a medula no ponto da sutura; os exames histológicos com o método de Weighert demonstraram a falta de regeneração das fibras nervosas.

Collier (27) descreve uma paciente com uma paraplegia sensitivo-motora, causada por uma fratura ao nível da nona vértebra torácica; o exame revelou uma disposição irregular de fibras ao nível da medula atingida, o que faz pensar em fibras regeneradas.

Fickler (28), seccionando transversalmente ou traumatizando medulas espinais de gatos e coelhos, encontrou grande número de fibras nervosas penetrando na medula espinal, vindo dos gânglios e seguindo os vasos. Refere também estudos histológicos em medulas espinais humanas comprimidas por processos ver-

tebrais nas quais são evidentes os sinais de regeneração do feixe piramidal.

Saltzman (29) em cérebros de coelho, separa pedaços de corte cerebral, alterando-os de posição; encontra estes pedaços unidos pelo tecido glial e numerosas fibras mielinizadas que atravessam a cicatriz glial.

Schirres (30) é praticamente o primeiro autor que fez transplantes heterólogos; transplantou medula de cão na medula humana estudando a regeneração.

Bielschowsky (31) dá uma ênfase especial à regeneração das fibras da coluna dorsal no coelho, regeneração devida à atividade dos gânglios espinais.

Cajal (32) confirma os achados de *Stroebe* e *Fickler*, trabalhando na medula espinal dorsal de gatos jovens: na cicatriz conjuntival que se constitui depois de lesões transversais foram encontradas fibras nervosas.

Marinesco e Minea (33) na medula espinal de um homem, lesada ao nível da 1ª vértebra lombar, descrevem, usando o método de *Cajal*, um certo número de células e fibras nervosas com os cones de crescimento.

Nagéotte (34), estudando a medula espinal de pacientes portadores de tabe dorsal, encontrou sinais evidentes de regeneração.

Bielschowsky (35) escreve em 1909 um longo artigo com ampla revisão bibliográfica sobre regeneração de fibras nervosas em tumores periféricos, especialmente sifilíticos; descreve fibras nervosas em regeneração e expressa a hipótese e a convicção de que a regeneração se inicia na própria medula espinal e não no gânglio.

Perrero (36) num paciente com secção parcial da medula torácica, após um traumatismo, descreve a regeneração das fibras piramidais.

Sala (37) em um paciente que sofreu uma secção da medula descreve fibras nervosas regeneradas na substância branca da mesma.

Tello (38), estudando a influência do neurotropismo na regeneração dos centros nervosos, pensa que a falta de regeneração no sistema nervoso central seja devida à ausência das células de *Schwann*.

Lhermitte (39), usando o método de *Bielschowsky* estuda a cicatriz de medulas espinais de 4 pacientes que sofreram completa secção da medula torácica, demonstrando regeneração de fibras nervosas agrupadas em distintos fascículos na pia madre, adjacentes aos vasos, no espaço de *Virchow-Robin* e no tecido degenerativo.

Spatz (40) demonstrou que em lesões do sistema nervoso central de mamíferos jovens a reparação é acompanhada largamente por elementos gliais que continuam a aumentar até depois de 10-

20 dias; em animais adultos aumentava o tecido conjuntivo, dentro do qual eram demonstráveis fibras nervosas mielinizadas.

Hooker e Nicholas (41), que já precedentemente tinham demonstrado que feridas da medula espinal de ratos jovens podem ser seguidas de um reajustamento das funções nervosas, comprovaram, (em fetos de ratos de 12 a 19 dias de idade, nos quais, em 14 dêles, foi provocada por cauterização a destruição completa ou parcial de uma parte da medula espinal), sinais de reconstrução regenerativa do sistema nervoso central e, apesar de pequena tendência para o espasmo e leves variações dos tipos definidos de respostas, reações fisiológicas normais. Citam *Gerard e Koppányi* (42) que encontraram regeneração da medula espinal em ratos operados durante a vida fetal.

Penfield (43) demonstrou que a escara do tecido conjuntivo e a proliferação glial dos astrocitos estão diretamente relacionados com o aumento da degeneração nervosa.

Cajal (44) utilizando método histológico adequado estudou a regeneração das fibras intraespinais em gatos jovens e cães, observando um crescimento similar ao observado na regeneração do nervo periférico.

Nicholas e Hooker (45), continuando as pesquisas em fetos de ratos de 15 dias e mais, acharam que a cauterização intraespinal na região torácica não elimina as contrações do tronco quando se estimula a região cervical e estas reações, evidentes algumas horas após a intervenção, ficam gradualmente fracas, até desaparecer, 2-4 dias após. Os exames histológicos demonstram a completa secção da medula e o paralelismo entre a transmissão decrescente dos estímulos e a degeneração progressiva das células.

Gerard e Grinker (46), seccionando a medula espinal em ratos recém-nascidos e fetos, acharam que a possibilidade de crescimento das fibras nervosas está definitivamente estabelecida. A medula espinal fetal possui remarcáveis poderes de reorganização fisiológica que pode levar à completa volta da função. Mas a consideração de seus próprios resultados e de outros autores indica, embora seja clara a regeneração das fibras nervosas, não ficar bem comprovado o retorno da função devida a regeneração anatômica.

Paskind (47), estudando nos gatos as fibras regenerantes da raiz posterior, revela algumas diferenças importantes entre a parte da raiz distal e a parte proximal da membrana limitante pio-glial; distalmente existem ligamentos de Bungner protoplasmáticos e fibras nervosas regeneradas, proximalmente núcleos gliais numa frouxa rede de fibras gliais. O autor conclue afirmando que a regeneração de fibras da raiz posterior se processa em direção à membrana limitante pio-glial, e só raras fibras regeneradas penetram com vasos sanguíneos. As fibras regeneradas podem ser fibras que

entram com os vasos, dendritas de células da coluna de Clark ou mesmo fibras eferentes que tem células de origem na medula e não degeneram após a secção da raiz posterior; neste último caso, contudo, esperar-se-ia ver estas fibras perfurando a membrana limitante pio-glial, o que não foi observado.

Sugar e Gerard (48) obtêm em jovens ratos sinais de regeneração estrutural e funcional, após secções da medula espinal, evitando porém lesões dos dispositivos vasculares.

Clark (49) discute a potencialidade de regeneração do sistema nervoso central, chamando a atenção para imaturidade do mesmo em gatos recém nascidos e jovens; ele reconhece a possibilidade que o crescimento post-operatório de novas fibras seja devido não à regeneração no sentido estrito, mas ao desenvolvimento de axônios que cresceriam neste período.

Woolsey, Minckler, Rezende e Klemme (50), em uma paciente na qual transplantaram medula espinal formolizada e que morreu 5 meses depois, constataram a capacidade regenerativa dos neurônios centrais, capacidade que pode ser orientada pelo transplante que pode durar vários meses; notaram que a regeneração do tecido nervoso central aparece depois de estabelecida a vascularização do tecido conjuntivo.

Lhermitte, Hecaen e De Ajuriaguerra (51) em um militar de 27 anos de idade que sofreu paraplegia total causada por um projétil que atingiu a região raquidiana ao nível da VIII vertebra dorsal, notou, sete meses após a lesão, os movimentos de defesa e os reflexos rotulianos, motivo pelo qual foi praticada uma intervenção operatória que revelou a medula dividida. A autópsia confirmou a precedente observação e o estudo histológico com o método de Bielschowsky demonstrou falta completa de regeneração.

Brow e Mc Couch (52), em uma série de gatos e cães, praticaram completa secção da medula espinal e nenhum traço de regeneração funcional foi observado. Histologicamente evidenciou-se crescimento de axônios defletidos do seu curso por uma rápida invasão de tecido conjuntivo, que constituía uma escara transversa. Tentativas de limitar a forma cicatricial com protrombina, envolvendo a região da secção com tecidos e fechando a dura madre, foram infrutíferas, como também tentativas de estimular o crescimento do axônio com emulsão de nervo degenerado.

Freeman, Finneram e Schlegel (53) demonstraram regeneração morfológica e funcional na medula espinal de ratos.

Windle e Chambers (54), trabalhando com medulas espinais de cães e gatos adultos, discutem a potencialidade regenerativa do sistema nervoso central, mostrando as alterações das escaras quando tratadas com piromen, que parece favorecer a regeneração das fibras nervosas.

Windle e Chambers (55), em outro trabalho, dizem que a regeneração em fetos e mamíferos jovens é mais evidente que no animal adulto, não porque os neurônios jovens sejam pouco sensíveis ao trauma, mas devido à formação de uma escara pouco densa de tecido glial e mesodérmico, motivo pelo qual os animais jovens podem ter regeneração anatômica acompanhada pela função.

Fernandez Guardiola (56), usando como animal de experimento o gato, em alguns dêles seccionava totalmente a medula espinal ao nível da 12ª vértebra torácica e em outros, utilizados como controles, machucava o nervo peroneiro. A comparação dos histogramas obtidos com o método de Wolter-Kulschitzky revelava nos animais experimentais uma capacidade regenerativa nos nervos cujos neurônios se encontravam abaixo da secção total, com grau de mielinização similar ao dos animais controles.

Windle, Clemente e Chambers (57) cortaram, em dois gatos adultos, o ramo temporal direito, cuja parte proximal era implantada, através de um orifício de trefina, no córtex cerebral; em um animal foram administradas injeções de piromen, enquanto o outro foi usado como controle. Os animais foram sacrificados após 36 dias e o estudo histológico com métodos de prata revelou que no controle não havia sinais de regeneração de fibras periféricas com o parenquima cerebral e era visível uma barreira glial e o implante do animal tratado demonstrava uma clara demarcação entre o nervo periférico e o parenquima cerebral com fibras regeneradas que entrelaçavam-se imperceptivelmente com a substância do cérebro.

Turbe e Freeman (58) se reportam à regeneração da medula espinal em cães, quando tratados com tripsina purificada.

Ducan (59) observou que a restrição local do crescimento da medula espinal em ratos jovens por meio de uma ligadura pode causar mudanças na fixação da mielina acompanhada por um número maior de células que parecem ser neurilemáticas. Em um grupo de ratos com ligaduras situadas na região lombar superior foram encontradas extensas cavidades acima e abaixo da ligadura. Em outro grupo de ratos foram colocados, ao nível da segunda cervical, ligaduras não traumatizantes e não foram encontradas cavidades mas foram notadas as mesmas mudanças na flexibilidade da mielina e as alterações neurogliais. Conclui o autor que as modificações produzidas na estrutura da substância branca espinal não são resultados de traumas, porém mudanças reproduzíveis no desenvolvimento para evitar aumento normal do diâmetro da medula espinal em crescimento.

Sindle, Littrell, Smart e Agnew (60) dizem que a regeneração de neurônios acontece em vertebrados inferiores e em jovens mamíferos. A regeneração central em mamíferos adultos, ge-

ralmente obstaculizada pela cicatrização glial e colágena é abortiva e só a inibição da formação da barreira pio-glial com piromen permitiu a regeneração das fibras depois da secção da medula espinal em gatos adultos. Afirmando que a regeneração não ocorre em medulas humanas isoladas citam o caso de Steward e Harte, concluindo que uma regeneração bem sucedida poderia ser obtida inibindo a barreira glial em casos agudos e prevendo a cicatrização colágena em casos crônicos.

Clemente (61), analisando o papel da glia e do tecido conjuntivo na regeneração da medula espinal, diz que a escara é constituída por: a) elementos mesodérmicos (conjuntivo, vasos e macrófagos) que constituem escara similar àquela de outros tecidos, quando traumatizados; b) neuroglia, principal componente da escara cerebral. A gliose obstaculiza a regeneração intraespinal das fibras nervosas. O autor refere como, durante muitos anos, vários pesquisadores sustentaram que a regeneração não ocorria no sistema nervoso central pela ausência de células do neurilema, que são necessárias à regeneração da fibra nervosa periférica; porém, colocando nervos sem neurilema em caldos de cultura de tecido embrionário, o nervo periférico se regenerava.

Chambers (62) afirma que a diferença da função recobrada no recém-nascido e nos mamíferos adultos, pode depender de fatores diferentes da regeneração dos axônios centrais atingidos.

Duncan (63), praticando em ratos a ligadura da medula espinal, estuda o comportamento do sistema nervoso central e descreve marcadas alterações estruturais na neuroglia e a reorganização da mesma ao nível da compressão.

Glees (64), estudando a adaptação de enxerto de outros tecidos no tecido nervoso, encontra que o enxerto de tecido epitelial é o que mais favorece a regeneração.

Lockhart (65), afirma depois de ampla revisão bibliográfica sobre o assunto, que a comparação do poder regenerativo da medula espinal do homem com o dos animais inferiores é favorável a estes últimos.

Scott e Clemente (66) observaram, depois da secção da medula espinal em gatos adultos, que serviam como controle, resposta negativa à estimulação elétrica da coluna lateral, mesmo em gato com 2 meses de post-operatório. A resposta foi positiva, 30 mm. distante da lesão, numa primeira série de animais tratados com piromen, com potenciais que variavam de 11-43% das respostas obtidas com animais não operados. O estudo histológico mostrou regeneração das fibras nervosas nos controles, com formação glial que encapsulava as fibras, enquanto nos tratados as fibras eram mais evidentes, sem incapsulação glial, o que faz pensar que a falta de resposta ao estímulo elétrico nos animais controles seja devida à proliferação glial.

Windle (67), comentando a regeneração do S.N.C. afirma que os resultados obtidos em animais com o uso do piromen, acetado desoxicorticosterone e outras drogas, permitiram variar a extensão de certos traumatismos agudos da medula espinal e do cérebro humano.

Crouse (68) enxertando fragmentos embrionários de intestino, rim, ovário, fígado e extremidades no hemisfério cerebral direito de ratos com 4-12 dias de idade, constatou que o cérebro de rato é um local favorável para o crescimento e diferenciação dos tecidos embrionários de rato, com exceção do fígado e do rim.

Campbell, Bassett, Husby e Noback (69), seccionando a medula espinal de gatos e usando um tubo de millipore para unir os côtos proximal e distal, conseguiram obter regeneração das fibras nervosas com 30 dias de post-operatório. Os autores pensam que tanto as fibras ascendentes como as descendentes participam deste processo porque a configuração da medula espinal regenerada, tanto proximal como distal, é similar.

Clemente (70) refere casos de regeneração de fibras do nervo facial implantado na cortex cerebral de ratos, coelhos e gatos; em contrôles e em animais tratados com cortisona, as fibras regeneradas permanecem sem continuidade com o enxerto e as fibras nervosas não crescem no cortex cerebral. O autor diz que elementos mesodérmicos primitivos e células reticulares são benéficos na regeneração das fibras nervosas, enquanto a proliferação da neuroglia representa obstáculo impenetrável. A administração de cortisona reduz a escara mesodérmica na proliferação em lesões cerebrais: o primeiro efeito da administração de desoxicorticosterone era de estimulante da proliferação mesodérmica, enquanto o tratamento prolongado tinha efeito oposto em traumatismos de cortex cerebral de rato.

Windle, Smart e Beers (71) estudaram em gatos a secção parcial do segmento distal da medula espinal, deixando 1 a 10% do funículo ventral intato: a atividade funcional era semelhante em gatos com regeneração dos neurônios espinais centrais, 6-9 meses após a secção da medula.

Andrew, Bassett, Campbell e Husby (72) se referem sobre os resultados favoráveis obtidos em gatos adultos com o uso de millipore em secções da medula espinal, uso que impede a invasão por parte dos elementos do tecido conjuntivo.

Crouse Gail (73) refere sobre 134 homoenxertos de estômagos de ratos em cérebros, discutindo as possibilidades experimentais que oferece o cérebro como lugar de transplante.

Campbell e Windle (74) estudam em macaca, a secção total da medula espinal ao nível do segmento torácico inferior e em dois casos ao nível do primeiro segmento lombar, envolvendo em todos os casos os côtos com millipore e observando a evolução

post-operatória de 4 até 118 dias. Os métodos histológicos usados demonstram claramente fibras nervosas regeneradas no espaço compreendido entre os dois côtos.

Bunge (75) afirma que repetidas retiradas e reinjeções de líquido podem favorecer lesões neurológicas; observações microscópicas revelam que a lesão pode ser uma desmielinização ao invés de uma necrose, isto é, a maior parte dos axônios permanece intacta, sendo gradualmente remielinizado no 19º dia pelas células gliais que aparecem na lesão 6 dias após.

Freeman, McDougall, Turbes e Bowman (76), trabalhando em cães adultos, acharam que a injeção intratecal de tripsina reduzia a escara de tecido conjuntivo no lugar das lesões cirúrgicas da medula espinal e que a redução da escara tinha sido associada ao não aumento da função.

Freeman (77) observou regeneração das fibras nervosas na secção e hemiseção da medula espinal de rato, cão e macaco, insistindo sobre as melhores possibilidades regenerativas obtidas com injeção intratecal de tripsina.

Nathaniel (78) fez algumas interessantes experiências em ratos, expondo a cauda-equina e lesando algumas raízes dorsais com traumatismo. Depois de algum tempo as raízes eram fixadas "in situ" com tetroxido de ósmio. 24 horas após a lesão as células de Schwann apresentam-se com aumento de densidade do citoplasma e os neurônios aparecem normais, entretanto, 48 horas após, o axônio aparece granular e na 96ª hora fica bem evidenciada a desintegração da mielina com hipertrofia das células de Schwann. O fenômeno regenerativo foi observado somente 7 dias depois, ficando bem claro ao décimo quinto dia, quando aparecem muitos axônios em bom desenvolvimento com bainha mielínica; aos 40 dias a regeneração ativa continua e ao 250º dias é completa com axônios e células de Schwann apresentando sua constituição normal.

Noback et coll. (79), executando secção transversal de medula espinal do gato e envolvendo-a com uma membrana de millipore, observaram que as primeiras células que imigram são elementos mesenquimatosos oriundos das meninges moles que, com células endoteliais e adventíciais hiperplásticas, seguindo a face interna da membrana de millipore, ao fim da segunda e terceira semana, constituem uma membrana contínua. Os axônios podem atravessar a secção em trinta dias e parece que, agora a microglia, os outros elementos neurogliais não jogam um papel ativo durante as diferentes fases do processo de regeneração. Os autores concluem afirmando que existem numerosos aspectos parecidos entre a regeneração da medula espinal ao nível de uma secção protegida pelo manguito de millipore e a dos nervos periféricos.

Entre os tratadistas, *Testut* (80), *Pensa e Favaro* (81), *Cunningham* (82), *Grey* (83), *Maximow e Blum* (84), *Chiarugi* (85), *Ranson - Clark* (86), *Cornide* (87), *Bairati* (88), *Orts Llorca* (89) não fazem referência a regeneração no sistema nervoso central.

Cajal (90) refere-se ao assunto baseado em pesquisas de vários autores: quando a fibra nervosa é interrompida na medula, cerebelo, cérebro e nervo ótico, seu coto central e seus colaterais são sede de fenômenos regenerativos que porém não chegam ao retôrno da função e regredem, talvez pela falta de células de Schwann.

Collin (91) diz que, em condições experimentais habituais (secção simples), os axônios centrais, são incapazes de restaurar-se, apesar de serem evidentes na extremidade central neoformações precoces abortivas pela falta de ação das células de Schwann.

Nonidez e Windle (92) dizem que no cérebro e na medula espinal algumas fibras não regeneram além do ponto do corte.

Levi (93) afirma que as fibras da substância branca dos centros nervosos dos mamíferos não regeneram quando cortadas, porém reagem à lesão rapidamente e intensamente. Refere-se também aos resultados de *Misloczy* (94) que achou nos cotos centrais dos axônios das células piramidais do córtex cerebral esferas fibrilares uma hora depois da lesão: duas horas depois também o pirenóforo reage e no decurso do trecho central do neurite são visíveis fusos neurofibrilares. Nos fetos de mamíferos as fibras da substância branca da medula espinal teriam uma potência degenerativa intensa o que permite, as vêzes, o retôrno funcional.

Iniguez e Rebolo (95) fala genêricamente da regeneração da fibra nervosa, que é possível só quando existe a integridade do corpo celular e a proliferação neuróglia.

Glees (96), limita-se, falando dos métodos de trabalho na neurologia, a referir sobre o método de impregnação pela prata, modificado, que constitue uma boa vantagem no estudo da implantação de pele dentro do tecido cerebral, experiência feita com a finalidade de analisar o poder regenerativo das fibras nervosas centrais.

Strong e Elwyn (97) dizem que os estudos da regeneração do sistema nervoso central indicam que os axônios centrais dos neurônios lesionados fazem tentativas abortiva de regenerar-se através de uma brecha produzida experimentalmente na medula espinal, achando explicação na amplitude da lesão, hemorragias e invasão cicatricial, além da falta de células de Schwann.

Erhart (98), como complemento ao capítulo sobre regeneração da fibra nervosa periférica diz que embora se admita como

certo que o sistema nervoso central de vertebrados superiores (aves e mamíferos) não regenera, publicações recentes tendem a demonstrar o contrário.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados para estas pesquisas medulas espinais de 4 cães sobreviventes dos quatros lotes, A, B, C, D, nos quais foram praticados enxêrtos cruzados na medula dorso-lombar, como a tabela seguinte 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	

O material do cão número 1, do lote A, sacrificado trinta dias depois da operação, do cão número 3, do lote B, também com trinta dias de post-operatório, do cão número 12, do lote D, com trinta e dois dias de post-operatório e do cão número 13, do lote C, com quarenta e quatro dias de post-operatório, foi utilizado nas presentes observações nas quais foram executados métodos de fixação e preparação de material e métodos histológicos.

a) Métodos de fixação e preparação do material

Os cães, foram fixados "in vivo", por meio de uma solução de formalina a 10%.

Nos cães nº 1 e nº 3, logo depois da fixação "in vivo", foi retirada a medula espinal, exatamente 2 cm. acima e 2 cm. abaixo

xo da área enxertada, isolando a parte central e os pontos de contato do enxerto. A área do enxerto era seccionada longitudinalmente, sendo a porção da direita, depois de lavagem durante algumas horas em água corrente, colocada em líquido fixador de Cajal-De Castro e sucessivamente tratada pelo método de Cajal-De Castro e incluída na rápida inclusão celoidina-parafina; a metade esquerda era cortada em seções transversais no micrótomo congelador e os cortes refixados, parte em líquido de Del Rio-Hortega e parte em formalina neutra a 10%. Os segmentos acima e abaixo da área enxertada eram também fixados, cortados em congelação, e refixados em líquido fixador de Del Rio-Hortega e formol neutro a 10%.

Nos cães nº 12 e 13, logo depois da fixação in vivo, retirava-se a peça, compreendendo a área enxertada mais 2 cm. acima e 2 cm. abaixo, permanecendo em fixador durante alguns dias, para depois incluir em celoidina com a seguinte metódica:

- 1) Lavagem durante 24 horas em água corrente;
- 2) Lavagem rápida em água destilada e passagem em álcool a 80°;
- 3) Passagem durante 14 horas em álcool a 95°;
- 4) Passagem durante 2-3 horas em uma solução em partes iguais de álcool absoluto e éter para análise;
- 5) Passagem na celoidina a 2% durante 15 dias;
- 6) Passagem na celoidina a 4% durante 15 dias;
- 7) Passagem na celoidina a 8% durante 8 dias;
- 8) Inclusão em celoidina e cortes em congelação.

O material depois de cortado ao congelador, foi refixado, parte em líquido fixador de Del Rio-Hortega, parte em formol neutro a 10% e parte em álcool a 80°.

b) *Métodos histológicos*

Foram utilizados os seguintes métodos histológicos:

- 1) Método de Del Rio-Hortega, modificado.
- 2) Método de Bielschowsky-Gross, modificado por Amprino.
- 3) Método de Bodian modificado por Contu, Pirodda e Lipparini.
- 4) Método de Lison-Dagnelie.
- 5) Método de Cajal-De Castro.
- 6) Método da Hematoxilina-férrica.
- 7) Método de Nissl.
- 8) Método de Mallory.

O Método de Del Rio-Hortega foi utilizado para o estudo da neuroglia, seguindo a metódica aconselhada por Contu (97), tanto na área do enxerto bem como acima e abaixo do mesmo. A utilização do mesmo método para fibras nervosas foi aconselhada pelos resultados positivos que forneceu na impregnação de fibras mielínicas e amielínicas em trabalho de Contu, Pirodda e Lipparini (98) sobre as terminações nervosas do órgão coclear.

O método de Bielchowsky-Gross, modificado por Amprino, já satisfatoriamente utilizado por Mickelberg (99) é um método usado rotineiramente no Laboratório de Neuro-Anatomia, com ótimos resultados no estudo das fibras nervosas.

O método de Bodian, modificado por Contu, Pirodda e Lipparini (98) é um método que, usado com os cuidados indispensáveis, fornece ótimas imagens de fibras e células nervosas, ressaltando-as no tecido conjuntivo.

Para o estudo da bainha mielínica recaiu nossa escolha sobre o método de Lison-Dagnielie, depois dos ótimos resultados obtidos no laboratório de Neuro-Anatomia por Ohlweiler (100) na regeneração do nervo hipoglossal no cão.

O método de Cajal-De Castro é um método que deu a vários pesquisadores ótimos resultados no estudo das células e das fibras nervosas; a metódica por nós utilizada é usada por Contu no estudo sobre a inervação da coclea (101) e por Ohlweiler (100).

Para o estudo da citologia das células gliais e das células nervosas usamos o método da Hematoxilina férrica, segundo Beccari (102); para o estudo da substância tigróide, o método de Nissl, segundo Beccari (102); enfim para o estudo do tecido conjuntivo o método de Mallory, segundo Celestino da Costa (103).

As preparações histológicas mais interessantes foram fotografadas com Objetivas Leitz 3X, 10X e 45X.

OBSERVAÇÕES PRÓPRIAS

Nossa exposição obedecerá a ordem cronológica do post-operatório, analisando sucessivamente os resultados obtidos no material dos cães n° 1 e n° 3, com 30 dias, do cão n° 12 com 32 dias, e enfim do cão n° 13 com 44 dias de post-operatório, descrevendo as observações realizadas na superfície de contato superior e inferior, na área do enxerto e nas áreas para cima e para baixo do mesmo.

Cães n° 1 e n° 3 (com 30 dias de post-operatório). Ao nível da porção proximal do enxerto na área correspondente aos cordões anteriores e laterais é facilmente demonstrável regeneração

de fibras ascendentes com os métodos de Cajal-De Castro, Del Rio-Hortega e Bielschowsky.

As fibras regeneradas aparecem reunidas em feixes (fig. 1 A) que penetram na área enxertada, dividindo-se sucessivamente em feixes menores (fig. 1 B e D) e decorrendo em alguns trechos em grupos de fibras isoladas (fig. 1 C). O tecido conjuntivo invade fortemente a área enxertada e a mielina residual da degeneração dos feixes do enxerto apresenta-se em forma de bolas redondas consistentes ou em forma de bolas granulares redondas, achatadas ou afusadas, de volume variável.

E' interessante observar o comportamento da mielina que tende a se organizar em bainhas em torno das fibras regeneradas.

Em áreas onde o tecido conjuntivo apresenta uma invasão maior, tentando estrangular feixes regenerados, esta ação de estrangulamento aparece bem evidente nas bainhas mielínicas.

Tanto com os métodos de impregnação pela prata quanto com os métodos de coloração não foi possível encontrar células nervosas intatas na área do enxerto.

Muitas fibras passam pelo enxerto, alcançando o segmento medular distal, através de espessa camada conetiva que se constitui na superfície medular, mas, em geral, as fibras mais numerosas se dirigem para o centro da área enxertada.

Existem áreas do enxerto caracterizadas pela presença de grande quantidade de mielina no meio da qual nota-se intensa proliferação de células de neuroglia (fig. 2 A), bem reveladas com o método de Del Rio-Hortega: é fácil ver pequenos feixes de fibras descendentes passar por estas áreas e se tem a impressão que as células gliais conseguem organizar em torno das fibras dispositivos que lembram arquiteturas gliais rudimentares (fig. 2 B e C).

As células dos gânglios sensitivos espinais aparecem normais, comparando-as com células de gânglios pertencentes a outros segmentos: nota-se porém entre as células numerosas fibras regeneradas (fig. 3 A e B) algumas das quais passam para cima dos corpos celulares (fig. 3A). As fibras regeneradas se orientam pela raiz sensitiva (fig. 3 C) e alcançam a área do enxerto, penetrando no tecido conjuntivo no qual se organizam em feixe bem delimitado (fig. 4 A, B, C); a seguir, sobem e se dividem em feixes menores ascendentes que atravessam as áreas invadidas pelo tecido conjuntivo e pela mielose (fig. 5 A).

Ao nível do segmento distal do enxerto, na área correspondente ao cordão posterior, numerosas fibras do feixe de Goll estão em franca regeneração, passando através da ponte conetiva; algumas fibras (fig. 5 B) se orientam para a área central do enxerto onde se encontram numerosas bolas de mielina, mas a maioria delas (fig. 5 C) permanecem na margem látero-posterior,

juntando-se num feixe de fibras que, passando através do enxerto, alcança a região proximal da medula.

Nas áreas acima e abaixo do enxerto, na substância branca, usando o método da hematoxilina férrica, é possível ver as fibras regeneradas no meio das quais encontram-se células de neuroglia e bolas de mielina (fig. 6 A); em alguns trechos são visíveis escassas fibras regeneradas com decurso tortuoso (fig. 6 B).

A morfologia da bainha mielínica reconstituída é também bem estudada com o método de Lison-Dagnelie, que nos revela como só em alguns grupos de fibras as bainhas aparecem normais (fig. 7 A): em geral são descontínuas acompanhadas por elementos neurogliais em posição perimielínica (fig. 7 B).

As arquiteturas gliais, tanto na substância branca como na cinzenta dos segmentos acima e abaixo do enxerto (fig. 8), parecem normais e só alguns trechos são pouco reveláveis pela presença de bolas de mielina. Na substância branca os invólucros perimielínicos constituídos pelos prolongamentos de células neurogliais protoplasmáticas e oligodendrocitos, e os astrocitos fibrosos de ligação lembram as normais arquiteturas gliais; o mesmo acontece na substância cinzenta onde os oligodendrocitos e os astrocitos dos invólucros perineuronais são bem demonstráveis.

Com o método de Nissl as células dos cornos medulares nas áreas acima e abaixo do enxerto aparecem em geral bem conservadas: são raros os casos de células em completa degeneração com destruição do corpo celular.

Cão n° 12 (com 32 dias de post-operatório). Em geral a regeneração das fibras ascendentes e descendentes dos feixes medulares apresenta as mesmas características dos casos precedentes seja na área do enxerto (fig. 9, A, B, C) e respectivos gânglios, seja nas áreas acima e abaixo do mesmo.

Cão n° 13 (com 44 dias de post-operatório). A regeneração das fibras ascendentes e descendentes através do enxerto é bem demonstrável.

Com o método de Bodian em secção longitudinal a pequeno aumento, são visíveis, ao nível da porção proximal do enxerto, feixes regenerados que logo, dentro da área enxertada, se dividem em feixes menores que atravessam o tecido conjuntivo (fig. 10 A).

As fibras regeneradas dos gânglios espinais penetram na área enxertada em dois feixes bem evidenciáveis (fig. 10 B e C).

Em geral as imagens obtidas tanto de fibras ascendentes que descendentes revelam como a regeneração através do enxerto possui as mesmas características dos casos precedentes (fig. 11 e fig. 12).

E' necessário porém salientar que, apesar de um post-operatório mais longo, as fibras que atravessam o conetivo, tortuosas em geral, apresentam características morfológicas satisfatórias, evi-

denciáveis nas imagens obtidas com os métodos de Bodian, Lison Dagnelie e Mallory.

CONSIDERAÇÕES

O estudo da regeneração do sistema nervoso central, como a bibliografia demonstra, foi em geral orientado dando pouca importância aos resultados puramente morfológicos.

Ao encetar este trabalho, declaramos desde já que a nossa pesquisa será muito longa e terá uma finalidade funcional, procurando-se constatar se a regeneração do sistema nervoso central, em especiais condições experimentais de enxertos cruzados, se fará até o restabelecimento total ou parcial da função; mas, de início, preocupar-nos-emos em ver todos os aspectos morfológicos da regeneração pois, só assim, poderemos, em um segundo tempo, analisar estes aspectos em relação a função e quando e em quais situações morfológicas a função se restabelece, perdura ou regride.

Este nosso primeiro trabalho, baseia-se em resultados puramente morfológicos, resultados que, como no sistema nervoso periférico, são de difícil interpretação quando não precedidos por uma rigorosa escolha de métodos que possam fornecer os dados mais objetivos.

Os métodos de fixação e os histológicos, por nós usados, parecem ser satisfatórios para nos orientar nos principais aspectos morfológicos.

A fixação é de extrema importância na aplicação de alguns métodos especiais no estudo do tecido nervoso, porque, se estes métodos, às vezes, apresentam grandes dificuldades em material nervoso normal, estas dificuldades aumentam no material experimental e, no nosso caso, observamos que a fixação joga um papel fundamental. A análise da fixação e de alguns métodos usados será objeto de um trabalho mais amplo, porque o assunto merece ampla discussão; na presente nota, nos limitamos a dizer que os bons resultados obtidos são, em grande parte, devidos ao fato de termos trabalhado com material fixado "in vivo".

Recorremos a uso de vários métodos de impregnação de prata, em material fixado "in vivo", porque o uso destes métodos, às vezes de difícil execução e interpretação, pode fornecer imagens de fibras regeneradas facilmente comparáveis, e os métodos de Cajal-De Castro, Bodian e Bielschowsky revelaram-se muito indicados para esta finalidade. Também outros aspectos, relacionados com a proliferação do tecido conjuntivo, a reconstituição da bainha de mielina, a morfologia da neuroglia, tanto na área do enxerto como acima e abaixo do mesmo, e os aspectos morfoló-

gicos gerais e citológicos, necessitavam ser cuidadosamente analisados; constatamos, outrossim, que os métodos de Mallory, Lison-Dagnelie, Rio Hortega, Nissl e Hamatoxilina férrica, forneceram, no caso, resultados bastante satisfatórios.

Queremos aqui salientar também alguns aspectos técnicos da inclusão do material: as melhores imagens comprovantes da regeneração das fibras foram obtidas com os métodos de Bodian e de Cajal-De Castro, depois de inclusão em celoidina e celoidina-parafina. Estas inclusões nos permitem visualizar bem as fibras regeneradas ascendentes e descendentes, mas devemos também salientar que a inclusão rápida em celoidina-parafina do material tratado com o método de Cajal-De Castro, apresenta aspectos mais positivos, pela possibilidade de seriação ao micrótomo de parafina, enquanto o método de Bodian, aplicado em material incluído em celoidina, apresenta dificuldades de seriação, devido aos corte no micrótomo de congelação.

Sendo este trabalho o início de uma investigação mais ampla, que no futuro nos permitirá utilizar material mais numeroso, deveremos ter na devida conta a experiência técnica que é de grande importância.

Os aspectos macroscópicos da área enxertada e dos segmentos acima e abaixo nos orientaram bastante na escolha dos métodos.

A área do enxerto, reduzida ligeiramente de volume sobretudo nos pontos de contato superior e inferior, onde se dá um leve estrangulamento, nos faz considerar a grande importância que deve ser dada contemporaneamente aos fatores degenerativos do tecido nervoso e proliferativos do tecido conjuntivo.

Neste aspecto temos de analisar, no futuro, a biologia geral do enxerto e sobretudo a cronologia da sobrevivência do mesmo, tomando na devida consideração os resultados obtidos por Fabiani (106) em tentativas de sobrevivência de fragmentos de medula espinal e de córtex cerebral. Como também não podemos excluir a possibilidade de que células nervosas que sobrevivam possam permitir a regeneração da própria fibra ou, entrando em atividade mitótica, constituir novos neurônios. Trabalhos recentes insistem já na possibilidade de se considerar uma proliferação de neurônios; queremos aqui lembrar um recente trabalho de Altman (107) que se orienta para esta hipótese, depois de estudos feitos em cérebros de ratos adultos com lesões provocadas por injeções intracranianas de "thymidine-H3".

Insistimos neste ponto, não por termos tido possibilidade de ver estes aspectos, mas por se nos ter deparado, às vezes, quadros histológicos que nos fizeram suspeitar também da possibilidade de mitoses neuronais. Advertimos ser nosso intuito emitir pronunciamento mais objetivo, no futuro de nossas investigações.

Em linha geral, a tolerância do enxerto é bastante evidente e na verdade existe de nossa parte uma certa convicção a este respeito porque já o trabalho de Schirres (30) com enxerto heterólogo e sobretudo o de Woolsey e coll. (50) com enxerto homólogo formalinizado davam uma idéia bastante clara sobre as possibilidades de tolerância de enxertos no sistema nervoso central. E precisa lembrar também que o sistema nervoso central tolera bastante satisfatoriamente enxertos de outros tecidos, como Glees (64) e Crouse (68, 73) demonstraram.

A continuidade macroscópica do enxerto, em material com um post-operatório de 30 até 44 dias, parecia estabelecida, pela proliferação conetival dos envoltórios meníngeos e, só as raízes posteriores, já aderentes a área enxertada, apresentando-se hipertróficas com os respectivos gânglios, davam uma orientação sobre a possível existência de regeneração de fibras nervosas.

Evidencia-se facilmente nas nossas observações que as fibras sensitivas das raízes regeneram, estabelecendo rápido contato com a área enxertada; esta intensa atividade regenerativa foi já salientada por vários autores nos vertebrados (Terni, 15; Fickler, 28; Paskind, 47, etc.). Não nos foi possível porém, devido ao escasso material, analisar se somente fibras sensitivas ou se também fibras motoras somáticas e viscerais passam através das raízes posteriores e das células gangliares.

Também não possuímos até agora dados suficientes para poder afirmar se a hipertrofia do gânglio é causada por hipertrofia das respectivas células ou pelo aumento numérico de fibras nervosas regeneradas; um estudo mais amplo em base estatística poderá dar uma resposta mais clara.

Um dos conceitos fundamentais que nos guiaram nestas primeiras experiências foi o de ver se as fibras nervosas ascendentes e descendentes tinham suficiente força regenerativa para passar através de um enxerto que, por si mesmo e pelas suas condições particulares, tem mais possibilidade de ser invadido por processos degenerativos e conseqüente proliferação conetival. Na verdade a resposta foi afirmativa apesar de numerosas questões ligadas a este fenômeno ficarem ainda duvidosas merecendo uma mais ampla investigação.

Fibras ascendentes e descendentes regeneram e daí, logicamente, termos que admitir para o sistema nervoso central aquele valor regenerativo próprio do neurônio e ao qual é atribuída grande importância na regeneração do sistema nervoso periférico (Sunderland, 108, etc.). Este que chamamos de força central ou de fator RN de crescimento de Muralt (109) preside a regeneração das fibras através do enxerto; baseados nisto é natural que consideramos também o aspecto que explicaria as divergências de vários autores que insistem na facilidade de regeneração das fi-

bras periféricas e nas dificuldades regenerativas das fibras do sistema nervoso central.

Se analisamos, por exemplo, fibras motoras e sensitivas de um nervo espinal em regeneração devemos logicamente admitir que a regeneração dos dois tipos de fibras se origina em células com diferente situação topográfica; as sensitivas com centro trófico no gânglio espinal, as motoras com centro trófico no corno anterior da medula. O neurônio sensitivo possuiria em relação ao neurônio motor uma maior capacidade vital ou, segundo Marinesco e De Castro (110), uma grande irritabilidade formativa ou plástica e por isso uma regeneração mais precoce. Aparentemente as fibras provenientes de neurônios centrais teriam menor capacidade regenerativa o que poderia ser admitido em relação a precocidade mas não totalmente em relação a potencialidade, que é diferente por exemplo no sistema nervoso simpático, onde podemos ver resultados surpreendentes como os obtidos por Berselli e Rossi (111) que após a retirada do gânglio cervical superior, notaram que as fibras pré-ganglionares, provenientes das células motoras viscerais do corno lateral da medula espinal, podiam regenerar na via das pot-ganglionares, chegando à periferia, podendo assim substituir as fibras post-ganglionares e inervar diretamente as fibras musculares lisas.

Por isso na regeneração através de um enxerto deveremos considerar a distinção entre fibras sensitivas e fibras motoras e, em relação às sensitivas, diferenciar ulteriormente as fibras de neurônios de primeira ordem das fibras de neurônios de segunda ordem, porque os respectivos corpos celulares possuem diferente sede topográfica, no gânglio uns e no corno posterior da medula os outros.

Nêste trabalho limitamo-nos a ver a regeneração ascendente e descendente sem entrar numa distinção cuidadosa dos vários feixes e sua topografia o que faz parte de nosso programa futuro, com o uso de material mais numeroso e de técnicas especiais que permitam uma seriação completa, como por exemplo, o método de Cajal-De Castro.

Entretanto estamos desde já orientados a seguir o conceito expressado por Cajal (44) que diz que a regeneração de fibras nervosas intraespinhais em gatos jovens e cães demonstra um crescimento similar ao observado na regeneração do nervo periférico.

Em nossas observações evidencia-se que as fibras ascendentes e descendentes, durante a regeneração, perdem logo a própria orientação e ficam tortuosas, no meio do tecido conjuntivo que está se organizando; de qualquer maneira a força regenerativa consegue passar através da barreira conjuntiva e em geral as fibras em regeneração têm a tendência a se juntarem em verdadeiros

feixes isolados, tendo assim a possibilidade de maior resistência às compressões e estrangulamentos.

Poderão estas fibras regeneradas resistir por muito tempo ou serão depois invadidas pelo conjuntivo em contínua organização, como poderiam fazer pensar os casos de Lhermitte e coll. (51) e de Stewart e Harte (26)?

A impressão que se tem, analisando a regeneração das fibras no enxerto, é de que elas conseguem um restabelecimento da sua morfologia, com bainha mielínica.

Achamos, pelas nossas observações, ainda muito incompletas, que na degeneração e na regeneração das fibras nervosas o papel da bainha mielínica merece aquela importância que foi atribuída na degeneração e regeneração dos nervos por Cajal (112) que admitia a bainha de mielina como uma formação protetora contra os fatores excitantes.

Ou será possível impedir a invasão conjuntival, com substâncias especiais, como Windle e Chambers (54), Turbes e Freeman (58), Windle, Littrell, Smart e Agnew (60), Scott e Clemente (66), etc. demonstram em alguns trabalhos, dando até a possibilidade de pensar no restabelecimento da função?

Queremos aqui repetir novamente, que estas pesquisas são preliminares e nos servirão de base comparativa para experiências mais amplas neste sentido e que estão em andamento.

Os animais das nossas experiências não foram tratados com substância alguma, para podermos assim observar o poder regenerativo natural do sistema nervoso central. A antibióticoterapia usada no post-operatório não pode ser considerada como um fator estimulante na regeneração e neste sentido existem estudos no sistema nervoso periférico, lembrando a contribuição de Aidar e Mignome (113) que, experimentando no nervo tibial do coelho, chegaram à conclusão de que a penicilina, ainda que seja aplicada em loco, não tem influência sobre as fibras nervosas em regeneração.

Outros aspectos parecem-nos de importância relevante na análise da bibliografia e são eles relacionados com as classes dos vertebrados e a idade.

Nos anfíbios é demonstrada a regeneração da medula espinal (Lewis, 4, Mc Creight, 5, Terni, 6 etc.) e parece não totalmente privada de fundamento a afirmação de Piatt (9) de que o sistema nervoso central dos anfíbios possui maior capacidade regenerativa que o de outros vertebrados. Nos mamíferos, maior sucesso obtiveram os autores que trabalharam com roedores, como cobaio, coelho e rato, (Brown-Sequard, 19; Stroebe, 22; Saltykow 29; Hooker e Nicholas, 41; Gerard e Grinker, 46; Sugar e Gerard, 48; Nathaniel, 78, etc.) mas bons aparecem também os

resultados obtidos nos carnívoros (Fickler, 28; Cajal, 32; Fernandez Guardiola, 56; etc.), e as nossas observações, em condições especiais como as de enxertos, o comprovam.

Merecem também grande consideração as observações sobre a importância da idade na regeneração do sistema nervoso nos vertebrados e queremos lembrar os estudos de Lewis (4) em anfíbios, Rhines e Windle (16) e Hamburger (10) nas aves, Spatz (40), Gerard e Koppány (42) e Gerard e Grinker (46), Clark (49), Windle e Chambers (54), Windle, Litrel, Smart e Agnew (60), Chambers (62), etc. nos mamíferos.

Achamos os resultados destes autores extremamente interessantes porque pensamos que o fator idade na regeneração através de enxertos deve ser considerado como de máxima importância.

Outro aspecto ainda muito duvidoso e que necessita de uma análise mais profunda é o relacionado com a função da neuroglia nos processos degenerativos e regenerativos das fibras da medula espinal através de enxertos. Não nos parece aceitável, antes de tudo, o conceito bastante extremista de Tello (38), que atribue a falta de regeneração das fibras do sistema nervoso central à ausência da célula de Schwann; em primeiro lugar, porque a regeneração se dá e também porque não é possível considerar totalmente sem base a idéia de que a oligodendroglia dos feixes centrais seja homóloga às células de Schwann, como estudos de Perez (114) e Loreti (115) etc. tentam demonstrar.

À parte a constatação por nós feita de que as arquiteturas gliais não modificam muito profundamente a sua estrutura morfológica acima e abaixo da área enxertada, aspecto que merece ser analisado mais profundamente, queremos salientar as observações de Clemente (61) e sobretudo de Windle, Littrell, Smart e Anew (60) que falam insistentemente sobre uma fácil regeneração de neurônios do sistema nervoso central em vertebrados inferiores ou em jovens mamíferos, enquanto nos mamíferos adultos a regeneração é obstruída pela gliose e pela cicatrização glial.

Parece-nos de extrema importância relacionar os resultados de outros estudos já realizados por Bairati, (116), Bairati e Contu (117), Contu (118, 119) e neste laboratório, por parte de Contu (120), Contu e Krimberg (121), Goldani e Funke (122), sobre as modificações da glia com a idade, estudos que confirmam os precedentes trabalhos de Blum no homem (123) e de Acharro no cão (124) sobre o aumento da fibrosidade da glia com o decorrer da idade.

Achamos de máxima importância para o nosso trabalho a ser desenvolvido, estabelecer qual o verdadeiro papel da glia nos fenômenos de regeneração das fibras do sistema nervoso central, lembrando que as células neurogliais, como os neurônios estão sujeitos a modificações estruturais devidas a idade.

Baseados em nossas observações podemos apresentar as seguintes conclusões:

- 1º — Estudamos a regeneração de fibras nervosas ascendentes e descendentes da medula espinal, através de enxerto de medula dorso-lombar no cão, usando os métodos de Rio-Hortega modificado, de Bielschowsky-Gross modificado, de Bodian modificado, de Lison-Dagnelie, de Cajal-De Castro, da Hematoxilina férrica, de Nissl e de Mallory.
- 2º — As fibras descendentes regeneram através do enxerto, passando pela ponte-conetival do coto proximal: em geral as fibras penetram na área enxertada dividindo-se sucessivamente em feixes menores e avançando também em grupos de fibras isoladas.
- 3º — Passando na área enxertada os grupos de fibras descendentes com trajeto tortuoso na região central mas conseguem passar pelo coto distal da medula.
- 4º — No meio das células dos gânglios espinais correspondentes, são visíveis numerosas fibras regeneradas, algumas das quais passam para cima dos corpos celulares: estas fibras, através da raiz sensitiva, penetram na escara conectiva da área de enxerto, organizando-se em um ou vários feixes ascendentes que passam através da ponte conectival do coto proximal.
- 5º — Fibras ascendentes do cordão posterior regeneram através da área enxertada.
- 6º — Existem no enxerto áreas nas quais é possível ver escassas fibras regeneradas; estas áreas são totalmente ocupadas por bolas de mielina e por células de neuroglia em intensa proliferação.
- 7º — Existem também áreas de vacuolização.
- 8º — Tanto pelos métodos de impregnação pela prata como pelos de coloração não foi possível encontrar células nervosas intatas na área do enxerto.
- 9º — As bainhas mielínicas aparecem reconstituídas em alguns grupos de fibras regeneradas; em geral as bainhas são descontínuas, acompanhadas por células neurogliais em posição perimielínica.

- 10º — Nas áreas acima e abaixo do enxerto, tanto na substância branca como na cinzenta, as arquiteturas gliais parecem normais, pouco reveláveis em alguns trechos pela presença de mielina,
- 11º — Sempre, nas áreas acima e abaixo do enxerto, as células dos cones medulares aparecem bem conservadas e são raras as células em completa degeneração com destruição do corpo celular.

R E S U M O

Os autores estudaram no cão a regeneração de fibras nervosas ascendentes e descendentes através de enxertos de medula espinhal dorso-lombar, usando os métodos de Rio-Hortega modificado, de Bielschowsky-Gross modificado, de Bodian modificado, de Lison-Dagnelie, de Cajal-De Castro, da Hematoxilina férrica, de Nissl e de Mallory.

As fibras descendentes regeneram, passando pela ponte conectival do coto proximal e, penetrando na área enxertada, dividem-se sucessivamente em feixes menores, seguindo também em grupos de fibras isoladas, tortuosas na região central do enxerto.

Fibras sensitivas regeneram nos gânglios espinais e, através da raiz, penetram na escara conjuntiva da área do enxerto, organizando-se em feixes ascendentes; a regeneração é ativa também no cordão posterior da medula.

As bainhas mielínicas aparecem reconstituídas em alguns grupos de fibras regeneradas mas, em geral, são descontínuas e acompanhadas por células neurogliais em posição perimielínica.

Na área do enxerto as células nervosas estão totalmente degeneradas e encontra-se grande quantidade de bolas de mielina e de células de neuroglia em intensa proliferação.

Nas áreas acima e abaixo do enxerto, as células dos cornos medulares aparecem em geral bem conservadas, sendo raras as células em completa degeneração, enquanto as arquiteturas gliais da substância branca e cinzenta parecem normais, pouco evidenciáveis, em alguns trechos, pela presença da mielina.

SUMMARY

The authors have studied in the dog the regeneration of ascending and descending nervous fibers through transplants of dorso-lumbar spinal cord, using the Del Rio Hortega's (modified), Bielschowsky-Gross's (modified), Bodian's (modified), Lison-Dagnelie's, Cajal-De Castro's, Ferric hematoxiline's, Nissl's and Mallory's methods.

They have observed that the descending fibers regenerate crossing the connective tissue bridge of the proximal segment and, penetrating into the transplanted area is divided in small bundles and penetrating in groups of isolated tortuous fibers the central area of the transplant.

Sensitive fibers regenerate in the spinal ganglia and, through the posterior root they penetrate into the connective tissue scar of the transplant area, organising themselves in ascending bundles; the regeneration is also active in the posterior funicular root of the medulla.

The mielinic sheath appears reconstituted in some groups of regenerated fibers, but, as a rule, they are not continuous, accompanied by neuroglial cells in perimielinic position.

In the transplanted area the nervous cells are completely degenerated and it can be found large amount of mielinic substance and neuroglial cells in intense proliferation.

Above and under the transplanted areas, the cells of the medulla appears well preserved, with rare elements in complete degeneration; the glial architectures of white and grey substance seem normal, poorly demonstrated in some segments by the presence of myelin.

BIBLIOGRAFIA

- 1) KRIMBERG, M., CONTU, P., SAADI, T. — Enxêrto de medula em cães (nota prévia). *Revista Ass. Med. R.G.S.*, vol. IV, N° 4, 123-126, 1960.
- 2) CONTU, P., SAADI, T., KRIMBERG, M. — Regeneration of nervous fibers throughout a cord graft in dogs. *Anatomical Record*, vol. 139, n° 2, 298, 1961.
- 3) KOPPANYI, T. — Regeneration in the C.N.S. of fishes; in *Regeneration of the central nervous system*, 3-19, Ch. Thomas, Springfield, 1955.
- 4) LEWIS, W.T. — Localization and regeneration in the neural plate of amphibian embryos. *Anatomical Record*, vol. LV, 191-198, 1910.
- 5) MC CREIGHT, J. — Regeneration of the spinal cord in the tail of *Diemyctylus* v. *Anatomical Record*, vol. 27, 210, 1924.
- 6) TERNI, T. — La régénération eupolaire et hétéropolaire de la moelle caudale embryonnaire. — *C. R. Ass. des Anat.*, I-6, (pág. de separata) 1934.
- 7) KIORTSIS, V., DOIN, A. — Importance de la moelle épinière dans la régénération caudale des larves de *Salamandra* l. *Arch. des Sciences*, vol. 11, 235-245, 1958.

- 8) LOCATELLI — citado por Kiortsis e Doin (7).
- 9) PIATT, J. — Regeneration in the C.N.S. of amphibia; in *Regeneration of the central nervous system*, 21-46, Ch. Thomas, Springfield, 1955.
- 10) HAMBURGER, V. — Regeneration in the central nervous system of reptiles and of birds; in *Regeneration of the central nervous system*, 47-53, Ch. Thomas, Springfield, 1955.
- 11) SGOBBO — citado por Hamburger (10).
- 12) STEFANELLI — citado por Hamburger (10).
- 13) MAROTTA — citado por Hamburger (10).
- 14) ZANNONE — citado por Hamburger (10).
- 15) TERNI, T. — Sulla correlazione fra ampiezza del territorio di innervazione e grandezza delle cellule gangliari. — 2° Ricerche sui gangli spinali che innervano la coda rigenerata nei Sauri. *Arch. Ital. Anat.* vol. 17, 507-543, 1920.
- 16) RHINES, R., WINDLE, W.F. — An experimental study of factors influencing the course of nerve fibers in the embryonic central nervous system. *Anatomical Record*, vol. 90, n° 4, 267-293, 1944.
- 17) CLEARWATERS, K.P. — Regeneration of the spinal cord of the Chick. *Journ. Comp. Neur.*, vol. 101, 317-329, 1954.
- 18) WILLIAMS — citado por Hamburger (10).
- 19) BROWN-SEQUARD, C.E. — De la régénération de la moelle épinière d'après l'experimentation et des faits cliniques. *Arch. de Physiol. norm., path. Serie V*, 4, 410-413, 1892.
- 20) BROWN-SEQUARD — citado por Worcester (24).
- 21) GOWERS — citado por Lockhart (65).
- 22) STROEBE — citado por Glees (64).
- 23) VITZOV — citado por Glees (64).
- 24) WORCESTER, W.L. — Regeneration of nerve fibers in the central nervous system. *J. Exper. Med.*, vol. 3, 579-583, 1898.
- 25) NAGEOTTE, J. — Note sur la présence de fibres a myéline dans la pie-mère spinale de tabétiques, en rapport avec la régénération de fibres radiculaires antérieures. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, vol. 51, 738-740, 1899.
- 26) STEWARD e HARTE — citado por Windle (67)
- 27) COLLIER, J. — The effects of total transverse lesion of the spinal cord in man. *Brain*, vol. 27, 38-63, 1904.
- 28) FICKLER — citado por Glees (64).
- 29) SALTYKOW — citado por Glees (64).
- 30) SCHIRRES — citado por Lockhart (65).

- 31) BIELSCHOWSKY — citado por Glees (64).
- 32) CAYAL, R. — Notas preventivas sobre la degeneracion y regeneracion de las vias nerviosas centrales. Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid, vol. 8, 295-301, 1906.
- 33) MARINESCO, G. et MINEA, J. — Note sur la régénérescence de la moelle chez l'homme. Compt. rend. Soc. Biol., vol. 60, 1027-1028, 1906.
- 34) NAGEOTTE — citado por Glees (64) e por Lockhart (65).
- 36) PERRERO, E. — Contributo allo studio della rigenerazione delle fibre nervose del sistema nervoso centrale. Rivista di Patologia nervosa, vol. 14, 193-204, 1909.
- 37) SALA, G. — A proposito di un caso di sezione completa del midollo spinale. Boll. Soc. Med. Chir. di Pavia, 424-428, 1910.
- 38) TELLO, F. — La influencia del neurotropismo en la regeneracion de los centros nerviosos. — Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. de Madrid, vol. 9, 123-159, 1911.
- 39) LHERMITTE, J. — Sur la régénération des racines postérieures dans la section complète de la moelle dorsale. Rev. neur. path. vol. 35, 129-135, 1919.
- 40) SPATZ — citado por Chambers (62).
- 41) HOOKER, D., NICHOLAS, J. S. — The effect of injury to the spinal cord of rats in prenatal stages. Anatomical Record, vol. 35, 14, 1927.
- 42) GERARD e KOPPANYI — citados por Hooker e Nicholas (41).
- 43) PENFIELD, W. — The mechanism of cicatricial contraction in the brain. Brain, vol. 50, 499-517, 1927.
- 44) CAYAL, R. — Degeneration and regeneration of the nervous system. Oxford University Press, 1928.
- 45) NICHOLAS, J. S., HOOKER, D. — Progressive cord degeneration and collateral transmission of spinal impulses following section of the cord in albino rat fetuses. — Anatomical Record, vol. 38, 24, 1928.
- 46) GERARD, R. W., GRINKER, R. R. — Regenerative possibilities of the central nervous system. Arch. Neur. and Psych., vol. 26, nº 3, 469-484, 1931.
- 47) PASKIND, H. A. — Regeneration of posterior root fibers in the cat. Arch. Neur. Psych., vol. 36, 1077-1084, 1936.

- 48) SUGAR, O. and GERARD, R. W. — Spinal cord regeneration in the rat.
J. Neurophysiology, vol. 3, 1-19, 1940.
- 49) CLARK, W. — The problem of neuronal regeneration in the central nervous system. I. The influence of spinal ganglia and nerve fragments grafted in the brain.
J. Anatomy, vol. 77, 20-48, 1942.
- 50) WOOLSEY, D., MINCKLER, J., REZENDE, N., and KLEMME, R. — Human spinal cord transplant.
Experim. Med. and Surg., vol. 2, 93-102, 1944.
- 51) LHERMITTE, J., HECAEN e DE AJURIAGUERRA — Section complete de la moelle dorsale vérifiée chirurgicalement et anatomiquement.
Société de Neurologie de Paris, seance de 6-II-1945, 308-310, 1945.
- 52) BROWN, J. O., MC COUCH, P. — Abortive regeneration of the transected spinal cord.
J. Comp. Neurol. vol. 87, n.o 2, 131-137, 1947.
- 53) FREEMAN, L. W., FINNERAM, J. C., and SCHLEGEL, O. M. — Regeneration of spinal cord of the rat. — Am. J. of Physiol. vol. 159, 568-569, 1949.
- 54) WINDLE, W. F., CHAMBERS, W. W. — Spinal cord regeneration associated with a cellular reaction induced by administration of a purified bacterial pyrogen.
Abstr. V. Internat. Anat. Cong. Oxford, pág. 96, 1950.
- 55) WINDLE, W. F., CHAMBERS, W. W. — Regeneration in the spinal cord of the cat and dog.
J. Comp. Neurol., vol. 93, 241-257, 1950.
- 56) FERNANDEZ GUARDIOLA, A. — Regeneracion nerviosa periferica en el animal espinal. IIº Boletin Instituto de Estudios Médicos e Biológicos — Universidade Nacional de Mexico (separata) 48-59, 1951.
- 57) WINDLE, W. F., CLEMENTE, C. D., CHAMBERS, W. W. — Inhibition of formation of a glial barrier as a means of permitting a peripheral nerve to grow into the brain.
J. Comp. Neurol., vol. 96, n° 2, 359-369, 1952.
- 58) TURBES, C. C., FREEMAN, L. W. — Apparent spinal cord regeneration following intramuscular trypsin.
Anatomical Record, vol. 117, 228, 1953.
- 59) DUNCAN, D. — Alteration of nerve fibers and supporting cells of the spinal white matter to peripheral types.
Anatomical Record., vol. 118, 296, 1954.

- 60) WINDLE, W. F., LITTRELL, J. L., SMART, J. O., and AGNEW, W. — Central nervous regeneration in animals in relation to observation in a human subject. *Anatomical Record*, vol. 118, 369-370, 1954.
- 61) CLEMENTE, C. — Structural regeneration in the mammalian central nervous system and the role of neuroglia and connective tissue. — in, *Regeneration in the central nervous system*. — pag. 147-161. Ch. Thomas, Springfield, 1955.
- 62) CHAMBERS, W. W. — Structural regeneration in the mammalian central nervous system in relation to age. In, *Regeneration in the central nervous system*, 135-146, Ch. Thomas, Springfield, 1955.
- 63) DUNCAN, D., — Experimental compression of the spinal cord. — In, *Regeneration in the central nervous system*, 247-258, Ch. Thomas, Springfield, 1955.
- 64) GLEES, P. — Studies of cortical regeneration with special reference to cerebral implants. — In, *Regeneration in the central nervous system*, 94-111, Ch. Thomas, Springfield, 1955.
- 65) LOCKHART, W. S. — Evidence of structural and functional regeneration of the central nervous system in man. — In, *Regeneration in the central nervous system*, 259-264, Ch. Thomas, Springfield, 1955.
- 66) SCOTT, E., CLEMENTE, C. D. — Regeneration of spinal cord fibers in the cat. *J. Comp. Neurol.* vol. 102, n° 2, 633-662, 1955.
- 67) WINDLE, W. F. — Comments on regeneration in the human central nervous system. — In, *Regeneration in the central nervous system*, 265-271, Ch. Thomas, Springfield, 1955.
- 68) CROUSE GAIL, S. — Differentiation of intracerebral implants of rudiments from rat and mouse embryos in young rats. *Anatomical Record*, vol. 126, n° 3, 369-394, 1956.
- 69) CAMPBELL, J. B., BASSETT, C.A.L., HUSBY, J. and NOBACK, C. R. — Axonal regeneration in the transected adult feline spinal cord. *Surgical Forum*, 8, 528-532, 1958.
- 70) CLEMENTE, C. D. — The regeneration of peripheral nerves inserted into the cerebral cortex and the healing of cerebral lesions. *J. Comp. Neurol.* vol. 109, n° 1, 123-152, 1958.

- 71) WINDLE, W. F., SMART, J. O., BEERS, J. J. — Residual function after subtotal spinal cord transection in adult cats.
Neurology, vol. 8, n° 7, 518-521, 1958.
- 72) ANDREW, C., BASSETT, L., CAMBELL, J. B. and HUSBY, J. — Peripheral nerve and spinal cord regeneration factors leading to success of a tubulation technique employing Millipore.
Experimental Neurology, vol. I, n° 4, 386-406, 1959.
- 73) CROUSE GAIL, S. — The effect of variation in the age of the donor cu homologous grafts into the brain of the rat.
Anatomical Record, vol. 135, n° 3, 215-224, 1959.
- 74) CAMPELL, J. B., WINDLE, F. W. — Relation of Millipore to healing and regeneration in transected spinal cord of monkeys.
Neurology, vol. 3, n° 3, 306-311, 1960.
- 75) BRUNGE, R. P. — Neuropathological implications of an experimental demyelinating lesion in the cat spinal cord.
Anatomical Record, vol. 136, n° 2, 173, 1960.
- 76) FREEMAN, L. W., MAC DOUGALL, J., TURBES, C. C. and BOWMAN, D. E. — The treatment of experimental lesions of the spinal cord of dogs with trypsin.
J. of Neurosurgery, vol. 27, n° 2, 259-265, 1960.
- 77) FREEMAN, L. W. — Experimental observations upon axonal regeneration in the transected spinal cord of mammals.
Clinical Neurosurgery, Proceeding of the Congress of Neurological Surgeons, vol. 8, 294-319, 1962.
- 78) NATHANIEL, E. J. H. — Submicroscopic studies on degeneration and regeneration of dorsal roots.
Anatomical Record, vol. 136, n° 2, 251, 1960.
- 79) NOBACK, C. R., THULIN, C., BASSETT, C. A., CAMBELL, J. B. — The role of mesenchimal cells in regeneration in the spinal cord of the adult cat.
Acta Anatomica, vol. 47, 144-155, 1962.
- 80) TESTUT, L. — Anatomia Humana, vol. V., U.T.E.T., Torino, 1920.
- 81) PENSA, A., e FAVARO, G. — Trattato di Anatomia Umana Sistematica, vol. II°, U.T.E.T., Torino, 1948.
- 82) CUNNINGHAM, D. J. — Anatomia Humana, Tomo II°, Manuel Marin Editor, Barcelona — Buenos Aires, 1949.

- 83) GRAY, H. — Tratado de Anatomia Humana, vol. IIº, Editora Guanabara, Rio de Janeiro, 1946.
- 84) MAXIMOV, A. A., e BLOOM, W. — Tratado de Histologia, Editorial Guanabara, 1950.
- 85) CHIARUGI, G. — Istituzionei di Anatomia dell'Uomo, Vol. Iº, IVº, Vº, — Societá Editrice Libreria, Milano, 1954.
- 86) RANSON, S.W. e CLARK, S.L. — Anatomia do Sistema Nervoso. Livraria Atheneu S/A., Rio de Janeiro, 1955.
- 87) CORNIDE, J. L. — Anatomia del Sistema Nervoso, Tomo Iº e IIº. — Companhia Impresora Cubanacan, S/A., 1955-1956.
- 88) BAIRATI, A. — Trattato di Anatomia Umana, Vol. IIº e IIIº. Minerva Medica. Torino 1959-1961.
- 89) ORTS LLORCA, F. — Anatomia Humana, vol. IIº, Editorial Cientifico Medico, Barcelona-Madrid-Valencia, 1960.
- 90) CAJAL, S. R. — Histologie du Systeme nerveux — Tome IIº, 889-890, A. Maloine Editeurs, Paris, 1909.
- 91) COLLIN, R. — L'organisation nerveuse. 172-173, Editions Albin Michel, Paris, 1944.
- 92) NONIDEZ, J. F. e WINDLE, W. F. — Textbook of Histology, pag. 211, Mc. Graw-Hil Book Company, London, 1949.
- 93) LEVI, G. — Trattato di Istologia, vol. IIº, 885-891, U.T. E.T., Torino, 1954.
- 94) MISLOCZY — citado por Levi (93).
- 95) INIGUEZ ARANA, R. e REBOLLO, M. A. — Neuroanatomia, pag. 47, Libreria El Ateneo, Editorial, Buenos Aires, 1954.
- 96) GLEES, P. — Morphologie e Physiologie du Système nerveux, pag. 33, G. Doin, Paris, 1960.
- 97) STRONG y ELWIN — Neuroanatomia Humana, pag. 120-121, Livraria el Ateneo — Buenos Aires, 1961.
- 98) ERHART, E. A. — Neuroanatomia, pag. 70, IIº Ed., Livraria Atheneu, S. Paulo, 1962.
- 99) CONTU, P. — Ricerche sulla glioarchittonica del Vertebrati: Mammiferi. Arch. Ital. di Anat. e Embr., vol. LIX, fasc. 2., 1-41, 1953.
- 100) CONTU, P., PIRODDA, E. e LIPPARINI, R. — Procedimenti tecnici di impregnazione argantica delle terminazioni nervose dell'organo cocleare. Monit. Zool. Ital. Vol. LX, 61-68, 1953.

- 101) MICKELBERG, A. — Contribuição para o estudo da Simpatetomia nas moléstias vasculares periféricas dos membros. Tese, Pôrto Alegre, 1959.
- 102) OHLWEILER, Rocha R. — Observações anatômicas sobre a regeneração do nervo hipoglosso no cão. Tese, Pôrto Alegre, 1961.
- 103) CONTU, P. — Estudo sobre a inervação da côclea e sobre novos dispositivos nervosos na crista da parede vestibular do limbo espiral (no gato).
Anais da Fac. Med. Univ. do Recife, vol. 16, nº 1, 7-31, 1956.
- 104) BECCARI, N. — Elementi di tecnica microscopica, 128-130, Società Editrice, Libreria, Milano, 1946.
- 105) DA COSTA, C. e CHAVES, R. — Manual de tecnica histologica, 195, Portugalia Editora, Lisboa, 1943.
- 106) FABIANI, F. — Esperimenti di sopravvivenza di frammenti di sistema nervoso.
Monit. Zool. Ital. Atti XVII Convegno Società Italiana di Anatomia, I-3 (separata) 1957.
- 107) ALTMAN, J. — Are neurons formed in the brain of adult mammals?
Science, vol. 135, nº 3509, 1127-1128, 1962.
- 108) SUNDERLAND, S. — Rate of regeneration in human peripheral nerves.
Arch. Neurol. and Psychiatr., vol. 58, 251, 1947.
- 109) DE MURALT, A. — Dégénérescence et régénération du nerf. Le facteur de croissance. N. R.
— Medicine et Hygiène, 3^e année, nº 54, 1-24 (de separata) 1945.
- 110) MARINESCO e DE CASTRO — Citados por Levi (93).
- 111) BERSELLI, L. e ROSSI, G. — Recherches sur la régénération des fibres préanglionaires du sympathique.
Acta Anatomica, vol. 19, 132-148, 1953.
- 112) CAYAL, S. R. — Travaux du Laboratoire de Recherches Biologiques de l'Université de Madrid. T. V, 99, Imprimerie et Librairie Nicolas Moya, Madrid, 1907.
- 113) AIDAR, O., e MIGNONE, C. — Efeitos da penicilina sobre a regeneração dos nervos.
Arq. de Neuro-Psiquiatria, vol. 3, 246, 1945.
- 114) PEREZ, R. — Disposition morphologique des celules de Schwann.
Trab. Lab. Inv. Biol. vol. 29, 1943.

- 115) LORETI, F. — Configurazione dell'oligodendroglia interfascicolare e sua omologia con le cellule di Schwann.
Riv. Pat. Nerv. e Ment. vol. 52, 135, 1938.
- 116) BAIRATI, A. — Osservazioni comparate sulla glioarchitettura.
Memorie dell'Accademia delle Scienze dell'Istituto di Bologna, Serie X, Tomo VI, 1-28 (de separata), 1948-1949.
- 117) BAIRATI, A. e CONTU, P. — Ricerche sulla glioarchitettura dei vertebrati. IV. Carnivori. — Monit. Zool. Ital. Suppl. vol. LVIII, 1-5 (de separata) 1950.
- 118) CONTU, P. — Ricerche sulla glioarchitettura dei vertebrati: Mammiferi.
Archivio Ital. Anat. e Embr. vol. LIX, fasc. 2, 1-41, 1953.
- 119) CONTU, P. — Modificações da glia da medula espinal no desenvolvimento de *Ovis aries*. Anais Fac. Med. Univ. Recife, Vol. 14, Nº 1º, 189-200, 1954.
- 120) CONTU, P. — Observações sobre as arquiteturas gliais do corpo estriado humano.
Anais Fac. Med. de Porto Alegre, Ano 21, fasc. I, 57-71, 1961.
- 121) CONTU, P. e KRIMBERG, M. — Pesquisas sobre a estrutura da membrana pio-glial da medula espinal do cão e suas modificações com a idade.
(em pubbl. nos Arq. Inst. Anat. de Porto Alegre, 1962).
- 122) GOLDANI, J. e FUNKE, C. — Pesquisas morfológicas sobre as arquiteturas glio-vasculares do corpo estriado do cão e suas modificações com a idade.
Revista CAM, ano XXIV, nº 1, 53-95, 1962.
- 123) BLUM, E. — Über de Altern der Neuroglia.
Schw. Arch. f. Neur. und Psych. Bd. 13, 99, 1923.
- 124) ACHUCARRO, N. — De l'évolution de la neuroglia et spécialement de ses relation avec l'appareil vasculaire.
Trab. del Lab. de Invest. Biol. de l'univ. de Madrid, vol. 13, 169-212, 1915.

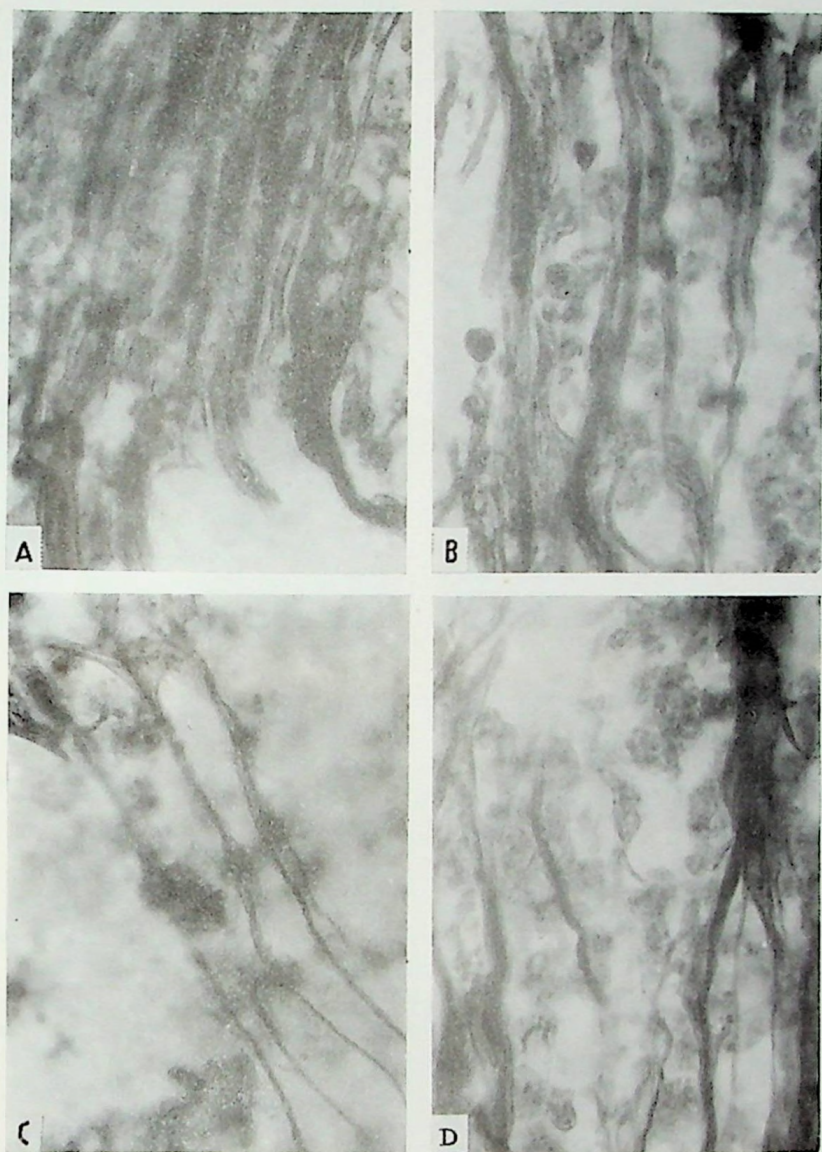


FIG. 1

CÃO N° 1 — Porção direita proximal do enxerto antero-lateral.

Em A e B, feixos de fibras descendentes regeneradas;

Em C e D, grupos de fibras descendentes regeneradas.

Aumento 45 X

Método de CAYAL — DE CASTRO.

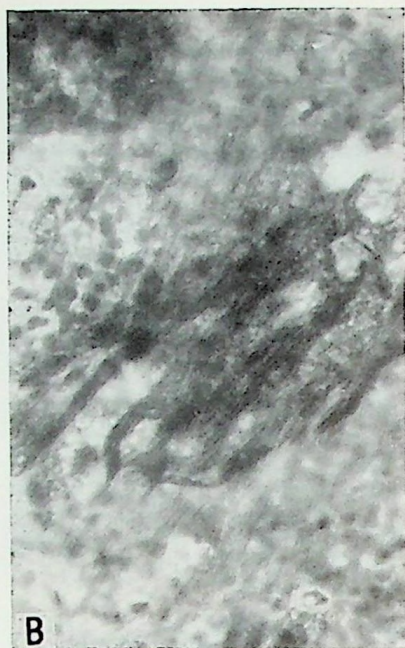
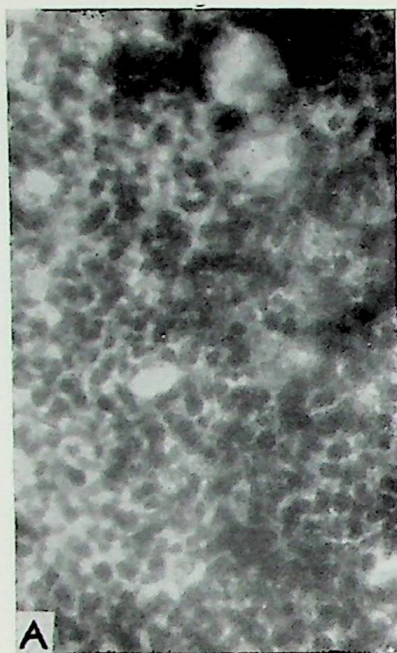


FIG. 2

CÃO N° I — Área do enxerto, esquerda.

Em A, bolas de mielina e células de neuroglia; Em B e C, fibras regeneradas.

Método DEL RIO-HORTEGA.
Aumento 45 X

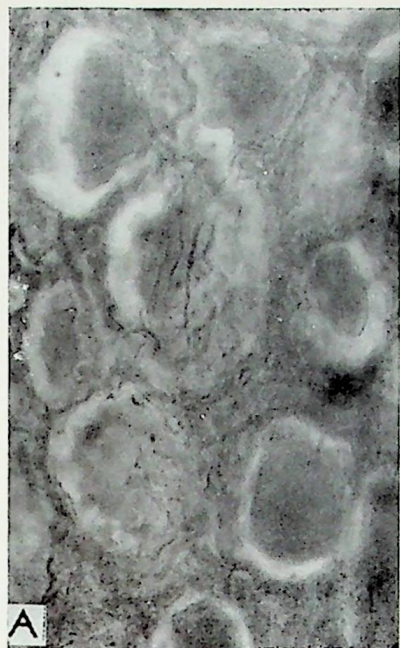


FIG. 3

CÃO Nº 1 — Área do enxêrto; gânglio espinal direito. Em A, B, C, numerosas fibras regeneradas, algumas das quais passando para cima do corpo celular.

Método CAYAL-DE CASTRO.
Aumento 45 X



FIG. 4

CÃO Nº 1 — Área do enxêrto, direita.

Em A, fibras da raiz posterior regeneradas,
aumento 3 X

Em B, idem, aumento 10 X

Em C, idem, aumento 45 x

Método CAYAL-DE CASTRO



FIG. 5

CÃO N^o 1 — Área do enxêrto, esquerda.

Em A, fibras ascendentes provenientes da raiz posterior;

Em B, fibras ascendentes, provenientes do cordão posterior em secção longitudinal.

Em C, fibras ascendentes, provenientes do cordão posterior em secção transversal.

Aumento 45 X

Método de BIELSCHOWSKY.



FIG. 6 — Cão nº 1 — Segmento acima do enxerto. Em A e B, fibras regeneradas.
Aumento 45 X — Método Hematoxilina Férrica

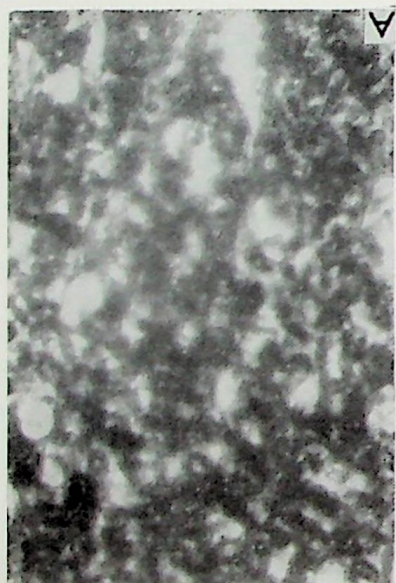


FIG. 7 — Cão nº 1 — Segmento acima do enxerto: bainhas mielinicas em recons-
tituição. Em A, secção transversal; Em B, secção longitudinal.
Aumento 45 X — Método LISON - DAGNELIE

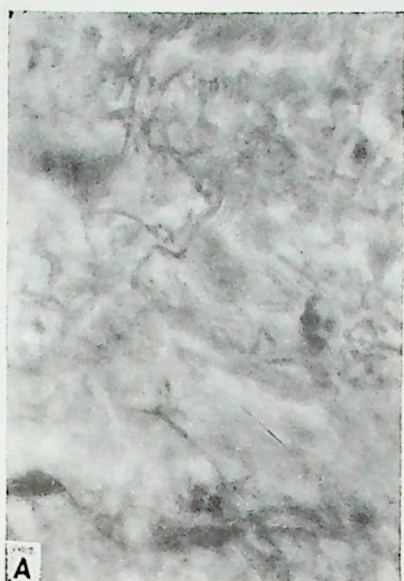


FIG. 8 CÃO Nº I — Segmentos acima (A e B) e abaixo (C e D) do enxerto.
 Em A, arquiteturas gliais da substância cinzenta;
 Em B, arquiteturas gliais da substância branca;
 Em C, arquiteturas gliais da substância branca; Aumento 45 X
 Em D, arquiteturas gliais da substância cinzenta. Método DEL RIO-HORTEGA



FIG. 9

CÃO N° 12 — Área do enxerto.

Em A, fibras descendentes regeneradas em secção longitudinal;

Em B, fibras ascendentes regeneradas em secção longitudinal;

Em C, fibras regeneradas com decurso tortuoso.

Aumento 45 X

Método de BODIAN.



FIG. 10

CÃO N° 13 — Área do enxerto.

Em A, secção longitudinal de feixos descendentes regenerados, aumento 3 X;

Em B, secção transversal da raiz posterior penetrando na área enxertada, aumento 3 X;

Em C, idem da B, aumento 45 X

Método de BODIAN



FIG. 11

CÃO Nº 13 — Área do enxerto ao nível da porção proximal.

Em A, B, C, fibras descendentes regeneradas.

Aumento 45 X
Método de BODIAN.

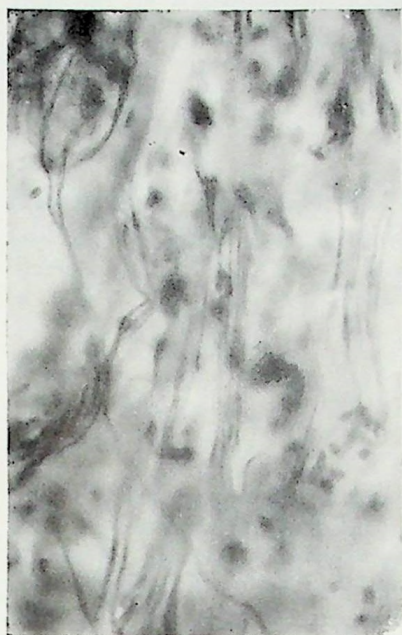


FIG. 12

CÃO N° 13 — Área do enxerto.

Em A, B, C, fibras regeneradas

Aumento 45 X

Método de BODIAN.