

ASPECTOS MORFOLÓGICOS GERAIS E ACTUAIS DA MICROVASCULARIZAÇÃO

J. A. ESPERANÇA PINA

Departamento de Anatomia. Faculdade de Ciências Médicas. Universidade Nova de Lisboa. Lisboa.

RESUMO

No Departamento de Anatomia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa, são utilizadas várias técnicas morfológicas para estudos microvasculares entre os quais se citam: a técnica histológica, a técnica de cortes histológicos seriados simples ou com injeção vascular, a técnica reconstrutiva de Born, a técnica microangiográfica, a técnica de microangiofluorescência, a técnica microangiofluorescentográfica, a técnica de diafanização para cortes e, ultimamente, a técnica de injeção-corrosão para microscopia electrónica de varredura. O autor mostra alguns resultados obtidos com estas técnicas em órgãos humanos e de animais de experimentação.

SUMMARY

General and actual morphological aspects of microvascularization

In the Department of Anatomy of the Faculty of Medical Sciences of the New University of Lisbon several morphological techniques for microvascular studies are used, such as: the histological technique, the histological incisions simple or with vascular injection technique, the Born reconstructive technique, the microangiographic technique, the microangiofluorescence technique, the microangiofluorescentographic technique, the diaphanization for incisions technique and lately, the injection-corrosion technique for the Scanning Electron Microscopy. The author shows some results obtained with these techniques in the human organs and in the experience animal.

INTRODUÇÃO

Ensinar e investigar são classicamente as duas funções atribuídas à Universidade. Pretendemos, contudo, ir mais além. Fornecer ao clínico bases morfológicas de apoio, é tarefa fundamental no presente e no futuro.

Para realizar este objectivo, pensamos que grande parte da investigação deverá ser dirigida para problemas concretos de interesse imediato, resultando de tal propósito que o ensino se deva apoiar consideravelmente na investigação.

Os cursos de graduação devem ser permanentemente remodelados, os cursos de pós-graduação com a colaboração das ciências morfológicas, deverão tornar-se obrigatórios e os cursos de actualização, fundamentais, em quantidade e qualidade, deverão obrigar a morfologia a mutações contínuas, a resolver dúvidas existentes e a alcançar novas interrogações.

Mostra-se, assim, a necessidade de um dinamismo permanente em ciências morfológicas, assente em unidades departamentais estáveis onde tudo se processa.

Assim, um Departamento de Anatomia deve estar estruturado de molde a responder com eficácia às solicitações tecnológicas do ensino e investigação da sua área de conhecimento.

Um Departamento de Anatomia não pode ser uma instituição estanque, capaz de responder apenas a toda e qualquer solicitação dos seus membros. Tem de ser obrigatoriamente

mente uma peça de um conjunto mais vasto que é a Instituição Universitária, devendo articular-se com outras áreas funcionais desta, de molde que, no conjunto se obtenha uma estrutura homogénea e eficaz.

Consideramos como essencial, ultrapassar, não as formas como se revela, mas as próprias estruturas mentais de compartimentação excessivamente profissionalista, que têm enfermado grande parte das instituições culturais a nível nacional.

Tem sido nosso objectivo, dentro da linha de conduta que sempre nos orientou, reproduzir nos nossos trabalhos as experiências de autores que nos precederam. Procurámos, na posse do conhecimento pessoal das limitações de determinada técnica, tentar melhorá-la, adaptá-la e dela partir, para a idealização de outras, que melhor possibilitassem obter, nos nossos estudos, o real aspecto das estruturas e daí seguramente, tirar as ilações que nos permitissem concluir o seu verdadeiro significado *in vivo*.

Dentro desta linha de pensamento, se insere o nosso intuito de aplicar ao estudo da vascularização dos órgãos, simultaneamente, diversas técnicas que, completando-se, permitem, através da comparação e junção de aspectos parcelares, reconstituir a imagem da sua verdadeira morfologia.

Mas as limitações impostas pela utilização de órgãos, necessariamente alterados pelo *rigor mortis*, não nos permitem ter uma resposta satisfatória às numerosas interrogações, particularmente às suscitadas pela clínica.

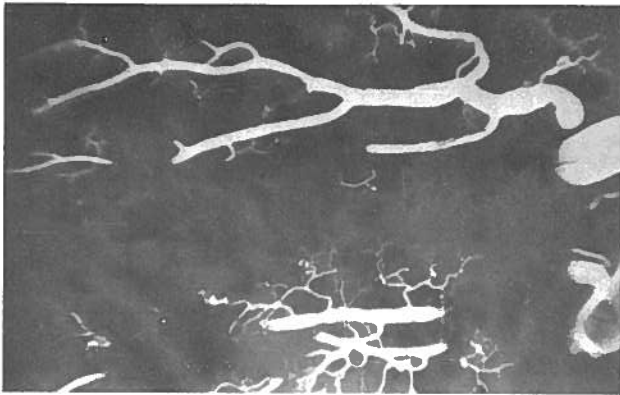


Figura 1: Técnica microangiográfica utilizada no coração humano.

Pensamos que também o estudo da anatomia comparada, como temos vindo a fazer, nos permitirá, em bases científicas seguras, desenvolver e padronizar aspectos experimentais, de modo que deles se possa partir para o estabelecimento de correspondência com a vascularização humana.

Além de uma procura de melhores técnicas de estudo, temos utilizado, com grande realce, a anatomia experimental.

Segundo alguns autores, o conhecimento da vascularização nos animais de experiência, é desprovido de interesse quando se pretendem tirar ilações para a Anatomia Humana Normal. Não concordamos totalmente com esta afirmação, pelo contrário, achamos ser necessário um estudo tão minucioso e completo quanto possível da anatomia dos animais usados nas experiências, para que, na posse do conhecimento global e particular da arquitectónica vascular destes, se possa, dentro de uma base científica, estabelecer correspondências com a vascularização humana.

Nisto reside, estamos certos, o interesse crescente pela anatomia comparada e o número cada vez maior de investigadores que se dedicam a estudos experimentais.

Por outro lado, a reprodução em animais de quadros clínicos sobreponíveis aos humanos e o estudo das alterações da vascularização dos territórios patológicos, conduzem à criação de uma subespecialização, que por nós foi denominada de Anatomia Patológica Comparada, permitindo assim o estabelecimento de bases seguras de interpretação.

Têm figurado, como principal objectivo do Departamento de Anatomia, os problemas cardio-vasculares, tentando sempre relacioná-los, dentro duma perspectiva funcional e consequentemente dinâmica, pelo que urge cada vez mais e

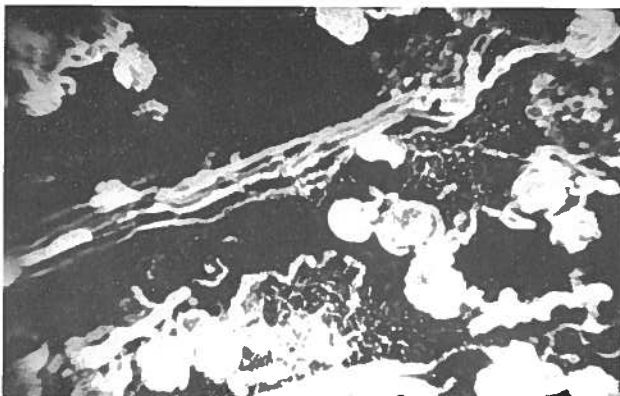


Figura 2: Técnica microangiográfica utilizada no rim humano (observação de Miguel Correia).

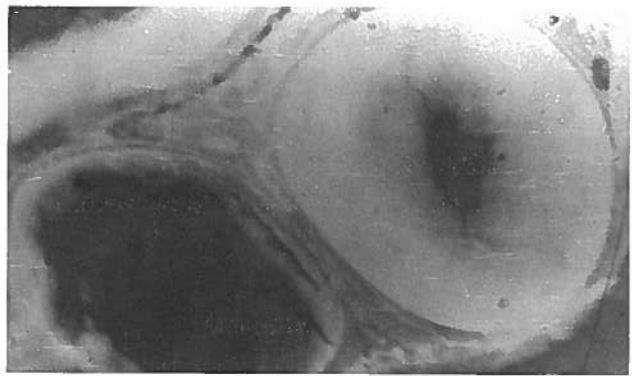


Figura 3: Técnica microangiofluorescentográfica utilizada no coração humano, observando-se uma artéria e veia na fase de microangiografia.

de maneira mais permanente, a necessidade de apoio nos Departamentos Clínicos.

Dentro de uma perspectiva morfológica, o problema das técnicas de injeção vascular devem ser adequadas ao tipo de vasos que se pretendem estudar e ao tipo circulatório do órgão a injectar.

O calibre vascular condiciona o tipo de injeção, quer no que respeita ao produto, quer no que respeita à técnica de injeção.

Tem sido dada a nossa maior atenção à injeção vascular, que deverá sempre apoiar-se no princípio que a determina, *tão fisiológica quanto possível*, isto no que respeita à natureza do líquido a perfundir, seja às pressões, seja à natureza pulsátil ou contínua do fluxo de perfusão.

Ultimamente, a utilização de novos produtos da família dos metacrilatos, permitiu o preenchimento das redes capilares e seu sistema venoso de drenagem, não dando origem a roturas vasculares.

A utilização desta técnica para aplicação em microscopia electrónica de varredura, vai certamente modificar os actuais conceitos de angioarquitectura, ao nível dos vasos com calibre inferior a 200μ .

A secção de investigação do Departamento de Anatomia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa, tem como funções a execução de todas as técnicas em utilização, a adaptação de novos produtos de injeção e métodos de estudo, necessários à resolução de novos problemas que se deparam, bem como a montagem de novas técnicas de estudo.

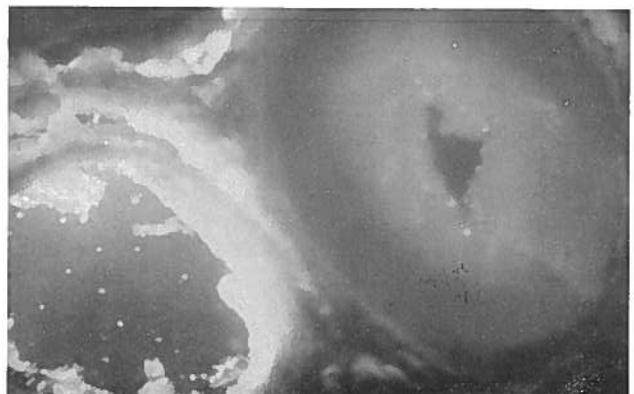


Figura 4: Técnica microangiofluorescentográfica utilizada no coração humano, observando-se a artéria e a veia da Fig. 3, na fase de microangiofluorescência.

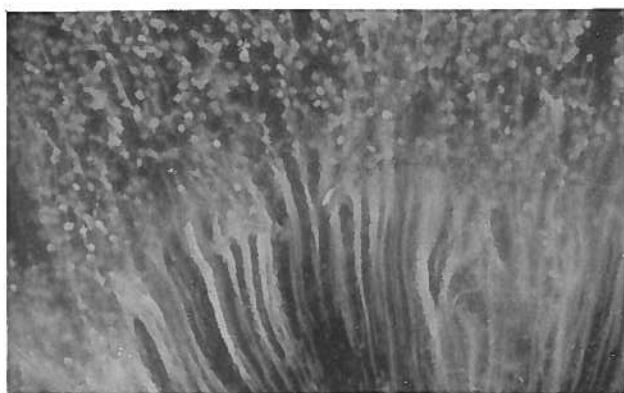


Figura 5: Técnica de diafanização para cortes utilizada no rim humano (observação de Miguel Correia).

TÉCNICAS UTILIZADAS

As técnicas utilizadas no Departamento de Anatomia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa, aplicam-se ao estudo morfológico dos vasos a nível macroscópico e microscópico, e em estudos experimentais.

Para os estudos microscópicos são utilizadas a técnica de cortes histológicos seriados simples, ou com injeção vascular, e a técnica reconstitutiva de Born, as técnicas microvasculares especiais (a técnica microangiográfica, a técnica de microangiofluorescência e a técnica microangiofluorescentográfica), a técnica de diafanização para cortes e a técnica de injeção-corrosão para microscopia electrónica de varredura.

A *técnica histológica* é utilizada como sendo a base de todas as restantes, visto que só com o conjunto detalhado da histologia normal se podem interpretar com segurança os padrões vasculares.

A *técnica de cortes histológicos seriados, simples ou com injeção vascular e a técnica reconstitutiva de Born*, têm por finalidade comparar conjuntos de lâminas histológicas seriadas, sendo os cortes feitos após injeção vascular, com substâncias corantes ou fluorescentes de grande penetrabilidade, sendo fundamental à reconstituição tridimensional ampliada de uma zona de determinado órgão, utilizando para o efeito os conjuntos de cortes histológicos seriados. Esta série de lâminas é colocada num microprojector, o qual projecta a imagem sobre uma mesa de trabalho especial, onde são desenhadas.

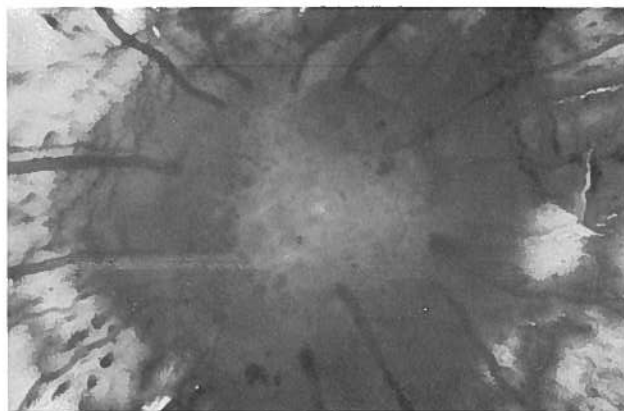


Figura 6: Técnica de diafanização para cortes utilizada na retina de cão.

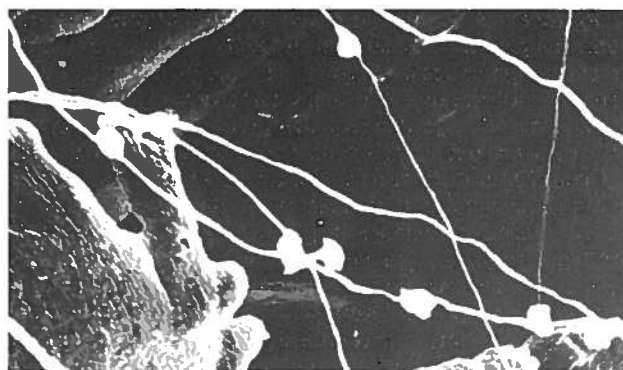


Figura 7: Técnica de injeção-corrosão para microscopia electrónica de varredura, utilizada no coração de cão em que são observados linfáticos cardíacos com nódulos linfáticos.

Depois de elaborados os desenhos, estes são fixados em placas de cera, com espessuras proporcionais à dos cortes histológicos, sendo depois recortadas, montadas e pintadas. Terminadas estas operações, obtém-se um modelo tridimensional, correspondente à zona que se pretende estudar.

As técnicas microvasculares especiais podem ser divididas em três tipos: técnica microangiográfica, técnica de microangiofluorescência e técnica microangiofluorescentográfica.

A *técnica microangiográfica* consiste na microradiografia da rede vascular de um corte realizado num órgão previamente injectado com substâncias radiopacas. Depois de fixado o órgão, procede-se a cortes no micrótomo de congelação, podendo ainda obter-se cortes especiais no crióstato de Bright, realizando-se em seguida a microradiografia num aparelho de microangiografia. As microangiografias são em seguida reveladas, num sistema de revelação a temperatura constante (Figs. 1 e 2).

A *técnica de microangiofluorescência* consiste na perfusão de substâncias fluorescentes na rede vascular do órgão a estudar. Este é em seguida fixado. Procede-se então a cortes de congelação ou cortes seriados desse órgão, cortes esses que são imediatamente montados em lâminas histológicas e observados num microscópio binocular para fluorescência.

A *técnica microangiofluorescentográfica* consiste na perfusão de misturas de produtos radiopacos e fluorescentes. Esta técnica permite executar primeiramente as microangiografias e seguidamente observar os mesmos cortes no microscópio de fluorescência, onde são microfotografados na mesma zona, da qual se obteve a microangiografia (Figs. 3 e 4).



Figura 8: Técnica de injeção-corrosão para microscopia electrónica de varredura, utilizada na placenta humana (observação de Esperança Pina e Goyri O'Neill).

A *técnica de diafanização para cortes* é utilizada no tratamento de cortes espessos, por intermédio de uma máquina de cortes anatómicos. Os cortes são depois tornados transparentes e observados em lupa estereoscópica. (Figs. 5 e 6).

A *técnica de injeção-corrosão para microscopia electrónica de varredura* consiste na perfusão do órgão a estudar com fixadores especiais, que estabilizam melhor as proteínas produzindo pontes transversais entre elas e destruindo a actividade enzimática. Segue-se depois a introdução de produtos acrílicos, que alcançam as redes capilares, sem produzirem roturas, conseguindo assim preencher-se todos os vasos com calibre inferior a 200 μ . Após a injeção e depois de se ter obtido a solidificação do produto, faz-se a corrosão, para depois de obtidos os moldes vasculares, estes sofreram uma metalização com ouro, em aparelhagem especial.

Finalmente, pequenas zonas dos moldes são retiradas para serem observadas no microscópio electrónico de varredura. (Figs. 7 e 8).

BIBLIOGRAFIA

1. ESPERANÇA PINA, J. A.: A investigação anátomo-funcional em angiologia e as substâncias fluorescentes. Perspectivas da sua aplicação clínica. Prova complementar de Doutoramento apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, Lisboa, 1972.
2. ESPERANÇA PINA, J. A.: Circulação venosa do coração. Estudo anátomo-experimental. 2.^a edição, Lisboa, 1973.
3. SANTOS FERREIRA, A.; ESPERANÇA PINA, J. A.: Uma nova substância «Perspex Tensol» utilizada na técnica anatómica de injeção-corrosão. *Arq. Anat. e Antrop.* 1965; 33: 261-265.

Pedido de separatas: J. A. Esperança Pina
Departamento de Anatomia
Faculdade de Ciências Médicas
Universidade Nova de Lisboa
Campo Mártires da Pátria, 130
1198 Lisboa Codex. Portugal