

DR. ELYSEU PAGLIOLI

**Estudo do liquido follicular e sua
acção sobre o aparelho
genital da mulher**

(These para concurso de livre
docencia á cadeira
de clinica obstetrica)

LIVRARIA DO GLOBO
BARCELLOS, BERTASO & CIA. — PORTO ALEGRE
— 1925 —

THESE

Para concurso de Livre docencia á cadeira de clinica obstetrica

apresentada á

Faculdade de Medicina de Porto Alegre

Estudo do liquido follicular do ovario e sua accção sobre o aparelho genital da mulher

Pelo Dr. ELYSEU PAGLIOLI

formado pela Faculdade de Medicina de Porto Alegre, assistente
interino de clinica obstetrica, ex-ajudante interino do serviço de
gynecologia da Santa Casa, 1.º assistente da Maternidade da
Santa Casa.

EM 30 DE OUTUBRO DE 1925

LIVRARIA DO GLOBO

BARCELLOS, BERTASO & CIA. — PORTO ALEGRE

— 1925 —

EXORDIO

Porque es la inquietud de conocer la maravilla del mundo que mueve la inteligencia humana, sin interés y sin esperanza de sanción . . . e dichoso entre todos el que siente mas profunda en su alma la dolorosa mordedura de aquella ácida inquietud.

Augusto Pi Suñer

Faço a minha contribuição ao estudo do liquido follicular, e por muito modesta que seja talvez haja nella alguma utilidade. Quando esse estudo experimental é feito debaixo de uma observação criteriosa e verdadeira merece sempre qualquer acatamento. Movido pelo entusiasmo dos recentes trabalhos academicos, que os vejo ainda a dois passos de mim, talvez me tenha explanado demais na minha opinião propria, sem querer, entretanto, dar-lhe valor algum, pois nem posso eu ter auctoridade sobre assumptos de tanta importancia; é o fervor pelo estudo e pela observação, “es la inquietud de conocer la maravilla del mundo,, que a tal audacia me levou.

Sugeriu-me fazer esta these o professor Martim Gomes, fornecendo-me, ao mesmo tempo, alguma bibliographia. Sinto immensamente que nesse humilde trabalho não pudesse dar uma pallida idea do mestre, mas si não o honro com aquillo que me incumbiu de fazer, ponho ao menos nesta pagina a minha gratidão.

Aos professores Mario Totta e Annes Dias agradeço pelo muito que me auxiliaram fornecendo-me bibliographia.

Ao professor Pereira Filho, cuja contribuição na parte concernente ao laboratorio foi para esse estudo de inestimavel valor, muito agradecido.

Das relações existentes entre os phenomenos do ovario e as modificações uterinas em face da menstruação.

Muito se tem estudado a physiologia do periodo menstrual da mulher sem que se tenha, até agora, chegado a um accordo definitivo no que se refere á causa essencial do menstuo. Uma cousa apenas se sabe de absolutamente certo: é que o cyclo dos 28 dias que traz essas modificações para o apparelho genital da mulher pubere depende do ovario e que a causa principal, pois, reside nelle. Nesse sentido não póde haver prova mais frisante do que o silencio completo em que se transforma o apparelho genital da mulher nos casos de oophorectomia dupla. A extirpação, pois, de ambos os ovarios implica n'uma suppressão definitiva e completa das regras, sem fallar na falta de ovulação e de fecundação. Ao contrario, o enxerto de ovarios em mulheres castradas reconstitue a função menstrual primitiva e até mesmo póde levar á prenhez (conforme já se tem observado em animaes). Uma condição, entretanto, é indispensavel para que toda essa função genital se restabeleça no seu cyclo primitivo e se installe o periodo menstrual: é que esses ovarios enxertados produzam e desenvolvam regularmente seus follicu-

los. Nelles, portanto, reside a causa essencial da menstruação visto que só com a sua presença essa função se restabelece. As perturbações que se manifestam no estado geral das pacientes ovariectomizadas melhoram ou mesmo desaparecem com o tratamento opothérpico de extractos ovarianos; entretanto, a função menstrual permanece inerte em absoluto. Não é pois o corpo amarello, nem as células intersticiaes que actuam sobre o utero para provocar a menstruação, porque se assim fosse bastaria a administração de extractos de taes elementos para reconstruir todo esse cyclo das regras acompanhado dos phenomenos genitales normaes.

Por sua vez, a presença do ovulo não constitue tambem elemento sufficiente para o apparecimento das regras. Uma outra substancia pois, dependendo do ovario, deve servir de excitante para essa função e agir, mesmo que não seja como causa unica, ao menos como elemento principal e indispensavel para o apparecimento das regras na mulher normal desde a puberdade até á menopausa.

Como é sabido, a mucosa uterina soffre uma hyperplasia periodica, que necessita ser eliminada em tempos determinados todas as vezes que o ovo não foi fecundado, acompanhada de uma certa quantidade de sangue e que constitue a hemorragia menstrual, cuja duração varia entre 3 e 5 dias nos casos normaes. Ao passo que se succedem esses phenomenos para o lado do utero se estabelece ao mesmo tempo nos ovarios uma serie de phenomenos no mesmo periodo das quatro semanas, caracterizados pela ovulação, e que correspondem exactamente ás modificações que se passam para o lado do utero. Um folliculo de Graaf augmenta, torna-se maduro, rompe-se e é substituido pelo corpo luteo; regressão do corpo luteo e maturação de um novo folliculo.

Dessa relação existente entre o periodo em que se

passam no ovario taes phenomenos e os que se passam para o lado do utero existe entre auctores uma discordancia consideravel. Para uns o phenomeno da menstruação se effectuaria durante a phase luteinica, isto é, em plena existencia e funcção do corpo luteo; para outros a menstruação seguiria immediatamente a ruptura follicular.

Entre os primeiros encontrei trabalhos de Allen, Born, Frankel, Courier, Bandler, Bum, Frank e Hoehne estabelecendo que a ruptura follicular se fazia 12 a 14 dias depois do inicio da menstruação, e attribuindo ao corpo luteo o excitante das regras. Entre os segundos acham-se Pflüger, Delporte, Graf-Spee Seitz e Wintz, Halban, Demelin e Dewraigne.

Courier divide o periodo em duas phases:

1.º a phase follicular durante a qual se effectua a ovulação.

2.º a phase luteinica no fim da qual se installaria a menstruação.

Hoehne estabelece um eschema demonstrativo sobre a relação das phases ovarianas com o periodo menstrual, admitindo que a ruptura follicular se faça 12 dias após o inicio da menstruação.

Para *Bar* e *Frankel* não seria todo o ovario, mas sómente-o corpo amarello que representa toda a glandula e que por sua secreção interna determina, cada quatro semanas, a hyperemia cyclica que produz a menstruação.

Bumm, apoiando a orientação de *Frankel*, pensa que a ruptura follicular se effectua 14 dias depois do inicio da menstruação.

Pflüger estabeleceu a sua doutrina sobre a relação existente entre a ovulação e o periodo menstrual, e, segundo elle, o folliculo de Graaf em crescimento exerceria irritações mechanicas sobre os nervos do tecido do ovario provocando por acção reflexa uma hyperemia repentina.

em todo o territorio genital determinando ao mesmo tempo ruptura follicular, ovulação e menstruação. A questão da intervenção do systema nervoso como reflexo para produzir a menstruação foi logo depois posta em duvida, e mesmo completamente abandonada mais tarde, pelo facto de que os enxertos de ovarios em animaes ou mulheres castradas restabelecia a funcção da menstruação, uma vez que o referido enxerto produzisse folliculos de Graaf. Entretanto, no que se refere à origem follicular como causa principal da menstruação, a doutrina de Pflüger continúa sendo acceita por um grande numero de auctores.

As observações feitas durante laparatomias em mulheres por *Delporte* constituem elemento de grande valor nesse sentido. Esse cientista belga, estudando as relações existentes entre a maturação follicular e a menstruação em mulheres normaes e de aparelho genital normal observou o seguinte:

1º. Em 9 casos de abertura do abdomen durante a menstruação oito vezes existia um folliculo recentemente rompido e uma vez o folliculo maduro, mas não aberto.

2º. Em 12 casos em que a abertura foi feita nos ultimos seis dias antes da menstruação observou sómente duas vezes um folliculo recentemente aberto e *isso mesmo em operadas que se encontravam immediatamente antes do principio do periodo menstrual.*

3º. Em operadas no periodo post-menstrual encontrou corpos amarellos mais ou menos adeantados.

Graf Spee, fazendo apreciações a respeito do trabalho de *Delporte*, explica que é muito logico pois deduzir que quasi coincidem a ruptura follicular e o signal tão conhecido do final da nidação do ovo, isto é, a menstruação.

Delporte, deduzindo de um modo altamente demonstrativo, faz seguir ao periodo de libertação do ovo pela

ruptura follicular o periodo de nidação correspondente ao mesmo ovo na mucosa uterina, de tal maneira que o final do periodo de maturação de um ovo que se encontra no ovario coincide com a nidação do ultimo ovo que foi posto em liberdade no conducto genital. Em outras palavras: um ovo chegado á cavidade uterina e que não é fecundado é expulso juntamente com a mucosa uterina hypertrophiada, estabelecendo-se então o que os auctores americanos chamam o aborto de um ovo não fecundado ou menstruação. Mas o começo desse aborto ou periodo menstrual coincide com a ruptura de um novo folliculo e a libertação de um ovo que só será eliminado no periodo menstrual seguinte (se não foi fecundado.)

Nesse caso a formação do segundo ovo maduro e a sua libertação se fariam durante o mesmo tempo que a formação e destruição no utero dos materiaes de nidação do primeiro que passou pelo conducto genital e que não foi fecundado. E é assim que se encontra no ovario de uma mulher em periodo menstrual uma cicatriz de corpo amarello e um folliculo recentemente rompido. Nesse ponto Graf Spee apoia as deducções de Delporte dizendo que na maioria dos casos a primeira menstruação que se apresenta n'uma mulher coincide com a ruptura do segundo folliculo maduro.

Na sua contribuição ao tratado de obstetricia de A Dördelein, Graf Spee assim se refere: segundo as observações dos auctores antigos e modernos, se produzem quasi ao mesmo tempo a ruptura follicular e a hemorragia menstrual e no maior numero dos casos de tal maneira que a ruptura follicular precede um pouco o apparecimento da menstruação. Segundo este auctor, póde-se mesmo perceber muitas vezes pela exploração interna n'um ovario uma proeminencia do tamanho de uma cereja a qual corresponde a um folliculo maduro, e cuja proeminencia, se-

gundo o mesmo auctor, deixaria de existir depois de menstruação.

Seitz e *Wintz*, pelas suas demoradas observações concluíram que o corpo amarello contem um luteolipoide que impede a menstruação. Segundo esses auctores a relação entre o cyclo do ovario e o uterino se estabeleceria de tal maneira que o folliculo de Graaf maduro e o corpo amarello proporcionariam em intensidade crescente as condições previas para a menstruação; que o corpo luteo maduro por sua hormona agiria impedindo a apresentação da menstruação e que esta sobreviria logo que cessasse esse poder inibidor do corpo luteo pela involução do mesmo que corresponderia ao periodo regressivo do mesmo, equivalendo então á época pré-menstrual. Com o regressar do corpo luteo se estabeleceu a ruptura follicular.

Segundo *Halban*, todas as vezes que se extirpa o corpo amarello, o utero reage com uma menstruação, não havendo ao contrario nenhuma perturbação si se o conserva nos ovarios. E nesse ponto *W. Stoeckel* refere que quando o corpo amarello permanece mais tempo no seu periodo de florescimento, como na prenhez, a menstruação cessa, a não ser que as forças que provocam a menstruação não sejam sufficientemente inibidas ou *recebam novo impulso pela maduração do folliculo de Graaf*, o que raras vezes acontece durante a prenhez. Parece não existir duvidas de que o corpo luteo que succede ao folliculo rompido prepare a mucosa hypertrophiando-a para a nidação do ovo e contribuir para a formação das membranas na prenhez, ou constituir material de eliminação no menstruo que seria pois o aborto do ovo não fecundado. *Bandler*, diz sobre esse ponto que a menstruação é um parto em miniatura e que o parto é uma grande menstruação. Mas se o corpo luteo favorece o desenvolvimento e hypertrophia de mucosa uterina, elle não serve para estimular o urote-

na eliminação da mesma; muito pelo contrario, é em ausencia de funcção delle (que é inhibitoria) que o utero elimina mucosa e o ovo seja ou não fecundado.

Ora, uma vez cessada a acção do elemento inhibitor, é muito provavel, creio eu, que entrará em acção um elemento estimulante que provoque a eliminação da mucosa uterina hypertrophiada e excite a contractilidade do utero, dando como resultado a hemorragia menstrual. No caso presente seria o corpo amarello com sua hormona o elemento de inibição, e naturalmente o que immediatamente lhe succede a ruptara follicular como elemento estimulador do menstruo. Mas o ovulo por si só seria incapaz de agir como excitante ou causa principal na provocação da hemorragia menstrual, tanto mais que o ovulo recentemente libertado não será eliminado com a mesma menstruação, e sim com a menstruação seguinte, como já ficou exposto dos trabalhos de Delporte.

Uma substancia pois provindo muita provavelmente de foll. de Graaf e agindo como estimulante menstrual deve ser causa mais directa dessa hemorragia periodica, e não seria difficil aceitar o proprio liquor foll. que actuando como secreção interna excitasse o utero e o levasse a esse aborto periodico. Se o corpo luteo é inhibitor da hemorragia menstrual, e julgo que nesse ponto já não deveriam existir duvidas, tanto mais que sabemos que quando se o destróe durante os primeiros mezes da gestação se estabelece immediatamente o aborto, porque attribuir a elle a causa da menstruação, si é o corpo amarello que mantém o periodo da gestação e sem elle é logo interrompida, si é elle que regride no periodo pré-menstrual como se affastando de seu papel de silenciador uterino para permittir a esse orgão que elimine debaixo de qualquer outro estimulante o ovo não fecundado estabelecendo a hemorragia menstrual?

Para taes duvidas nada mais decisivo do que as observações de Delporte já citadas, e Demelin e Dervraigne referindo as relações de ovulação e da menstruação dizem considera-las intimamente unidas entre si pela relação de causa e effeito.

Essa opinião foi fundada em observações de laparotomias e em autopsias de mulheres.

Origem do liquor folliculi e suas propriedades physiologicas.

Primeiramente, o ovulo permanece fechado, como no periodo embryonario, na zona cortical do ovario adulto, na espessura de um tecido conjunctivo que nada tem de especial em face do tecido conjunctivo do estroma ovariano. Uma vez sahindo desse estado latente apparece ao redor do ovulo uma serie de mutações caracteristicas que transformam o ovulo primitivo em folliculo de Graaf, ovisaco ou vesicula ovarica, e dahi até á maduração e ruptura. Antes de que o hollandez Regnier de Graaf em 1632 apresentasse sua primeira descripção do folliculo ovarico, já Vesales, Fallopio, Riolan e outros anatomistas o haviam mencionado. Foi a essa vesicula ovarica que Dubarry denominou *ovisaco*.

O ovulo primitivo é rodeado apenas por uma camada de cellulas achatadas de origem conjunctiva que dão origem mais tarde á theca follicular. Esse tecido conjunctivo é analogo ao do estroma do ovario. Em seguida apparece a camada granulosa que é polyestratificada, constituida de cellulas prismaticas as basaes e periovulares e e cubicas as outras. O apparecimento da camada granulosa geralmente se faz tardiamente, quando o ovulo começa a se desenvolver; entretanto alguns investigadores

já observaram as cellulas da granulosa em ovulos de fetos de 8 e 9 mezes. Assim constituido o folliculo com os seus envoltorios — theca externa, theca interna e granulosa (e mais tarde a membrana de Slavinski), permanece latente até á idade em que começa a maduração follicular exigida pela função sexual, e desde então, depois do apparecimento da membrana de Slavinski entre a theca interna e a granulosa, inicia-se o desenvolvimento do liquido follicular.

Foi muito discutida a origem desse liquido. Alguns auctores havia que attribuiam o seu apparecimento á fusão e liquefação de elementos do detrito das cellulas. Para outros dependeria de secreções das cellulas da granulosa, e é a grande maioria dos autores que pensa assim. Quando o folliculo começa a se desenvolver para iniciar o seu periodo de maduração, apparecem no interior da camada granulosa os chamados corpos de Call e Exner que nada mais são do que pequenos espaços intercellulares liquidos que constituem a origem inicial do *liquor folliculi*.

Antes de Call e Exner já Bernhardt havia observado esses corpos e Wagner, Bischoff e Nagel os descreveram como productos resultantes da destruição cellular. Luiz Guileras considera taes vacuolos como sendo espaços lymphaticos destinados a favorecer os phenomenos de nutrição e excreção cellular. Entretanto, M. Limon considerou-lhes o character de materiaes de secreção.

Esses corpos de Call e Exner augmentam á medida que augmenta o numero de camadas cellulares da granulosa, assim como a vascularisação dessas camadas por uma congestão mais intensa.

Esses espaços cheios de liquido augmentam de tal maneira que no fim de algum tempo tomam a quasi totalidade do espaço correspondente á granulosa. Apenas alguns septos separando um do outro os corpos de Call e Exner existem no fim de certo tempo, e por ultimo os

proprios septos se rompem e a cavidade do folliculo se torna unica. E' pois á fusão deses corpos que se deve a constituição do liquido follicular.

Depois da união dos espaços liquidos pelo rompimento dos septos que o separam, o liquor augmenta de volume e de pressão por uma simples questão de osmose segundo uns, ou por uma actividade secretoria abundante das cellulas da granulosa, segundo outros. Esse augmento de pressão do liquido follicular é tal que vae distendendo as thecas externa e interna a tal ponto que a parte correspondente á superficie do ovario é prejudicada na sua nutrição, visto que a pressão exercida pelo liquor difficulta a circulação capillar e a essa insufficiencia de vascularisação succede uma menor resistencia das paredes folliculares e forma-se então na superficie do ovario uma pequena dilatação chamada estigma follicular que é o lugar onde se effectua a ruptura do folliculo de Graaf.

O liquor é expellido do folliculo e é em seguida deramado na cavidade peritoneal e é absorvido pelos lymphaticos do peritoneo.

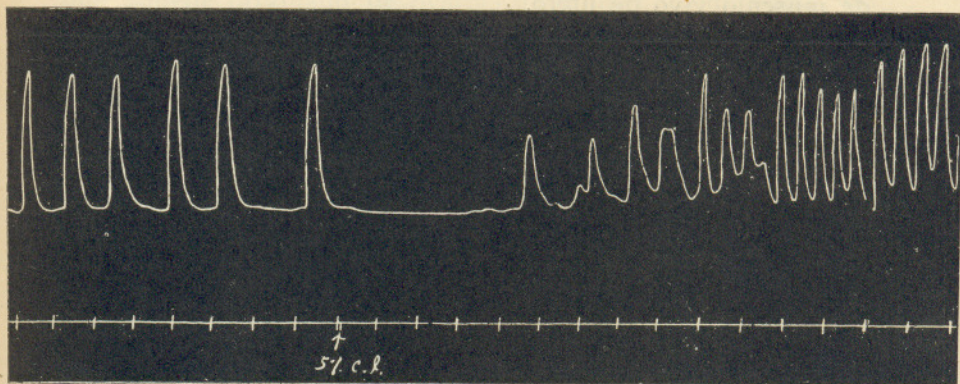
Como se vê, elle é originado de um agrupamento de cellulas que apresentam as modalidades das cellulas de secreção interna; além disso, a congestão que essas camadas periovulares soffrem durante o inicio da secreção do liquido follicular, por um augmento consideravel de circulação, indicando uma maior actividade dessas camadas e das respectivas cellulas, o mesmo que acontece para os glandulas endocrinas e holocrinas em geral.

Além desses dados hysto-physiologicos que vêm em favor de que o liquido follicular é um elemento de secreção interna, o exame chimico e a experimentação corroboram grandemente nesse sentido. Das pesquisas de E. Allen, confirmadas recentemente por Courier, sabe-se que existe uma hormona follicular e que o *liquor folliculi* contem uma substancia activa denominada por Courier a *folliculina*.

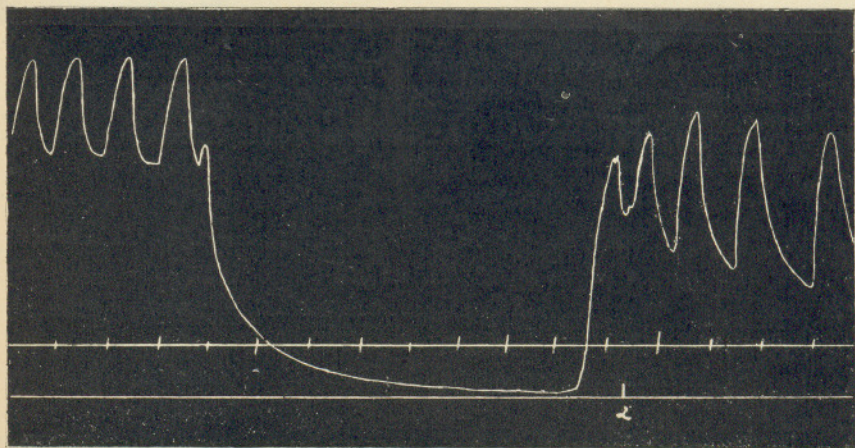
O Dr. Robert Frank, fazendo experimentação em animaes injectando liquido follicular ovarico em animaes castrados ou não chegados á idade adulta, observou que nelles se produziam alterações puberes assim como pregravidicas, despertando a funcção genital prematuramente. Assim se refere R. Frank: „no momento da ruptura follicular verte um extracto activo concentrado, o liquido follicular, na cavidade peritoneal que é absorvido rapidamente pelos lymphaticos,„. As experiencias feitas em animaes pelas injectções de liquido follicular demonstram que elle tem uma acção manifesta sobre o apparelho genital trazendo uma congestão intensa e despertando o cio. Esses resultados são positivos mesmo em animaes castrados. Ora, uma simples fusão de detritos cellulares seria incapaz de taes effeitos physiologicos; é necessario admittir que esse liquido que desperta taes phenomenos physiologicos, que contém uma hormona especifica e até mesmo um principio activo (*a folliculina* de Courier), seja muito logicamente um producto de secreção das cellulas da camada granulosa. Além disso elle tem uma acção manifesta sobre a contractilidade uterina. Segundo os trabalhos experimentaes de Schafer (Edward), as contracções e o tonus muscular do utero são augmentados em presença do liquido follicular. Esse auctor introduzindo fragmentos do corno uterino do rato em liquido follicular, observou que se produz um augmento de força e energia dos movimentos rythmados, e ao mesmo tempo um augmento do tonus muscular. Os traçados do Dr. Itagaki são muito demonstrativos.

Nem todo o ovario tem funcção identica. Porque admittir, como o querem certos auctores, que o liquido follicular tenha uma funcção analoga á do corpo amarello, e que o extracto total do ovario tenha a mesma funcção que o de suas partes componentes? Parece mais razoavel admittir para cada parte do ovario a sua funcção especifica,

tanto mais que a experimentação mostra claramente que ha differenças consideraveis. Eu vos apresento aqui tres

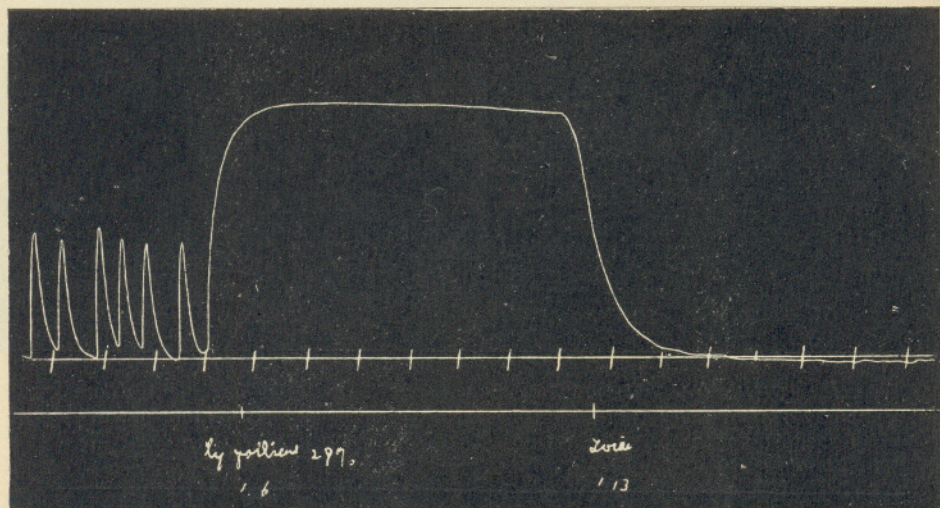


Efeitos do extracto do corpo amarello sobre o corno uterino isolado de uma coelha. Produz-se uma inibição seguida de uma acce-
leração do rythmo.



Efeitos produzidos pela addição de extracto do hilo do ovario de vacca a uma solução de Locke, na qual suspendeu-se um corno uterino de rata. Nota-se a cessação das contracções rythmicas e a grande quêda do tonus.

traçados do Dr. Itagaki resultados da experimentação feita dos extractos das diversas partes do ovario sobre pedaços de musculo vivo de utero.



Resultado obtido pela adição de *liquor folliculi* de vacca a uma solução de Locke, na qual um corno uterino de rata foi suspenso. Nota-se o augmento consideravel do tonus com parada dos movimentos rythmicos. Depois no liquido de Locke sem *liquor folliculi* o tonus diminue.

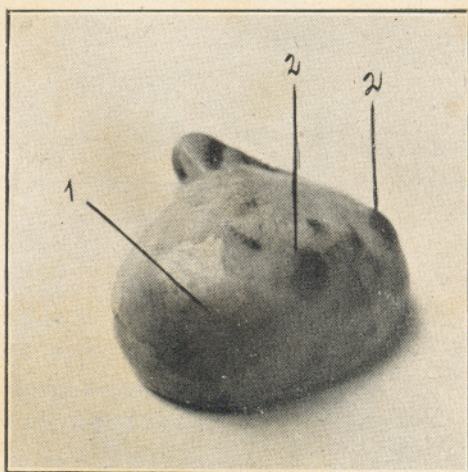
Os efeitos physiologicos do *liquor folliculi*, parece, são um pouco differentes segundo a especie animal que o forneceu, e talvez na mesma especie, segundo o estado de desenvolvimento do folliculo. Physica e chimicamente os liquidos humano e de vacca apresentam differenças apreciaveis como se vê mais adeante, e segundo as observações o liquido follicular proveniente de ovarios humanos produz melhores resultados na mulher do que aquelle originado de ovarios de vacca. Deve existir nesse sentido um certo gráo de especificidade. Em uma paciente tive en-

sejo de injectar *liquor folliculi* proveniente de ovarios de porca sem que obtivesse o menor resultado, enquanto que aquelle originado de ovarios de mulher ou de vacca produziram resultados notaveis.

Além disso o effeito parece depender tambem do estado de evolução do folliculo, segundo o seu gráo de maturação. Parece já assentado que o liquido extrahido de folliculos novos não tem o mesmo poder de actividade que o de folliculos maduros. Nesse sentido E. Allen diz nas conclusões de um dos seus mais recentes trabalhos que a hormona follicular se encontra mais concentrada nos grandes folliculos e que os folliculos de ovarios de mulher a contêm mais do que os de animaes.

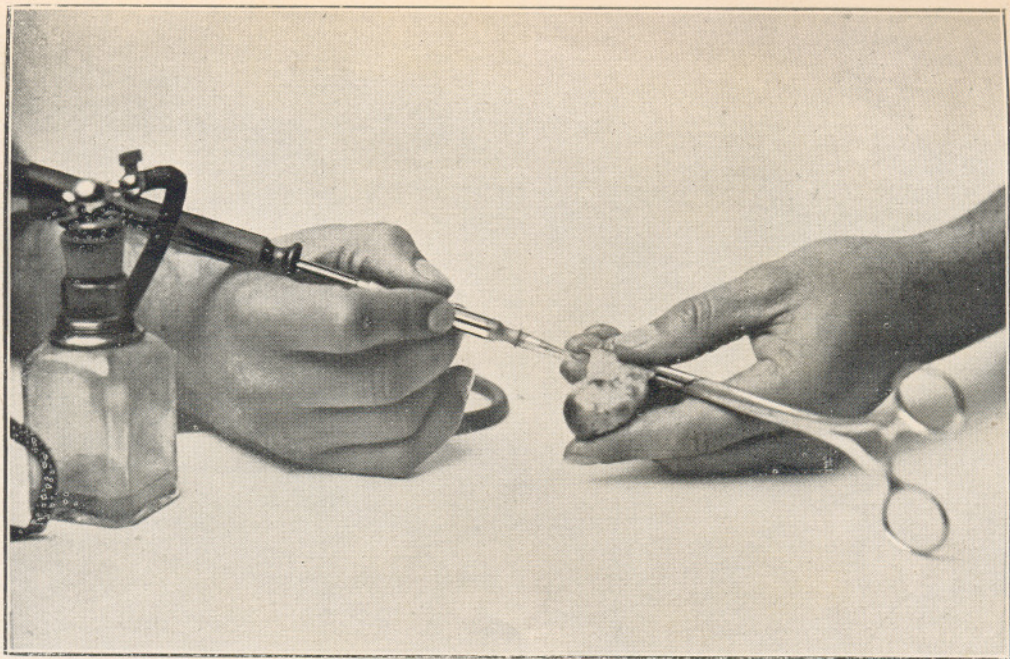
Seria interessante abordar aqui um assumpto que tem permanecido quasi abandonado, pois não encontrei a menor referencia nesse sentido, nos diversos autores que li: — *é de saber se o liquor folliculi é um producto de secreção interna ou externa.* E' uma questão bastante delicada e depende do modo pelo qual se a encara. E' secreção interna aquella elaborada no interior da propira cellula e que é excretada directamente no capillar sanguineo ou lymphatico mais proximo. Segundo outros autores seria um producto de secreção cellular entregue á circulação sanguinea para agir como factor chimico de certa especificidade sobre qualquer aparelho ou viscera. Depende si se encara o producto pela sua origem ou pela sua acção. Cabe perfeitamente o presente caso do liquido follicular á segunda definição, mas não póde absolutamente entrar em accordo com a primeira. O *liquor* é secretado pelas cellulas da granulosa, mas nem sequer é entregue á circulação geral pelos vasos ovarianos; ao contrario, os lymphaticos peritoneaes são os pontos de contacto desse producto com a circulação. *Ivo Geikie Gobb* diz que são glandulas de secreção interna aquellas cujos tecidos segregam uma subs-

tancia que influe sobre o sangue ou o modifica *na sua passagem atravez do orgão*. Para *Marañon* seria a funcção de certas glandulas cuja actividade está terminantemente especialisada na producção de secreções de acção fixa, que se lançam no meio interior. *Ch. Robin* encara tambem como sendo productos entregues directamente das cellulas ao sangue. *Paul Bert* dizia serem secreções cujos productos são lançados directamente no sangue. *Gley* tambem apoia essa grande corrente de que o producto sahe pelo sangue efferente do orgão. *Edward Schafer* fornece uma concepção mais ampla, abrangendo um territorio muito maior no terreno das secreções para a determinação da secreção interna. Para elle seria secreção interna toda a substancia provinda de um tecido ou orgão, e que passa no sangue ou na lymph. Para elle seriam as glandulas endocrinas orgãos dos quaes não se conhece outra funcção sinão a de introduzir taes substancias no sangue ou na lymph. Mas o caso do *liquor folliculi* apresenta particularidades muito interessantes, pois é um producto do ovario mas não é entregue á circulaçãõ do mesmo orgão directamente, Em outras palavras, não são as veias utero-ovarianas que entregam á circulaçãõ geral esse liquido follicular e sim os lymphaticos do peritoneo. Por outro lado esse producto apresenta todos os caracteristicos de secreção interna pois é uma substancia especifica que invade a torrente sanguinea e que tem acção electiva e quasi determinada sobre o sangue e sobre o apparelho genital da mulher. E' uma acção chimica se exercendo directamente sobre o utero e seus annexos sem intervençãõ do systema nervoso. E' como chama *Marañon* aos productos endocrinicos — *um mensageiro chimico*, que traz modificações manifestas sobre o apparelho genital feminino.



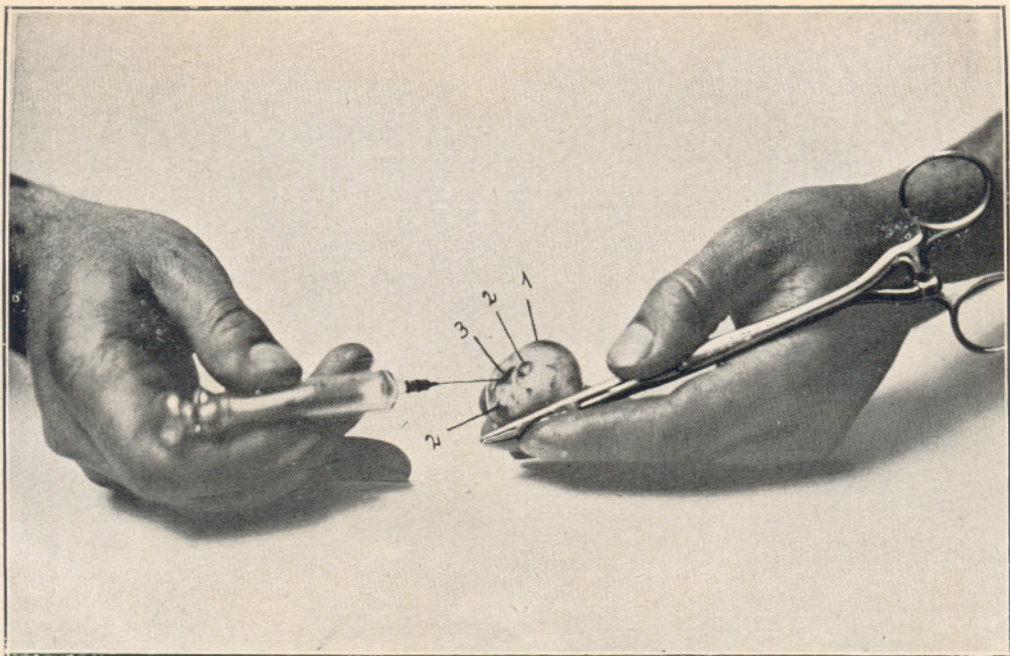
(PHOTOGRAPHIA 1)

Ovario de mulher, apresentando:
1. — Folliculo de Graaf maduro.
2. — Pequenos folliculos.



(PHOTOGRAPHIA 2)

Thermo-cauterisação do ovario, preparando-o para a punção do folículo.



(PHOTOGRAPHIA 3)

Puncção do folliculo de Graaf para extrahir o liquido.

1. — Grande folliculo maduro.
2. — Pequenos folliculos.
3. — Zona cauterisada para introducção da agulha.

**Processo de obtenção do material. - Caracteres
physicos e chimicos do liquido follicular
e emprego do mesmo - Observações.**

O material do qual eu me servi para a experimentação foi de ovarios humanos, de ovarios de vacca e ovarios de porca.

Os ovarios humanos consegui-os de hystero-oophorectomias feitas no hospital da S. Casa de Misericordia, gentilmente cedidos por varios operadores daquelle estabelecimento. Sempre tive o cuidado de verificar meticulosamente se esses ovarios eram normaes ou pathologicos, e sob a menor suspeita eram immediatamente regeitados. Alem disso tive o cuidado de fazer exames clinicos de syphilis e tuberculose, assim como requisitei R. de Wassermann nas pacientes fornecedoras do material, com o fim de evitar qualquer contaminação nas pacientes receptoras.

Quanto ao material de vaccas e porcas eu fui pessoalmente colhe-lo nos matadouros, sempre tendo em vista a maior asepsia possivel.

Os ovarios eram collocados logo em placas de Petri previamente esterilizadas. A colheita de liquor folliculi era feita sempre immediatamente após ter conseguido o material, e o liquor injectado em seguida. Quando por uma

eventualidade qualquer não me era possível injectar o liquido na mesma occasião, esse era guardado na geleira até 24 horas ás vezes.

O processo de asepsia empregado foi tão sufficiente que em nenhum caso observei reacção local depois do emprego do liquido follicular.

Extracção do liquido — Exige uma certa technica para ser obtido o liquor asepticamente, porque mesmo se tendo o maior cuidado no colher os ovarios, sempre a superficie dos mesmos fica contaminada momentos depois. Torna-se pois necessario fazer aseptica uma certa zona, ao menos onde se introduz a agulha, mas sem o emprego de substancias chimicas, as quaes poderiam alterar o liquido e fornecer dados erroneos. Para essa asepsia eu empreguei a thermo-cauterisação de uma pequena zona da superficie do ovario, sempre afastado do folliculo a punccionar. Uma vez feita a cauterisação, como se vê nas photographias n.º 2 e 3, introduzia a agulha no lugar cauterisado e, penetrando com ella atravez do tecido do ovario, ia em busca da cavidade follicular. Seria inutil punccionar o folliculo directamente porque então o liquido escaparia logo pelo orificio produzido pela agulha, visto a extrema finura da parede follicular e a alta pressão do liquor. Por isso, punccionando á certa distancia e indo em busca do folliculo pelo interior do tecido ovarico pode-se retirar todo o liquido sem a menor perda; além de que seria impossivel cauterisar a delgada membrana follicular na zona do estigma sem romper o folliculo.

Um ovario geralmente tem um folliculo desenvolvido e outros pequenos, sendo que dois ovarios de mulher não gravida, fornecem geralmente de 1,5 a 3 c. c. de liquido. Quando existe o corpo luteo verdadeiro, os folliculos permanecem muito pequenos sem fornecerem quantidade apreciavel de liquido. Encontrei duas excepções nos 36

ovários de vacca com corpo luteo verdadeiro, em cujos ovários encontrei um folliculo bastante desenvolvido ao lado do corpo amarello. Nos demais ovários com corpo luteo os folliculos quasi não continham liquido.

O folliculo de Graaf maduro de mulher pode fornecer até 2,8 c.c. de liquido como o da photographia 1.

Um cuidado se torna muito necessario no colher o liquido ou punccionar os folliculos, principalmente quando estes são muito desenvolvidos ou maduros: é a differenciação entre o folliculo verdadeiro e o kysto do ovario de origem follicular. Essa differenciação se torna relativamente facil quando depois de punccionado se lhe examina o aspecto de sua parede interna. Enquanto que o kysto tem uma parede interna esbranquiçada e anemica, o folliculo de Graaf apresenta uma membrana interna congestionada e cheia de pontilhados.

Assim colhido, o liquido follicular, com material cuidadosamente esterilizado, foi injectado nas pacientes, sem soffrer a menor esterilização afim de que esta não alterasse em nada a composição chimica desse producto. Todas as vezes que eu suspeitava algum material contaminado, era elle logo regeitado.

O aspecto do liquido colhido era differente nas diversas especies animaes. O liquido da porca é quasi incolôr, apresenta-se limpido e muito levemente amarellado. O liquido humano é tambem muito limpido mas um pouco mais amarellado. O liquido de vacca é amarello carregado (ambar) e geralmente turvo.

Composição chimica

Schochet expõe a hypothese da existencia de um enzima especifico existente no *liquor folliculi* e cujo papel principal seria o de dissolver as cellulas da granulosa e fa-

vorecer o rompimento do folliculo pela sua acção sobre as thecas.

Allen allude á grande percentagem de proteina existente no liquido dos folliculos e estabelece seu methodo com o fim de extrahir do liquido um principio activo ou hormona follicular. O auctor trata o liquor pelo alcool a 90.^o para coagular as proteinas, filtra e trata diversas vezes o filtrado pelo alcool. Depois o mesmo material é tratado pelo ether e por fim pela acetona. Em seguida o auctor refere a experiencia animal com o extracto assim obtido e faz descripções concernentes á hormona follicular e sua acção: „De uma a tres injeccões deste extracto nos animaes castrados produz o estro typico, hyperhemia, augmento e hypersecreção do tracto genital e augmento das glandulas mamarias,„.

Essa questão do principio activo a que Courier chamou *folliculina* não está ainda definitivamente determinada. Nos poucos auctores que li não encontrei referencias ás pesquisas e dosagens da cholesterina, creatinina e glycose no liquor folliculi. Essas pesquisas chemicas feitas em relação áquellas substancias, foram praticadas pelo professor Pereira Filho a quem devo parte dessas pesquisas e que gentilmente abriu-me as portas do seu laboratorio. Os resultados foram os seguintes:

Cholesterina

Liquido follicular do ovario da mulher 0,661 por litro

„ „ „ „ de vacca 0,717 „ „

Essa dosagem foi feita pelo methodo colorimetrico, processo de Grigaut.

Creatinina

Liquido follicular de ovario de mulher — 2 milligr.,
01 por cento.

Líquido follicular de ovario de vacca — 1 milligr.,
85 por cento.

Essa dosagem foi feita pelo methodo colorimetrico
aconselhado por A. J. Blaivas e R. H. Gradwohl.

Glycose

Líquido follicular do ovario de mulher — 0,801 por litro.

" " " " " vacca — 0,908 " "

Essa dosagem foi feita pelo methodo colorimetrico
de Meyers e Cameron v. Bailey.

Como se vê existem diferenças não só no aspecto
e na acção entre o *liquor folliculi* proveniente de ovarios
de mulher e o de ovarios de vacca, mas tambem quanto
á sua composição chimica existe notavel differença.

Seria interessante estudar as modificações do líquido
follicular nas diversas phases do desenvolvimento do fol-
liculo; assim o folliculo inicial, o pèqueno folliculo, o me-
dio e o maduro terão talvez uma composição differente
de seu liquido.

Já se sabe que o *liquor* de folliculos maduros é mu-
ito mais rico em principios activos do que aquelle de fol-
liculos novos.

Se me fôr possivel continuar essas pesquisas, avan-
çarei n'esses estudos n'um trabalho posterior. Por agora
apenas posso contribuir com o que ahi está. Tive o cui-
dado de estabelecer o pararello physico chimico e physio-
logico entre o *liquor folliculi* proveniente de ovarios de
mulher e de ovarios de vacca afim de observar certas dif-
ferenças que eu imaginei existirem e que realmente exis-
tem, visto que se emprega na experimentação, como ana-
logo, o material proveniente de uma ou de outra origem.
O que é verdade é que existem diferenças bastante sensiveis.

Acompanhando essas pesquisas tive o ensejo de ob-

servar as modificações da coagulabilidade sanguínea, sob a acção do *liquor*. Essas modificações estão assinaladas em cada observação. O methodo executado foi pelo coagulometro de W. W. Duke's.

Sabendo-se que o sangue menstrual tem um indice de coagulabilidade muito diminuido, e que o sangue circulante soffre um augmento da coagulabilidade pela acção do liquido follicular, é justo que eu me associe á idéa de que essa diminuição do indice de coagulabilidade do sangue menstrual depende das secreções da mucosa uterina. E' um assumpto que ainda está em fóco visto não se ter chegado a um accordo definitivo, mas que as observações que eu vos apresento vêm em favor da origem endometrial na diminuição d'aquelle indice de coagulabilidade.

A technica que segui nas minhas pesquisas com o liquido follicular na mulher foi das injecções sub-cutaneas da região hypogastrica.

Em nenhum caso observei phenomenos de intolerancia, nem sequer a menor reacção local. O liquido era absorvido rapidamente,

1.ª OBSERVAÇÃO

ORIGEM DO MATERIAL. — S. A., 21 annos, viuva, branca. Papeleta n.º 4129 leito n.º 3 da 6.ª Secção. Diagnostico: fibroma uterino.

Não tem symptomas de tuberculose nem de syphilis. Ovarios normaes com um folliculo bastante desenvolvido e outros pequenos. Forneceu 1, 5 c.c. de *liquor folliculi*.

PACIENTE QUE RECEBEU INJECCÃO DE LIQUOR.— P. O. branca, casada, 36 annos. Papeleta n.º 4368. Diagnostico: metrite e ulcerações siphiliticas. Wassermann positivo. Pulso 75. Temperatura axillar 36,4. Teve 5 filhos e tres abortos. Tem menstruação muito demorada nos seus intervallos, passando ás vezes dois mezes entre uma epocha e outra. Ha dois dias terminom seu menstruo.

A's 11 horas injecção de 1, 5 c.c. de liquor folliculi. A's 13 horas a paciente informa que tem um pouco de cephalaea, máo estar, dôres vagas no hypogastro. A's 17 horas as colicas augmentam e a paciente informa espontaneamente que são identicas ás que tem quando lhe apparecem as regras. Apparece consideravel quantidade de um escoamento seroso escuro que sahe pelo orificio cervical do cóllo. A secreção continuou até o dia seguinte pela manhã.

Coagulação antes de injecção em 15 minutos.

" 3 horas depois de "	" 9 "
" 8 " " " " "	" 10 "
" 24 " " " " "	" 14 "

2.^a OBSERVAÇÃO

ORIGEM DO MATERIAL. — M. J. A. 38 annos, casada, côr mixta. Papeleta 4029. Diagnostico: fibroma uterino. Não tem symptomas de tuberculose nem de syphilis, Wassermann negativa. Ovarios normaes, fornecendo 1, 8 c.c. de liquor.

PACIENTE QUE RECEBEU INJECCÃO DE LIQUOR. — Z. S. C. 20 annos, preta, solteira. Papeleta n.^o 3893. Diagnostico: escabiose e pseudo-rheumatismo syphilitico. Antes era menstruada regularmente mas com colicas pré-menstruaes. Agora faz 2 mezes e 10 dias que não tem regras.

Injecção de 1, 8 c.c. de liquido follicular.

A' tarde do mesmo dia teve máo estar geral e colicas no baixo ventre não havendo escoamento de secreções. Pela manhã do dia seguinte as colicas se accentuaram e a paciente diz que vae ter suas regras porque as colicas são as mesmas da pre-menstruação. Aparece uma secreção abundante que dc serosa tornou-se sero-sanguinolenta à tarde. No dia seguinte tudo cessou.

3.^a OBSERVAÇÃO.

ORIGEM DO MATERIAL. — C. S, com 30 annos, preta, viuva. Papeleta n.^o 4330. Diagnostico: fibroma uterino. Não tem symptômas de tuberculose nem de syphilis. Ovarios normaes. Forneceu 1,5 c.c. de liquido follicular.

PACIENTE QUE RECEBEU INJECCÃO DE LIQUOR. — M. A. com 30 annos, viuva, preta. Papeleta n.^o 4329. Diagnostico: cervicite chronica. Tem menstruação normal apenas precedida de colicas. Suas regras terminaram ha 12 dias. Temperatura 36,8. Pulso 70. Injecção de 1,5 c.c. de liquor ás 10¹/₂ horas da manhã. No mesmo dia teve colicas no

baixo ventre com escoamento abundante de secreção uterina que continuou até o dia seguinte;

A coagulação do sangue antes da injeção foi em 12 minutos.

"	"	"	38 horas depois da	"	"	"	8	"
"	"	"	8	"	"	"	9	"
"	"	"	24	"	"	"	12	"

4.^a OBSERVAÇÃO

ORIGEM DO MATERIAL. — A. N. com 32 annos, branca casada. Da 1.^a Classe 5. C. Diagnostico: Fibroma uterino. Não tem signaes de tuberculose. R. Wassermann negativa. Ovarios normaes fornecendo 1,4 c.c. de liquido follicular.

PACIENTE QUE RECEBEU INJEÇÃO DE LIQUOR. — Diagnostico: Condylomas vulvares. R. Wassermann Positiva. Ha seis meses não é menstruada. Temperatura 36,7. Pulso 84. Injeção de 1,4 c.c. de liquido follicular.

A' tarde do mesmo dia teve colicas no hypogastro, cephaléa e abundante escoamento seroso. No dia seguinte o escoamento ficou levemente corado. A' tarde tudo cessou, A coagulação do sangue antes da injeção foi de 12 minutos.

"	"	"	3 horas depois da	"	"	"	7	"
"	"	"	8	"	"	"	8	"
"	"	"	24	"	"	"	12	"

5.^a OBSERVAÇÃO

ORIGEM DO MATERIAL. — Ovarios de vaccas. A. F. S. 21 annos, solteira, branca. Papeleta 4606. Diagnostico: appendicite chronica. Tem menstruação regular; foi menstruada ha 17 dias. Pulso 66. Temperatura 36,4. Injeção de 2 c.c. de liquor folliculi de vacca não gravida, feita subcutaneamente abaixo do umbigo. No mesmo dia á tarde teve colicas no baixo ventre e escoamento seroso. No dia

seguinte o escoamento tornou-se mais abundante e sero-sanguinolento. A noite tudo cessou.

Coagulação de sangue antes da inj. foi em 10 1/2 minutos.

"	"	3 horas depois	"	"	5	"
"	"	8	"	"	9	"
"	"	24	"	"	10	"

6.^a OBSERVAÇÃO

ORIGEM DO MATERIAL. — Liquor folliculi de ovarios de vacca não prenhe.

PACIENTE QUE RECEBEU INJECCÃO DE LIQUIDO FOLLICULAR. — M. L. B. 26 annos, casada, côr mixta. Papeleta n.º 4645 Diagnostico — fistulas do quadril direito.

Pulso 84. Temperatura 36,º5. E' menstruada regularmente. Teve suas regras ha 14 dias.

Injecção de 1,8 c.c. de *liquor folliculi* de vacca.

Teve, á noite, colicas no hypogastro e acceleração de pulso até 96. Aparece o escoamento francamente sanguineo durante 10 horas, começando á noite e se prolongando até o dia seguinte.

Coagulação sanguinea antes da injecção em 6 minutos

"	"	3 horas depois da	"	"	4 1/2	"
"	"	8	"	da	5	"
"	"	24	"	da	6	"

7.^a OBSERVAÇÃO

ORIGEM DO MATERIAL — Ovarios de vacca normal.

Paciente que recebeu injecção de liquido follicular.

M. C., 35 annos, casada, mixta — Papeleta 4750.

Diagnostico: Hernia inguinal direita.

Tem menstruação regular, espera daqui a 8 dias suas regras. Geralmente as regras se annunciam por leves colicas no hypogastro.

Injecção de 2 c. c. de *liquor folliculi* de vacca normal.

No mesmo dia teve colicas leves no baixo ventre que se accentuaram no dia seguinte. Dois dias depois iniciou-se a menstruação que durou 4 dias.

Coagulação sanguinea antes da injecção em 6 minutos.

Coagulação sanguinea 3 horas depois da injecção em 4 1/2 minutos.

Coagulação sanguinea 8 horas depois da injecção em 5 minutos.

Coagulação sanguinea 24 horas depois da injecção em 6 minutos.

8.^a OBSERVAÇÃO

ORIGEM DO MATERIAL — Ovarios de vacca normal.

Paciente que recebeu injecção do liquido follicular.

C. S. 24 annos, casada, mixta — Papeleta 4850.

Diagnosticó: syphilis secundaria.

Tem regras normaes; teve sua ultima menstruação faz 12 dias.

Injecção de 1,5 c. c. de *liquor folliculi* normal.

No mesmo dia teve máo estar, caphalea e dôres vagas no ventre. Tem escoamento seroso.

No dia seguinte pela manhã o escoamento tornou-se sero-sanguinolento e á tarde francamente sanguineo durando dois dias e meio.

Coagulação sanguinea antes da injecção em 5 1/2 minutos.

Coagulação sanguinea 3 horas depois da injecção em 4 minutos.

Coagulação sanguinea 8 horas depois da injecção em 4 minutos.

Coagulação sanguinea 24 horas depois da injecção em 5 minutos.

9.^a OBSERVAÇÃO

ORIGEM DO MATERIAL. — Ovarios de vacca com corpo luteo.

PACIENTE QUE RECEBEU INJECCÃO DE LIQUIDO FOLLICULAR. — C. B. 31 annos, viuva, branca. Papeleta 4783. Diagnostico: metrite chronica.

Ha mais de um anno que não tem regras. Injecção de 2 c.c. de *liquor folliculi* de ovarios de vacca com corpo amarello.

No mesmo dia sentiu máo estar e cephalea. Durante a noite dôres vagas no baixo ventre e no dia seguinte escoamento seroso.

Coagulação sanguinea antes da injecção em 7 1/2 minutos.

"	"	3 horas depois da	"	"	2 1/2	"
"	"	8 " " "	"	"	5	"
"	"	24 " " "	"	"	7	"

10.^a OBSERVAÇÃO

ORIGEM DO MATERIAL. — Ovario de vacca normal.

PACIENTE QUE RECEBEU INJECCÃO DE LIQUOR FOLLICULI. — L. I. 25 annos, solteira, branca. Papeleta 4420. Diagnostico: traumatismo do membro superior D. Injecção de 2 c.c. de liquido follicular de ovario de vacca normal.

No mesmo dia teve colicas no baixo ventre e máo estar. No dia seguinte escoamento seroso abundante e depois sero-sanguinolento.

Coagulação antes da injecção em 6 minutos

"	"	3 horas antes da	"	"	2 1/2	"
"	"	8 " " "	"	"	3	"
"	"	24 " " "	"	"	6	"

11.^a OBSERVAÇÃO

ORIGEM DO MATERIAL — Ovarios de vacca com corpo luteo.

Paciente que recebeu injeção de liquor folliculi.

M. L. 20 annos, solteira, branca — Papeleta 944.

Diagnostico: syphilis.

Ha quasi seis mezes que não é menstruada.

Injeção de 2 c. c. de *liquor folliculi* de ovarios de vacca com corpo luteo.

Apenas teve máo estar geral, cephalca e dores vagas no baixo ventre.

Coagulação sanguinea antes da injeção em 4 1/2 minutos.

Coagulação sanguinea 3 horas depois da injeção em 4 minutos.

Coagulação sanguinea 8 horas depois da injeção em 4 1/2 minutos.

Coagulação sanguinea 24 horas depois da injeção em 4 1/2 minutos.

12.^a OBSERVAÇÃO

ORIGEM DO MATERIAL — Ovarios normaes de porca.

Paciente que recebeu a injeção de liquor folliculi.

A. C. 25 annos, solteira, mixta — Papeleta 4025.

Diagnostico: syphilis secundaria.

Tem sua menstruação regular, faz 15 dias que parou da ultima vez.

Injeção de 1,5 c. c. de liquido follicular de porca normal.

Tem apenas cephalca e uma leve indisposição.

Não houve augmento de secreções.

Coagulação sanguinea antes da injeção em 7 minutos.

Coagulação sanguínea 3 horas depois da injecção em 6 minutos.

Coagulação sanguínea 8 horas depois da injecção em 7 minutos.

Coagulação sanguínea 24 horas depois da injecção em 7 minutos.

CONCLUSÕES

- 1.º O periodo menstrual depende da ruptura follicular e da acção do *liquor folliculi* sobre o apparelho genital, agindo como elemento de secreção interna.
- 2.º O *liquor folliculi* proveniente de ovarios de mulher e de ovarios de vacca apresenta differenças chemicas e physiologicas.
- 3.º O liquido follicular age sobre o apperelho genital da mulher e principalmente sobre o utero, produzindo uma congestão intensa e um augmento da sua energia muscular.
- 4.º O liquido follicular age sobre o sangue augmentando seu indice de coagulabilidade.
- 5.º O *liquor folliculi* é um producto de secreção interna cujo mechanismo de passagem para o sangue se faz de um modo todo particular.
- 6.º Si tem função especifica, esse liquido, de augmentar a congestão uterina e a sua contractibilidade, tem os principaes attributos de estimulante menstrual.

BIBLIOGRAPHIA

- Gauthier* (Jules) — La Fécondation artificielle (1905).
- Bumm* (Dr. Ernest) — Traité d'Obstetrique (1914).
- Gley* (E) — Physiologie de l'ovaire (Traité de physiologie) (1913).
- Keffer et Devraigne* — Les ovaires (Pratique de l'art des accouchements P. Bar) (1914).
- Guilera Molas* (Luiz G.) — Orígem, formacion y evolucion del folículo de De Graaf (1919).
- Emil Abderhalden* — Defensive ferments of the animal organism (1914).
- Bandler* (S. Wyllis) — The endocrines (1921).
- Schafer* (Edward) — Glandes a secrecion interne (1920).
- Suñer* (Augusto Pi.) — Los mecanismos de correlacion fisiologica (1920).
- Ochsen* (Edward) H. — Further observacions on the funcion of the corpus luteum (Surg. gyn. and obst. Noviembre) (1920).
- Gley* (E) — Les secretions internes (1921).
- Marañón* (G) — Problemas actuales de la doctrina de las secreciones internas (1922).

Frank (T. Robert) El ovario y el endocrinologo (The Journal. Fevº.) (1922).

Gobb (Ivo Geikie) Los organos de secrecion interna (1922).

Schocket (Dr. S. S.) Physiology of ovulation (Chicago gynecological Society) (1920).

E. Novak and The Linde — The pathological anatomy of the corpus luteum (Bull Johns Hopkins Hosp.) (1923).

E. Allen and Doisy — An ovarian hormone: A preliminary Report on Its Localisation, Extraction and Partial Purification an action in the Test animals (Surg. gyn. and obst. January) (1924).

Hoehne (O.) — Fecundacion, anidamiento y desarrollo del huevo. Trat. obstetricia W. Stoeckel) (1924).

Norris (Charles C.) — The relation of the endometrium to ovarion function. (Surg., gyn. and obst. January) (1924.)

Mc. Pherron (Raymond) — Two cases relating to the theory of the corpus luteum (Chicago gynecological society) (1924).

Allen (Edgar) — La hormona follicular ovarica (The Journal Agosto 1925).

Courier (R.) — Les hormones ovariennes (Rev. Française d'endocrinologie Avril) (1921).

Pettinari (Vittorio) — Sur l'antagonisme des glandes sexuelles masculine et feminine. (Rev. Française d'endocrinologie Juin) (1921).

Graf Spee — Estudio general del aparato genital femenino y en especial de los fenomenos dependientes del ovario (Tratado de Obstetricia. A. Döderlein) (1923).