

# Microscopia de varredura das estruturas do seio camerular

John Helal Junior \*, Stephen Bartels \*\*

A função primordial do humor aquoso é hidromecânica. Juntamente com as túnicas oculares mantém a estabilidade das dimensões do olho e das estruturas envolvidas com o processo visual. O humor aquoso desempenha outras funções (secundárias) que são igualmente importantes na fisiologia ocular. Atua como veículo para a eliminação de produtos do metabolismo (detoxificação), do oxigênio, da glicose, dos eletrólitos, etc... (ação nutricional) e pela distribuição de substâncias neurohormonais. Em síntese, é responsável pela manutenção de uma homeostase para a função normal dos tecidos por ele banhado.

O humor aquoso é continuamente formado na câmara posterior pelos processos ciliares, atravessa a pupila para chegar à câmara anterior e daí deixa o olho através do sistema de escoamento existente no seio camerular (via convencional). Além desta via de drenagem, existem outras rotas de menor importância que são: drenagem através do sistema úveo-escleral, difusão através de vasos irianos, escoamento posterior através do vítreo e fluxo transcorneal.

Neste trabalho examinamos a morfologia do sistema convencional de escoamento de aquoso no olho de macaco rhesus e do macaco cynomolgus, utilizando-nos da microscopia eletrônica de varredura.

## MATERIAL E MÉTODO

Seis olhos normais de macacos rhesus (4) e cynomolgus (2) foram examinados ao microscópio eletrônico de varredura. Os olhos foram colocados no fixador imediatamente após a enucleação. Alguns espécimens foram fixados em formaldeído a 10% e outros numa mistura de glutaraldeído a 2%: paraformaldeído a 2%: cacodilato de sódio a 2% e CaCl<sub>2</sub> 0,01%.

Após a fixação (24 a 48 horas), o segmento anterior foi removido e dividido em vários segmentos radiais como fatias de um bolo. Cada segmento continha córnea, limbo, parte de esclera, íris e corpo ciliar.

Sob o microscópio de diseção, usando aumentos variando de 16 a 40 X, o canal de

Schlemm era identificado e canulado com um fio de nylon 5-0; o tecido era então cuidadosamente dissecado a fim de se remover a parede externa do canal de Schlemm. A seguir as peças eram lavadas em solução tampão de cacodilato, desidratadas em etanol, secadas em N<sub>2</sub> líquido (critical point dry), montadas num suporte e revestidas com uma amálgama de ouropaládio.

Em alguns espécimens o canal de Schlemm foi dissecado após ter sido realizado a secagem em N<sub>2</sub> líquido.

O microscópio eletrônico utilizado foi o AMR-1000.

## RESULTADOS

Os olhos de macacos como rhesus (macaca mulatta) e o cynomolgus se prestam muito à investigação em oftalmologia dada a sua semelhança com o olho humano.

Pudemos observar discretas variações entre as duas espécies examinadas. De especial observamos que no cynomolgus o sulco escleral interno contendo o canal de Schlemm está bastante anteriorizado (Foto 1).

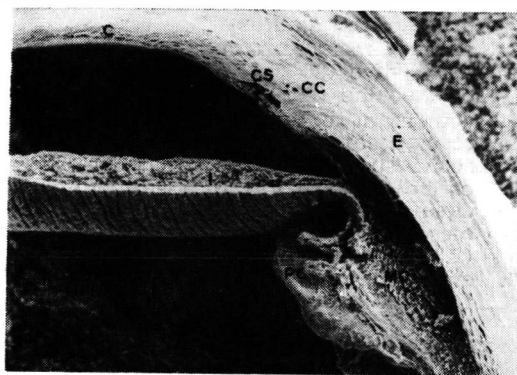


Fig. 1 — Fotografia microscópica do seio camerular do macaco cynomolgus (aumento = 40 X). Observamos estroma e endotélio corneano (C), trabeculado (T), canal de Schlemm (CS) e canais coletores (CC), a esclera (E), estroma e epitélio pigmentado da íris (I), processos ciliares (PC) e o músculo ciliar (MC). Notar a anteriorização do sulco escleral interno.

\* Médico-Assistente da Clínica Oftalmológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

\*\* Fisiologista do Departamento de Fisiologia e Oftalmologia da George Washington University, Washington, D.C., U.S.A.

Este Trabalho foi realizado nas Dependências do Serviço de Oftalmologia e Fisiologia da George Washington University.

Ambas espécies apresentam um trabeculado uveal bem desenvolvido (Foto 2), ao contrário do que se vê no olho humano. Separação do canal de Schlemm também foi outro achado comum nestas espécies. Um exemplo típico pode ser visto na foto 2.

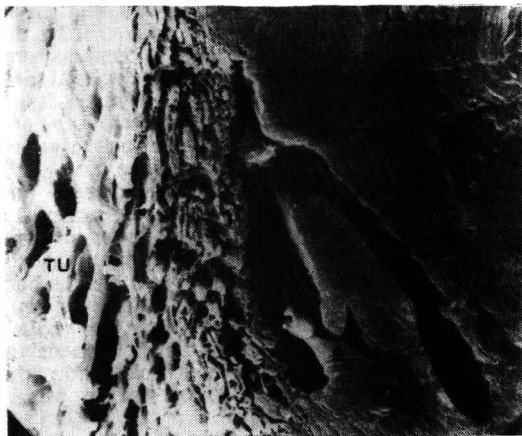


Fig. 2 — Microfotografia da parede externa do seio cameralar de macaca mulatta (rhesus), aumento = 400 X. Notar o trabeculado uveal (TU), de malhas trabeculares mais exuberantes. Adjacente se observam várias lamelas trabeculares que correspondem ao trabeculado córneo-escleral (TE). O tecido mais denso junto a parede interna do canal de Schlemm corresponde ao tecido juxtacanalicular (J). No canal de Schlemm (CS) observamos algumas protusões em sua parede interna, septação do canal (S) e comunicação com um canal coletor (CC).

Ambos métodos de fixação mostraram-se satisfatórios. Notamos mais artefatos e destruição nos tecidos das peças em que a dissecação foi realizada após o secamento com N<sub>2</sub> líquido.

As células endoteliais revestindo a parede interna do canal de Schlemm vistas do lado luminal, são fusiformes de terminações arredondadas. O diâmetro maior de cada célula se orienta paralelamente à circunferência do canal. Em suas porções centrais observamos protusões para dentro da luz do canal que representam núcleos celulares ou vacúolos gigantes (Foto 3). Nas áreas onde existem septos esta orientação de paralelismo celular não é obedecida (Foto 4).

Aberturas (poros) são observadas com frequência. Em geral estes poros se localizam junto às protusões celulares. Variam de diâmetro de 0,5 a 3 micra (Foto 3). Raras vezes encontramos células com digitações, provavelmente envolvidas num processo de fagocitose (Foto 5). Outra observação frequente é a presença de partículas atravessando tais orifícios (Foto 6).

Estes achados são compatíveis com outras observações descritas na literatura; não pudemos neste estudo constatar a presença

de canais transcelulares verdadeiros uma vez que este tipo de microscopia presta-se apenas ao estudo de superfícies celulares.

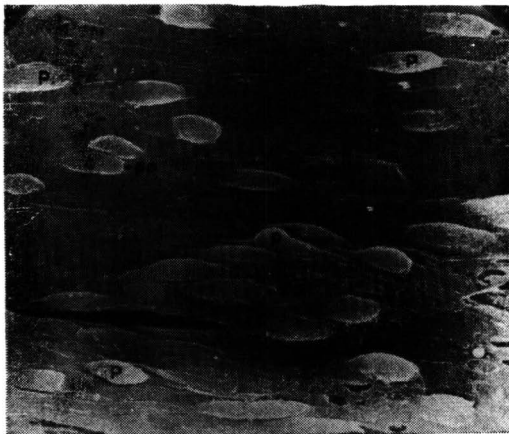


Fig. 3 — Fotomicrografia da parede interna do canal de Schlemm de macaco rhesus, vista luminal (aumento = 1300 X). Notamos a disposição paralela das células com protusões (P) para dentro da luz do canal que representam núcleos celulares ou vacúolos gigantes. Mais comumente junto a estas protusões se observam a presença de porosidades (pp).

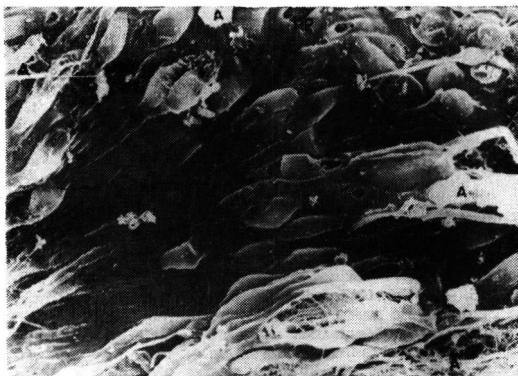


Fig. 4 — Fotografia microscópica da parede interna do canal de Schlemm de macaco cynomolgus, vista luminal (aumento = 2000 X). Neste espécimen o canal de Schlemm foi dissecado após secamento com N<sub>2</sub> líquido, observar o maior número de artefatos (a). Aqui a disposição paralela, não é tão óbvia porque a secção incluiu uma região septal. Poros podem ser vistos abundantemente (pp).

#### COMENTÁRIOS:

O tipo de microscopia empregada, de varredura, baseia-se na reflexão de elétrons e é análogo em princípio ao microscópio cirúrgico, ao de dissecação e à lâmpada de fenda que dependem da reflexão da luz. Ao contrário destes últimos tem a desvantagem de não se

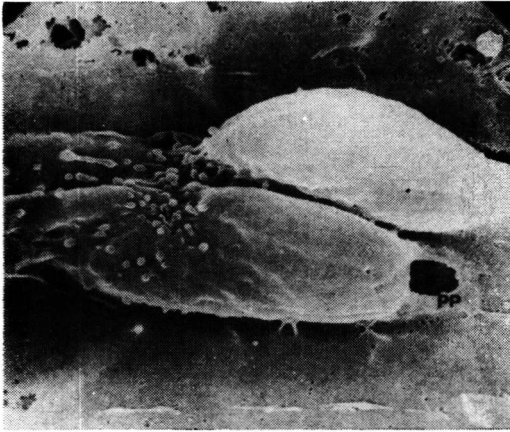


Fig. 5 — Fotomicrografia da parede interna do canal de Schlemm, macaco rhesus (aumento = 7800 X). Esta é uma magnificação da Foto 3 para mostrar um tipo de célula endotelial com características diferentes que aparece raramente. Ela apresenta vilosidades juxta-canaliculares (V), provavelmente sejam vesículas picnócíticas. Notar também na foto um poro bem típico (pp).

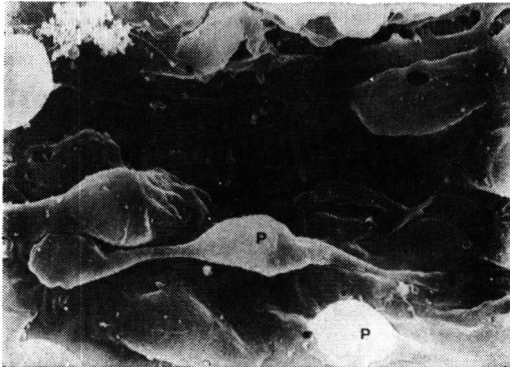


Fig. 6 — Microfotografia da parede interna do canal de Schlemm de macaco cynomolgus (aumento = 5000 X). Também aqui observamos as protusões (P) para dentro da luz do canal e os inúmeros poros de dimensões variada. Notar que em algumas destas aberturas existem partículas (plaquetas-PL) que parecem ter atravessado estes orifícios.

poder utilizá-lo para a observação "in vivo", sendo para tal necessário fixar, desidratar e cobrir com uma substância eletrônica densa os espécimens a serem estudados. O grande aumento que nos permite o método tem se prestado para elucidar muitos aspectos da estrutura superficial celular, como microvilosidades, poros, contornos, etc... O uso conjunto com a microscopia óptica e eletrônica de transmissão constitui a maneira mais completa para o estudo morfológico de órgãos e células.

A via convencional de drenagem de humor aquoso é constituída pelo sistema trabecular, pelo canal de Schlemm e pelos plexos intra e episcleral de canais coletores, incluindo as veias aquosas.

O sistema trabecular pode ser dividido em 3 grupos distintos de malhas: As camadas de malhas mais internas (1-3) constituem o trabeculado uveal e vão desde a linha de Schwalbe (L.S.) e/ou estão ancoradas em camadas do trabeculado córneo-escleral até a face anterior do corpo ciliar sem se fixar ao esporão escleral. O trabeculado córneo-escleral representando o maior contingente de malhas trabeculares localiza-se no sulco escleral interno, suas malhas inserem-se anteriormente na periferia da membrana de descemet (L.S.) e lamelas corneanas profundas e posteriormente estão conectadas ao esporão escleral. O terceiro grupo de malhas mais externo, adjacente ao canal de Schlemm, na realidade não tão diferenciado em trabéculas está formado por um tecido conectivo esponjoso denso e tem sido chamado de trabeculado endotelial (10) ou tecido juxta-canalicular (3).

Após atravessar o sistema trabecular o humor aquoso ganha acesso ao canal de Schlemm, um vaso circumferencial, elíptico em corte meridional, mais frequentemente dividido em canais menores pela presença de septos. O canal de Schlemm situa-se no terço posterior do sulco escleral interno e está sustentado na face camerular pelo trabeculado endotelial e em sua parede externa pelo tecido córneo-escleral. Vinte e cinco a trinta canais coletores emanam do canal de Schlemm para se ligar aos plexos intra e episcleral, e às veias aquosas e daí o humor aquoso retorna à circulação sistêmica.

Por muito tempo e ainda hoje se discute qual a região deste sistema de drenagem que oferece resistência à saída de aquoso quer em situação fisiológica quer em estados patológicos (glaucoma).

O nosso estudo visou compreender a disposição das estruturas no seio camerular envolvidas com a drenagem de aquoso dando especial ênfase à parede interna do canal de Schlemm e também oferecer uma revisão resumida da dinâmica do humor aquoso através deste sistema.

Empregando técnicas diversas foi demonstrado (6) que em condições normais o trabeculado uveal e escleral são atravessados com relativa facilidade por substâncias marcadoras injetadas na câmara anterior (hemácias, solução de contraste, esférulas de vidro ou silicone). Destes mesmos estudos (6) notou-se que estas substâncias acumulavam-se na região adjacente ao canal de Schlemm (trabeculado endotelial); uma vez que estes marcadores atravessam a parede interna do canal de Schlemm não mais encontram obstáculos. Estas observações vêm a sugerir

que o ponto de principal resistência ao fluxo de aquoso deva estar no trabeculado endotelial e quiçá na parede interna do canal de Schlemm.

A descoberta da existência de uma substância mucinosa na região trabecular que, mais tarde, através de métodos histoquímicos e enzimáticos, foi identificada como sendo composta de mucopolisacarídeos, abriu as portas para especulações mais complexas sobre a dinâmica do escoamento do humor aquoso. Histoquímica ao microscópio eletrônico demonstra que a maior concentração de mucopolisacarídeos se localiza no trabeculado endotelial e parede interna do canal de Schlemm (2, 4). A observação de que a facilidade de escoamento em animais de laboratório aumenta após a injeção intracamerular de hialuronidase sugere que estas substâncias estão envolvidas na regulação de drenagem de aquoso (1).

A parede interna do canal de Schlemm é formada por uma camada única de células endoteliais rica em "vacúolos gigantes". De como o aquoso atravessa esta barreira ainda hoje não está claramente elucidado.

Desde as observações de Sondermann (9) e depois de outros (7), acredita-se que a passagem de aquoso se faz através de algum tipo de comunicação existente entre os espaços trabeculares e a luz do canal. A idéia de canais internos verdadeiros (de Sondermann) não é mais aceita, no entanto acredita-se na existência de canais transcelulares (5, 8, 10, 11, 12).

Holmberg (5) fazendo cortes histológicos seriados do canal de Schlemm foi capaz de demonstrar que os vacúolos na verdade não eram cavidades fechadas e que apresentavam aberturas tanto para o lado cameral como para a face luminal e assim sendo constituíam canais através da célula por onde o aquoso podia atravessar sem dispêndio de energia. Este autor (5) crê que todo vacúolo represente um canal transcelular, ponto de vista não compartilhado por outros. Kayes (8) relata que apenas 1% dos vacúolos comunicam os espaços trabeculares à luz do canal.

Uma teoria bastante cogitada é que os canais transcelulares sejam um estágio funcional das células, formando-se pela invaginação gradual da parede trabecular da célula endotelial. Quando esta parede se justapõe à face luminal da célula forma-se uma membrana única, a qual pode se romper facilmente dando lugar a um canal transcelular (11).

Segundo Svedbergh (10), os poros correspondem à região mais estreita dos canais transcelulares, e conseqüentemente a resistência ao fluxo de aquoso através do canal de Schlemm depende do número e diâmetro destas aberturas. Em média existem 1500 poros por mm<sup>2</sup> e variam em diâmetro de 0,4 a 3

micra. Substituindo-se estes valores na equação de Poiseuille observou-se que esta região oferecia menos resistência ao escoamento de aquoso do que se supunha, resultando assim que o trabeculado endotelial deve ser o local de maior obstrução ao fluxo de humor aquoso através do sistema convencional de drenagem.

Este trabalho é dedicado à memória do ilustre professor e grande amigo, o Dr. José de Almeida Rebouças.

#### RESUMO

O trabalho compreende o estudo morfológico das estruturas do seio cameral do macaco rhesus e cynomolgus, com especial interesse na parede interna do canal de Schlemm sob microscopia eletrônica de varredura. Também foi feita uma revisão sucinta dos aspectos controversos da literatura no que diz respeito a resistência à passagem de humor aquoso através do sistema convencional de escoamento.

#### SUMMARY

In this paper we present the scanning electron microscopic observations of the anterior chamber angle of the rhesus and cynomolgus monkey, with special emphasis on the inner wall of Schlemm's canal. A brief review of the controversial aspects regarding resistance to outflow of aqueous through this conventional route was also discussed.

#### BIBLIOGRAFIA

1. ARMALY, M. F. — The effect of intraocular pressure on outflow facility. *A. M. A. Arch. Ophthalmol.* 64: 125, 1960.
2. ARMALY, M. F.; WANG, Y. — Demonstration of acid mucopolysaccharides in the trabecular meshwork of the rhesus monkey. *Invest. Ophthalmol.* 14: 507, 1975.
3. FINE, B. S. — Structure of the trabecular meshwork and the canal of Schlemm. *Trans. Am. Acad. Ophthalmol. Otolaryngol.* 70: 777, 1966.
4. GRIERSON, I.; LEE, W. R. — Acid mucopolysaccharides in the outflow apparatus. *Exp. Eye Res.* 21: 417, 1975.
5. HOLMBERG, A. S. — Schlemm's canal and the trabecular meshwork. An electron microscopic study of the normal structure in man and monkey (*cercopithecus ethiops*). *Doc. Ophth.* 19: 339, 1965.
6. INOMATA, H.; BILL, A.; SMELSER, G. K. — Aqueous humor pathways through the trabecular meshwork and into Schlemm's canal in the cynomolgus monkey. *Am. J. Ophthalmol.* 73: 760, 1972.
7. IWAMOTO, T. — Light and electron microscopy of Sondermann's channels in the human trabecular meshwork. *Albrecht von Graefe Arch. Ophthalmol.* 172: 197, 1967.
8. KAYES, J. — Pore structure of the inner wall of Schlemm's canal. *Invest. Ophthalmol.* 6: 381, 1967.
9. SONDERMANN, R. — Über Entstehung morphologie und funktion des Schlemmchen' kanals. *Acta Ophthalmol.* 52: 829, 1933.
10. SVEDBERGH, B. — Aspects of the aqueous humor drainage. Functional ultrastructure of Schlemm's canal, the trabecular meshwork and corneal endothelium at different intraocular pressures. *Acta. Univ. Upsal., Abstr. Upps. Diss. Fac. Med.* 256: 71 pp, 1976.
11. TRIPATHI, R. C. — Mechanism of aqueous outflow across the trabecular wall of Schlemm's canal. *Exp. Eye Res.* 11: 116, 1971.
12. TRIPATHI, R. C. — The functional morphology of the outflow systems of ocular and cerebrospinal fluids. *Exp. Eye Res. (suppl.)* 25: 65, 1977.