

Reinier De Graaf e a Biologia Reprodutiva

Ana Margarida Calado

Resumo

O cientista holandês do século XVII Reinier De Graaf (1641-1673) é considerado o fundador da biologia reprodutiva moderna. O seu nome está associado ao corpo lúteo, às trompas de Falópio e aos folículos ováricos. A monografia de De Graaf sobre o sistema reprodutor masculino foi publicada em 1668. Cerca de quatro anos depois, em 1672, foi publicado seu trabalho sobre o trato genital feminino, que continha a famosa descrição dos folículos ováricos. De Graaf descreveu em detalhe estruturas associadas aos aparelhos genitais masculinas e femininas, incluindo ductos eferentes, corpos lúteos, trompas de Falópio e especialmente o folículo ovárico. De Graaf teve a clareza de perceber que a trompa de Falópio era responsável pelo transporte do gameta ovulado e documentou com sucesso que as gestações ectópicas ocorrem no interior desta estrutura. Mas o legado de De Graaf reside no folículo ovário pré-ovulatório. De Graaf visualizou a ovulação e descreveu esse processo de forma eficaz, numa época em que o microscópio ainda estava a ser desenvolvido. Neste trabalho iremos descrever as descobertas, observações e avaliações críticas de Reinier De Graaf que contribuíram para a compreensão da procriação humana.

Palavras-chave: Reinier De Graaf, folículos ováricos, biologia da reprodução

Abstract

The 17th-century Dutch scientist Reinier De Graaf (1641-1673) is considered the founder of modern reproductive biology. Its name is associated with the corpus luteum, the fallopian tubes and the ovarian follicles. De Graaf's monograph on the male reproductive system was published in 1668. About four years later, in 1672, his work on the female genital tract was published, which contained the famous description of the ovarian follicles. De Graaf described in detail structures associated with the male and female genitalia, including the efferent ducts, corpora lutea, fallopian tubes and especially the ovarian follicle. De Graaf had the clarity to realize that the fallopian tube was responsible for transporting the ovulated gamete and he successfully documented that ectopic pregnancies occur within this structure. But De Graaf's legacy lies in the preovulatory ovarian follicle. De Graaf visualized ovulation and described this process effectively, at a time when the microscope was still being developed. In this work we will describe Reinier De Graaf's discoveries, observations and critical evaluations that contributed to the understanding of human procreation.

Key Words: Reinier De Graaf, ovarian follicles, reproductive biology

Introdução

Reinier de Graaf foi um proeminente médico e anatomista holandês que viveu no século XVII. Apesar da sua vida relativamente curta, ele fez contribuições muito significativas em diferentes áreas da medicina, especialmente no estudo da anatomia e da fisiologia reprodutiva, e mesmo sem usar o microscópio decifrou estruturas de dimensão microscópica.¹ A sua monografia sobre o sistema reprodutivo masculino foi publicada em 1668, e em 1672 o trabalho sobre o trato genital feminino, contendo a famosa descrição dos folículos ováricos: "De mulierum generationi inservientibus tractatus novus" (Fig. 1).¹

Algumas das mais notáveis realizações de Reinier De Graaf incluem:^{2,3}

- **Investigação Pancreática:** De Graaf realizou um trabalho de pesquisa inovador acerca do pâncreas e das suas secreções. Em 1664, ele publicou "*De Succis Pancreatici Natura et Usu Exercitatio Anatomica-Medica*", onde discutiu sobre os sucos pancreáticos, a saliva e a bile. Além disso foi o responsável pela introdução de métodos para recolher secreções pancreáticas através de fístulas temporárias em animais vivos, fornecendo uma nova percepção sobre o sistema digestivo.
- **Órgãos Reprodutivos Masculinos:** Em 1668, De Graaf publicou um relato abrangente sobre testículos, descrevendo-os como coleções de pequenos túbulos. Ele suportou as suas observações enviando relatos e desenhos para a Royal Society, exibindo a estrutura tubular do testículo. Além disso, fez uma descrição dos ductos eferentes que transportam os espermatozoides do testículo.
- **Anatomia Reprodutiva Feminina:** De Graaf é essencialmente conhecido pela sua contribuição para a compreensão da anatomia reprodutiva feminina. A sua publicação de 1672 "*De Mulierum Organis Generatione Inservientibus*", forneceu uma descrição detalhada do ovário e o seu papel na produção de ovócitos. Ele usou os termos "vesícula" ou "ovo" (ovum) para se referir ao que agora é conhecido como folículo ovárico e foi o primeiro a descrever o corpo lúteo bem como as alterações no ovário antes e após o acasalamento.
- **Descobertas no Ovário:** O trabalho de De Graaf contribuiu para uma nova percepção da fisiologia e da função ovárica. De Graaf observou que as vesículas ováricas

¹http://en.wikipedia.org/wiki/Regnier_de_Graaf

²Jay, V. "A portrait in history. The legacy of Reinier de Graaf", *Arch Pathol Lab Med*, 124 (2000):1115-1116. doi: 10.5858/2000-124-1115-TLORDG.

³<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

desapareciam após o acasalamento, dando lugar a uma substância glandular (corpo lúteo), porém e erroneamente acreditava que o folículo cheio de fluido representava o próprio gameta feminino.

- **Teorias Reprodutivas:** De Graaf desafiou teorias predominantes da época sobre a reprodução, rejeitando a ideia de que o sêmen masculino sozinho era responsável pela formação do embrião. De Graaf propôs que todos os animais, incluindo os humanos, se originavam de um ovo dentro do ovário. Ele enfatizou sempre a importância dos ovários para a reprodução e observou que a castração conduzia à esterilidade nas fêmeas.
- **Trompas Uterinas e Gravidez Ectópica:** De Graaf reconheceu a função das trompas uterinas e o seu papel no transporte dos ovos do ovário para o útero. Ele também detetou algumas condições patológicas, bem como diferenças anatômicas entre espécies. Além disso De Graaf descreveu a gestação nas trompas.
- **Legado e Reconhecimento:** As contribuições significativas de De Graaf foram reconhecidas pelos seus contemporâneos e por estudiosos posteriores. Albrecht von Haller nomeou os folículos ovarianos após De Graaf, referindo-se a eles como "ova Graafiana", que eventualmente passaram a ser conhecidos como vesículas de Graaf ou folículos de Graaf. O trabalho de De Graaf lançou as bases para trabalhos posteriores no campo da medicina reprodutora.



Figura 1. Regnier de Graaf (1641-1673) à esquerda e à direita capa da obra de Regnier De Graaf “*De mulierum generationi inservientibus tractatus novus sobre os ovos das fêmeas*”.^{4,5}

Primeiros anos de formação e influencia científica de De Graaf

⁴Ibid.

⁵Jensen, G Maisa et al., “Regnier de Graaf e a descoberta dos ovos femininos”, *Boletim de História e Filosofia da Biologia* 5 (2011): 15-20

Reinier De Graaf nasceu a 30 de julho de 1641 em Schoonhover (Países Baixos) e faleceu a 17 de agosto de 1673. De Graaf iniciou sua educação universitária em Lovaina (Bélgica), onde assistiu às palestras do anatomista **Plempius (1601–1671)**, tendo sido profundamente influenciado por este. Em 1661, matriculou-se como estudante de medicina em Utrecht (Países Baixos) e em abril de 1663, tornou-se estudante na Universidade de Leiden (Países Baixos). Como jovem estudante, De Graaf ajudou o seu professor Johannes van Horne (1621–1670) na preparação de espécimes anatómicos e teve um contributo inestimável na invenção da seringa de injeção, através da qual líquidos e cera colorida eram introduzidos em vasos sanguíneos preparados para coloração e/ou preservação do material biológico.^{6,7}

Além de se interessar pelo trabalho de anatomia de Van Horne, De Graaf foi um aluno dedicado de François de le Boë Sylvius (1614–1672), e um dos expoentes e defensores mais talentosos da escola médica daquela época. Como muitos de seus contemporâneos, De Graaf foi para França em 1665, onde realizou autópsias, tendo registado os seus achados num livro intitulado "*De Succis Pancreatici Natura et Usu Excercitatio Anatomico–Medica*" (Sobre a Natureza e o Uso dos Sucos Pancreáticos na Prática da Anatomia Médica). Em 23 de julho de 1665, De Graaf obteve o seu doutoramento com honras na Universidade de Angers (França) e regressou à Holanda em 1667, estabelecendo-se em Delft onde construiu uma carreira em clínica médica, continuando a trabalhar na identificação anatómica de estruturas reprodutivas tanto em machos como em fêmeas. Na época seria expectável que De Graaf fosse o sucessor de François Sylvius, porém como católico romano, foi-lhe negada a entrada na Universidade de Leiden, uma instituição protestante.⁸

Pesquisa científica de De Graaf na cidade de Delft

⁶https://en.wikipedia.org/wiki/Johannes_van_Horne.

⁷Houtzager, HL. "Reinier De Graaf's research concerning the female reproduction organs", In: *Proceedings of the XXXII International Congress on the History of Medicine, Antwerp, 1990*.

⁸Houtzager, HL. "Reinier de Graaf", *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 12(1981):385-387. doi: 10.1016/0028-2243(81)90083-6.

Além do seu trabalho de prática de clínica médica em Delft, De Graaf continuou a sua investigação científica e publicou resultados importantes. Em 19 de junho de 1670, convidou o seu colega Henry d'Acquet (1632–1706) e outros médicos e cirurgiões para observar a dissecação de uma criança falecida. Os pais desta criança não queriam que ela fosse identificada por um nome exclusivamente masculino ou feminino. No relatório de dissecação, De Graaf expressa a opinião de que a criança seria do sexo feminino, porém com um grande clitóris semelhante a um pênis (Fig. 2). Atualmente, sabemos que esta situação corresponde sem sombra de dúvida a uma síndrome adrenogenital.⁹



Figura 2. Desenho de XXIII publicado em "De Mulierum Organis Generationi Inservientibus". Partes genitais externas malformadas de um recém-nascido. (A) O clitóris, que se assemelha exatamente a um pênis. (B) A glândula do clitóris exposta. (C) Os lábios. (D). Protuberâncias semelhantes a testículos.¹⁰

Folículos Ovários e Reinier de Graaf

Até ao século XVII, acreditava-se que o ovo dos mamíferos resultava duma mistura de "sêmen" do ovário que descendo pela trompa de Falópio misturava-se com o sêmen masculino no útero. Autores como Andreas Vesalius (1514-1564) e Gabriele Falloppio (1523-1562) descreveram vesículas no "testículo feminino" designação do ovário nessa época, porém não tinham conhecimento de que estas vesículas continham o gameta feminino. Mais tarde, os ovários das aves foram reconhecidos como os órgãos responsáveis pela formação dos ovos nessa espécie e Nicholas Stenson (1638-1686), Jan Swammerdam (1637-1680) e Johannes Van Horne (1621-1670) deduziram que

os testículos femininos (ovários) eram, tal como nas aves, o local de formação dos gametas. No entanto, essas observações feitas entre 1666 e 1667, nunca foram

⁹Ibid

¹⁰Ibid

publicadas. Mais tarde De Graaf estudou os ovários de várias espécies antes e após o acasalamento, observando mudanças estruturais, verificando que a certa altura essas vesículas (folículos) desapareciam, dando lugar a uma "substância glandulosa" que se projetava na superfície da gónada (mais tarde designada de corpo lúteo). A sua suposição errônea de que a presença do corpo lúteo implicava gravidez baseou-se, sem dúvida, no seu estudo em coelhos, espécie cuja ovulação normalmente ocorre apenas após a estimulação sexual.^{11,12}

Após realizar estudos comparativos exaustivos nos ovários de muitos mamíferos e aves, De Graaf concluiu que a função das gónadas femininas era gerar gâmetas, nutri-los e levá-los à maturidade. Assim, ele deduziu que todos os animais, assim como os seres humanos, têm origem a partir de um óvulo existente nas gónadas femininas antes do acasalamento. De Graaf propôs que as gónadas femininas fossem referidas de "ovários" e deduziu corretamente que estes seriam indispensáveis para a reprodução e que a esterilidade resultava da castração das fêmeas (Figura 3). Além disso, De Graaf contestou firmemente a visão amplamente aceita na época de que o embrião tinha origem apenas e exclusivamente no macho.¹³



Figura 3. Ilustração do ovário por Regnier de Graaf.¹⁴

Na sua pesquisa De Graaf comparou as gónadas femininas de diferentes espécies animais, nomeadamente aves, coelhos, vacas, ovelhas e porcos, e concluiu que animais

¹¹https://pt.wikipedia.org/wiki/Jan_Swammerdam ¶

¹²https://en.wikipedia.org/wiki/Johannes_van_Horne

¹³Ankum, WM, et al., "Reinier De Graaf (1641-1673) and the fallopian tube", *Hum Reprod Update* 2(1996):365-369. doi: 10.1093/humupd/2.4.365.

¹⁴Ibid

vivíparos e ovíparos tinham a sua origem numa vesícula, mais tarde foi designada de "folículo de Graaf", mas que De Graaf na altura referia como um "ovo".¹⁵

Com base nas observações descritas por De Graaf na sua publicação "*De Mulierum Organis Generationi Inservientibus*", podemos resumir algumas das suas crenças sobre o processo de reprodução:^{16,17}

- A presença de folículos (vesículas) de tamanhos variáveis no ovário;
- O processo de acasalamento, resulta eventualmente em ovulação;
- A "aura seminalis" penetra no ovário resultando na fertilização do "ovo";
- Formação do corpo lúteo e degeneração após o parto ou após implantação defeituosa;
- Após a luteinização há rejeição do folículo pelo ovário (ovulação);
- Ocorre transporte do "ovo" do ovário para a trompa até ao útero;
- A possível implantação do "ovo" no útero, resulta numa gestação.

De Graaf visualizou a ovulação do folículo a partir do ovário e descreveu esse processo de forma eficaz. Ao trabalhar sem o auxílio de um microscópio, De Graaf acabou por ser equivocado com questões que apenas se poderiam ultrapassar e esclarecer com instrumentos de ampliação de imagens. Assim, um dos seus "deliciosos" equívocos foi o de considerar que os folículos ováricos cheios de líquido eram os próprios ovócitos. Essa suposição incorreta de que o folículo inteiro representava a célula germinativa é perfeitamente compreensível numa época em que a microscopia ainda estava nos seus primórdios. Efetivamente esta sua presunção levou De Graaf a ficar bastante confundido ao descobrir que blastocistos de coelho encontrados nas trompas (até ao terceiro dia após o coito), tinham dimensão mais reduzida que os próprios folículos ováricos.¹⁸ É de salientar que a descoberta do ovócito humano por Karl Ernst von Baer (1792–1876) apenas ocorreu cerca de 150 anos após as descrições de De Graaf, o que as torna todas ainda mais excecionais esta interpretação de Reinier.¹⁹

As Trompas de Falópio (que poderiam ser Trompas de De Graaf)

¹⁵Ibid

¹⁶Houtzager, HL. "Reinier De Graaf and his contribution to reproductive biology", *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 90 (2000):125-127. doi: 10.1016/s0301-2115(00)00258-x.

¹⁷http://en.wikipedia.org/wiki/Regnier_de_Graaf

¹⁸<https://www.themarginalian.org/2016/02/16/newton-standing-on-the-shoulders-of-giants/>

¹⁹https://pt.wikipedia.org/wiki/Karl_Ernst_von_Baer

Embora a descrição anatômica das trompas por Gabriele Falloppio fosse relativamente precisa, a sua compreensão permaneceu algo confusa, como é claramente ilustrado pelas perspectivas anatômicas de De Graaf da seguinte forma: "*As trombetas', ou 'tubos', são duas em número, uma de cada lado. Nas fêmeas humanas, estão situadas nos lados do útero, onde têm origem. No fundo, são bastante estreitas, como se pode ver na placa. Conforme passam pela substância do útero e por alguma distância fora dele, seguem um curso reto, alargando-se gradualmente. No entanto, quando atingem um tamanho considerável, a curva torna-se cada vez mais acentuada, dobrando de lado a lado ou torcendo-se como gavinhas de videira. Dessa forma, dão a volta a metade dos 'testículos' a uma distância deles. Nas suas extremidades, porém, onde são mais largas, juntam-se novamente. As partes que se estendem além do ponto de junção dividem-se em muitas partículas e terminam em franjas que lembram a ornamentação folhada*" (Fig. 4).²⁰

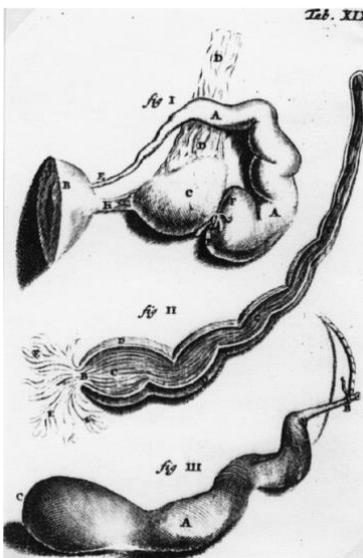


Figura 4. Imagem XIX do livro "De Mulierum Organis Generationi Inservientibus". As trompas de Falópio ou tubas uterinas femininas de diferentes formas. (I) Uma trompa uterina disposta de forma anormal, onde a extremidade está anormalmente preso ao 'testículo'. (II) Uma trompa uterina aberta longitudinalmente. (III) Uma trompa uterina com a extremidade anormalmente fechada.²¹

Nalgumas espécies como vacas, ovelhas e coelhos, as trompas têm origem nos cornos do útero, porém as suas extremidades não se dividem como se verifica na espécie humana. Nessas espécies as trompas expandem-se em membranas finas e contínuas, terminando praticamente da mesma forma que os ovidutos das aves, reunidas nas extremidades, ma sem se fecharem. Contudo, em circunstâncias anormais, poderão

²⁰Setchell, B.P. "The contributions of Regnier De Graaf to reproductive biology", *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 4 (1974): 1-13.

²¹Ibid

estar completamente fechadas (Fig. 4). Acredita-se que a descrições de trompas sempre fechadas foram encontradas inadvertidamente nessa situação invulgar, e por este motivo Falópio descreveu as trompas como estruturas fechadas. Posteriormente Falópio corrigiu o seu equívoco, afirmando que as aberturas permeáveis das trompas causadas pelas franjas nas suas extremidades. Evidentemente, De Graaf compreendeu muito bem a diferença essencial entre a trompa normal aberta (permeável) e a trompa anormalmente fechada. Assim, o esquema da figura 2 pode ser considerado a primeira ilustração bem compreendida de anormalidade tubária na história médica. Reinier De Graaf foi provavelmente o primeiro a compreender a sua verdadeira função.²²

De Graaf não se limitou a esclarecer a anatomia das trompas, mas também identificou condições patológicas associadas, e descreveu condições como a hidrossalpinge (trompa fechada), compreendendo as suas implicações desta situação. Explorou ainda casos de gravidez ectópica (gravidez fora do útero) (Fig. 5) demonstrando assim o seu compromisso em compreender os processos reprodutivos de forma abrangente.²³

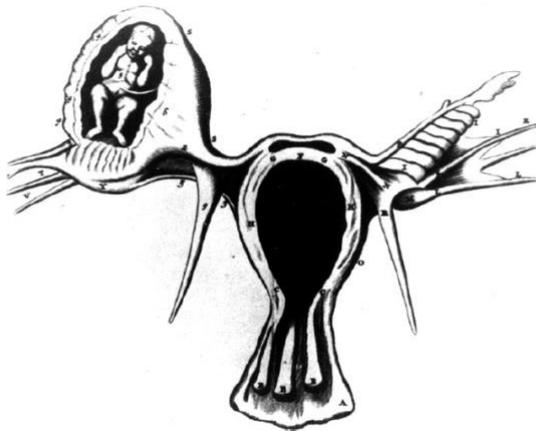


Figura 5. A imagem XXI do livro "De Mulierum Organis Generationi Inservientibus", que De Graaf reimprimiu a partir do relatório de Vassal para a Royal Society. Parte da vagina, cavidade do útero e feto encontrado na trompa.²⁴

Ejaculação Feminina

De Graaf foi pioneiro na descrição da ejaculação feminina e referiu-se a uma zona erógena na vagina que ele mesmo relacionou com a próstata masculina. Esta zona foi posteriormente relatada pelo ginecologista alemão Ernst Gräfenberg e batizada em sua homenagem como Gräfenberg Spot ou G-Spot.²⁵

²²Ibid

²³Thiery, M "Reinier De Graaf (1641–1673) and the Graafian follicle", *Gynecol Surg* 6(2009):189–191

²⁴Ibid

²⁵Daniele, Molla et al., "Do We Still Believe There Is a G-spot?" *Current Sexual Health Reports* 13 (2021) :97–105 <https://doi.org/10.1007/s11930-021-00311-w>

Considerações Finais

Podemos imaginar o que terá sido compreender a natureza microscópica de um processo sem o uso de um microscópio. Tal esta a pesquisa e a contribuição de Reiner de Graaf, na percepção do folículo antral dos mamíferos.

Em abril de 1673, De Graaf enviou uma carta à Royal Society recomendando o colega e amigo Antonie Philips van Leeuwenhoek (1632–1723), que estava a começar a fabricar os primeiros microscópios, recomenda a atenção ao trabalho deste. No entanto, De Graaf nunca conseguiu usufruir do microscópio pois faleceu em 17 de agosto de 1673, catorze meses após o seu casamento. De Graaf foi sepultado na Igreja Velha em Delft a 21 de agosto de 1673 e a causa de morte foi presumivelmente doença virulenta.²⁶

Embora os folículos ovários tenham sido designados de folículos De Graaf em sua homenagem devido às suas contribuições nesta área, as investigações de Reinier sobre as trompas uterinas são igualmente valiosas e merecem reconhecimento, e teria sido muito apropriado se a as trompas tivessem sido designadas de "tubas de Graaf". A clareza de pensamento, a investigação minuciosa e a compreensão pioneira da anatomia e função das trompas uterinas estabelecem De Graaf como um verdadeiro pioneiro na biologia reprodutiva moderna. Desta forma, é relevante e apropriado destacar De Graaf como um dos principais contribuintes para a compreensão das trompas uterinas e da reprodução humana em geral. A análise a as observações de Reinier De Graaf conduzidas de forma rigorosa, empregando uma combinação de dissecação, experiências em animais e observações clínicas. De Graaf destacou-se pela sua abordagem científica abrangente e crítica, e o seu trabalho serviu como base para muitos estudos subsequentes especialmente na área da reprodução, sendo a sua dedicação à compreensão precisa da biologia reprodutiva um exemplo inspirador para os cientistas modernos.²⁷

Sobre a Autora

Ana Margarida Calado

anacalad@utad.pt

²⁶<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/mrd.22315>

²⁷Wessel, GM. "Microscope not included. Reinier de Graaf (July 30, 1641 - August 17, 1673)", *Mol Reprod Dev.* 81(2014): Fmi. doi: 10.1002/mrd.22315.

²⁶<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/mrd.22315>

²⁷Wessel, GM. "Microscope not included. Reinier de Graaf (July 30, 1641 - August 17, 1673)", *Mol Reprod Dev.* 81(2014): Fmi. doi: 10.1002/mrd.22315.