

ERRATA PARCIAL

Elaborada após a defesa desta tese, contem as principais sugestões oferecidas pela banca examinadora.

A autora não incluiu prováveis erros datilográficos e de sintaxe, os quais não estariam impedindo a perfeita compreensão do texto.

No índice, e na página 52, onde se lê Ilustrações, leia-se : Documentação.

Através dos Capítulos I e IV, onde se lê - ET AL., leia-se: et al.

Na página 1, (10a. linha), onde se lê - BRANDÃO, 1973, leia-se: BRANDÃO & RODRIGUES, 1973; e BRANDÃO H.S. & RODRIGUES, H. para as Referências Bibliográficas (ref. 10).

Na página 1, (13a. linha), onde se lê - Segundo ZAPPALA(1958), esta ...) leia-se: Ressalva ZAPPALA (1958), que esta...

Nas páginas 3, (16a. linha), 21 (13a. e 19a. linhas), 52(7a. linha), onde se lê nm, leia-se µm.

Na página 5, (15a. e 23a. linhas), onde se lê - PECK & HOERR (1951), leia-se: PECK & HOERR (1951b).

Na página 9, (8a. linha), onde se lê HADLER ET AL. (1968) , leia-se: HADLER & ÁVILA (1968).

Na página 10, a partir da 3a. linha, onde se lê - BJÖRKMAN (1947), HERRLINGER (1949) e TISCHENDORF (1959), in MIYOSHI ET AL. (1970), assim como nas Referências Bibliográficas destes autores , leia-se: ...apud MIYOSHI et al. (1970).

Na página 10, (6a. e 7a. linhas), onde se lê - MIYOSHI ET AL. (1971), leia-se: MIYOSHI & FUJITA (1971).

Na página 12, a partir da 15a. linha, onde se lê (VAIREL, 1933, SAAD, 1935; GRINDLAY ET AL., 1939; GENAZZANI & NITO, 1952 ; OTTIS ET AL., 1957; SCOTT, 1957; BURN & RAND, 1958; 1960; BRANDON & RAND, 1961; BICKERTON, 1962; 1963; INNES, 1962), in ARVY (1965) , assim como nas Referências Bibliográficas destes autores, leia-se : ...apud ARVY (1965).

Na página 37, (4a. linha), onde se lê - ... deste grupo houve acentuada,... acrescente-se: ...deste grupo, Tabela I, houve acentuada,...

Na página 49, (1a. linha), onde se lê -a Fenoxibenzamina, acrescente-se: -a Fenoxibenzamina (Figuras 30, 31 e 32)....

Na página 51, (2a. linha), onde se lê - ...atropínico..... , acrescente-se -atropínico, Figuras 20 à 24.

Na página 79, (6a. linha), onde se lê - ...(Figuras 21 a 26), leia-se (Figuras 21 a 24)...

Na página 92, (18a. linha), onde se lê (EHINGER ET AL. 1970), leia-se (EHINGER & FALCK, 1970).

Os seguintes acréscimos devem ser feitos nas Referências Bibliográficas.

- 1957 (ã ref. 57).
- 1951a(" " 73).
- 1951b(" " 79).

DÉBORA DE QUEIROZ TAVARES

ESTUDO HISTOLÓGICO DA CIRCULAÇÃO NO
BAÇO ISOLADO DO GATO; EFEITO DE
ESTIMULAÇÕES FARMACOLÓGICAS.

Orientador : WALTER AUGUST HADLER

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia, da Universidade Esta-
dual de Campinas, para a obten-
ção do grau de Doutor em Ciências.

BIBLIOTECA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
UNICAMP

CAMPINAS, SP, 1976

para a Biblioteca do
I.B.
Deborá de Queiroz Tavares
Abril de 1976
UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

AGRADECIMENTOS

Aos Senhores:

*Walter August Hadler
Julia Prado-Franceschi
Maria do Carmo Alberto
Pedro de Alcântara Reginato
Norair Salviano dos Reis
Nadim Farah Heluany Sobrinho
Alba Sanches Patelli
Maria Alice da Cruz Höfling
Clodomiro Rodrigues
Luiz Candido de Souza Dias
Odair Benedito Ribeiro
Ismael Gioia
Maria Jesus Ferreira de Carvalho
Abigail Vicente de Campos
Anna Gagliardi
Nair da Silva Massaro
Maria Raimunda Ilma Benholati*

ÍNDICE

<i>I - INTRODUÇÃO</i>	<i>1</i>
<i>1.1 - Grupo de Trabalhos que Utilizam Injeção Intravascular de Massas Contrastantes</i>	<i>1</i>
<i>1.2 - Grupo de Trabalhos Realizados com Técnica de Transluminção.....</i>	<i>2</i>
<i>1.3 - Grupo de Trabalhos Realizados com Técnicas Histológicas Várias .</i>	<i>6</i>
<i>1.4 - Grupo de Trabalhos que Estudam Aspectos da Hemodinâmica da Circulação Esplênica</i>	<i>12</i>
<i>1.4.1 - Trabalhos Efetuados com o Uso da Estimulação e da Adminis- tração de Fármacos</i>	<i>12</i>
<i>1.4.2 - Trabalhos que Estudam Aspectos da Cinética da Eliminação de Eritrócitos</i>	<i>15</i>
<i>1.5 - Bases da Técnica Utilizada no Presente Trabalho</i>	<i>16</i>
 <i>II - MATERIAL E MÉTODOS</i>	 <i>18</i>
<i>11.1 - Isolamento e Perfusão do Baço</i>	<i>18</i>
<i>11.2 - Baços não Estimulados (Baços Controle)</i>	<i>20</i>
<i>11.3 - Estimulações Adrenérgicas e Colinérgicas</i>	<i>21</i>
<i>11.3.1 - Estimulação pela Nor-adrenalina (Nor-A)</i>	<i>22</i>
<i>11.3.1.1 - 1º Grupo</i>	<i>22</i>
<i>11.3.1.2 - 2º Grupo</i>	<i>22</i>
<i>11.3.1.3 - 3º Grupo</i>	<i>23</i>

11.3.1.3.1 - Série A	23
11.3.1.3.2 - Série B	23
11.3.2 - Estimulação pelo Isoproterenol	23
11.3.3 - Estimulação pela Acetilcolina (ACh)	24
11.4 - Estimulação por Drogas Vaso-Ativas	24
11.4.1 - Histamina	24
11.4.2 - Angiotensina II	24
11.4.3 - Nitrito de Sódio	24
11.5 - Bloqueio e Depleção Adrenérgica	25
11.5.1 - Bloqueadores com Ação sobre os Receptores α -Adrenérgicos .	25
11.5.1.1 - Fenoxibenzamina (FBA)	25
11.5.1.2 - Ácido 2-Carboxibenzeno Selenínico (Se 2)	26
11.5.2 - Bloqueador com Ação sobre os Receptores β -Adrenérgicos ...	26
11.5.2.1 - Propranolol	26
11.5.3 - Depleção Adrenérgica do Baço pela Reserpina	26
11.6 - Drogas Bloqueadoras da Ação Colinérgica	27
11.6.1 - Atropina	27
11.6.2 - Fenoxibenzamina	27
11.7 - Técnicas de Administração da Solução de Contraste , da Fixação e da Preparação Histológica dos Baços Perfundidos com Drogas ..	27
 TABELAS	 29
 III - RESULTADOS	 34
111.1 - Resultado da Perfusão sobre a Lavagem do Sistema Vascular do Baço	34

III.2 - Circulação nos Baços não Estimulados (Baços Controle)	34
III.3 - Estimulações Adrenérgica e Colinérgica	37
III.3.1 - Estimulação pela Nor-Adrenalina (Nor-A)	37
III.3.1.1 - 1º Grupo	37
III.3.1.2 - 2º Grupo	37
III.3.1.3 - 3º Grupo	37
III.3.1.3.1 - Série A	37
III.3.1.3.2 - Série B	39
III.3.2 - Estimulação pelo Isoproterenol	42
III.3.3 - Estimulação pela Acetilcolina (ACh)	43
III.4 - Estimulação pelo Emprego de Drogas Vaso-Ativas	45
III.4.1 - Histamina	45
III.4.2 - Angiotensina II	46
III.4.3 - Nitrito de Sódio	47
III.5 - Bloqueio e Depleção Adrenérgica	47
III.5.1 - Bloqueadores com Ação sobre os Receptores α -adrenérgicos. ..	47
III.5.1.1 - Fenoxibenzamina (FBA)	47
III.5.1.2 - Ácido 2-Carboxibenzeno Selenínico (Se 2)	49
III.5.2 - Bloqueador com Ação sobre os Receptores β -adrenérgicos ..	49
III.5.2.1 - Propranolol	49
III.5.3 - Depleção Adrenérgica do Baço pela Reserpina	50
III.6 - Drogas Bloqueadoras da Ação Colinérgica	50
III.6.1 - Atropina	50
III.6.2 - Fenoxibenzamina	51
ILLUSTRAÇÕES	52

IV - DISCUSSÃO	81
IV.1 - Isolamento e Perfusão do Órgão	81
IV.2 - Inervação do Baço	82
IV.3 - Estimulação dos Receptores α -Adrenérgicos	82
IV.4 - Bloqueio dos Receptores α -Adrenérgicos	86
IV.4.1 - Fenoxibenzamina (FBA)	86
IV.4.2 - Ácido 2-Carboxibenzeno Selenínico (Se 2)	88
IV.5 - Depleção Adrenérgica pela Reserpina	89
IV.6 - Estimulação dos Receptores β -Adrenérgicos	89
IV.7 - Bloqueio dos Receptores β -Adrenérgicos	91
IV.8 - Estimulação pela Acetilcolina e Bloqueio da Ação Colinérgica ..	91
IV.9 - Ação de Drogas Vaso-Ativas sobre a Circulação do Baço	94
IV.9.1-Histamina	94
IV.9.2 - Angiotensina II	95
IV.9.3 - Nitrito de Sódio	97
V - CONCLUSÕES	98
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100

1 - INTRODUÇÃO

As pesquisas sobre a circulação sanguínea do baço , compreendendo seus aspectos morfológicos e funcionais , podem ser reunidas em quatro grupos .

1.1 - Grupo de Trabalhos que Utilizam Injeção Intravascular de Massas Contrastantes .

Neste primeiro grupo , estão incluídos alguns autores que tentaram elucidar o sistema vascular do baço utilizando substâncias contendo pigmentos , injetados no interior da rede vascular .

Os autores mais recentes (PAROLARI , 1957 ; ZAPPALÁ , 1958 ; BRANDÃO , 1973) , analisando os ramos arteriais que adentram no hilo do baço humano , confirmaram que estes ramos se arborizam independentemente , dentro do órgão , definindo um variado número de territórios vasculares . Segundo ZAPPALÁ (1958) , esta territorialidade é apenas relativa , pois ao nível da circulação arterial fina forma-se uma rede que se estende por todo o interior do órgão .

Para outros animais BRAITHWAITE & ADAMS (1956) , e LEWIS (1957) , fizeram referências sobre a arborização das artérias que partem do hilo do baço , tendo LEWIS (1957) usado preparações histológicas , paralelamente à técnica de injeção de neopreno .

Especificamente para o gato , LEWIS (1957) obteve , com moldes de neopreno , um sistema arterial arborescente , onde as artérias se apresentavam , por vezes , espiraladas e demonstravam constrições localizadas ao

longo do seu comprimento . As porções terminais arteriais dos moldes eram constituídas por pequenas massas de forma indefinida . A parte venosa apresentava, também , formação arborescente, com menor número de ramificações , e ausência de constrições . Iniciava-se a partir de um agregado de pequenas massas e se ligava ao conjunto de veias coletoras que , por sua vez , se reuniam a uma veia trabecular .

LEWIS (1957) estudou , em preparações histológicas , estas porções terminais da rede arterial e iniciais da rede venosa . Verificou-se que os capilares arteriais , depois de percorrerem os elipsóides esféricos (ou bainhas de Schweigger-Seidel) , terminavam sob forma de um funil , aberto nos espaços da polpa vermelha . Estes capilares eram constituídos apenas por endotélio fenestrado (em forma de grade) . Nas espécies animais que possuem seios (coelho , cão , homem) , estes seios apresentam constituição semelhante à das porções arteriais terminais . Para o gato , o autor não obteve evidências da presença de seios . No entanto , em ambos os casos , a circulação, depois de se processar de maneira aberta , através de espaços pulpare, atingia os seios , quando existentes , e depois as veias coletoras .

LEWIS (1957) admitia a ocorrência de canais que favoreciam a circulação mais direta , fluindo dos capilares arteriais para os seios venosos , não tendo entretanto demonstrado evidência histológica bem definida de sua existência .

1.2 - Grupo de Trabalhos Realizados com Técnica de Transluminção.

Neste conjunto estão agrupados os autores que estudaram a circulação sanguínea do baço , utilizando-se de baços exteriorizados , mas intactos . Destacaram-se , neste grupo , KNISELY (1936) , MACKENZIE ET AL. (1941) , PECK & HOERR (1951a ; 1951b) e PARPART ET AL. (1955) .

Nos quatro primeiros trabalhos , foi observado o baço exteriorizado ao microscópio , utilizando-se de iluminação através de um bastão de quartzo , tendo , por isso , sido chamada esta técnica de transluminação . PAR - PART ET AL. (1955) modificaram o sistema óptico usado pelo seu grupo , empregando microscópio composto , mas equipado com um condensador de sub-estágio , que conferia melhor condição óptica , o que , segundo estes autores , levou-os a resultados diferentes daqueles dos quatro primeiros trabalhos (como se relatará abaixo) .

KNISELY (1936) , utilizando baços de gatos , camundongos e ratos , analisou a morfologia da circulação terminal arterial e da inicial venosa , trajeto que ficou conhecido como a "circulação intermediária do baço", e descreveu a dinâmica da circulação através das porções arteriais e venosas.

Com respeito à morfologia da circulação intermediária , KNISELY (1936) descreveu ramos arteriais que ultrapassavam os nódulos linfóides (polpa branca) , dividindo-se , na polpa vermelha , em 2 a 6 ramos de artérias penicilares ; estes , após curta extensão (10 a 15 μ m) , dividiam-se em 2 a 5 ramos , constituindo os capilares arteriais . O capilar poderia desembocar num seio e este , por sua vez , abrir-se numa vênula coletora , ou o capilar poderia ligar-se a um conjunto de seios interligados , onde o último seio abrir-se-ia numa vênula coletora .

Alguns capilares arteriais poderiam atravessar a região dos seios e abrirem-se , diretamente , nas vênulas coletoras . Estes , denominados capilares longos , foram descritos por KNISELY (1936) como derivações do sistema venoso . Concluindo a descrição morfológica , o autor deixou elucidado que a circulação esplênica se processava através de vasos sanguíneos contínuos e a árvore arterial se ligava ao sistema venoso através de um elaborado sistema de seios . Estes apresentavam a peculiaridade de extravasar plasma , partículas de algumas células sanguíneas para os espaços extravascula -

res da polpa vermelha . Para este tipo de circulação , o autor criou o conceito de "circulação dividida" .

Com respeito à dinâmica da circulação do baço , KNISELY (1936) observou que os seios possuíam atividades cíclicas , compreendendo uma fase de condução , com filtração através das paredes dos mesmos e uma fase de armazenamento dentro dos seios ; nesta última fase efetuava-se , também , a filtração , o que determinava retenção das células sanguíneas , durante um longo período ; finalmente , em uma terceira fase , havia esvaziamento do seio , com o reinício da condução sanguínea para as vênulas coletoras .

Segundo KNISELY (1936) , estas atividades cíclicas dos seios eram controladas com precisão , por intermédio de esfíncteres localizados em pontos estratégicos , ao longo do sistema vascular : nas artérias , nos capilares arteriais e nas extremidades aferente e eferente dos seios venosos .

MACKENZIE ET AL.(1941) e PARPART ET AL.(1955) , tendo estudado , também , baços exteriorizados de camundongos , contestaram as idéias apresentadas por KNISELY (1936) . Para MACKENZIE ET AL. (1941) não existiria uma atividade cíclica dos seios , sendo a circulação esplênica mais ou menos contínua . Os capilares arteriais , para estes autores , se abriam diretamente nos espaços pulpare , através de uma abertura em forma de funil . Os seios venosos também se comunicariam amplamente com os espaços pulpare , recebendo o sangue provindo destes espaços .

Em resumo , MCKENZIE ET AL.(1941) e PARPART ET AL.(1955) negaram, formalmente , a teoria da circulação dividida preconizada por KNISELY (1936) , e defenderam , por outro lado , o conceito de circulação aberta . PARPART ET AL.(1955) ressaltaram que as anastomoses artério-venosas eram as únicas e esparsas vias de circulação fechada , ocorrendo predominância da circulação aberta .

PECK & HOERR (1951a ; 1951b) apresentaram dois trabalhos de

transluminção em baços de camundongo , onde , no primeiro (1951a) estes autores confirmaram plenamente os resultados de KNISELY (1936) , e no segundo trabalho (1951b) , impondo variações térmicas aos baços em observação , conseguiram explicar algumas das discrepâncias ocorridas entre as descrições de KNISELY (1936) e as de MCKENZIE ET AL. (1941) .

PECK & HOERR (1951b) , elevando gradativamente a temperatura dos baços em observação , de 37,5 °C para 40,5 °C , observaram que a fase de armazenamento dos seios esplênicos era progressivamente reduzida no tempo , tornando-se a circulação sanguínea , na temperatura de 40,5 °C , rápida e constante , ficando abolidas as ações esfínterianas dos seios (exceção feita às constrições observadas nas artérias e arteríolas) . Abaixo de 37,5°C, aumentava a atividade de armazenamento dos seios esplênicos , tornando-se esta atividade mais freqüente e com tempo mais prolongado .

Analisando detidamente a aparelhagem empregada por KNISELY (1936) e por MCKENZIE ET AL. (1941) , PECK & HOERR (1951) concluíram que , provavelmente , KNISELY tenha observado o baço sob temperatura abaixo de 37,5 °C , o que teria levado este autor a enfatizar a atividade cíclica dos seios , enquanto que MCKENZIE ET AL. (1941) teriam , possivelmente , mantido o baço em temperatura próxima de 40 °C , o que teria induzido os autores a concluir que a circulação esplênica se processava ao nível dos seios de modo contínuo , com ausência de qualquer atividade cíclica .

Quanto ao fato de MCKENZIE ET AL. (1941) terem postulado uma circulação aberta , PECK & HOERR (1951) explicaram esta discrepância com os seus resultados , justificando que as paredes dos capilares arteriais e dos seios esplênicos eram extremamente delgadas . Além disto , um sistema de observação como o utilizado por MCKENZIE ET AL. (1941) , que não eliminava totalmente as vibrações ambientais (de baixa amplitude , mas de alta freqüência) , não permitiria , realmente , visualizar estas delgadíssimas pare

des vasculares , o que teria induzido os autores a concluir pela circulação aberta no baço .

PAPPART ET AL. (1955) quando efetuaram trabalhos com a técnica da transluminação possuíam , em sua equipe , elementos que haviam trabalhado com MCKENZIE ET AL. (1941) . Modificando o sistema de iluminação , PAPPART e seu grupo confirmaram os resultados de MCKENZIE ET AL. (1941) , defendendo o conceito de circulação aberta no baço .

Vários trabalhos sobre a histologia da circulação do baço , que surgiram depois deste período (dos quais se fará menção abaixo) , esclareceram a morfologia dos seios esplênicos e reforçaram o conceito de "circulação dividida" , emitido por KISELY (1936) . Entretanto , os esfíncteres , preconizados por este autor não foram visualizados histologicamente , até o presente momento , embora alguns autores tenham feito alguma referência a estas estruturas (MIYOSHI ET AL. 1970 ; OPDYKE, 1970) .

Por outro lado, surgiram também vários outros trabalhos (dos quais se fará menção abaixo) que confirmaram , histologicamente, a circulação aberta preconizada por MCKENZIE ET AL. (1941) e PAPPART ET AL. (1955).

1.3 - Grupo de Trabalhos Realizados com Técnicas Histológicas Várias.

Neste conjunto estão agrupados alguns trabalhos de autores que , utilizando-se da microscopia óptica e da eletrônica , e através de várias técnicas de coloração e impregnação de cortes histológicos , contribuíram com novos dados para o conhecimento da circulação sanguínea esplênica .

SNOOK (1950) , empregando a técnica de impregnação argêntica , para evidenciar as fibras de reticulina e , utilizando-se de cortes seriados para obter a reconstrução gráfica do baço , documentou a estrutura da circulação esplênica em 15 espécies de mamíferos, entre os quais o gato . A morfo

logia da circulação arterial do baço do gato foi descrita desde os primeiros ramos arteriais , que adentram o órgão na região do hilo .

Segundo SNOOK (1950) , no baço de gato as artérias hilares dirigem-se para suas respectivas áreas , no interior de trabéculas , contrariamente aos demais mamíferos , que apresentam uma bainha de tecido linfóide acompanhando estes segmentos arteriais . A seguir , segundo o autor , as artérias se ramificariam , dando origem às artérias dos nódulos , geralmente excêntricas , e as artérias de polpa vermelha , as quais possuiriam estreita bainha de tecido linfóide e cuja ramificação daria origem às artérias pericilares .

A artéria do nódulo formaria uma rede capilar intranodular , com freqüentes anastomoses em alça . Alguns ramos desta rede abrir-se-iam , livremente , na zona marginal do nódulo . Esta zona marginal foi descrita como sendo estreita e mal delimitada , ao contrário do que ocorre , por exemplo , com o baço do rato . Eritrócitos eram freqüentes entre as células reticulares desta zona marginal .

Quanto às artérias pericilares , SNOOK (1950) descreveu-as como tendo , com freqüência , trajetos tortuosos ; após ramificarem-se , poderiam dar origem às artérias de polpa vermelha , às artérias revestidas por bainhas elipsóides e aos capilares arteriais terminais . Estes capilares se aprofundariam na polpa vermelha , onde se abririam em "escavações arredondadas" .

SNOOK (1950) não visualizou seios venosos nos baços de gatos , embora os tenha assinalado em baços de diversos outros mamíferos como , por exemplo , o rato , o cobaio , o coelho , o cão e o homem . A circulação vena , segundo o autor , no gato , se iniciaria a partir de vênulas primordiais , providas de paredes constituídas apenas por revestimento endotelial , que com disposição arborescente se ligariam , após curto trajeto , com uma

vênula coletora . Estas vênulas receberiam gradual reforço do tecido trabecular , com o qual entram em contacto .

SNOOK (1950) concluiu que , para os baços sinusais (aqueles providos de seios venosos) , havia concordância entre seus resultados e os de KNISELY (1936) . Para os baços não sinusais (com ausência de seios , tal como ocorre , por exemplo , no gato , no cavalo , na vaca , no porco) seus resultados concordavam com a descrição fornecida por MACKENZIE ET AL. (1941) .

Entretanto , mais tarde , SNOOK (1958) , estudando o baço do coelho , viria a descrever que neste animal, mesmo sendo o baço provido de numerosos seios venosos , a circulação sanguínea se processaria de maneira aberta , isto é , percorreria um trecho de tecido reticular situado entre o capilar arterial terminal e o seio venoso mais próximo .

Com relação à circulação na polpa branca , SNOOK (1964) acrescentou que a região perifolicular do baço de ratos apresentava espaços vasculares , localizados entre o nódulo e a zona marginal , chamando-os de "seios marginais" ; a circulação arterial do nódulo adentraria por estes seios marginais para , a seguir , difundir-se através da zona marginal .

HADLER (1962) , através da técnica de impregnação argêntica modificada , que ao contrário da técnica empregada por SNOOK (1950) , não impregnava fibras de reticulina , elucidou vários aspectos morfo-funcionais da circulação esplênica nos vertebrados , e demonstrou relações entre as células do retículo celular e os vasos sanguíneos do baço .

Para HADLER (1962) , a técnica utilizada permitiu distinguir as células reticulares das células endoteliais dos seios esplênicos . ; estas células sinusais , por sua vez , eram envolvidas externamente por prolonga - mentos celulares das células reticulares da polpa vermelha . Ainda , na pol - pa vermelha , o autor descreveu que as células do retículo celular se rela -

cionavam com as artérias penicilares , e verificou que grandes células reticulares modificadas participavam da formação das bainhas elipsóides , que revestem segmentos das arteríolas da polpa vermelha do gato .

Na polpa branca , HADLER (1962) encontrou , igualmente , relação íntima entre o retículo celular e as arteríolas intranodulares , especialmente entre a coroa argentófila peri-nodular e as arteríolas situadas nesta região .

Mais tarde HADLER ET AL. (1968) , associando a técnica de impregnação argêntica e contrastando com Azul da Prússia em suspensão , injetado através do sistema arterial , viria a descrever um plexo arterial peri-nodular , desenvolvido , por exemplo , no rato e pouco delineado no gato e no homem . Seu grau de desenvolvimento está relacionado com a nitidez da coroa argentófila peri-nodular .

Encerrando a análise dos principais trabalhos sobre circulação esplênica , baseados na observação microscópica óptica , cumpre citar VON HERRATH (1954) e TISCHENDORF (1961) , que descreveram o baço humano como órgão provido de rede circulatória contínua e fechada .

A microscopia eletrônica , especialmente a microscopia de varredura , foi empregada , com o propósito de esclarecer dúvidas e discrepâncias morfológicas relacionadas com a circulação do baço . Os trabalhos de MIYOSHI ET AL. (1970 ; 1971) ; MURAKAMI ET AL. (1973) e FUJITA (1974) , efetuados com microscopia de varredura , trouxeram contribuição para a morfologia da vascularização do baço , especialmente quanto à estrutura dos seios venozos .

MIYOSHI ET AL. (1970) demonstraram que os seios esplênicos , no coelho , são constituídos por células endoteliais alongadas , com disposição paralela , possuindo interconexões laterais , o que confere estrutura em grade à parede sinusal . Os autores assinalaram que , na região onde os seios

se ramificam, as células sinusais apresentavam disposição retorcida, determinando diminuição da luz sinusal. Tal estrutura poderia estar relacionada com os "esfíncteres" descritos por BJÖRKMAN (1947), HERRLINGER (1949) e TISCHENDORF (1959), in MIYOSHI ET AL. (1970) ..

O arranjo em grade, das paredes sinusais, foi demonstrado também para o baço do cão e do rato por MIYOSHI ET AL. (1971) e LEBLOND (1973), ressaltando MIYOSHI ET AL. (1971) que, no rato, as aberturas da grade provavelmente facilitariam as trocas sanguíneas entre os seios e a polpa vermelha.

MURAKAMI ET AL. (1973), utilizando-se de modelos plásticos obtidos por injeções vasculares efetuadas na rede vascular de baços de ratos, demonstraram, ao microscópio de varredura, que a circulação se processa através de canais vasculares contínuos, isto é, toda terminação arterial se comunica diretamente com um seio venoso.

FUJITA (1974), usando a microscopia de varredura, descreveu, no baço humano, terminações arteriais que se abriam nos espaços reticulares da polpa vermelha. Os capilares terminais, segundo ele, apresentavam suas paredes perfuradas.

SAKUMA (1968), estudando ao microscópio eletrônico a circulação do baço de cães e camundongos, assinalou que grande parte dos ramos distais do sistema arterial, situados na polpa vermelha, parecem terminar em canais abertos. Estas terminações arteriais eram circundadas por células reticulares e trombócitos.

PICTET ET AL. (1969), estudando ao microscópio eletrônico a circulação sanguínea do baço de ratos, sugeriu um sistema circulatório no qual cerca de 97 % do sangue que entra no baço fluiria diretamente dos capilares para dentro dos seios venosos. A fração de 3 %, que circula através dos interstícios das paredes dos seios, manteria contacto com os macro-

fagos dos condões de Billroth da polpa vermelha . As células sanguíneas envelhecidas seriam então retidas pelos macrófagos , enquanto que as células normais alcançariam um seio venoso , voltando à corrente circulatória .

WEISS (1972) admitiu que diferentes vias circulatórias podem estar presentes no baço . Para este autor , os vasos arteriais podem finalizar-se tanto na polpa branca , quanto na periferia desta , isto é , na zona marginal e também na polpa vermelha ; nesta , a arteríola pode terminar nos condões pulpaes , nas proximidades de um seio . Admitiu o autor que as terminações arteriais podiam se dar através de vasos com a dimensão de um capilar , ou através de vasos com as dimensões de arteríolas .

WEISS (1972) , referindo-se à disparidade encontrada , na literatura , entre os autores que trabalharam com técnica de transluminação e os demais trabalhos que empregaram técnicas histológicas , propôs que , possivelmente , a circulação esplênica fosse anatomicamente aberta , mas fisiologicamente operando como uma circulação do tipo fechado . O autor lembrou que , em câmaras transparentes colocadas na orelha de coelhos , o sangue , depois de percorrer os terminais arteriais , atingia os vasos venosos após circular através de canais extravasculares , não provido de endotélio . Estas vias extravasculares eram igualmente eficientes na condução do fluxo sanguíneo , podendo o mesmo acontecer com a circulação esplênica .

Em resumo , os trabalhos deste grupo , especialmente os que se basearam na microscopia de varredura , confirmaram a natureza fenestrada das paredes dos vasos sinusais , o que explica a presença de abundantes células sanguíneas no retículo celular da polpa vermelha . Por outro lado , a ligação entre o sistema arterial e o sistema venoso continua sendo ponto de debate entre os vários autores citados , mesmo entre os pertencentes ao mesmo grupo (MIYOSHI , 1970 ; NURAKAMI , 1973 ; FUJITA , 1974) . A este respeito , têm sido admitidas variações morfológicas importantes , tal como a circulação

arterial aberta , abrindo-se o capilar no retículo celular , ou a circulação exclusivamente fechada . Estas variações estariam relacionadas com as diferentes espécies animais estudadas .

1.4 - Grupo de Trabalhos que Estudam Aspectos da Hemodinâmica da Circulação Esplênica .

O estudo da hemodinâmica da circulação do baço tem evoluído paralelamente com o desenvolvimento de trabalhos sobre a inervação autônoma do órgão . Os trabalhos que , especificamente , tratam da inervação do baço serão discutidos posteriormente . Agora serão analisados os trabalhos que se relacionam com a estimulação nervosa esplênica , ou com a cinética da eliminação de eritrócitos .

1.4.1 - Trabalhos Efetuados com o Uso da Estimulação Elétrica e da Administração de Fármacos .

ARVY (1965) , analisando a riqueza do baço em catecolaminas , registrou que numerosos farmacologistas (VAIREL , 1933 ; SAAD , 1935 ; GRINDLAY ET AL. , 1939 ; GENAZZANI & NITO , 1952 ; OTTIS ET AL. , 1957 ; SCOTT , 1957 ; BURN & RAND , 1958 ; 1960 ; BRANDON & RAND , 1961 ; BICKERTON , 1962 ; 1963 ; INNES , 1962) , in ARVY (1965) , se ocuparam do estudo da contração de fatias de tecido esplênico (ou do órgão todo) , quando em contacto com Catecolaminas , ou de seus antagonistas . No entanto , nenhuma destas pesquisas foi acompanhada do exame morfológico esplênico , seja antes ou após o ensaio farmacodinâmico .

Esta situação modificou-se quando GILLESPIE (1966c) , reexaminando seus trabalhos anteriores associou , à sua metodologia , técnicas de

observação histológica . Assim , BROWN & GILLESPIE (1957) , estimulando eletricamente as fibras nervosas do baço do gato , e medindo a quantidade de Nor-A na veia esplênica , verificaram que a quantidade de Nor-A , liberada pelo baço , dependia da frequência da estimulação . Observaram , ainda , que a quantidade de Nor-A , liberada pelo estímulo , poderia ser muito aumentada , quando se administravam agentes bloqueadores adrenérgicos , como a fenoxibenzamina .

Posteriormente , GILLESPIE & KIRPEKAR (1965) propuzeram que a Fenoxibenzamina , além de bloquear os receptores para a Nor-A , também agiria sobre as terminações nervosas , impedindo a reincorporação da Nor-A pelas fibras nervosas , sendo esta a maior causa do aumento da Nor-A no sangue venoso do baço bloqueado por essa droga .

GILLESPIE & KIRPEKAR (1966a) , julgando que a reincorporação de Nor-A , por parte das terminações nervosas , era uma suposição baseada em evidência indireta , procuraram evidência direta , infundindo Nor-A radioativa , através da circulação do baço . Após certo período de tempo , obtiveram Nor-A radioativa quando se procedia à estimulação nervosa do baço , obtendo a evidência direta .

Nestas experiências , os autores se preocuparam em localizar histoquimicamente a Nor-A (GILLESPIE & KIRPEKAR , 1966b) . Usando a técnica de fluorescência de FALCK ET AL. (1962) , in GILLESPIE (1966c) e a técnica de autoradiogramas , em cortes de baço , os autores demonstraram a localização da Nor-A endógena (demonstrada por fluorescência) e compararam-na com a localização da Nor-A exógena (demonstrada pelo autoradiograma) . Estas localizações foram coincidentes . A Nor-A se encontrava , no baço do gato , nas fibras nervosas e nas vizinhanças da fibra muscular lisa , isto é , nas camadas profundas da cápsula , nas trabéculas , na porção externa da túnica média das artérias e no revestimento trabecular das veias . Nas artéri-

as , as fibras fluorescentes adrenérgicas foram encontradas ao longo de todas as arteríolas , quando as células musculares lisas estavam presentes , mas desapareciam ao nível dos elipsóides .

GILLESPIE (1966c) reexaminou a possibilidade de demonstrar a fluorescência devida à Nor-A ligada aos receptores das células musculares lisas . Infundindo , no baço , quantidades muito maiores de Nor-A , até 50 vezes acima da quantidade fisiológica , o autor esperou saturar a capacidade de reincorporação de Nor-A por parte da inervação e , ao mesmo tempo , ocupar todos os receptores , inclusive os de reserva , caso existissem . Após a infusão de Nor-A , nesta dose , a fluorescência da fibra muscular lisa aumentava , particularmente nas artérias e arteríolas . Uma brilhante fluorescência concentrou-se em torno dos nódulos linfóides do baço . Esta fluorescência era acompanhada de intensa contração das arteríolas existentes neste local .

Foi encontrada fluorescência na membrana das células musculares lisas ; quando em secções longitudinais , a fluorescência estava presente ao longo da membrana celular e , nas secções transversais , encontrava-se ao redor de toda a sua circunferência .

Baços tratados , previamente , pela Fenoxibenzamina não demonstraram fluorescência na membrana das células musculares lisas . Estes resultados sugeriam , para GILLESPIE (1966c) , que a membrana celular da fibra muscular lisa pode reter Nor-A infundida e que a Fenoxibenzamina , especificamente , anula a capacidade de retenção dos receptores da Nor-A , situados na membrana da fibra muscular lisa .

Em resumo , estes trabalhos (BROWN & GILLESPIE , 1957 ; GILLESPIE & KIRPEKAR , 1965 ; 1966a ; 1966b e GILLESPIE , 1966c) esclareceram que a liberação do transmissor adrenérgico , no baço , dependia da frequência da estimulação , e que bloqueadores adrenérgicos aumentavam a liberação da Nor-A infundida . Comprovaram , ainda , que a Nor-A infundida era incorpo-

nada pelas terminações nervosas , assim como pelos seus receptores situados junto à membrana das fibras musculares lisas . Histoquimicamente , estes autores encontraram a Nor-A ligada aos receptores .

Trabalhos com estimulação nervosa esplênica , em gatos , nos quais foi utilizada solução fisiológica de composição iônica adequada , para perfusão do órgão , foram continuados por KIRPEKAR & WAKADE (1968a e 1968b). Estes autores , estudando a liberação e a reincorporação de Nor-A infundida , em baços de gatos , concluíram que a liberação da Nor-A, dos nervos esplênicos, dependia da presença de íons Cálcio , na solução de perfusão . Também , observaram que a presença de íons Sódio era necessária para a reincorporação da Nor-A , nos nervos adrenérgicos , sendo este processo dependente de energia .

1.4.2 - Trabalhos que Estudam Aspectos da Cinética da Eliminação de Eritrócitos .

SONG & GROOM (1971a), utilizando-se de baços de gatos isolados e perfundidos com solução de Ringer , estudaram a cinética da eliminação de eritrócitos do baço , quando submetidos à perfusão . Demonstraram que os eritrócitos , contidos no baço , correspondem a um sistema compartimental , constituído de três compartimentos : rápido , intermediário e lento .

O compartimento rápido indicaria a presença de um circuito de escoamento análogo ao verificado para os leitos vasculares comuns do organismo . O compartimento intermediário corresponderia aos eritrócitos em reserva , no órgão , pois com a perfusão efetuada em baços previamente contraídos pela Nor-A , este compartimento apresentava-se reduzido a 1/3 do valor encontrado para baços não contraídos (GROOM & SONG , 1971b) .

O estudo histológico dos baços (SONG & GROOM 1971c) , efetuado em diferentes estágios da perfusão , permitiu correlacionar os comparti -

mentos (rápido , intermediário e lento) com a situação dos eritrócitos no interior do baço . O rápido corresponderia às células livres no interior dos vasos; o intermediário relacionar-se-ia às células localizadas entre os seios ; o lento corresponderia às células aderidas às paredes sinusais . O estudo das características físicas dos eritrócitos obtidos durante a perfusão, demonstrou que as células do compartimento rápido e intermediário eram idênticas às células encontradas na circulação arterial e que as células do compartimento lento eram células eritrocitárias com características físicas (pêso e volume) de células jovens (GROOM & SONG , 1971d) . Medindo a percentagem de reticulócitos , no decorrer da perfusão , SONG & GROOM (1972) demonstraram que o compartimento lento era constituído , essencialmente , por reticulócitos . Os autores formularam a hipótese de que o baço seqüestaria reticulócitos da corrente sanguínea , os quais permaneceriam , em seu interior , até sua maturação .

OPDYKE (1970), administrando Nor-A a baços de cão , observou que esta droga eliminava do órgão os eritrócitos armazenados , elevando o valor do hematócrito do sangue efluente . Observou , ainda , que o Isoproterenol aumentava o volume do sangue efluente , sem aumentar o valor do hematócrito venoso . OPDYKE & WARD (1973) observaram que a capacidade do baço de cães , em responder à estimulação simpática , desaparecia quando o órgão era submetido à hipotensão severa e prolongada .

1.5 - Bases da Técnica Utilizada no Presente Trabalho .

Os trabalhos anteriormente comentados revelam que o baço do gato tem-se demonstrado adequado para o estudo da dinâmica da circulação . Por outro lado , foi demonstrado que órgãos , isolados e perfundidos adequadamente, mantem durante várias horas suas características fisiológicas (PARST ET AL.

1974 ; SONG & GROOM , 1971a; ATKINS ET AL., 1970 ; KIRPEKAR & MISU , 1967) ; devido a estes motivos estudou-se , no presente trabalho , o baço do gato isolado e perfundido com solução fisiológica . Através do sistema de perfusão , foram adicionadas drogas estimuladoras e bloqueadoras da ação nevosa simpática do órgão e os resultados da ação dessas drogas , sobre a circulação do baço , foram analisadas histologicamente . Para facilitar a interpretação histológica , foi empregada uma suspensão corada , que foi injetada no sistema arterial . Com o emprego desta técnica , pretendeu-se verificar possíveis vias diferentes de circulação arterial , no baço do gato , vias estas controladas pelos neuro-transmissores .

II - MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados baços de 62 gatos , de ambos os sexos , com pesos compreendidos entre 1,5 e 3,5 Kg (peso médio de 2,4 Kg) . Os animais , após terem sido capturados , foram conservados vários dias em gaiolas, com a finalidade de atenuar o "stress" causado pela captura e , também , de rejeitar as fêmeas em estado de gravidez avançada .

II.1 - Isolamento e Perfusão do Baço .

A experimentação se desenvolveu em baços isolados e perfundidos conforme o procedimento descrito abaixo e ilustrado na Figura 1 .

Os gatos foram anestesiados, por via intravenosa (veia femoral), pelo Pentobarbital Sódico , na dose de 35 mg / Kg de peso corporal , tendo sido reforçada a anestesia quando o reflexo óculo-palpebral reaparecia durante a cirurgia .

Praticada a laparotomia , o baço era separado das conexões vasculares e do ligamento gastro-esplênico , entre ligaduras . A fim de evitar qualquer efeito sobre o órgão , as ligaduras foram feitas o mais distalmente possível do órgão . Livrado o estômago , procedia-se à denervação da artéria esplênica , para evitar a constricção arterial decorrente da manipulação na região . A seguir , após ter sido envolvido em gaze umedecida em solução de Krebs aquecida , o baço era rebatido para a esquerda e separado das porções restantes do omento .

Estando então o baço ligado ao corpo do animal apenas pela artéria e pela veia esplênicas , procedia-se à canulação de ambas , tendo-se o

cuidado de abrir , previamente , a veia esplênica antes de canular-se a artéria . O órgão , logo após o isolamento do corpo do animal , era removido , o mais rapidamente possível , e depositado dentro de uma câmara forrada com gaze e repleta de solução de Krebs , aquecida a 37°C , onde o baço permanecia inteiramente submerso .

A câmara , assim como a solução de Krebs usada para perfundir o órgão , eram colocadas em banho-maria regulado para 37°C . A quantidade de NaHCO_3 da solução de Krebs foi reduzida pela metade , a fim de atingir o pH de 7,4 , após aeração com Carbogênio (95% de O_2 e 5% de CO_2) .

A perfusão do baço foi feita através de uma bomba de infusão , conforme o esquema da Figura 1 . Esta bomba tem como característica uma velocidade de infusão constante . No capítulo dos "Resultados" serão mencionadas as variações de efluente ocorridas . Estas variações , dada a constância de fluxo , se referirão , necessariamente , às variações de volume do órgão ocorridas durante a perfusão de estimulação . A solução de Krebs , depois de impulsionada pela bomba , passava por uma serpentina mergulhada no mesmo banho-maria que continha o frasco da solução de Krebs e a câmara contendo o baço . Após a eliminação das bolhas de ar contidas nas cânulas , ligava-se a artéria esplênica ao sistema de perfusão , previamente colocado em funcionamento , utilizando-se cânulas padronizadas com 3 m de comprimento e vazão de 160 a 650 ml / hora .

A perfusão do órgão , efetuada com a finalidade de lavar a rede circulatória , processava-se durante 40 a 60 minutos , na dependência do tamanho do órgão . Estabeleceu-se , como padrão , o fluxo de 7 ml / minuto , com pressão de 55 mmHg , na ponta da agulha que adentra a artéria esplênica . Órgãos maiores foram perfundidos com fluxo de 9 ml / minuto e pressão de 93 mmHg ; nestes casos , tomou-se o cuidado de , 10 minutos antes de terminar a lavagem , retornar o fluxo para 7 ml / minuto .

Durante o período de lavagem, o volume do efluente foi coletado e periodicamente controlado o fluxo, ou seja, o volume / minuto. O fluxo de efluente, após o início da perfusão, decorridos alguns minutos de estabilização do sistema, atingia o valor de 7 ml / minuto.

Uma vez que o diâmetro e o comprimento das cânulas eram padronizados, havia um lapso de 8 segundos entre a entrada da solução de Krebs na cânula aferente e a saída do efluente na cânula eferente, independentemente da variação de volume dos baços.

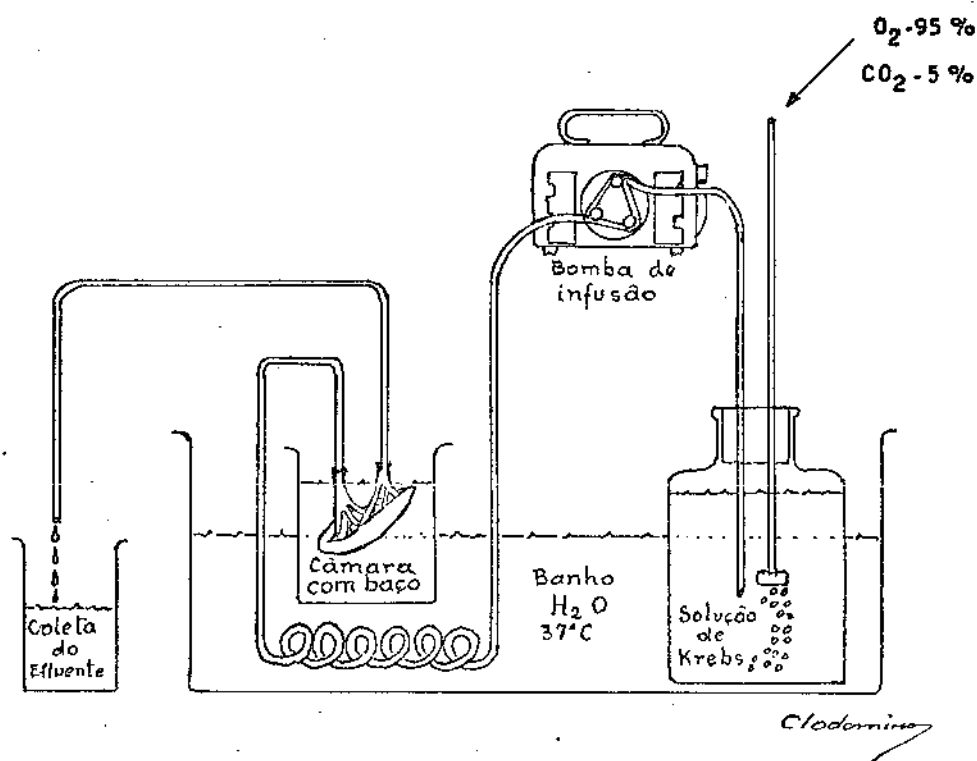


Figura 1 - Diagrama esquemático do sistema de perfusão.

11.2 - Baços não Estimulados (Baços Controle).

Dez baços foram perfundidos segundo a técnica acima explicada. A seguir foi administrada, a cada um deles, via sistema de perfusão, solução de NaCl a 0,9%, contendo Azul da Prússia a 1,5%, em suspensão, durante 2 minutos. Em continuação, ligavam-se a artéria e a veia esplêni-

cas e mergulhava-se o baço em solução fixadora de Picro-formol acético de Duboscq-Brasil (Bouin Alcoólico), previamente resfriado a -20°C . Excluindo a administração de drogas , estes 10 baços receberam o mesmo tratamento que os órgãos estimulados , sendo por isso considerados como baços controle.

Após 18 a 24 horas de fixação , os baços foram recontados em fatias , com aproximadamente 0,5 cm de espessura e transferidas para álcool a 70 % , contendo 10 % de Acetato de Amônia . As fatias foram hidratadas, após eliminação do Ácido Pícrico da solução fixadora , e , a seguir , foram conservadas em solução de Formalina a 15 % , contendo 3 g % de Cloreto de Cálcio .

Para as preparações histológicas , foram escolhidas amostras das porções extremas e central do baço , tendo sido cortadas por micrótomo de congelção , com espessuras de 20 , 40 , 80 , 120 ou 200 nm . Os cortes foram corados por solução de Carmim-Acético , ou solução de Carmim-Alume , ou ainda , por solução diluída de Hematoxilina e Eosina , desidratados e montados em bálsamo do Canadá .

Com a finalidade de se obter maiores detalhes histológicos , alguns fragmentos de baço foram incluídos em parafina , cortados com espessura 5 , 10 ou 20 nm e corados pela Hematoxilina e Eosina , ou pelo Tricrômico de Gomori .

11.3 - Estimulações Adrenérgicas e Colinérgicas.

Os baços foram isolados e previamente lavados por perfusão , conforme descrito acima . Exceto indicação em contrário , as estimulações foram procedidas por administração da droga intra-arterialmente , através do sistema de perfusão .

11.3.1 - Estimulação pela Nor-Adrenalina (Nor-A) .

Empregou-se a Nor-Adrenalina (em concentrações variadas), com o propósito de pesquisar a ação da estimulação dos receptores α -adrenérgicos sobre a circulação do baço . Foram realizados 3 grupos de experimentações (Tabela 1), com a seguinte finalidade :

11.3.1.1 - 1º Grupo : Fornecer avaliação da dose e da técnica a serem empregadas . Foram usados 3 baços , com administração intra-arterial direta (artéria esplênica) de 1 ml de solução de Nor-A , contendo 50 , 40 e 35 μ g , durante 1 minuto . Os baços responderam com acentuada contração , que se iniciava nas porções proximais do hilo , por onde se efetuava a perfusão da Nor-A . Esta contração impedia que o restante do órgão recebesse uniformemente a droga , impedindo também a homogeneização da Nor-A dentro do órgão . Por esta razão , optou-se pela administração mais prolongada , via sistema de perfusão , diminuindo-se concomitantemente a dose empregada .

11.3.1.2 - 2º Grupo : Como decorrência do 1º grupo , aplicaram-se , nos 5 baços consecutivos , doses de Nor-A de 25 a 0,25 μ g , em tempos decrescentes de 20 a 5 minutos , conforme a Tabela 1 . Para estas doses , os baços responderam com menor contração (mais acentuada para as doses superiores a 1 μ g) . Entretanto , o tempo de administração demonstrou-se excessivo , porque , ao seu final , quando se iniciava a aplicação do contraste , o órgão já não apresentava a contração máxima conseqüente àquela estimulação . Por este fato , dentro deste grupo , foram testados tem -

pos de administração cada vez menores , tendo-se chegado a delimitar o tempo de administração da droga em 3 minutos , seguidos de 2 minutos para a administração da solução do contraste (contendo esta a mesma concentração de Nor-A) . Considerou-se, pois , o tempo total de estimulação como sendo de 5 minutos.

11.3.1.3 - 3º Grupo : Tendo-se estabelecido o tempo de estimulação , procederam-se às 12 experiências subseqüentes , com doses decrescentes de Nor-A , conforme a Tabela 1 , com a finalidade de pesquisar a possível relação entre concentração de Nor-A e o padrão de circulação dentro do órgão . Estas 12 experiências foram agrupadas em 2 conjuntos , chamados de Série A e Série B .

11.3.1.3.1 - Série A - compreende 3 baços estimulados , respectivamente , com doses de 2 , de 4 e de 6 $\mu\text{g} / \text{ml}$. Decidiu-se não experimentar doses superiores , devido à homogeneidade da resposta com 4 e 6 $\mu\text{g} / \text{ml}$.

11.3.1.3.2 - Série B - compreende 9 baços estimulados com Nor-A em doses decrescentes , compreendidas entre 1 $\mu\text{g} / \text{ml}$ e 4 ng / ml .

11.3.2 - Estimulação pelo Isoproterenol .

Empregou-se o Isoproterenol em concentrações de 10 , de 2 e de 1 $\mu\text{g} / \text{ml}$ (Tabela 11) , com a finalidade de pesquisar a ação da estimulação dos receptores β -adrenérgicos sobre a circulação do baço . Foram utilizados 3 baços , tendo sido todos estimulados em tempo padronizado de 5 minutos , conforme a técnica anteriormente referida .

11.3.3 - Estimulação pela Acetilcolina (ACh) .

Empregou-se a Acetilcolina nas concentrações de 5 a 120 $\mu\text{g/ml}$ (Tabela III) , com a finalidade de pesquisar a ação da estimulação colinérgica sobre a circulação do baço . Foram utilizados 10 baços e a estimulação procedeu-se durante o período de 5 minutos , de acordo com a técnica padronizada .

11.4 - Estimulação por Drogas Vaso-Ativas .

Obedecendo à técnica padronizada , empregaram-se a Histamina , a Angiotensina II e o Nitrito de Sódio , com a finalidade de pesquisar possíveis influências destas drogas sobre a circulação do baço (Tabela IV) .

11.4.1 - Histamina .

Foram experimentados 2 baços , tendo-se administrado as doses de 0,5 e de 2,0 $\mu\text{g / ml}$, durante 5 minutos .

11.4.2 - Angiotensina II .

Foram experimentados 2 baços , tendo-se administrado as doses de 0,4 e de 2,0 $\mu\text{g / ml}$, durante 5 minutos .

11.4.3 - Nitrito de Sódio .

Foi experimentado 1 baço , tendo-se administrado a dose de 100 $\mu\text{g / ml}$, durante 5 minutos .

11.5 - Bloqueio e Depleção Adrenérgica .

11.5.1 - Bloqueadores com Ação sobre os Receptores α -Adrenérgicos .

11.5.1.1 - Fenoxibenzamina (FBA) : Empregou-se esta droga em 5 animais, tendo-se variado a dose e o modo de administração (Tabela V). No primeiro animal , empregou-se a FBA intravenosamente (veia femoral), após anestesia , antes do início do isolamento do baço , na dose de 5 mg / Kg de peso corporal . Durante a perfusão do baço , a solução de Krebs continha FBA na concentração de 5 μ g / ml .

No segundo animal , reduziu-se a dose de FBA injetada intravenosamente para 4 mg / Kg de peso corporal e aumentou-se a dose de FBA administrada pelo sistema de perfusão para 15 μ g / ml . Temendo-se um efeito secundário da FBA sobre o órgão , devido ao tempo longo de perfusão (60 minutos), realizou-se a terceira experiência , onde não se administrou FBA via venosa antes do isolamento do baço .

A droga foi administrada pelo sistema de perfusão , intra-arterialmente , na dose de 60 μ g / ml , durante 20 minutos .

Tendo sido demonstrada excessiva esta dose , efetuou-se a quarta experiência , na qual o animal recebeu injeção intravenosa de 4 mg / Kg de peso corporal e administração intra-arterial de 0,1 μ g / ml , durante 10 minutos .

Tendo-se verificado o efeito duradouro da FBA , por administração intravenosa , procedeu-se à quinta experiência , onde se administrou FBA (3 mg / Kg de peso corporal) apenas intravenosamente (veia femoral) , antes do isolamento do baço . Es

te baço , após a perfusão de lavagem rotineira , recebeu Nor-A na dose de 2 μg / ml , durante 5 minutos .

11.5.1.2 - Ácido 2-Carboxibenzeno Selenínico (Se 2) : Esta droga foi empregada em 2 baços , nas concentrações de 10 e de 60 μg / ml , injetada através do sistema de perfusão , durante todo o período de perfusão (Tabela III) .

11.5.2 - Bloqueador com Ação sobre os Receptores β -Adrenérgicos .

11.5.2.1 - Propranolol : Foi empregado em 3 baços (Tabela V) . No primeiro , a dose foi de 30 μg / ml , durante 5 minutos , administrada através do sistema de perfusão . Na segunda experiência , administrou-se , previamente , 1 mg / Kg de peso corporal na veia femoral ; via o sistema de perfusão , o baço recebeu 20 μg / ml , durante 10 minutos . Na terceira experiência , reduziu-se a dose de Propranolol para 1,0 μg / ml , durante 10 minutos , usando-se , ainda , a mesma via . Nas duas últimas experiências , após o bloqueio β -adrenérgico , os baços receberam administração de Isoproterenol , na dose de 2 μg / ml , durante 5 minutos , via intra-arterial , através do sistema de perfusão .

11.5.3 - Depleção Adrenérgica do Baço pela Reserpina .

A Reserpina foi empregada em 2 baços (Tabela V) . No primeiro baço , foi administrada por via intramuscular , 24 horas antes da esplenectomia , na dose de 3 mg / Kg de peso corporal . No segundo , empregou-se a droga pelo sistema de perfusão , na dose de 100 μg / ml , durante 6 minutos . A depleção pela Reserpina , nesta última experiência , se proces -

sou durante o período de lavagem do órgão .

11.6 - Drogas Bloqueadoras da Ação Colinérgica .

11.6.1 - Atropina .

Foi empregada em 1 baço , por administração intra-arterial , via sistema de perfusão , na dose de 10 μg / ml , durante 15 minutos . Administrou-se , após , Acetilcolina na dose de 60 μg / ml , durante 5 minutos (Tabela VI) .

11.6.2 - Fenoxibenzamina .

A ação constritora da Acetilcolina não foi bloqueada pelo emprego prévio da Atropina . Em decorrência deste resultado , surgiu a possibilidade de que a constrição , ocorrida sob o emprego da ACh , fosse mediada pelo sistema adrenérgico . Para se evidenciar esta possibilidade , estimulou-se 1 baço com Acetilcolina , tendo sido este previamente bloqueado pela FBA . A FBA foi administrada intravenosamente (veia femoral) , na dose única de 8 mg (na proporção de 4 mg / Kg. de peso corporal) . Após a perfusão de rotina , este baço recebeu Acetilcolina , na dose de 60 μg / ml , durante 5 minutos .

11.7 - Técnica de Administração da Solução de Contraste , da Fixação e da Preparação Histológica dos Baços Perfundidos com Drogas .

Após a administração dos agentes farmacológicos , prosseguia-se a perfusão administrando-se a suspensão de contraste , durante 2 minutos .

Este era constituído de suspensão de Azul da Prússia , a 1,5 % , em solução de NaCl a 0,9 % , contendo quantidade idêntica da droga * previamente administrada. Ao término desta perfusão contrastante , ligavam-se a artéria e a veia esplênicas e mergulhava-se , rapidamente , o baço em solução fixadora de Picro-formol acético de Duboscq-Brasil (Bouin Alcoólico) , previamente resfriada a -20°C . Em 3 experiências , congelaram-se os órgãos em Nitrogênio líquido , antes de se proceder à fixação . Todos os baços , após fixados , receberam o mesmo tratamento histológico descrito para os baços controle .

* As drogas utilizadas tiveram a seguinte procedência : Pentobarbital Sódico - Abbott ; Nor-Adrenalina (Nor-A) - Byk ; Propranolol - Ayerst ; Isoproterenol - Boehringer-Ingelheim ; Reserpina - Ciba ; Acetilcolina (ACh) - Roche ; Atropina - Abbott ; Histamina - Koch Light ; Nitrito de Sódio - Baker ; Angiotensina II - doação de Dr. A.C.M. Paiva , do Departamento de Bio-física e Fisiologia da Escola Paulista de Medicina ; Fenoxibenzamina (FBA) - doação de G.H. Schlosser da Smith Kline & French International Co ; Ácido 2-Carboxibenzeno Selenínico (Se 2) - doação do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP .

TABELA 1

Estimulação pela Nor-A em 20 baços

	Dose em ng / ml		Duração da Administração em minutos
<u>1º grupo</u> Administração Intra-arterial direta (artéria esplênica)	$5,0 \times 10^4$		1
	$4,0 \times 10^4$		1
	$3,5 \times 10^4$		1
<u>2º grupo</u> Administração Intra Arterial via sistema de perfusão , em tempo superior a 5 minutos	$2,5 \times 10^4$		20
	$1,0 \times 10^3$		15
	$1,0 \times 10^3$		10
	$0,5 \times 10^3$		10
	$0,25 \times 10^3$		5
<u>3º grupo</u> Administração Intra Arterial via sistema de perfusão , em tempo padronizado	SÉRIE A	$2,0 \times 10^3$	5
		$4,0 \times 10^3$	5
		$6,0 \times 10^3$	5
	SÉRIE B	$1,0 \times 10^3$	5
		$0,50 \times 10^3$	5
		$0,25 \times 10^3$	5
		$1,25 \times 10^2$	5
		$6,0 \times 10$	5
		$3,0 \times 10$	5
		$1,5 \times 10$	5
		8,0	5
		4,0	5

TABELA II

Estimulação pelo Isoproterenol em 3 baços

Dose administrada intra arterialmente , durante 5 minutos , via sistema de perfusão
10 $\mu\text{g} / \text{ml}$
2 $\mu\text{g} / \text{ml}$
1 $\mu\text{g} / \text{ml}$

TABELA III

Estimulação pela ACh em 10 baços

Dose administrada intra arterialmente , durante 5 minutos , via sistema de perfusão
5 $\mu\text{g} / \text{ml}$
10 $\mu\text{g} / \text{ml}$
20 $\mu\text{g} / \text{ml}$ (*)
30 $\mu\text{g} / \text{ml}$
40 $\mu\text{g} / \text{ml}$
60 $\mu\text{g} / \text{ml}$
120 $\mu\text{g} / \text{ml}$

(*) Corresponde a quatro experiências .

TABELA IV

Estimulação por Drogas Vaso-Ativas em 5 baços

<i>Drogas</i>	<i>Dose administrada intra arterialmente , durante 5 minutos , via sistema de perfusão</i>
<i>Histamina</i>	<i>0,5 µg / ml</i>
<i>Histamina</i>	<i>2,0 µg / ml</i>
<i>Angiotensina II</i>	<i>0,4 µg / ml</i>
<i>Angiotensina II</i>	<i>2,0 µg / ml</i>
<i>Nitrito de Sódio</i>	<i>100 µg / ml</i>

TABELA V

Bloqueio e Depleção Adrenérgica em 12 baços

Droga	Administração Intra Venosa (femoral) antes do isolamento cirúrgico do baço. Dose por Kg de peso corporal	Administração Intra Arterial via sistema de perfusão	
		Dose em µg/ml	Duração da administração em minutos (a)
Fenoxibenzamina	5 mg	5,0	60
	4 mg	15	60
	-	60	20
	4 mg	0,1	10
	3 mg (b)	-	-
Ácido 2-Carboxibenzeno Selenínico	-	10	60
	-	60	60
Pronopranolol	-	30	5
	1 mg (c)	20	10
	- (d)	1,0	10
	Administração Intra Muscular 24 horas antes do isolamento cirúrgico do baço		
Reserpina	3 mg	-	-
	-	100	6

(a) As administrações com tempo superior a 5 minutos foram efetuadas durante a perfusão de lavagem.

(b) Nesta experiência, após o bloqueio α -adrenérgico, o baço foi estimulado pela Nor-A, na dose de 2 µg / ml, durante 5 minutos.

(c),(d) Nestas experiências, após o bloqueio β -adrenérgico, o baço foi estimulado pelo Isoproterenol, na dose de 2 µg/ml, durante 5 minutos.

TABELA VI

Estimulação Colinérgica* em 2 baços com Bloqueios Prévios

Bloqueio	Administração	Dose
Atropina	Intra-arterial via sistema de perfusão	10 μ g / ml durante 15 minutos
Fenoxibenzamina	Intravenosa (femoral), antes do isolamento cirúrgico do baço	única de 8 mg

*Pela ACh na dose de 60 μ g / ml durante 5 minutos .

III - RESULTADOS

III.1 - Resultado da Perfusão sobre a Lavagem do Sistema Vascular do Baço .

Nos baços , após a perfusão , a solução de Krebs efluente se apresentava praticamente isenta de células sanguíneas . Estas células , entretanto , voltavam a aparecer no efluente quando o órgão era submetido a uma ação constritora .

III.2 - Circulação nos Baços não Estimulados (Baços Controle) .

A distribuição do contraste , dentro da rede circulatória dos 10 baços controle , processou-se de modo amplo , porém pouco intenso ; ocasionalmente , dentro do parênquima esplênico , certas áreas não apresentavam o contraste , enquanto que , em outras áreas , o sistema vascular aparecia cheio de contraste .

A observação de cortes sucessivos , necessária devido à falta de uniformidade , evidenciou , dentro do esquema circulatório geral , diferentes circuitos que podem ser assim resumidos :

Na região hilar do baço a cápsula adentra o órgão , acompanhando os ramos da artéria esplênica , que são as artérias trabeculares . As artérias trabeculares , orientadas radialmente , após certo percurso perdem o envoltório trabecular , que é substituído por diminuta bainha de tecido linfóide , constituindo as artérias colunares . As ramificações destas artérias , que se dirigem aos nódulos linfóides , são as artérias nodulares . Dentro do

nódulo, ramos da artéria nodular constituem uma rede arteriolar intranodular, com freqüentes formações em alça, que se anastomosam. A maioria destas arteriolas se dirige para a periferia do nódulo, constituindo a coroa arteriolar perinodular, situada nos limites da zona marginal, compreendida entre o nódulo propriamente dito e a polpa vermelha; a zona marginal, no baço do gato é delgada.

Alguns ramos da artéria nodular, ou das arteriolas da rede intranodular, atravessam o nódulo, continuando-se na polpa vermelha, constituindo as arteriolas de polpa vermelha. Estas se ramificam, dando origem às arteriolas revestidas por bainha elipsóide. A circulação arterial termina com as arteriolas ou capilares pós-elipsóides, que entram em conexão com os seios venosos.

Algumas arteriolas da polpa vermelha alongam-se até a região subcapsular, ou penetram profundamente na polpa, onde terminam em seios subcapsulares ou centrais. Estas arteriolas longas são as primeiras que recebem contraste quando se inicia a administração do mesmo. Outras arteriolas da polpa vermelha terminam nas proximidades dos nódulos: são as arteriolas curtas, que por vezes apresentam trajeto reconvente.

Através do estudo dos cortes histológicos e também da observação da distribuição inicial do contraste, logo após sua administração, observa-se que a circulação arterial do baço pode processar-se por duas vias, não totalmente independentes:

A - Circulação de polpa branca, que se processa através do nódulo, atinge amplamente a rede arterial intranodular e a coroa arteriolar perinodular e termina nos seios venosos próximos ao nódulo (Figura 2).

B - Circulação arterial de polpa vermelha, que se processa através de dois trajetos vasculares: (b₁) arteriolas curtas, que

apresentam percurso recorrente e terminam na proximidade do nódulo ; (b_2) arteriolas longas , que se afastam do nódulo , terminando nas áreas mais profundas da polpa vermelha , ou na periferia do órgão (zona capsular) .

A circulação venosa se inicia a partir dos seios venosos . A circulação venosa é dependente da circulação arterial correspondente . Quando a circulação se processa através da rede arterial de polpa branca , os seios que recolhem o contraste são aqueles situados na região perinodular . Quando a circulação se processa através das arteriolas longas , ou das curtas da polpa vermelha , os seios preenchidos pelo contraste são aqueles situados nas proximidades destas arteriolas .

O contraste , após percorrer os seios venosos , é drenado por veias primordiais , que confluem para veias coletoras e , finalmente , atinge as veias trabeculares da região hilar . As veias primordiais apresentam trajeto curto , possuindo parede com revestimento endotelial bem definido , com luz ampla e situadas em estreita proximidade de uma trabécula . As veias coletoras recebem reforço trabecular gradativo , tornando-se totalmente envoltas pela trabécula quando se tornam veias trabeculares . As veias , primondiais , coletoras e trabeculares , formam um conjunto comum de drenagem venosa . Estas estruturas vasculares possuem disposição arborescente , originando-se , geralmente , em posição perpendicular à cápsula e encaminhando-se para a região hilar .

A distribuição do contraste , nos baços controle , se processa de forma equitativa e pouco intensa , através das vias circulatórias relatadas acima , não se podendo verificar o predomínio de uma via sobre as outras . O contraste é encontrado tanto dentro da rede arteriolar intranodular , quanto dos vasos que integram a circulação arteriolar de polpa vermelha . A drenagem venosa é também pouco intensa , tendo ocorrido exclusão de algumas áre

as , nas quais o contraste não preenche os seios e as veias coletoras (Figura 3) .

III.3 - Estimulações Adrenérgica e Colinérgica .

III.3.1 - Estimulação pela Nor-Adrenalina (Nor-A) .

III.3.1.1 - 1º Grupo : Nos 3 baços deste grupo houve acentuada contração , no momento da aplicação da Nor-A , tendo a mesma causado interrupção momentânea do líquido efluente . As lâminas histológicas demonstram que o contraste preenche escassamente o sistema circulatório do órgão . A região preenchida restringe-se aos elementos vasculares localizados na região hilar (Figura 4) , tendo sido excluídos da circulação os territórios mais periféricos do órgão . Os trajetos arteriais e venosos percorridos pelo contraste indicam que existem anastomoses artério-venosas, nas proximidades da região hilar .

III.3.1.2 - 2º Grupo : Os 5 baços deste grupo apresentaram acentuada contração , no momento da administração da droga . Esta contração foi mais acentuada para as doses superiores a $1 \mu\text{g} / \text{ml}$, tendo diminuído , para todos os baços , gradativamente até o momento da fixação (devido ao prolongado tempo de administração da droga) . Os resultados histológicos deste grupo são semelhantes aos do 3º grupo e serão descritos posteriormente .

III.3.1.3 - 3º Grupo

III.3.1.3.1 - Série A - Os 3 baços desta série apresentaram acentuada contra

ção . Esta contração foi proporcional à dose aplicada , tendo causado aumento do fluxo do efluente , durante o primeiro minuto de perfusão , elevando-o para um valor de , no máximo , 16 ml / minuto . Visto que o fluxo da bomba de infusão não varia (fixado em 7 ml / minuto) , estas variações verificadas no fluxo do efluente se referem à alteração de volume do órgão . No decorrer do segundo minuto de estimulação , o fluxo do efluente tornava-se irregular e podia cessar . Após a parada momentânea , o fluxo voltava lento e irregularmente ; no efluente ocorriam numerosas hemácias .

Do ponto de vista histológico , a contração do baço é acompanhada por acentuada contração de todos os segmentos arteriais , isto é , desde as artérias da região hilar até às arteríolas curtas e longas da polpa vermelha . Para a dose de 2 μ g / ml de Nor-A , o contraste chega , por vezes , a atingir algumas arteríolas de polpa branca e da vermelha , mas para as doses maiores , o contraste se restringe progressivamente , na sua distribuição , preenchendo apenas as artérias mais próximas do hilo . Para as doses mais altas desta série , o contraste é encontrado apenas ao nível das artérias colunares . Analisando-se , nesta mesma série , a drenagem do contraste das vias arteriais para as venosas , verifica-se que , para a concentração de 2 μ g / ml , os seios venosos situados junto da porção final das arteríolas preenchidas pelo contraste , coletam o contraste que atinge depois as veias primordiais , coletoras e trabeculares . A área de seios preenchida pelo contraste é praticamente nula , assim como são poucas as porções venosas que drenam o contraste (Figura 5) . Nos baços onde o contraste atinge apenas as artérias

colunares (Figuras 6 e 7), este é encontrado , a seguir , nas veias coletoras , ocorrendo exclusão circulatória das porções sinusais e venosas de pequeno calibre , indicando a existência de anastomoses artério-venosas centrais .

III.3.1.3.2 - Série B - O baço estimulado pela Nor-A , na dose de 1 µg / ml (Tabela 1), apresentou contração e concomitante aceleração do efluente , acompanhada da saída de hemácias que permaneciam após a lavagem . Em seguida a esta aceleração do fluxo , que durava poucos segundos , sucedia-se um período de decréscimo do fluxo , tendo este oscilado entre os valores de 3,5 a 4,0 ml / minuto , até o final da experimentação .

A análise dos cortes histológicos , preferencialmente os de 200 nm de espessura , demonstram que as artérias colunares se contraem , conduzindo , entretanto , o contraste para as demais porções arteriais . As artérias e arteríolas subsequentes recebem o contraste , não obstante apresentarem constrição de suas paredes . Nesta dose , a contração é acentuada nas arteríolas pré-elipsóides da polpa vermelha , tanto as curtas quanto as longas . Estas arteríolas , ainda que preenchidas pelo contraste , apresentam-se contorcidas e muitas delas não permitem a passagem do contraste , através dos elipsóides , para os seios da polpa vermelha (Figura 8) . Por este motivo , os seios da polpa vermelha são escassamente preenchidos pelo contraste e , por consequência , pequeno número de veias primordiais , coletoras e trabeculares drenam o contraste destas regiões da polpa vermelha .

A rede arterial da polpa branca apresenta contraste desde a artéria nodular até à rede arteriolar intranodular e perinodular .

Estas arteríolas, na sua grande maioria, drenam para os seios venosos perinodulares, onde o contraste se difunde, dispondo-se sob a forma de um halo (Figura 9). O contraste é recolhido pelas porções venosas adjacentes, antes de percorrer toda a área de seios existentes no local.

O sistema venoso dos baços estimulados com esta dose (1 µg/ml) parece não ser afetado pela contração que atinge as porções arteriais e, especialmente, arteriulares. Algumas veias apresentam-se sem contraste, devido à falta de suprimento sinusal adjacente, não demonstrando, entretanto, contração de suas paredes.

Os baços estimulados pela Nor-A, nas doses de 0,5 e de 0,25 µg/ml (Tabela 1), também apresentam contração, acompanhada de alterações de fluxo do efluente e saída de hemácias retidas no órgão. O fluxo do efluente, após breve aumento inicial, apresenta-se reduzido para 5 ml/minuto.

A análise dos cortes histológicos demonstra contração das estruturas vasculares arteriais, com ação preponderante sobre as arteríolas longas e curtas da polpa vermelha. A contração diminui a passagem do contraste, e por isso os seios desta região recebem pouco contraste. As artérias e as redes arteriais intranodulares recebem o contraste, que então flui para os seios perinodulares, constituindo halo perinodular de contraste (Figura 10). Do halo, o contraste é drenado pelas estruturas venosas adjacentes. A contração vascular não atinge as porções venosas. As áreas venosas que se acham excluídas da circulação, devem-no à ausência de circulação arteriolar correspondente (Figura 11).

Os baços estimulados pela Nor-A, nas doses compreendidas entre 125 e 4 ng / ml (Tabela 1), constituem um conjunto de 6 experiências, que revelam relação dose-efeito: decrescendo a dose, maior é a extensão circulatória percorrida pelo contraste. Mesmo para as 3 doses maiores deste conjunto, a ação constritora da Nor-A sobre o baço foi discreta, no momento da estimulação; houve breve aceleração do fluxo e, em seguida, redução para 6,3 a 6,5 ml / minuto.

A análise histológica destes 3 baços demonstra gradativo decréscimo da contração das artérias mais calibrosas (colunares e trabeculares). A ação constritora da Nor-A, nestas concentrações, é ainda acentuada sobre as arteríolas pré-elipsóides da polpa vermelha, tanto as curtas quanto as longas. Por outro lado, as arteríolas do nódulo não apresentam contração e há coleção do contraste nas áreas perinodulares. Os seios venosos preenchidos pelo contraste estão relacionados com as áreas arteriais não contraídas (Figuras 12 e 13).

As 3 experiências finais desta série, compreendendo as estimulações pela Nor-A com doses de 15, de 8 e de 4 ng / ml, não demonstraram alteração do fluxo, durante a administração da droga. As imagens histológicas demonstram ausência de contração das artérias e arteríolas do órgão. Esta ausência de contração atinge as porções terminais arteriais (arteríolas curtas e longas da polpa vermelha), determinando, como resultado, a ocorrência de contraste nas regiões sinusais da polpa vermelha correspondente. As redes arteriais intranodulares são preenchidas pelo contraste, havendo mesmo pequena dilatação da artéria nodular e das arteríolas das redes nodulares. Nestas con

contrações, a Nor-A causa uma aparente e moderada inversão da resposta constritora vascular, especialmente ao nível das artérias e arteríolas de nódulo (Figuras 14 e 15).

III.3.2 - Estimulação pelo Isoproterenol .

A estimulação do baço pelo Isoproterenol, na dose de $10 \mu\text{g} / \text{ml}$ (Tabela 11), demonstra contração do órgão, no início da estimulação, acompanhada de aumento do fluxo do efluente, de 7 para $10 \text{ ml} / \text{minuto}$.

A análise histológica demonstra que a contração vascular incide sobre as arteríolas da polpa vermelha e da polpa branca, sendo mais acentuada sobre as arteríolas da polpa vermelha (tanto as longas quanto as curtas) . Esta contração permite, no entanto, a passagem do contraste através das arteríolas de polpa vermelha, até o nível dos seios venosos correspondentes, nos quais, entretanto, a quantidade de contraste é relativamente pequena. As redes arteriais intranodulares são preenchidas pelo contraste com moderada intensidade, permitindo que o contraste atinja os seios venosos perinodulares, com aparecimento de halo em torno dos nódulos (Figuras 16 e 17) .

No baço estimulado pelo Isoproterenol, na dose de $2 \mu\text{g} / \text{ml}$, houve alteração do fluxo do efluente, de 7 para $8 \text{ ml} / \text{minuto}$, no início da estimulação. As lâminas histológicas apresentam distribuição de contraste mais ampla do que na experiência em que foi usada $10 \mu\text{g} / \text{ml}$. As artérias colunares apresentam-se não contraídas e preenchidas pelo contraste, o que ocorre também com as arteríolas da polpa branca e da polpa vermelha (Figura 18) . As paredes das arteríolas se tornam, por vezes, levemente tortuosas e nesses locais não há preenchimento do vaso pelo contraste. As arteríolas dos nódulos, por não apresentarem contração, conduzem o contraste

te para as redes arteriais intranodulares . A partir da rede arteriolar perinodular , o contraste atinge os seios perinodulares ; as veias primordiais e as coletoras apresentam luz ampla , coletando e drenando o contraste para as veias trabeculares , que , igualmente , não estão contraídas .

O baço estimulado pelo Isoproterenol , na dose de $1 \mu\text{g} / \text{ml}$, demonstra variação do fluxo do efluente de 7 para $7,5 \text{ ml} / \text{minuto}$. As lâminas histológicas demonstram que as artérias trabeculares e as colunares não se contraem sob a ação da droga , nessa dose . A partir das artérias nodulares , inicia-se uma contração moderada que atinge as arteríolas longas e curtas da polpa vermelha . No entanto , ocorre circulação tanto pelas redes arteriais nodulares , como pelos vasos arteriais da polpa vermelha . Os seios , especialmente na região subcapsular , são pouco preenchidos pelo contraste ; a drenagem venosa é pouco intensa (Figura 19) .

III.3.3 - Estimulação pela Acetilcolina (ACh) .

Os baços estimulados pela ACh , nas doses compreendidas entre 5 e $120 \mu\text{g} / \text{ml}$ (Tabela III) , apresentam os resultados abaixo descritos .

Doses de 5 e $10 \mu\text{g} / \text{ml}$ não demonstraram alteração mensurável do fluxo do efluente e , da mesma forma , as lâminas histológicas não evidenciam distribuição circulatória particular , no interior do baço . O contraste atinge com pouca intensidade e equitativamente os circuitos arteriais da polpa branca e da polpa vermelha (Figura 20) .

A dose de $20 \mu\text{g} / \text{ml}$ demonstrou alteração do fluxo do efluente , com pequena aceleração inicial , seguida de redução para $6,5 \text{ ml} / \text{minuto}$. O primeiro baço estimulado com esta dose apresentou contração capsular peculiar , dando aparência lobulada ao órgão ; a contração decresceu gradativamente , até o momento da fixação (isto é , 5 minutos após iniciada a estimu

lação 1). Diante deste resultado, foram usados outros 2 baços, estimulados com a mesma dose de ACh. Ocorreu contração capsular e concomitante alteração do fluxo do efluente, mas a contração foi regular, atingindo uniformemente toda a superfície do órgão. Um quarto baço, estimulado por esta mesma dose (20 µg / ml), recebeu, também, ACh sobre a cápsula (colocando-se 1 ml da solução de ACh dentro da câmara que continha o baço). O resultado foi o mesmo obtido para os dois baços anteriores, isto é, contração uniforme e moderada do órgão, com breve alteração do fluxo do efluente, seguida de redução para 6,5 ml / minuto.

Para estes 4 baços, estimulados com a dose de 20 µg / ml de ACh, os resultados histológicos são semelhantes. Ocorre distribuição de contraste através da rede arterial da polpa vermelha e da polpa branca, não havendo aparência de circuitos circulatórios preferenciais. As artérias colunares e arteríolas da polpa vermelha se apresentam contraídas, permitindo reduzida passagem do contraste. Os vasos venosos não mostram contração das suas paredes (Figura 21), mas contêm pouco contraste.

Os baços estimulados pela ACh, nas doses de 30, de 40, de 60 e de 120 µg / ml, apresentam contração, cuja intensidade não está estreitamente relacionada com a dose administrada (Figuras 22 e 23). A contração do órgão modificou o fluxo do efluente, que após uma aceleração inicial, ficou reduzido para 6,5 ml / minuto. A análise histológica demonstra contração arterial generalizada, que atinge as artérias trabeculares. Sendo estas artérias as mais calibrosas do sistema, as demais porções arteriais recebem menor quantidade de contraste, havendo, como consequência, penetração pouco intensa do contraste dentro da rede circulatória tanto arterial quanto venosa (Figura 24).

Em resumo, as 10 experiências, efetuadas com estimulação pela ACh, demonstram contração capsular, no momento de aplicação da droga,

para as doses compreendidas entre 20 e 120 $\mu\text{g} / \text{ml}$. Do ponto de vista histológico, a distribuição do contraste na rede circulatória é pouco intensa, havendo ausência de circuitos preferenciais e generalizada contração dos vasos arteriais. Para as estimulações efetuadas com doses de 5 e 10 $\mu\text{g} / \text{ml}$, não foi verificada alteração do fluxo do efluente, no momento da administração, mas, histologicamente, a circulação é pouco intensa, análogamente aos baços estimulados com doses maiores de ACh.

III.4 - Estimulação pelo Emprego de Drogas Vaso-ativas.

III.4.1 - Histamina.

O emprego da Histamina (Tabela IV), via intra-arterial, através do sistema de perfusão, na concentração de 0,5 $\mu\text{g} / \text{ml}$, durante 5 minutos, não apresenta modificação do fluxo do efluente. Do ponto de vista histológico, observa-se que o contraste preenche equitativamente os circuitos arteriais e venosos da polpa vermelha, e os circuitos arteriais da polpa branca. A distribuição do contraste, no interior do sistema vascular do baço estimulado pela histamina, nesta dose, assemelha-se à dos baços controle (Figura 25).

O emprego da Histamina, através da mesma forma acima, na dose de 2 $\mu\text{g} / \text{ml}$, demonstrou dilatação sensível do volume do órgão, no momento da administração, com conseqüente redução passageira do fluxo do efluente. As lâminas histológicas demonstram intensa penetração do contraste no interior do sistema vascular do baço. As arteríolas da polpa branca, mesmo não se apresentando dilatadas, são permeáveis ao contraste, que se coleta na periferia dos nódulos. As artérias da polpa vermelha, tanto as curtas quanto as longas, se apresentam dilatadas, havendo intensa penetração de

contraste , nas porções arteriais terminais e nos seios adjacentes , demonstrando ter ocorrido vasodilatação capilar (Figura 26) .

III.4.2 - Angiotensina II .

O emprego da Angiotensina II , via intra-arterial , através do sistema de perfusão , na concentração de 0,4 $\mu\text{g} / \text{ml}$, durante 5 minutos , não alterou o fluxo do efluente enquanto a droga foi administrada . Do ponto de vista histológico , observa-se contração moderada das artérias de pequeno calibre e das arteríolas . Esta contração não impede a penetração do contraste , através da polpa vermelha e da polpa branca , havendo apenas uma distribuição de contraste menos intensa , em relação aos baços controle . Os seios venosos que recebem o contraste através do sistema arterial são , por isso , pouco contrastado , havendo áreas cujos seios estão isentos de contraste (Figura 27) .

O emprego da Angiotensina , através da forma acima descrita , na concentração de 2 $\mu\text{g} / \text{ml}$, demonstrou ação fortemente constritora sobre o baço . Houve aceleração inicial do fluxo do efluente , seguida de redução para 0,2 $\text{ml} / \text{minuto}$. Os cortes histológicos demonstram exclusão circulatória de extensas áreas do parênquima esplênico (Figura 28) . As áreas que contêm contraste revelam que a circulação se processa através das artérias mais calibrosas , as quais , no entanto , estão intensamente contraídas . As artérias de menor calibre , que contêm o contraste , são escassas e se apresentam contraídas . A maioria das pequenas artérias não contêm contraste , devido à grande contração . Extensas áreas da polpa vermelha são excluídas da circulação ; a drenagem venosa se inicia a partir das veias primordiais , localizadas nas proximidades das artérias que recebem contraste .

III.4.3 - Nitrito de Sódio .

O emprego do Nitrito de Sódio (Tabela IV) , na dose de 100 μg / ml, não demonstrou alteração do fluxo do efluente . Os cortes histológicos demonstram intensa penetração do contraste no sistema vascular . A circulação se processa em toda extensão da polpa vermelha e da polpa branca , com participação de todos os vasos arteriais e sem vias preferenciais . O contraste passa dos vasos arteriais para os seios venosos , sendo drenado , a seguir , pelas veias primordiais , que se apresentam com luz ampla (Figura 29) .

III.5 - Bloqueio e Depleção Adrenérgica .

III.5.1 - Bloqueadores com Ação sobre os Receptores α -adrenérgicos .

III.5.1.1 - Fenoxibenzamina (FBA) : Todos os gatos , que receberam administração prévia (pela veia femoral) de FBA , demonstraram acentuado aumento de volume do baço , no momento da laparotomia . As lâminas histológicas dos 2 primeiros baços (Tabela V) , que receberam , também , FBA por via intra-arterial , durante a perfusão , demonstram penetração intensa do contraste , o qual atinge toda a rede circulatória (Figura 30) , especialmente os seios venosos .

No terceiro baço (que recebeu FBA apenas por via intra-arterial , através da perfusão) , houve contração do órgão , no momento da administração da FBA . Este efeito , resultante da aplicação intra-arterial da FBA , foi evitado reduzindo-se a administração intra-arterial na experiência subsequente .

As lâminas histológicas do quarto baço (que recebeu FBA intra-venosamente e reduzida quantidade intra-arterialmente) demonstram penetração intensa do contraste , no interior do órgão. As artérias da polpa vermelha apresentam-se repletas de corante , evidenciando a dilatação vascular . As artérias nodulares drenam o contraste através das arteríolas curtas da polpa vermelha, e estas , devido ao percurso reconvente , conduzem o contraste para os seios perinodulares (Figura 31) . As arteríolas longas da polpa vermelha conduzem o contraste até a zona subcapsular , acumulando-se este nos seios da região , demonstrando ausência de tônus capsular (Figura 32) . O contraste percorre, também , os seios da polpa vermelha de forma ampla , sendo coletado pelas porções venosas adjacentes .

O quinto baço , bloqueado intravenosamente pela FBA e estimulado pela Nor-A (2 μ g / ml) após a perfusão inicial , não demonstrou alteração do fluxo do efluente , durante a aplicação da Nor-A . Convém notar que baços estimulados pela Nor-A a 2 μ g / ml sem bloqueio prévio (Série A), demonstraram acentuada contração , a qual acelerava o fluxo do efluente de 7 ml / minuto para 16 ml / minuto .

As imagens histológicas deste quinto baço , com bloqueio α -adrenérgico e posterior estimulação , demonstram que o sistema vascular se apresenta permeável ao contraste ; este penetra através de artérias colunares não contraídas (Figuras 33 e 34), e percorre tanto o circuito arterial da polpa branca , quanto os circuitos arteriais da polpa vermelha . O contraste atinge os seios perinodulares . A distribuição do contraste é menos intensa quando se compara este baço com aqueles que receberam ape-

nas a Fenoxibenzamina .

III.5.1.2 - Ácido 2-Carboxibenzeno Selenínico (Se 2) : A administração do Se 2 , em 2 baços (Tabela V) , produz resultados análogos aos obtidos pela administração da FBA . O contraste penetra na rede circulatória arterial , principalmente da polpa vermelha , e acumula-se nos seios venosos centrais e da região subcapsular , sendo , em seguida , drenado pela rede venosa (Figura 35) .

III.5.2 - Bloqueador com Ação sobre os Receptores β -adrenérgicos .

III.5.2.1 - Propranolol : Empregado por via intra-arterial , através do sistema de perfusão (Tabela V) , na dose de 30 μg / ml , o Propranolol não alterou o fluxo do efluente . Histologicamente , o contraste é encontrado nos sistemas arterial e venoso , de modo amplo , porém pouco intenso .

O baço previamente bloqueado pelo Propranolol (20 μg / ml) e a seguir estimulado pelo Isoproterenol , na dose de 2 μg /ml , não demonstra alteração do fluxo do efluente . Histologicamente, observa-se pequena contração das arteríolas longas e curtas da polpa vermelha . Estas arteríolas encontram-se contorcidas , mas conduzem o contraste até o nível dos elipsóides ; os seios venosos correspondentes encontram-se escassamente contrastados (Figura 36) .

Na terceira experiência (Tabela V) , consistindo também em bloqueio prévio pelo Propranolol (1 μg / ml) e posterior estimulação pelo Isoproterenol , não ocorreu alteração do fluxo do efluente , durante a estimulação . Histologicamente , o sis-

tema arterial apresenta contração moderada, ao nível das arteríolas dos nódulos; a contração atinge também as arteríolas de polpa vermelha (Figura 37). O sistema venoso é pouco preenchido pelo contraste.

Em resumo, nas doses empregadas nas 2 experiências, a estimulação pelo Isoproterenol, produzindo contração arteriolar no baço, não foi bloqueada pela administração prévia do Propranolol.

III.5.3 - Depleção Adrenérgica do Baço pela Reserpina.

Os resultados obtidos nos baços submetidos à depleção pela Reserpina (Tabela V), tanto sob forma crônica como sob forma aguda, são semelhantes. A Reserpina causa acentuada estase sanguínea no baço estimulado cronicamente. Histologicamente, observa-se que a circulação se processa livremente, pelas redes arterial e venosa, não ocorrendo contração do sistema vascular (Figuras 38 e 39).

III.6 - Drogas Bloqueadoras da Ação Colinérgica.

III.6.1 - Atropina.

Usada na dose de 10 µg / ml (Tabela VI), por via intra-arterial, a Atropina não alterou o fluxo do efluente. Após a Atropina, a administração da Acetilcolina, na dose de 60 µg / ml, via intra-arterial, reduziu o fluxo do efluente para 6,6 ml / minuto. A Atropina não inibe o efeito constritor que a ACh tem sobre o baço de gato. As lâminas histológicas demonstram o mesmo quadro de distribuição do contraste, no interior dos va-

sos , descrito para os baços estimulados pela Acetilcolina (sem prévio bloqueio atropínico) ; isto é , o baço apresenta-se com rede circulatória apenas parcialmente preenchida pelo contraste . A rede arterial apresenta-se levemente contraída e o contraste atinge igualmente os circuitos arteriais da polpa branca e da polpa vermelha (Figura 40) .

III.6.2 - Fenoxibenzamina .

A administração da ACh , via intra-arterial , através do sistema de perfusão , em órgão previamente bloqueado pela FBA , não demonstrou alteração do fluxo do efluente . A FBA inibe o efeito construtor que a ACh apresenta sobre o baço de gato . As lâminas histológicas apresentam distribuição do contraste em toda a rede arterial , sendo sua quantidade maior do que na experiência em que se pretendeu verificar a ação da Atropina . A circulação parece se processar mais livremente através das arteríolas curtas e longas da polpa vermelha , assim como através das redes arteriais intranodulares (Figura 41) . Os seios venosos contêm contraste , o qual é drenado para as vias venosas . Estas se encontram , igualmente , sem constricção aparente .

Nota Explicativa das Ilustrações

A Figura 2 , representando o esquema da circulação no baço não estimulado , foi elaborada com a finalidade de esclarecer a morfologia da rede vascular do baço do gato . Para a simplificação do esquema , não está figurada a presença do contraste dentro dos vasos sanguíneos .

As Figuras 3 a 41 são microfotografias de lâminas histológicas de cortes de baço , obtidos por congelação nas espessuras de 120 a 200 μ m e corados por Carmim-Acético ou Carmim-Alume . Os vasos sanguíneos estão deli-
neados pela solução contraste de Azul da Prússia (vide página 20 , capítulo de Material e Métodos) . O contraste está contido dentro da rede arterial e venosa do órgão . Na região dos seios venosos , o contraste se difunde atra-
vés de suas paredes , formando áreas difusas de contraste , consideradas como áreas sinusais .

- 1 - artéria trabecular
- 2 - artéria colunar
- 2a artéria nodular
- 3 - rede arterial intranodular
- 4 - artérias e arteríolas longas da polpa vermelha com elipsóides
- 4a artérias e arteríolas curtas da polpa vermelha com elipsóides
- 5 - bainha elipsóide
- 6 - plexo arterial perinodular
- 7 - veia trabecular
- 8 - veia coletora
- 9 - veias primordiais
- 10 - seios venosos
- 11 - cápsula
- 12 - trabécula

- A - circulação arterial da polpa branca
- Bb₁ - circulação arterial da polpa vermelha via arteríolas curtas
- Bb₂ - circulação arterial da polpa vermelha via arteríolas longas
- C - região de anastomoses centrais



Fig.2
Esquema da circulação nos baços não estimulados

Figura 3 - Baço Controle , 36 x . A circulação arterial se processa equitativamente , através dos vários circuitos , tanto via nódulo linfóide e respectiva zona marginal , quanto via arteríolas da polpa vermelha . Veia coletora com luz ampla () abre-se na veia trabecular .

Figura 4 - Baço estimulado pela Nor-A (1º grupo) , 90 x . A artéria trabecular apresenta-se com acentuada contração () . A circulação do contraste é escassa , mesmo ao nível da região hilar .

Figura 5 - Baço estimulado pela Nor-A (Série A : 2 µg / ml) , 36 x . Ramos de veias coletoras () drenam áreas com escassa irrigação sinusal .

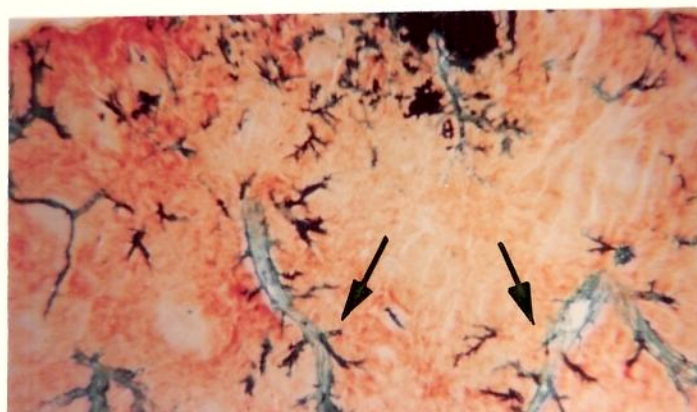
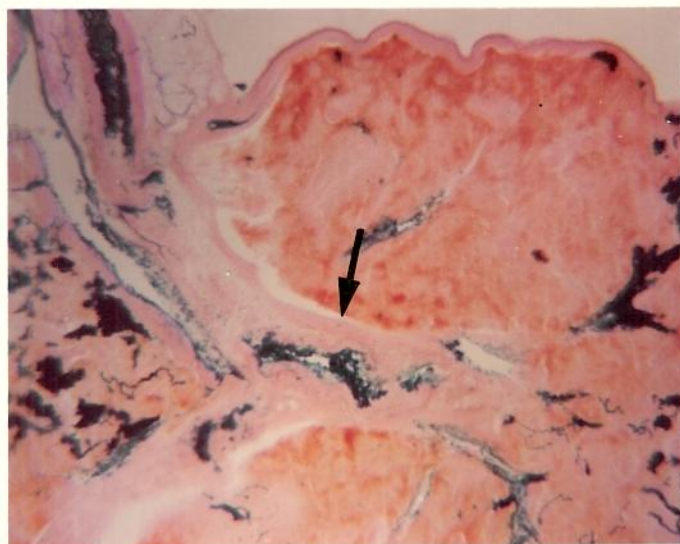
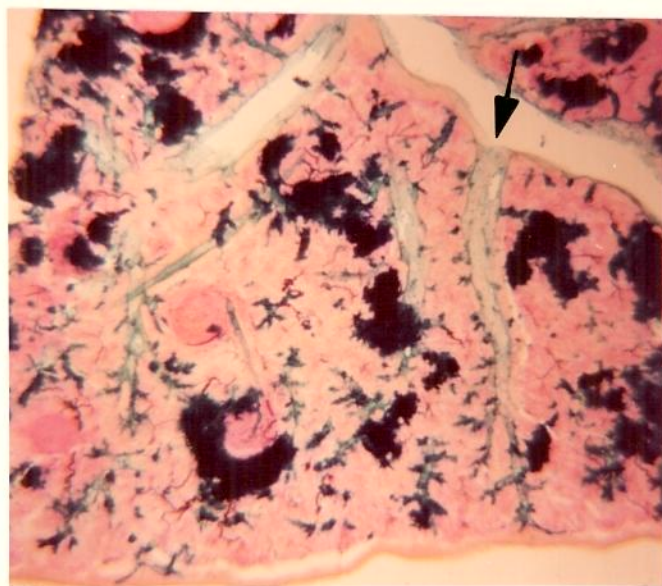


Figura 6 - Baço estimulado pela Nor-A (Série A : $4 \mu\text{g} / \text{ml}$) , 90 x .
O contraste atinge parcialmente as artérias colunares (∇) ,
aparecendo , a seguir , dentro de algumas veias trabeculares .

Figura 7 - Baço estimulado pela Nor-A (Série A : $6 \mu\text{g} / \text{ml}$) , 36 x .
Intensa contração da artéria trabecular (∇) . Exclusão circulatoria de toda rede arterial distal , de pequeno calibre ,
e de seios venosos .

Figura 8 - Baço estimulado pela Nor-A (Série B : $1 \mu\text{g} / \text{ml}$) , 90 x .
Há contração intensa das arteríolas da polpa vermelha (∇) .
A circulação arterial da polpa vermelha , por vezes , não ultrapassa os elipsóides .

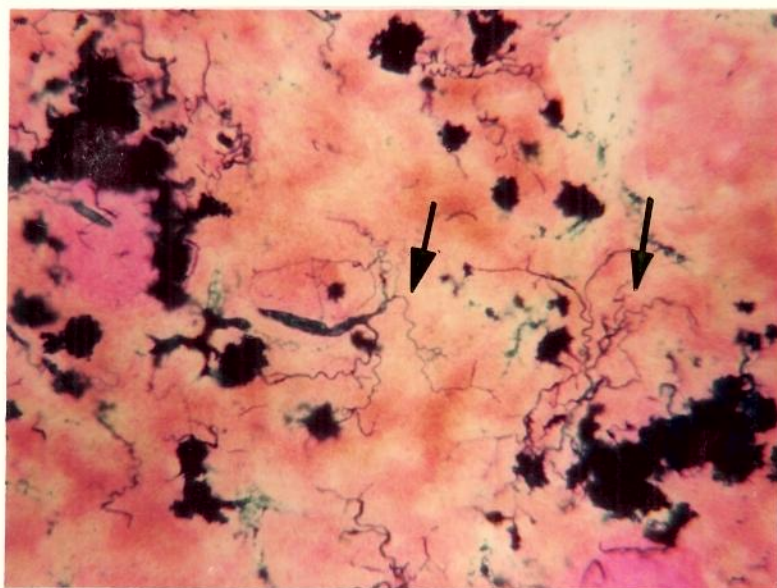


Figura 9 - O mesmo baço da Figura 8 , 90 x . A contração arterial é evidente a partir da artéria colunar . A circulação arteriolar da polpa branca (∇) é bem mais aparente do que a circulação arterial (e venosa) da polpa vermelha .

Figura 10 - Baço estimulado pela Nor-A (Série B : $0,5 \mu\text{g} / \text{ml}$) , 90 x . Evidente contração das arteríolas da polpa vermelha . Os 3 nódulos apresentam halo perinodular de contraste (∇) .

Figura 11 - Baço estimulado pela Nor-A (Série B : $0,25 \mu\text{g} / \text{ml}$) , 110 x . A contração , evidente ao nível da circulação arterial (∇) , não atinge os vasos venosos (∇) .

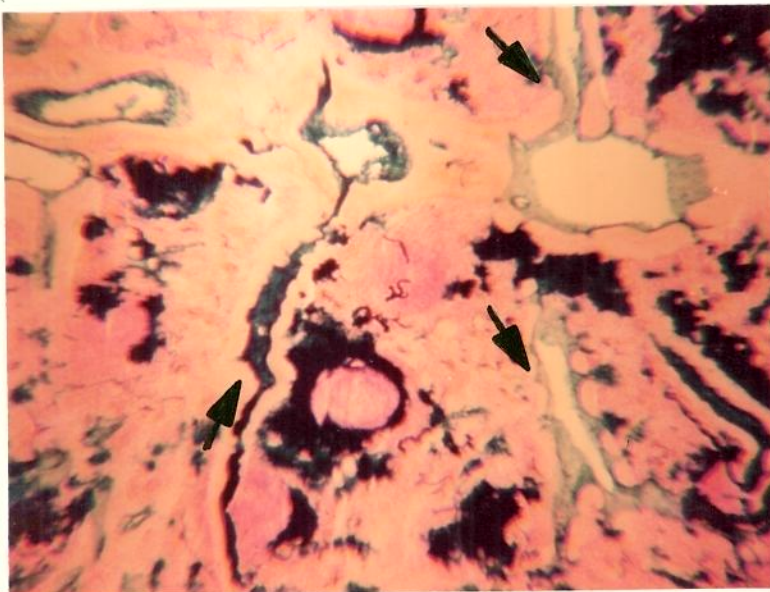
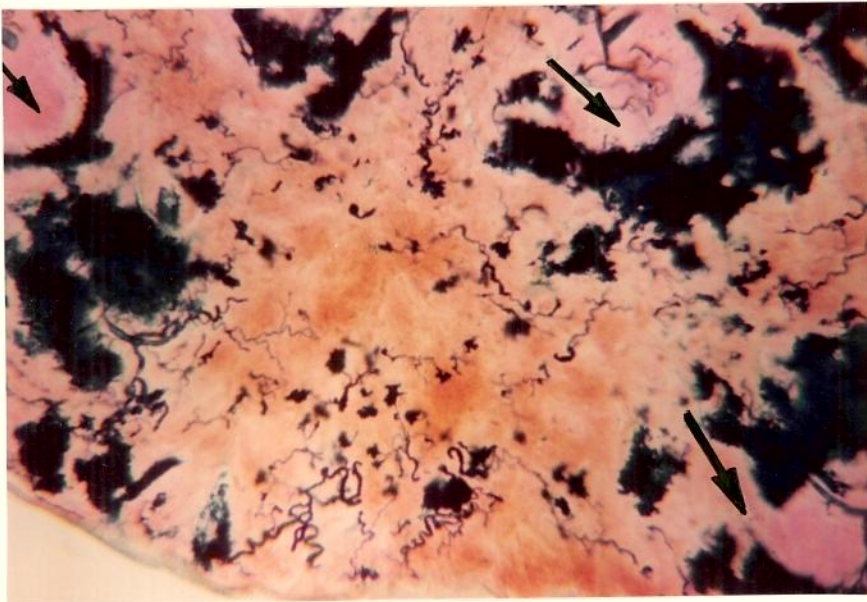
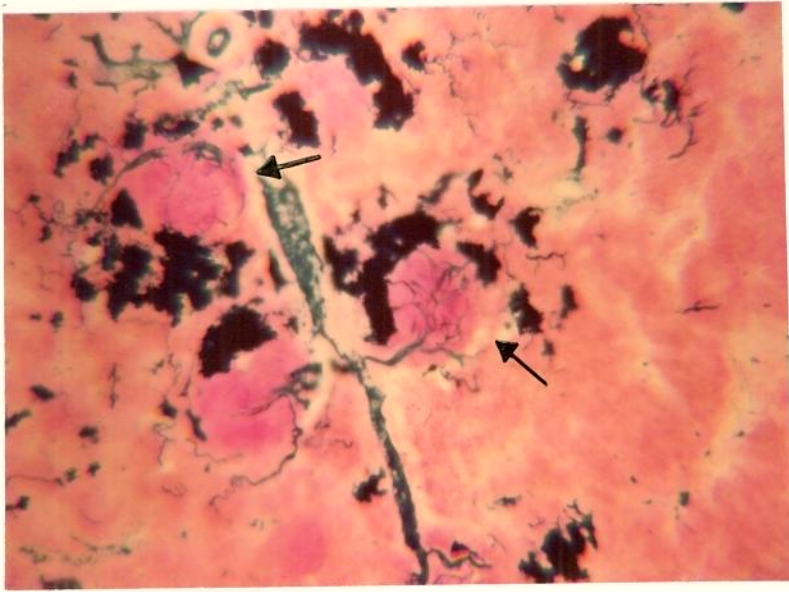


Figura 12 - Baço estimulado pela Nor-A (Série B : 125 ng / ml) , 36 x .
As artérias colunares e nodulares exibem moderada contração .
A circulação arterial , via polpa branca , é evidenciada , pe
lo acúmulo de contraste em torno dos nódulos () .

Figura 13 - O mesmo baço da Figura 12 , 90 x . Os halos com contraste
acumulado em torno dos nódulos linfóides são mais amplos ,
penetrando mais na polpa vermelha . A drenagem por uma veia
primordial subcapsular é evidenciada () .

Figura 14 - Baço estimulado pela Nor-A (Série B : 15 ng / ml) , 90 x .
Observa-se dilatação da artéria nodular ; arteríola da polpa
vermelha permeável ao contraste () .

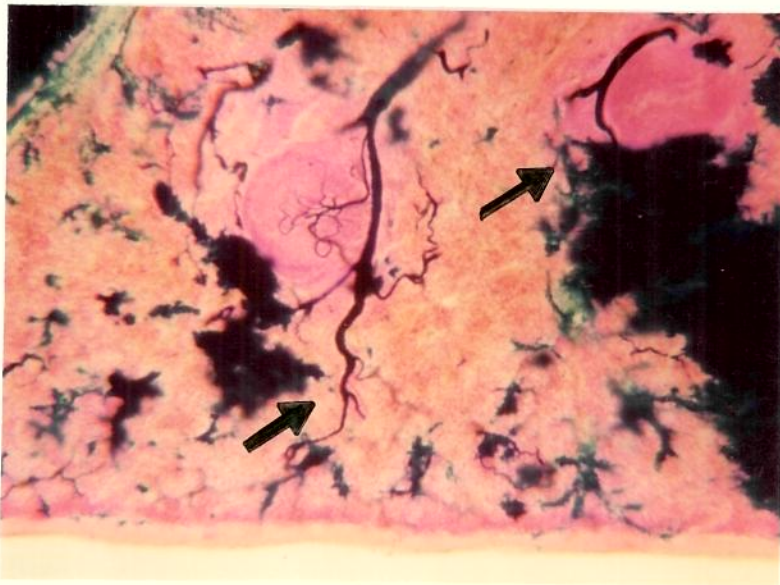
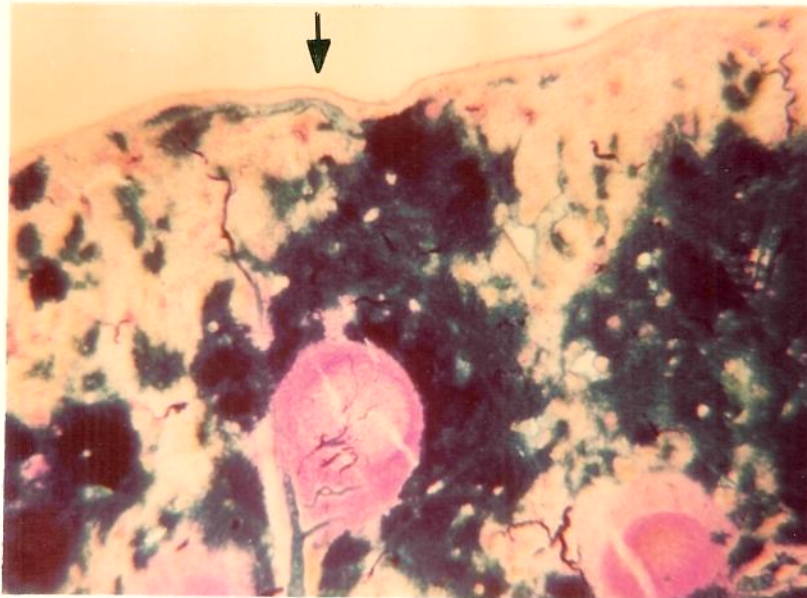
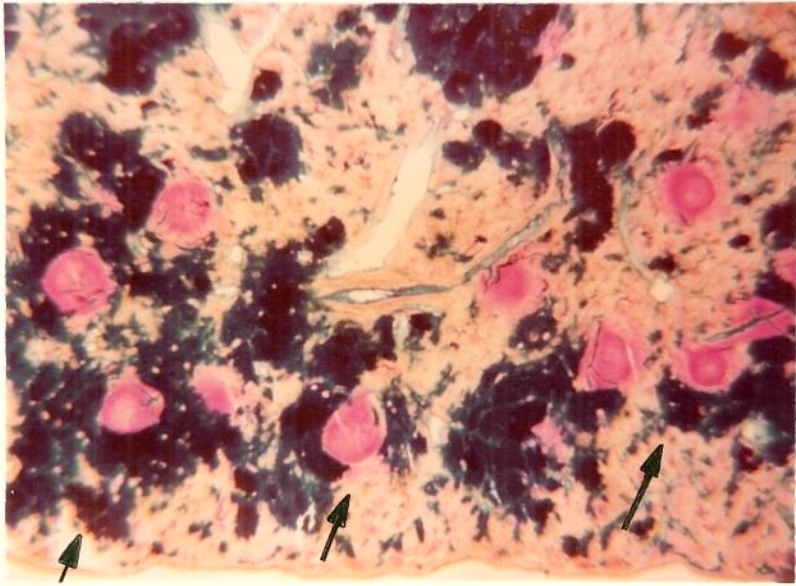


Figura 15 - O mesmo baço da Figura 14 , 110 x . Observa-se ausência de contração ao nível de artérias colunares (*A*) . É evidente o halo de contraste em torno do nódulo .

Figura 16 - Estimulação pelo Isoproterenol (10 μ g / ml) , 90 x . Ocorre contração arterial e arteriolar . As artérias longas da polpa vermelha estão contrastadas , mas contraídas (*A*) . A circulação arterial e a venosa são pouco intensas (*V*) .

Figura 17 - Estimulação pelo Isoproterenol (10 μ g / ml) , 140 x . A contração arterial é evidente no nódulo (*V*) . O contraste se acumula na periferia do nódulo linfático e , em seguida , passa para a veia primordial , que tem disposição arqueada (*A*) . Algumas arteríolas da polpa vermelha , contraídas , contêm contraste .

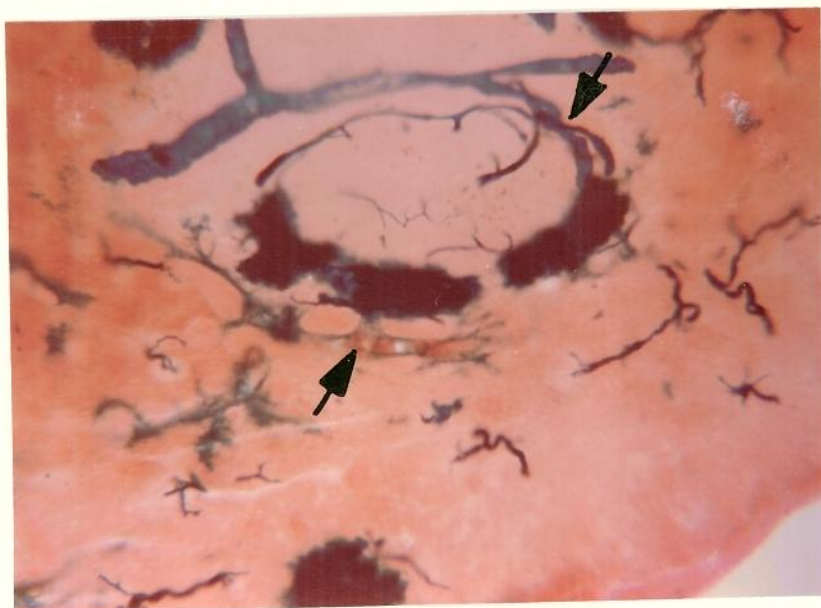
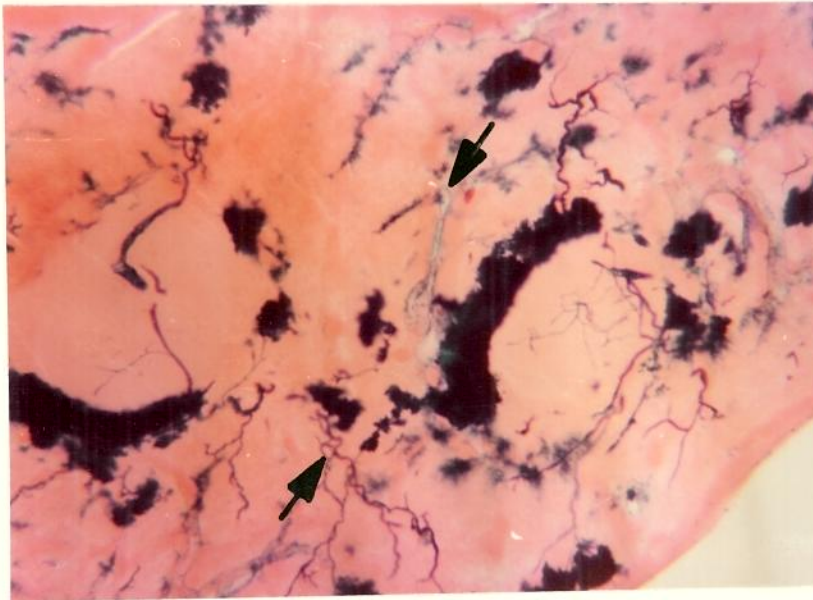
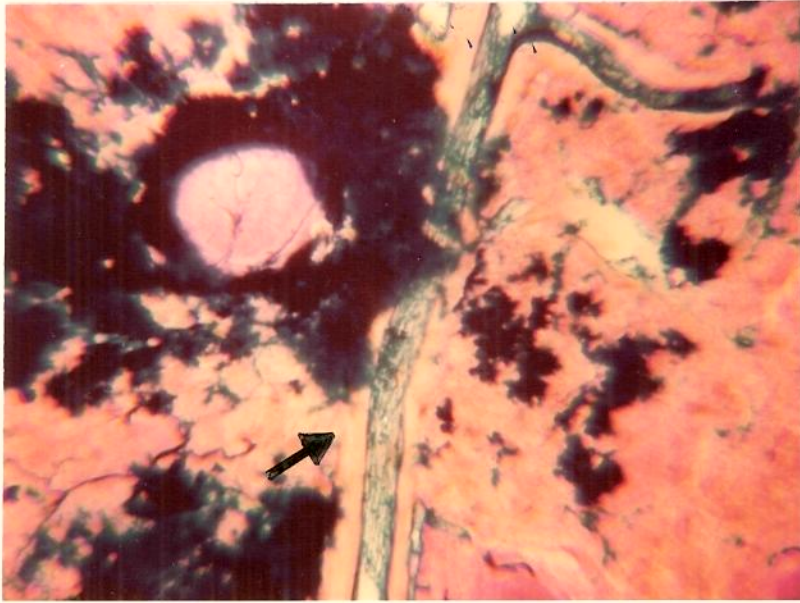


Figura 18 - Baço estimulado pelo Isoproterenol ($2 \mu\text{g} / \text{ml}$), 90 x . Arterias trabeculares e colunares não estão contraídas ($\nearrow$). A penetração de contraste na região perinodular ($\swarrow$) é maior do que na Figura 17 . As arteríolas da polpa vermelha estão pouco contrastadas .

Figura 19 - Baço estimulado pelo Isoproterenol ($1 \mu\text{g} / \text{ml}$), 36 x . Mantem-se o padrão circulatório verificado na Figura 18 : contração arterial de moderada intensidade , penetrando o contraste através dos vasos arteriais da polpa branca e da polpa vermelha . Veias coletoras , com paredes tênues e luz ampla , coletam o contraste ($\swarrow$) .

Figura 20 - Baço estimulado pela ACh ($5 \mu\text{g} / \text{ml}$), 90 x . O contraste atinge equitativamente os circuitos arteriais da polpa branca e da polpa vermelha . A distribuição do contraste é pouco intensa .

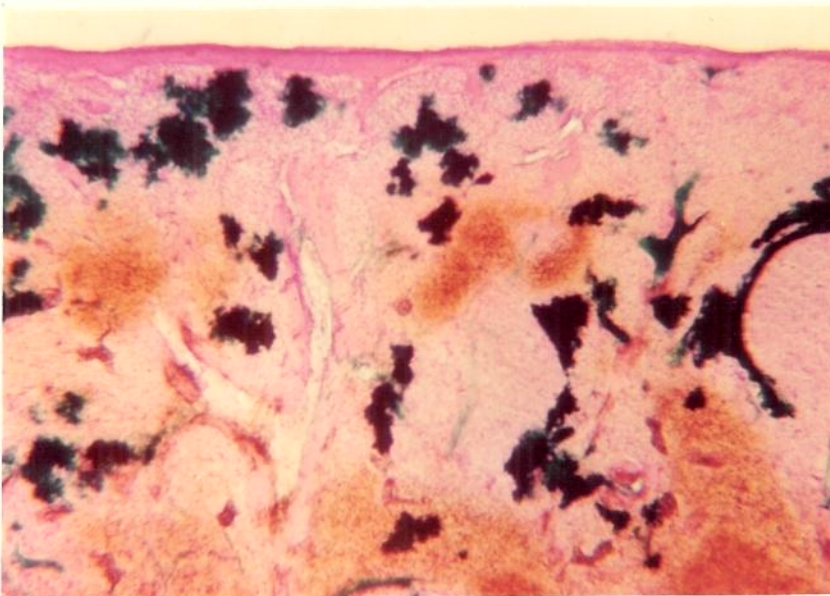
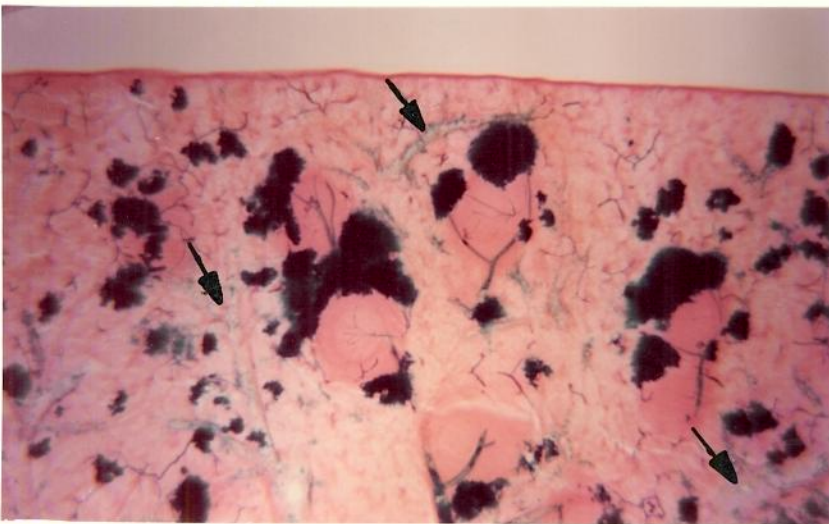
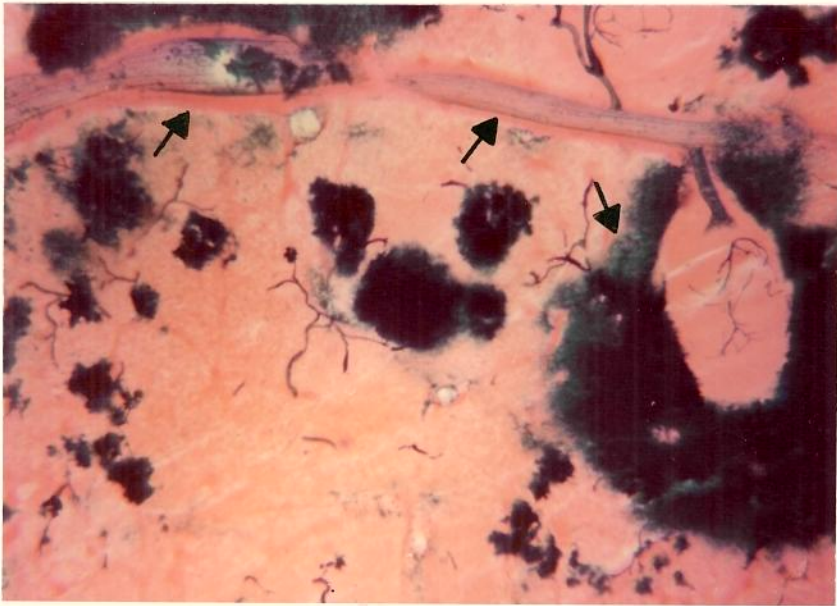


Figura 21 - Baço estimulado pela ACh (20 μ g / ml) , 36 x . As artérias colunares e nodulares (/) apresentam contração . Não ocorrem circuitos preferenciais . Vasos venosos contendo pouco contraste .

Figura 22 - Baço estimulado pela ACh (30 μ g / ml) , 90 x . O contraste atinge poucas estruturas vasculares , não ocorrendo circuitos preferenciais . O sistema arterial está pouco contrastado , devido à vasoconstrição generalizada .

Figura 23 - Baço estimulado pela ACh (60 μ g / ml) , 90 x . Nota-se grande semelhança com aspecto apresentado na Figura 22 .

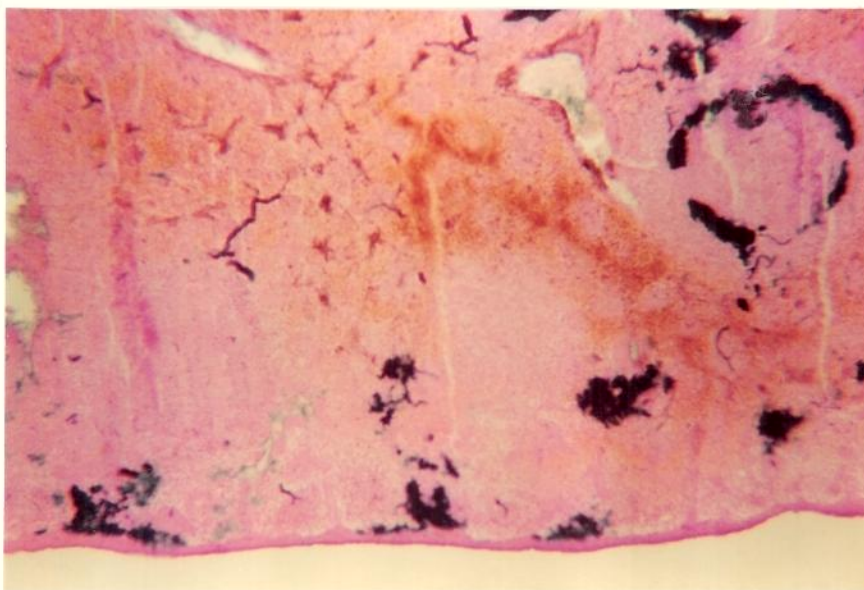
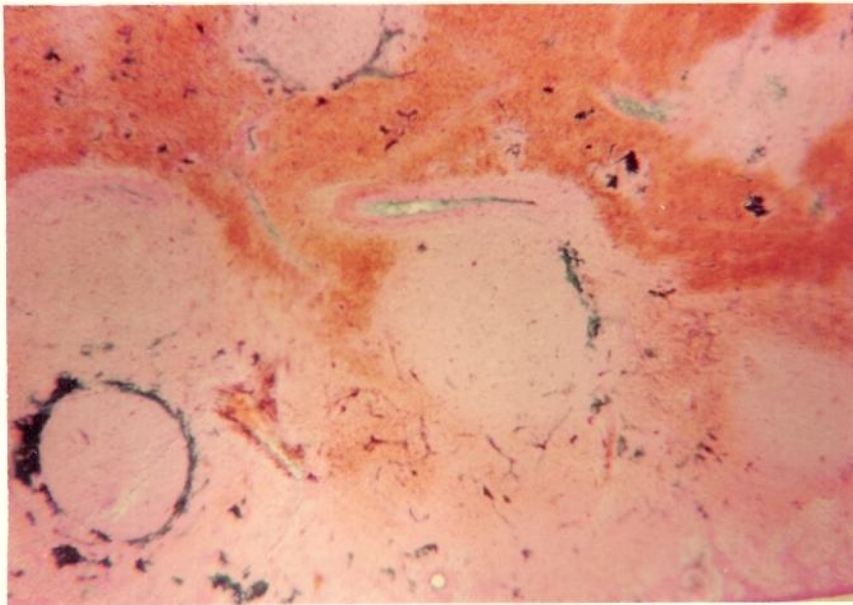
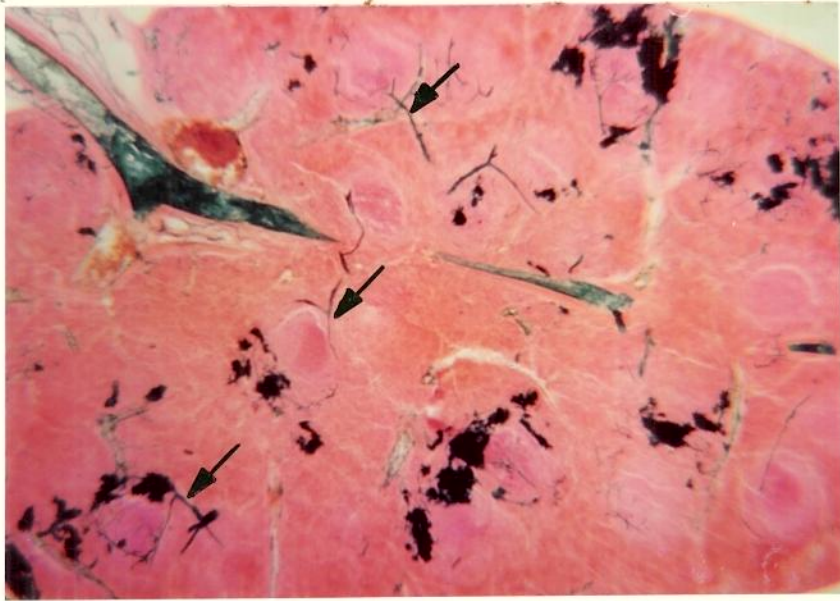


Figura 24 - Baço estimulado pela ACh (120 μ g / ml) , 90 x . Sistema circulatório pouco contrastado . A figura evidencia numerosos elipsóides () em proximidade de trabéculas () .

Figura 25 - Baço estimulado pela Histamina (0,5 μ g / ml) , 36 x . Para esta concentração , o baço não apresenta distribuição particular do contraste , sendo o aspecto semelhante ao do baço controle (Figura 3) .

Figura 26 - Baço estimulado pela Histamina (2 μ g / ml) , 90 x . Ocorre intensa penetração de contraste nas porções arteriais terminais e nos seios adjacentes , demonstrando vasodilatação capilar .

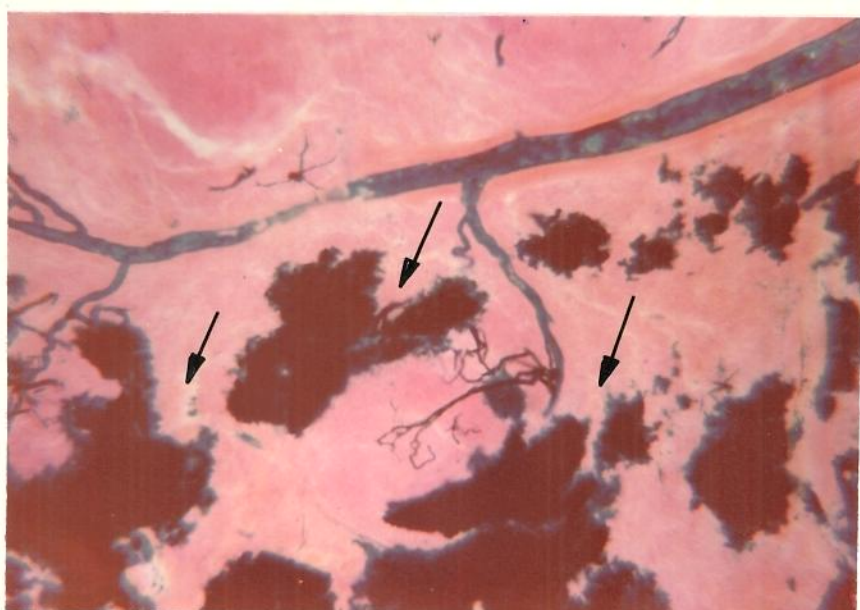
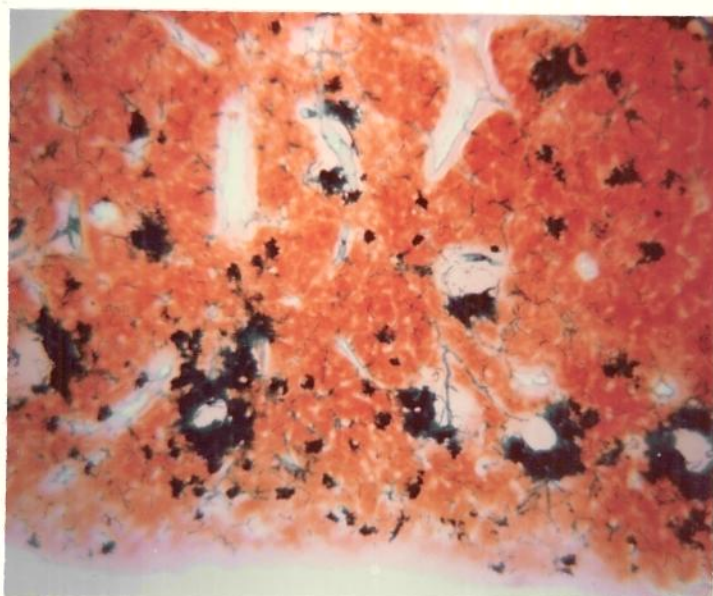
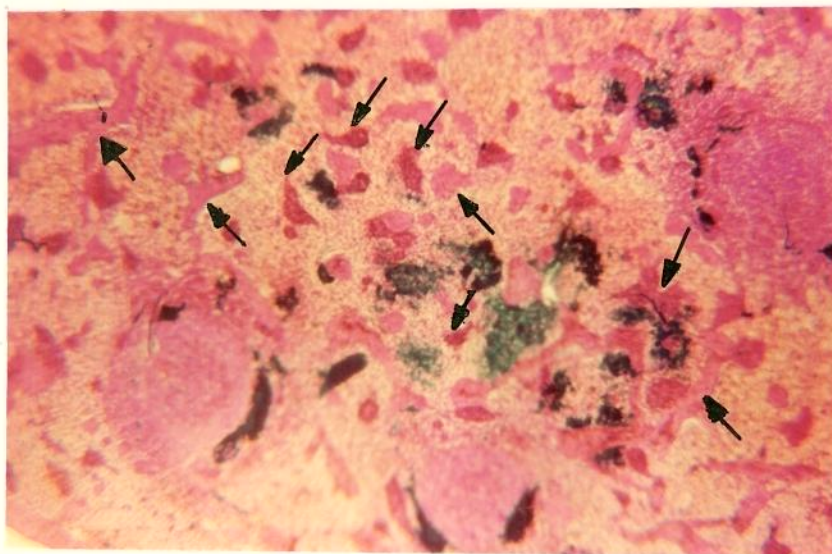


Figura 27 - Baço estimulado pela Angiotensina II ($0,4 \mu\text{g} / \text{ml}$), 90 x.
Nota-se contração arteriolar pouco acentuada : A circulação se processou através da polpa branca assim como através da polpa vermelha . A distribuição do contraste nos seios é pouco intensa (∇), havendo áreas cujos seios estão isentos de contraste .

Figura 28 - Baço estimulado pela Angiotensina II ($2 \mu\text{g} / \text{ml}$), 90 x .
A intensa contração arterial se inicia ao nível da artéria trabecular (∇) . Áreas do sistema arterial não foram preenchidas pelo contraste (∇) . Os seios venosos se apresentam isentos de contraste .

Figura 29 - Baço tratado pelo Nitrito de Sódio ($100 \mu\text{g} / \text{ml}$), 90 x .
Ocorre intensa penetração do contraste no sistema arterial da polpa branca e da polpa vermelha , que se apresenta fortemente permeável ao contraste . Foram igualmente preenchidos os seios correspondentes , assim como o restante do sistema venoso .

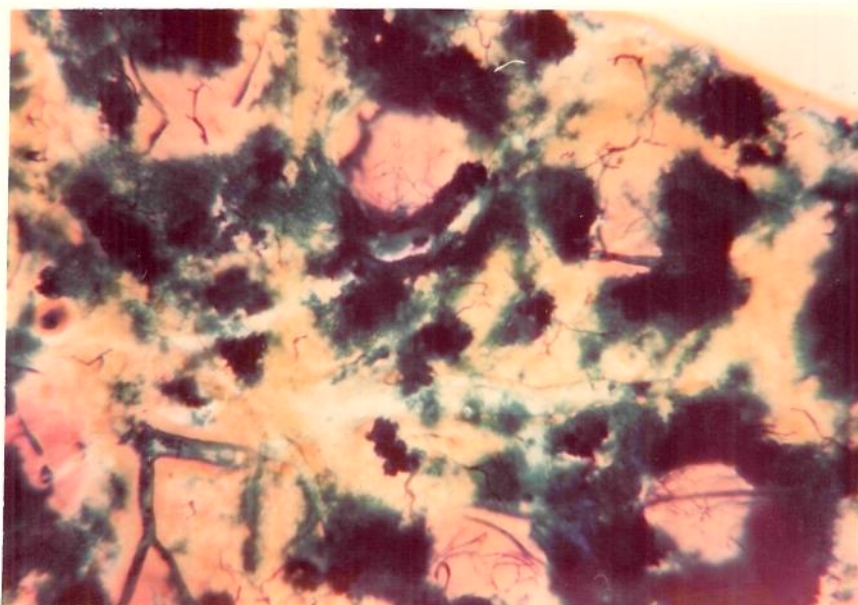
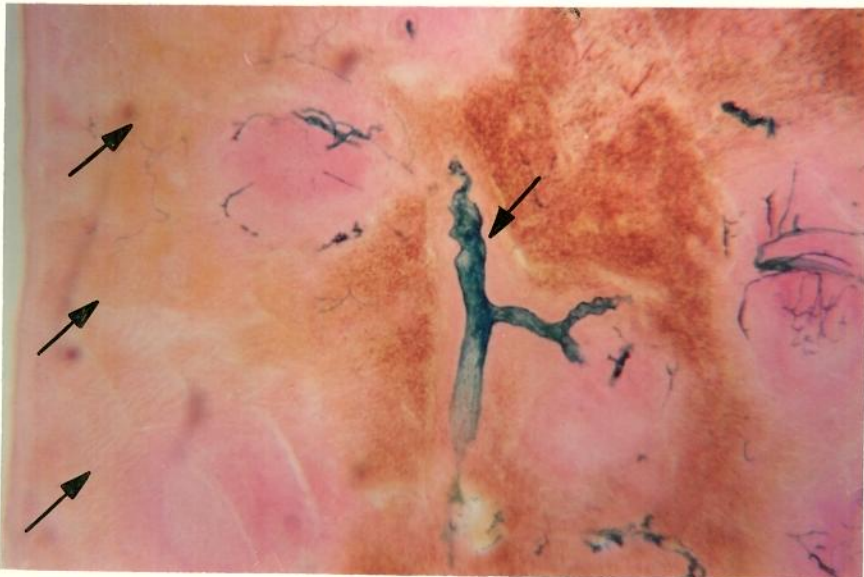
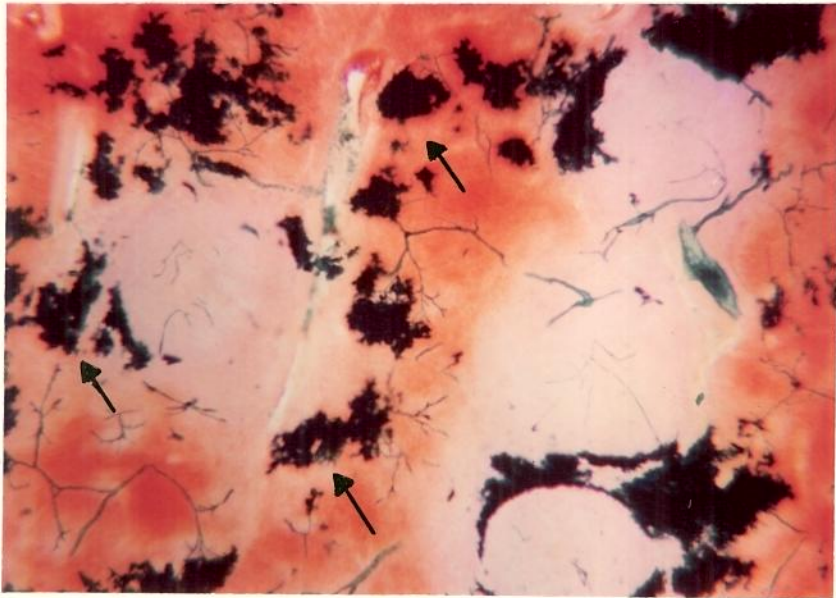


Figura 30 - Baço sob bloqueio α -adrenérgico pela FBA, 90 x. O contraste preenche a totalidade do sistema vascular venoso. As artérias nodulares ($\nearrow$) estão dilatadas e encaminham o contraste para as artérias curtas e longas da polpa vermelha.

Figura 31 - Baço sob bloqueio α -adrenérgico pela FBA, 180 x. Arteriolas curtas da polpa vermelha ($\nearrow$) muito dilatadas, conduzem o contraste para a zona marginal do nódulo. Veia ($\swarrow$) com luz ampla drena o contraste.

Figura 32 - Baço sob bloqueio α -adrenérgico pela FBA, 180 x. Arteríola longa da polpa vermelha, com luz preenchida pelo contraste, dirige-se para a região subcapsular ($\swarrow$).

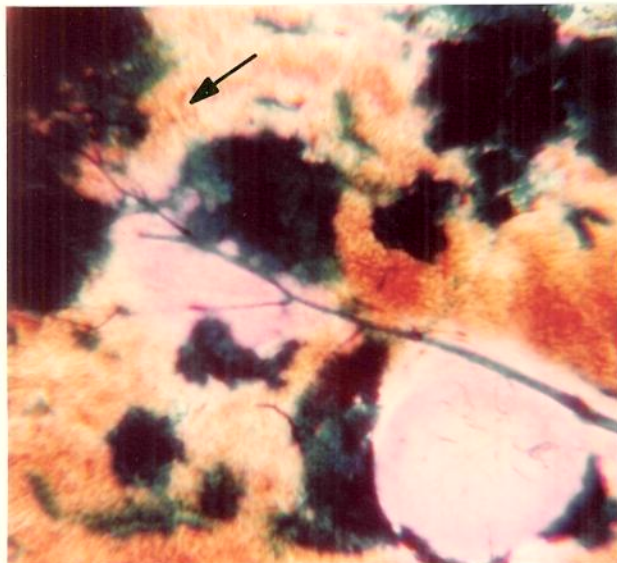
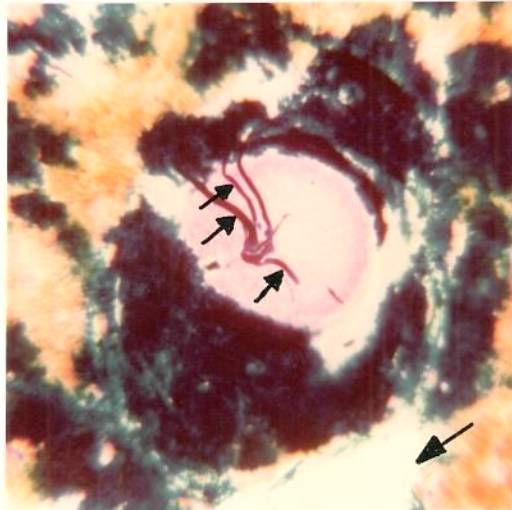
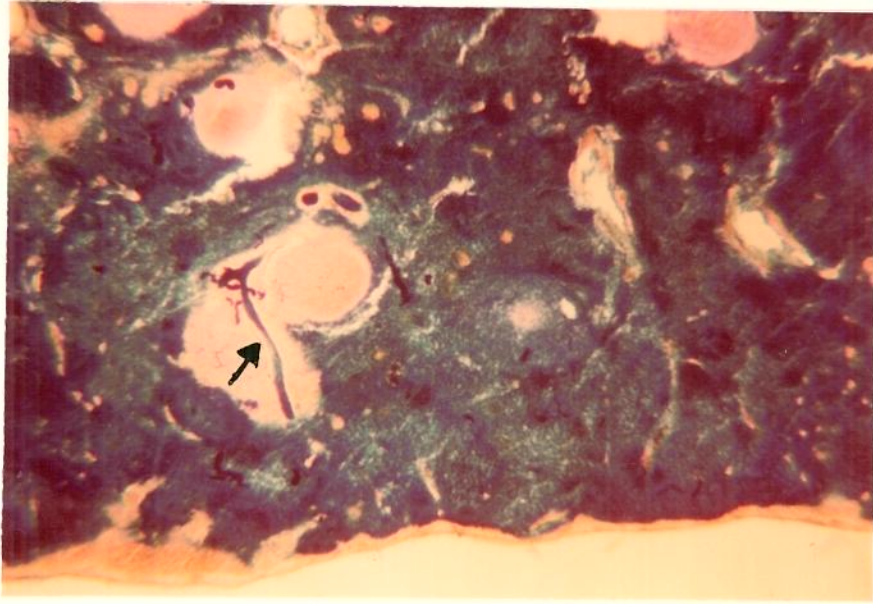


Figura 33 - Baço sob bloqueio α -adrenérgico pela FBA, estimulado pela Nor-A (2 μ g / ml), 45 x . Comparando-se com Figura 7 , no ta-se diminuição intensa da contração dos segmentos arteriais calibrosos e finos .

Figura 34 - O mesmo baço da Figura 33 , 110 x . Evidencia-se a penetração do contraste até os seios perinodulares . Arteriolas da polpa vermelha contêm contraste .

Figura 35 - Baço sob bloqueio α -adrenérgico pelo Se 2 , 90 x . O con traste penetra intensamente , atingindo toda a área de seios da polpa vermelha . Aspecto semelhante aos das Figuras 30 e 31, onde ocorre bloqueio pela FBA .

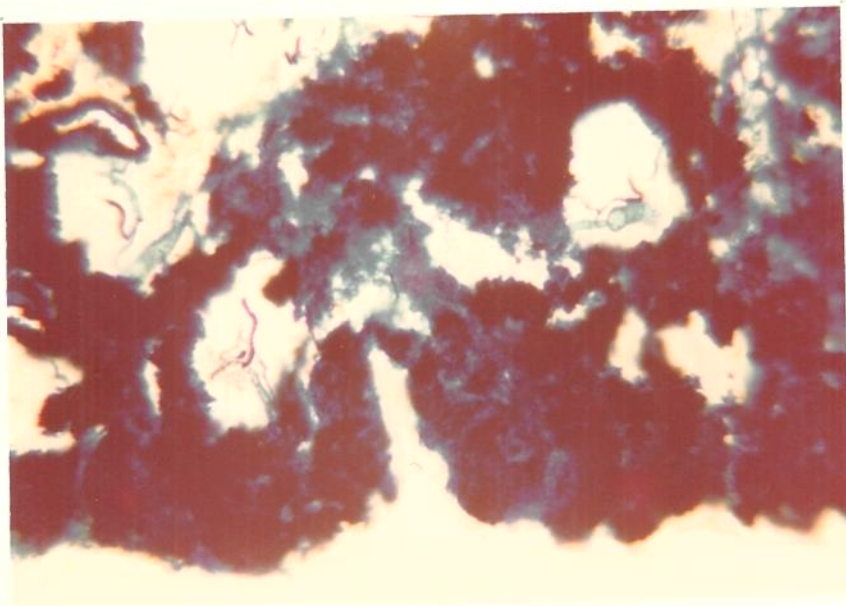
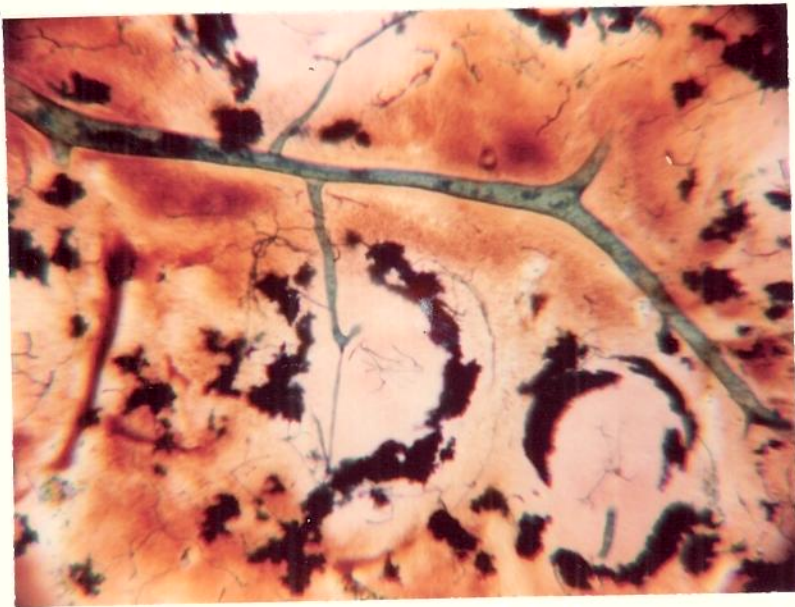


Figura 36 - Baço sob bloqueio β -adrenérgico (Propranolol), estimulado pelo Isoproterenol ($2 \mu\text{g} / \text{ml}$), $36 \times$. Arteriolas da polpa vermelha ($\blacktriangledown$) estão contraídas ; o contraste é escasso nos seios venosos . Este baço se assemelha ao da figura 37 .

Figura 37 - Baço sob bloqueio β -adrenérgico (Propranolol), estimulado pelo Isoproterenol ($2 \mu\text{g} / \text{ml}$), $90 \times$. Arteriolas do nódulo estão contraídas , mas conduzem o contraste para a periferia do nódulo ($\blacktriangle$) ; o sistema venoso é pouco preenchido pelo contraste .

Figura 38 - Baço com depleção adrenérgica pelo efeito da Reserpina , $45 \times$. Da mesma maneira que para os baços submetidos ao bloqueio α -adrenérgicos (Figuras 30 e 31), o contraste preenche intensamente o sistema vascular .

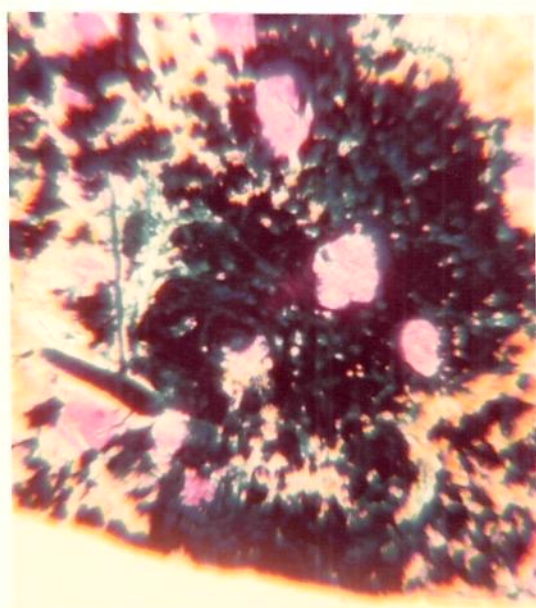
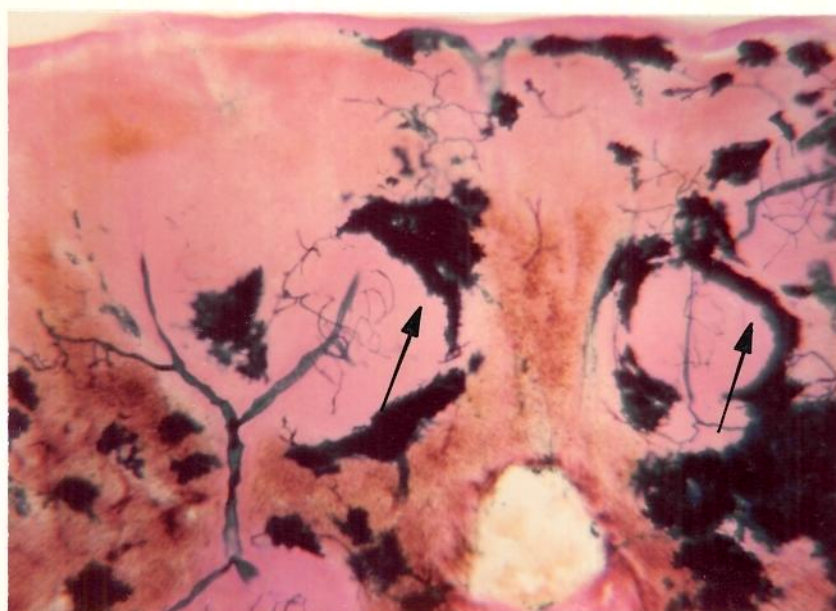
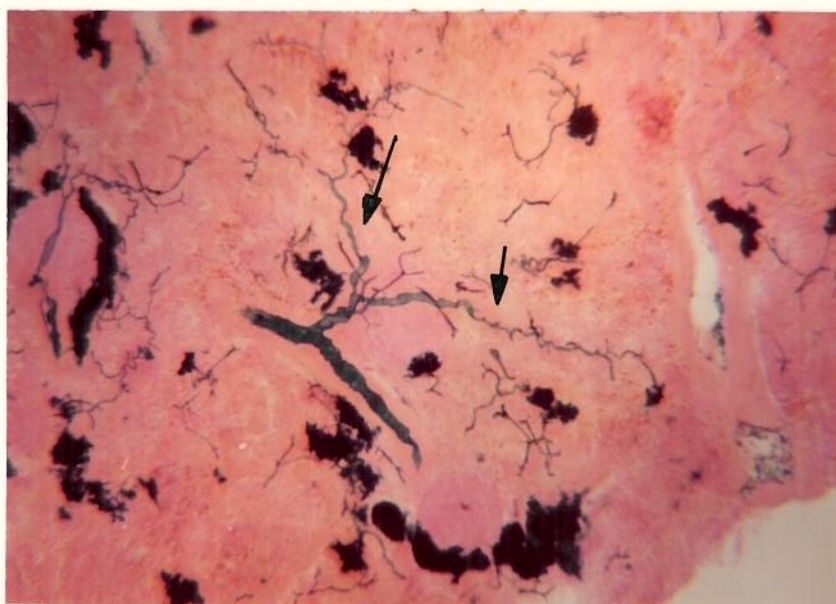
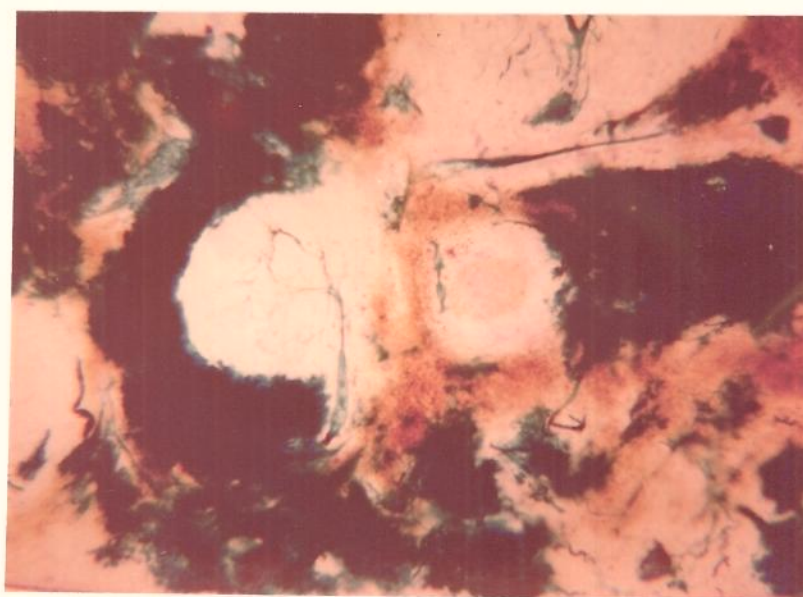
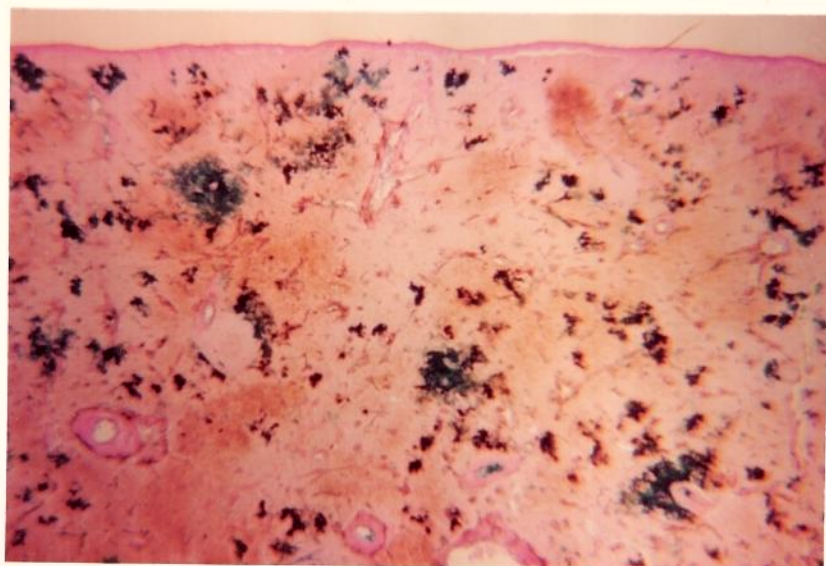
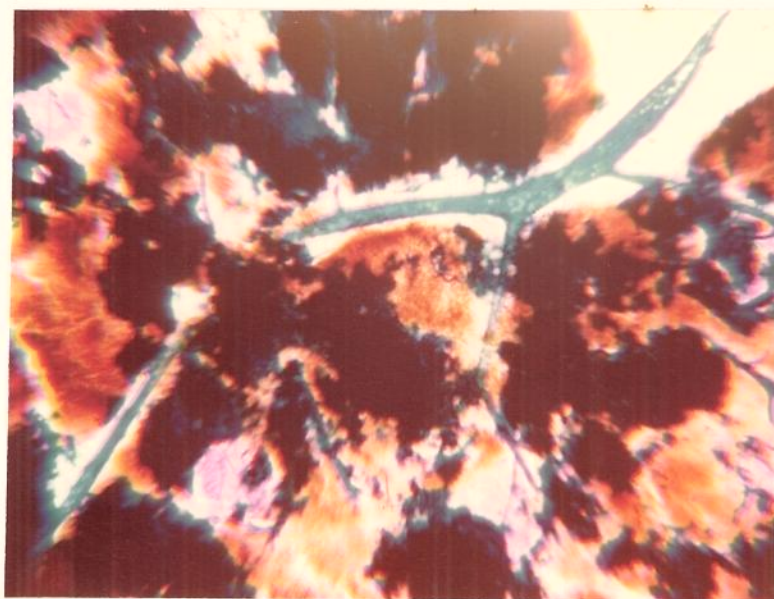


Figura 39 - O mesmo baço da Figura 38, 110 x. Arteria trabecular e seus ramos preenchidos pelo contraste, assim como amplas áreas sinusais.

Figura 40 - Baço com administração prévia de Atropina, seguida de estimulação pela ACh (60 μ g / ml), 36 x. Comparando-se com os baços estimulados pela ACh (Figuras 21 a 26), observa-se que a administração prévia da Atropina não modifica a distribuição do contraste verificada para a ACh.

Figura 41 - Baço com administração prévia de FBA, seguida de estimulação pela ACh (60 μ g / ml), 90 x. Observa-se que a deposição do contraste é mais intensa em comparação com o baço tratado previamente pela Atropina (Figura 40).



IV - DISCUSSÃO

IV.1 - Isolamento e Perfusão do Órgão.

Trabalhos com baços isolados , perfundidos por soluções fisiológicas oxigenadas , tornaram-se constantes nas duas últimas décadas (LEADERS & DAYRIT , 1965 ; DELAUNOIS ET AL. , 1968 ; MOERMAN ET AL. , 1969 ; RUBLE ET AL. , 1969 ; ATKINS ET AL. , 1970 ; SONG & GROOM , 1971a , 1971c , 1972 ; PABST ET AL. , 1974) . Nestas condições , a vitalidade do órgão é mantida , conforme atestaram RUBLE ET AL. (1969) . Estes autores demonstraram que baços , após 15 a 20 horas de perfusão , eram capazes de metabolizar a glucose .

No presente trabalho , o baço demonstrou-se capaz de responder a estimulações farmacológicas , procedidas após 1 hora de perfusão por solução de Krebs oxigenada . Esta solução , perfundida com o fluxo de 7 ml / minuto , mostrou-se adequada para o propósito de lavar e preservar o órgão . A quantidade de solução utilizada está de acordo com os valores empregados por KIRPEKAR & MJSU , (1967) ; KIRPEKAR & WAKADE , (1968a e 1968b) ; KIRPEKAR & YAMAMOTO , (1971) ; KIRPEKAR ET AL. , (1971) ; SONG & GROOM , (1971a , 1971c , 1972) ; GROOM & SONG , (1971b) ; GROOM ET AL. , (1971d) .

Os resultados obtidos , no presente trabalho , demonstraram que , independentemente das variações de forma e volume verificadas entre os diferentes baços , o intervalo de tempo entre a entrada do líquido de perfusão na artéria esplênica e o aparecimento do efluente na cânula da veia , foi de 8 segundos . Este fato sugere a existência de uma via de trânsito rápido , através do órgão , o que está de acordo com os resultados obtidos por SONG &

GROOM , (1971a) .

IV.2 - Inervação do Baço .

O plexo adrenérgico , que inerva os vasos sanguíneos dos mamíferos , está localizado na porção externa da túnica média . As artérias recebem inervação mais abundante do que as veias . Os vasos sanguíneos de maior calibre , freqüentemente , têm inervação proporcionalmente menos abundante do que os vasos menores . As arteríolas , mesmo as de diâmetro muito reduzido , exibem inervação adrenérgica muito rica , indicando que podem ter ação de tipo esfincteriana (NORBERG ; 1967) .

A inervação motora do baço do gato , constituída de fibras simpáticas pós-ganglionares , adentra o órgão juntamente com a artéria esplênica . As terminações nervosas são encontradas nas proximidades das fibras musculares lisas da cápsula , das trabéculas e da túnica média dos vasos (NOERTHEN , 1954 ; GILLESPIE , 1966c ; FILLENZ , 1970 ; ZELENKOVA , 1971) . Na rede arterial , a inervação se estende até onde há fibra muscular lisa , acompanhando o vaso sanguíneo (GILLESPIE , 1966c) ; na rede venosa , a inervação está relacionada com os vasos mais calibrosos , através do suporte trabecular . O componente colinérgico da inervação esplênica será discutida no parágrafo relativo à estimulação pela Acetilcolina .

IV.3 - Estimulação dos Receptores α -Adrenérgicos .

Segundo AHLQUIST (1967) , o receptor adrenérgico é definido como a parte especializada da célula efetora , através da qual os neurotransmissores adrenérgicos (e compostos relacionados) agem , provocando uma resposta característica . O receptor pertence à célula efetora ; por este motivo ,

sua atividade prossegue após a denervação e , mesmo , algumas células têm receptores sem associação nervosa adrenérgica visível .

Os receptores α e β -adrenérgicos são assim chamados e diferenciados , devido a respostas distintas que produzem quando estimulados por séries selecionadas de catecolaminas * . O receptor α -adrenérgico está presente no baço , pois a análise do líquido perfundido através do órgão , após a estimulação nervosa , tem demonstrado a liberação exclusiva , ou predominante , de Nor-A (BROWN & GILLESPIE , 1957 ; KIRPEKAR & MISU , 1967 ; KIRPEKAR & WAKADE , 1968a ; GREENWAY ET AL. , 1968 ; MODERMAN ET AL. , 1969). Por outro lado , a Nor-A , quando injetada na circulação arterial do baço , causa acentuada contração e elevação do hematócrito na veia esplênica (GROOM & SONG , 1971b) .

HOLZBAUER & SHARMAN (1972) relatam que a concentração de Nor-A, presente no baço dos mamíferos , é usualmente dez vezes mais alta do que a concentração de Adrenalina , ou de Dopamina ; os valores da concentração de Nor-Adrenalina , encontrados para o gato , são de 0,83 a 4,32 $\mu\text{g} / \text{g}$ de tecido esplênico .

Na bibliografia pesquisada , não se encontrou nenhuma referência da ação da Nor-A , quer infundida , quer liberada pelos terminais nervosos ,

* - Os α -receptores medeiam respostas para as quais a ordem de potência para as 4 aminas simpatomiméticas mais usadas é : Adrenalina > Nor-Adrenalina > Fenilefrina > Isoproterenol (A > Nor-A > FE > ISO) ; os β -receptores medeiam respostas para as quais a ordem de potência é a seguinte : ISO > A > Nor-A > FE . As respostas mediadas através dos α -receptores podem ser antagonizadas por uma variedade de agentes naturais e sintéticos (incluindo , por exemplo , certos alcalóides do "Ergot", Fentolamina e certas β -haloalquilaminas) , os quais exibem pequeno , ou nenhum , antagonismo para as respostas mediadas através dos β -receptores . Por outro lado , as respostas mediadas pelos β -receptores podem ser antagonizadas , seletivamente , por diversos compostos sintéticos , por exemplo , o Diclóisoproterenol , o Pronetalol e o Propranolol (AHLQUIST , 1948) .

sobre as vias circulatórias do baço . No presente trabalho , a administração de quantidades variáveis de Nor-A permite evidenciar vias circulatórias diversas , que dependem do grau de estimulação ; dependendo da quantidade de Nor-A e , conseqüentemente , do grau de constrição arterial estabelecido , ocorrem modelos distintos de circulação esplênica . De fato , concentrações de $2 \mu\text{g} / \text{ml}$ até $6 \mu\text{g} / \text{ml}$ de Nor-A , na solução de perfusão , causam acentuada redução do volume do órgão e elevação da resistência vascular , pois o fluxo do efluente reduz-se para menos de 50 % do seu valor inicial . A circulação esplênica , nestas circunstâncias , se processa através de artérias e veias calibrosas , com exclusão das redes arterial e venosa finas , indicando a existência de anastomoses artério-venosas entre os vasos de maior calibre .

Estas concentrações de Nor-A estão , provavelmente , acima das taxas fisiológicas . O conjunto de experiências , incluindo doses de $1 \mu\text{g} / \text{ml}$ a $4 \text{ng} / \text{ml}$ de Nor-A e que , possivelmente , abrangem quantidades fisiológicas , demonstra , através da distribuição de contraste no sistema arterial do baço , outros padrões circulatórios . Estes padrões podem explicar as variações da circulação , no baço do gato , quando submetido a estimulação α -adrenérgica de diferente intensidade .

O fato de concentrações decrescentes de Nor-A permitirem circulação mais extensas do contraste , através do órgão , decorrente da redução gradativa da constrição arterial , confirmam e ampliam as observações de DAVIES ET AL. (1973) , os quais registraram que a contração do baço do cão depende da dose de Nor-A

No presente trabalho , a constrição arteriolar , especialmente das arteríolas longas e curtas da polpa vermelha , constitui a característica predominante da ação das doses médias de Nor-Adrenalina sobre as arteríolas da polpa vermelha . Nestes casos , a circulação se processa , preferenci-

almente , através da rede arterial da polpa branca . Após percorrer o plexo arterial marginal do nódulo linfóide , o contraste atinge a zona marginal , fluindo para os seios perinodulares . O acúmulo do contraste , nesta região , forma um halo ao redor do nódulo linfóide , característico dos baços submetidos à estimulação pela Nor-A , em doses moderadas . Estes resultados confirmam , de certa forma , as observações de GILLESPIE (1966c) . Este autor , injetando Nor-A no baço do gato , observou brilhante fluorescência na periferia dos nódulos linfóides ; esta fluorescência se localizava nas fibras musculares lisas das artérias e arteríolas dessa região , as quais exibiam , além disso , acentuada contração .

A zona marginal , que envolve os nódulos linfóides do baço , vem sendo alvo de recentes estudos (MILLIKIN , 1969 , 1970 ; BERMAN ET AL. , 1972 ; MÜLLER-HERVELINK ET AL. , 1974) . BERMAN ET AL. (1972) demonstram que , no rato , a zona marginal recebe grande número de terminações arteriais e , em especial , os seios marginais são mais amplos nos baços de animais leucêmicos . HADLER ET AL. (1968) mostraram , através de observação microscópica e de técnicas histoquímicas , que esta região do baço do rato é isenta de células endoteliais e , portanto , de vasos propriamente ditos . VEERMAN & EWIJK (1975) salientam a importância da zona marginal , quando sugerem que os linfócitos B , localizados na periferia do nódulo , estão diretamente expostos ao sangue circulante . Os resultados do presente trabalho , demonstrando que a circulação esplênica , sob situações de fraca estimulação α -adrenérgica , apresenta-se intensificada através do nódulo e sua zona marginal , vêm corroborar a importância atribuída a esta região , nos trabalhos acima citados .

A inversão da resposta constritora da Nor-A , verificada com as doses relativamente baixas (de 15 , de 8 e de 4 ng / ml) , sugere a possibilidade de , com estas doses , ter ocorrido estimulação dos β -recepto -

nes, localizados ao nível das artérias e arteríolas nodulares. Esta sugestão encontra apoio em MODERMAN ET AL. (1969). Estes autores relatam que, no cão, a resposta vascular à Nor-A, liberada após estimulação nervosa, é o resultado de um efeito predominante dos α -receptores, induzindo vasoconstricção, e de um efeito mais fraco dos β -receptores, induzindo vasodilatação. Também, DAVIES ET AL. (1973) observaram que, em cães, 4 dentre 9 estimulações efetuadas pela Nor-A, nas doses de 0,01 a 0,1 μ g/ml, apresentaram vasodilatação induzida pela Nor-A. No presente trabalho, dos seis baços estimulados com doses relativamente fracas de Nor-A, os três primeiros apresentaram contração arteriolar e formação de halo perinodular de contraste, e, os três últimos demonstraram vasodilatação das artérias e arteríolas de polpa branca, sugerindo a ação dos β -receptores, no baço do gato.

IV.4 - Bloqueio dos Receptores α -Adrenérgicos.

IV.4.1 - Fenoxibenzamina (FBA) .

Há evidências de que o local de ação dos agentes bloqueadores α -adrenérgicos, especialmente o da Fenoxibenzamina, não se restringe aos receptores adrenérgicos do órgão efetor, mas envolva, também, as terminações simpáticas do órgão. A Fenoxibenzamina (FBA) impede a captura da Nor-A, injetada ou liberada após estimulação nervosa (THOENEN ET AL., 1966); induz, também, marcante queda da pressão sanguínea no baço, a qual, no cão, não se modifica pela ação da Nor-A, além de aumentar a reserva de eritrócitos (EISENBERG ET AL., 1969).

Com respeito à ação da FBA sobre a circulação sanguínea do baço do gato, BROWN & GILLESPIE (1957) referem que esta droga aumenta o fluxo

sanguíneo através do órgão .

No presente trabalho , a administração da FBA , seguida da injeção de contraste , demonstra que , nos baços submetidos ao bloqueio α -adrenérgico , modifica-se o aspecto circulatório , em comparação com o de baços não bloqueados , isto é , apenas injetados com contraste . Analisando-se a ação da FBA sobre o baço do gato , verifica-se , primeiramente , que a administração da droga , antes do isolamento do órgão , causa aumento de volume deste , o que confirma os resultados de EISENBERG ET AL. (1969) . O efeito bloqueador da FBA persiste após a lavagem do baço e ainda se manifesta após 1 hora de perfusão , quando então a solução de contraste é injetada . Estes resultados encontram apoio nos estudos sobre o mecanismo de ação da FBA , efetuados por GERO (1965) . Propõe este autor que a FBA , após uma breve fase inicial de inibição competitiva reversível , forme com o receptor , num segundo estágio , uma ligação covalente , estável , e que requer hidrólise para haver reversão no efeito .

Verifica-se , no presente trabalho , que a distribuição do contraste , no baço submetido ao bloqueio α -adrenérgico , é muito ampla e apresenta intensidade jamais observada nos baços controle . Com efeito , a suspensão de contraste circula com facilidade através do órgão , acumulando-se na região subcapsular e na zona marginal dos nódulos .

Discutiu-se anteriormente que a administração da Nor-A , na dose de 2 μ g / ml , produz intensa contração do órgão , que se traduz , histologicamente , pela presença do contraste apenas ao nível de artérias trabeculares e veias calibrosas , evidenciando a importância do controle α -adrenérgico sobre a circulação esplênica . No baço previamente tratado pela FBA , a administração de Nor-A , na dose de 2 μ g / ml , não causa contração aparente do órgão ; nestas circunstâncias , histologicamente , verifica-se a presença do contraste em toda a rede arterial e venosa do órgão . Cumpre notar que ,

não obstante não ocorrer exclusão de nenhuma via circulatória nestes baços bloqueados pela FBA e estimulados pela Nor-A, a quantidade de contraste não é tão intensa quanto a que ocorre nos baços perfundidos apenas com a FBA. Há, portanto, uma ação, ainda que diminuta, da Nor-A sobre a rede circulatória do órgão. Esta ação coexiste com o marcante efeito bloqueador da FBA sobre as fibras musculares lisas do baço. Com efeito, KIRPEKAR & MISU (1967) relatam que, no baço de gato, nenhum agente bloqueador adrenérgico consegue anular completamente a resposta esplênica à estimulação nervosa.

IV.4.2 - Ácido 2-Carboxibenzeno Selenínico (Se 2).

LINONGI (1962), tendo descoberto a ação bloqueadora α -adrenérgica do Se 2, relata que, no cão e no gato, este composto inverte a ação pressora da Adrenalina, na dose de 5 mg / Kg de peso corporal. Descreve, também, que em doses superiores àquelas suficientes para determinar bloqueio adrenérgico, o Se 2 passa a apresentar atividade bloqueadora colinérgica.

PRADO-FRANCESCHI (1970) registrou o efeito bloqueador α -adrenérgico do Se 2 sobre a pressão arterial carotídea do cão, verificando não somente a inversão do efeito da Adrenalina, como também a ausência do efeito hipertensor da Nor-Adrenalina.

Os resultados do presente trabalho revelam que o Se 2 possui efeito sobre a circulação do baço análogo àquele verificado pela ação da FBA. A elevação da dose de 10 μ g / ml para 60 μ g / ml não é suficiente, na presente técnica de administração, para se obter a atividade bloqueadora colinérgica descrita por LINONGI (1962).

Em resumo, comprova-se neste trabalho, dentro das condições experimentais utilizadas, a ação bloqueadora do Se 2 sobre os receptores α -

adrenérgicos do baço de gato, assim como demonstra-se que a distribuição ampla do contraste no seu sistema circulatório, conseqüente ao emprego da FBA, decorrente do bloqueio α -adrenérgico, é a mesma apresentada pelos baços tratados pelo Se 2.

IV.5 - Depleção Adrenérgica pela Reserpina.

O fato da depleção adrenérgica, tanto crônica quanto aguda, a apresentar resultado semelhante, está em concordância com a observação de LEADERS & DAYRIT (1965).

A circulação, nos baços submetidos à depleção pela Reserpina, é muito semelhante à obtida pela administração da FBA. Sugere-se pois, no presente trabalho, que o controle exercido pelo sistema adrenérgico, sobre a circulação do baço, seja, predominantemente, por ação sobre os receptores α -adrenérgicos, uma vez que, na depleção, repetem-se os fatos obtidos nas situações de bloqueio α -adrenérgico.

IV.6 - Estimulação dos Receptores β -Adrenérgicos.

IGNARRO & TITUS (1968), descrevendo a ação antagonística dos receptores α e β -adrenérgicos, no baço do camundongo, relatam que o Isoproterenol, em baixas concentrações, produz relaxamento e que, em altas concentrações, produz contração da musculatura lisa esplênica. Estes autores não obtiveram evidências sobre a presença de β -receptores, na musculatura lisa esplênica do gato, assim como não ocorreu com o baço do rato, do coelho, do coelho e do macaco. SHIEYS & GREEN (1972) também concluíram pela inexistência de receptores β -adrenérgicos no baço do coelho.

GREENWAY ET AL. (1968) admitem que o baço do gato possua recep

tores α e β -adrenérgicos, sendo a ação dos β -receptores muito tênue e anulada pela ação dos α -receptores.

EISENBERG ET AL. (1969), admitindo a presença de α e β -receptores no baço do cão, descrevem que o mesmo se contrai pela estimulação α e β -adrenérgica, e que esta contração não está, necessariamente, relacionada com vasoconstricção arterial. Estes autores demonstram contração esplênica provocada pelo Isoproterenol e o bloqueio desta resposta pelo Propranolol. Ainda, para estes autores, o baço sob a ação exclusiva do Propranolol não difere dos baços controle, em relação aos parâmetros analisados (hematócrito e volume plasmático).

MODERMAN ET AL. (1969) admitem como provável a ocorrência de β -receptores, no leito vascular do baço do cão, porque o Isoproterenol causa declínio da pressão de perfusão, que é abolido pelo Propranolol.

Resumindo os resultados dos quatro grupos de pesquisadores acima citados, observa-se que se os α -receptores são admitidos como constantemente presentes nas fibras musculares lisas do baço do gato, o mesmo não acontece com os β -receptores. Também se observa que o Isoproterenol, dependendo da dose administrada, pode induzir relaxamento ou contração da musculatura lisa do baço, ou pode, ainda, induzir apenas espleno-contração, a qual pode não estar relacionada com a vasoconstricção arterial.

No presente trabalho, os resultados mostram que o Isoproterenol causa contração do baço no momento que se segue à administração, especialmente quando é usada a dose de 10 μg / ml. Esta observação está em consonância com os resultados obtidos por IGNARRO & TITUS (1968), no camundongo, e, parcialmente, com os de EISENBERG ET AL. (1969), no cão. Do ponto de vista histológico, o Isoproterenol, nas doses administradas, por via intra-arterial, mostra ação constritora sobre a circulação arterial do baço. Esta ação constritora é de intensidade moderada, não havendo preferência ní-

tida sobre os circuitos arteriais da polpa branca e sua zona marginal , ou sobre as arteríolas da polpa vermelha .

IV.7 - Bloqueio dos Receptores β -Adrenérgicos .

O Propranolol é descrito como o mais potente agente bloqueador β -adrenérgico , possuindo uma atividade intrínseca mínima (NICKERSON , 1975) . De fato , quando administrado isoladamente ao baço de gato , não demonstrou alteração do fluxo do efluente , fato que concorda com os resultados de EISENBERG ET AL. (1969.) . Histologicamente , não se verifica distribuição particular do contraste, no interior do sistema circulatório esplênico .

Os baços previamente tratados pelo Propranolol e posteriormente estimulados pelo Isoproterenol , não demonstraram bloqueio da ação constritora do Isoproterenol . Estes resultados sugerem que esta contração vascular seja devida a uma ação α -adrenérgica , pois o quadro histológico observado não se distingue daquele obtido com doses adequadas de Nor-A . A resposta vascular da estimulação β -adrenérgica do baço é , possivelmente , de pequena amplitude e se manifesta por ação dilatadora , verificada nos segmentos arteriais finos , a julgar pelos resultados obtidos através da administração de doses mínimas de Nor-A (ver item IV.3 deste capítulo) .

IV.8 - Estimulação pela Acetilcolina e Bloqueio da Ação Colinérgica.

O baço responde à estimulação pela ACh e a degeneração do nervo esplênico resulta em diminuição de ACh , assim como das Catecolaminas do órgão (BRANDON & RAND , 1961) . Entretanto a inervação colinérgica , dentro do parênquima esplênico, ainda não está estabelecida .

GERSBACH (1970) , estudando o plexo nervoso esplênico , no bezerro , no cão e no homem , confirmou a sua origem no plexo ganglionar celíaco , mas verificou que um pequeno contingente de fibras do nervo vago é enviado para o baço . FILLENZ (1970) demonstrou que o baço do gato recebe apenas inervação motora constituída de fibras simpáticas pós-ganglionares ; mas , esta mesma autora encontrou porções arteriais extra esplênicas envoltas por uma rede de fibras nervosas ricas em Acetilcolinesterase , ao lado de abundante rede de fibras adrenérgicas . Segundo a mesma , a rede nervosa contendo Acetilcolinesterase desaparece assim que a artéria esplênica adentra o baço . A abundância de Acetilcolinesterase , no parênquima esplênico (ARVY , 1965 ; FILLENZ , 1970) , não está , até o momento , claramente relacionada com inervação interna do órgão .

Portanto , do ponto de vista morfológico , não está confirmada a presença de fibras colinérgicas na inervação simpática do baço . BURN & RAND (1959) levantaram a hipótese da presença de fibras colinérgicas na inervação simpática deste órgão . Posteriormente , encontraram-se evidências morfológicas desta associação , no tubo deferente do cobaio (THOENEN ET AL. , 1966) , na íris e no coração do rato (EHINGER ET AL. , 1970) , onde fibras adrenérgicas e colinérgicas encontram-se em estreita proximidade (entretanto , sem especialização estrutural da membrana do tipo sináptico) .

Especificamente para o baço , vários autores apontaram uma ação colinérgica (BURN & RAND , 1959 ; BURN & RAND , 1960 ; BRANDON & RAND , 1961 ; LEADERS & DAYRIT , 1965 ; DILLY & SCOTT , 1961) . A hipótese de BURN & RAND (1959) , conhecida como a Hipótese da Conexão Colinérgica , propõe que o impulso nervoso , ao atingir o terminal adrenérgico , promova a liberação de Acetilcolina , a qual , por ativação dos receptores nicotínicos , facilita a entrada de íons Ca^{++} ; estes , por sua vez , liberariam a Nor-Adrenalina de seus depósitos . KOSTERLITZ ET AL. (1972) , após analisar em

detalhe a bibliografia existente sobre a inter-relação entre mecanismos adrenergicos e colinérgicos, tanto do ponto de vista da resposta farmacológica, como dos trabalhos morfológicos existentes, concluíram que :

A Acetilcolina pode promover ou pode inibir a liberação da Nor-Adrenalina, nos terminais nervosos adrenergicos. É possível que haja uma interação funcional entre os terminais nervosos adrenergicos e os colinérgicos. Esta interação teria como resultado uma modulação da Nor-Adrenalina liberada pela Acetilcolina de seus terminais colinérgicos e vice-versa. Assim, quando a Acetilcolina inibe a liberação de Nor-Adrenalina, este efeito inibitório é mediado por receptores muscarínicos. A liberação de Nor-Adrenalina ocorre pela ativação dos receptores nicotínicos.

Os resultados obtidos no presente trabalho mostram que, no baço do gato, as estimulações colinérgicas fornecem, invariavelmente, respostas constritoras, que levam a supor uma ação mediada por receptores nicotínicos, podendo, pelo que foi discutido acima, ter esta ação provocado liberação de Nor-Adrenalina. De fato, a administração prévia de Atropina não bloqueia a resposta constritora da Acetilcolina, o que concorda com BRANDON & RAND (1961) e DALY & SCOTT (1961). O bloqueio α -adrenergico, pela Fenoxibenzamina, anula a ação constritora da Acetilcolina, confirmando a possível ação adrenergica desta droga, no baço do gato. A ação constritora da Acetilcolina, não estritamente relacionada com a dose, atinge preferencialmente a cápsula, as trabéculas e as artérias trabeculares. É possível que a contração capsular tenha sido mais intensa do que a contração vascular, porque as doses efetivas da ACh não levam à exclusão circulatória da rede arterial e venosa fina, como o fazem as doses relativamente altas de Nor-A.

Cumpra lembrar que DALY & SCOTT (1961) relataram que doses pequenas (5 μ g) de ACh aumentaram o volume do baço (no máximo de 5 ml)

e provocaram queda da resistência vascular , efeitos estes abolidos pela Atropina . BURN & RAND (1960) também registraram que gatos pré-reserpinizados respondem à ACh por espleno-dilatação , mas o fazem num breve período de 6 segundos , sobrevivendo , a seguir , uma leve espleno-contracção .

No presente trabalho , se essas respostas muscarínicas ocorreram com a administração de baixas doses de ACh , não foram detectadas , devido ao período muito breve de acção , pois , com a técnica empregada , a resposta obtida é revelada pelo contraste somente a partir do terceiro minuto que sucede à administração da droga .

Finalmente , com relação à estimulação colinérgica do baço do gato , mostrou-se que quando este órgão se contrae , devido à presença da ACh , esta contracção , embora suficiente para diminuir a intensidade circulatória , não estabelece modificações qualitativas nas vias circulatórias do baço .

IV.9 - Ação de Drogas Vaso-Ativas sobre a Circulação do Baço .

IV.9.1 - Histamina .

O baço apresenta alta concentração de Histamina por grama de tecido ; os nervos esplênicos apresentam quantidade 10 vezes superior (ARVY, 1965) .

ROCHA E SILVA (1973) esclarece que , praticamente , toda a Histamina presente nos tecidos dos mamíferos se origina "in loco" , pela acção da Histidina-Decarboxilase ; ARVY (1965) , referindo-se a WATON (1956) , lembra que o baço não possui Histidina-Decarboxilase . Esta ausência dificulta explicar a abundância de Histamina no baço . Segundo ARVY (1965) , a Histamina , presente no baço , não pode ser atribuída aos mastócitos , pois estes são escassos em relação à quantidade de Histamina .

Embora a Histamina seja sintetizada "in loco" (ROCHA E SILVA , 1973) , WATON (1964) demonstrou , no gato , que certa fração da Histamina circulante pode fixar-se nos tecidos .

É também demonstrado que a Histamina causa contração dos músculos lisos e dilatação dos capilares , além de estimular a secreção do Ácido Clorídrico no estômago . A intensidade destas ações varia de acordo com a espécie animal considerada . No gato , a Histamina causa generalizada dilatação capilar , resultando profunda queda de pressão sanguínea , não obstante a leve contração verificada nas arteríolas , devido à estimulação do músculo liso (LEWIS , 1970) .

HAEFELY (1972) assinala que a Histamina tem efeito estimulador fraco sobre o gânglio cervical superior , no gato . O mesmo autor assinala que ainda não foram descritos receptores histamínicos na porção axonal , assim como não foram descritos no neurônio adrenérgico terminal .

No presente trabalho , os resultados revelam que a Histamina causa o efeito descrito por LEWIS (1970) , ou seja , produz dilatação capilar terminal , no baço do gato . Esta ação predomina sobre a leve contração arteriolar . Estes resultados são diferentes dos obtidos com o bloqueio α -adrenérgico ; a FBA facilita a circulação através de toda a árvore arterial do baço , enquanto que a Histamina produz dilatação preponderante dos capilares terminais , atuando ao nível da circulação fina .

IV.9.2 - Angiotensina II .

LEVY & AHLQUIST (1965) admitem que a principal ação da Angiotensina se efetue através do estímulo de , praticamente , todas as estruturas musculares lisas , sendo provável que exerça efeito vasoconstritor direto , o qual não é mediado pelo sistema nervoso simpático , assim como não o é por

substâncias simpatomiméticas .

DOUGLAS (1975) sugere que os receptores da Angiotensina , nos músculos lisos (e também no tecido nervoso e na medula supra-renal), não sejam iguais aos da aminas biogênicas (Acetilcolina , Nor-Adrenalina , Histamina e 5-Hidroxitriptamina) .

Por outro lado , se atribui à Angiotensina a capacidade de liberar Nor-A endógena , dos terminais nervosos simpáticos (SOARES DE MOURA , 1967 ; GOLDBERG ET AL. , 1975) e de possuir ação sinérgica com a Nor-A , sobre as fibras musculares dos vasos (THOENEM ET AL. , 1965) . No entanto, HERTTING & SUKO (1966) se opõem a estas idéias , sugerindo que a Angiotensina não determinaria a liberação de Nor-A , como também não impediria a captura desta .

Especificamente , sobre o efeito da Angiotensina , injetada na circulação arterial do baço de cães e gatos , existe certa concordância entre os autores : esta droga produz aumento de resistência vascular e redução do volume esplênico (THOENEM ET AL. , 1965 ; HERTTING & SUKO , 1966) , variações estas proporcionais à dose empregada (DAVIES & WITHERINGTON , 1975) .

BOATMAN & BRODY (1964) relatam que , no baço de cão , a Angiotensina não tem efeito sobre a tensão capsular , ficando seu efeito restrito à contração dos segmentos arteriais da rede vascular esplênica .

No presente trabalho , os resultados demonstram que a Angiotensina II determina acentuada contração de toda a rede arterial do baço , quando empregada na dose de $2 \mu\text{g} / \text{ml}$. Esta ação determina um padrão de distribuição do contraste , no interior do sistema vascular esplênico , semelhante àquele verificado para doses relativamente altas de Nor-A , com exclusão circulatória de amplas áreas do órgão . Para se explicar a vigorosa contração do leito vascular do baço , provocada pela Angiotensina II e também pela administração de Nor-A a partir de doses de $2 \mu\text{g} / \text{ml}$, é necessário admitir que a

Angiotensina II atua diretamente sobre os receptores das fibras musculares lisas, o que encontra apoio em LEVY & ALLQUIST (1965) .

Por outro lado, a ação da Angiotensina II sobre a rede circulatória do baço, revelada pela distribuição do contraste, reforça a proposição da existência de anastomoses circulatórias entre artérias trabeculares, ou colunares, e veias coletoras, ou trabeculares.

IV.9.3 - Nitrito de Sódio .

Os vasos sanguíneos podem dilatar-se por ação dos Nitritos. Muito pouco é conhecido sobre o mecanismo básico pelo qual estas drogas relaxam as fibras musculares lisas (MELVILLE, 1965). A ação relaxante não é específica e afeta todos os músculos lisos, independentemente de sua inervação, ou da natureza de suas respostas aos estimulantes adrenérgicos, colinérgicos, ou outros tipos de agonistas. A ação relaxante dos Nitritos se efetua sobre todos os vasos, em determinada região vascular, sendo mais ativa sobre os mais calibrosos (NICKERSON, 1975).

No baço do gato, a dilatação vascular obtida pela administração de Nitrito de Sódio proporciona distribuição intensa do contraste na rede circulatória do órgão. Este resultado confirma a eficácia da técnica utilizada na evidência dos fenômenos ocorridos no leito vascular do baço. Também esclarece que a distribuição do contraste, nas vias arteriais da polpa branca e da polpa vermelha, é aparentemente equitativa, quando se promove uma dilatação vascular inespecífica, como é o caso da obtida pela administração do Nitrito de Sódio.

V - CONCLUSÕES

Baços de gatos , isolados e perfundidos , respondem à estimulação por drogas adrenérgicas , colinérgicas e substâncias vaso-ativas . A injeção de contraste , via o sistema de perfusão , seguida de rápida fixação do baço , quando ainda se encontra sob a ação da droga injetada , permite verificar , histologicamente , as vias circulatórias da rede vascular do órgão , delimitadas pelo contraste .

O baço do gato responde energeticamente à estimulação dos receptores α -adrenérgicos , quando tratado pela Nor-Adrenalina . A resposta é dose-dependente e permite diferenciar distintas vias circulatórias .

Doses relativamente altas de Nor-Adrenalina determinam a circulação do contraste injetado através de artérias e veias calibrosas , havendo exclusão de toda rede arteriul fina e dos seios venosos . Esta via circulatória só é possível admitindo-se a presença de anastomoses artério-venosas ao nível dos grandes vasos .

Doses gradativamente decrescentes de Nor-Adrenalina proporcionam a penetração do contraste no interior do baço , em maior extensão , com preferência da circulação arterial através dos nódulos linfóides , a qual prossegue para a zona marginal dos mesmos . Nestas condições , a ação constritora da Nor-A é preponderante sobre as arteríolas longas e curtas da polpa vermelha .

A administração de bloqueadores α -adrenérgicos (Fenoxibenzamina ou Ácido 2-Carboxibenzeno Selenínico) determina que a circulação do contraste se efetue preferencialmente através das artérias da polpa vermelha do baço , com grande preenchimento dos vasos venosos . O bloqueio α -adre -

nérgico elimina os efeitos sobre o sistema circulatório originados pela estimulação com a Nor-Adrenalina .

A depleção adrenérgica demonstra a mesma ação obtida pelos bloqueadores α -adrenérgicos .

A ação dos receptores β -adrenérgicos do baço não pode ser verificada com clareza pela administração do Isoproterenol , nas doses empregadas . Estes receptores parecem responder , quando estimulados por doses mínimas de Nor-Adrenalina , estabelecendo dilatação de vasos arteriolarés .

A resposta do baço do gato à estimulação pela Acetilcolina é constritora , não sendo entretanto relacionada com a dose . Sugere-se que a resposta observada seja mediada através do sistema adrenérgico , uma vez que não é inibida pela Atropina e é bloqueada pela Fenoxibenzamina .

Drogas de conhecida ação vaso-ativa , como a Histamina , a Angiotensina II e o Nitrito de Sódio , produzem efeitos sobre as vias circulatórias do baço .

A Histamina produz dilatação da porção terminal da rede arterial , aumentando a quantidade de contraste nestes vasos . A dilatação provocada pela Histamina produz um quadro circulatório distinto daquele produzido pelo bloqueio α -adrenérgico .

A Angiotensina II promove profunda contração do leito arterial , assemelhando-se aos efeitos produzidos por altas doses de Nor-Adrenalina .

O Nitrito de Sódio , ao promover uma distribuição generalizada do contraste , esclarece que , no baço do gato , a circulação , entre as vias arteriais da polpa branca e da polpa vermelha , é aparentemente equitativa , quando se promove uma dilatação vascular inespecífica .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - AHLQUIST, R.P. - A study of the adrenotropic receptors. Am. J. Physiol., 153 : 586 - 600, 1948.
- 2 - AHLQUIST, R.P. - Development of the concept of alpha and beta adrenotropic receptors. Ann.N.Y. Acad.Sci., 139 : 549 - 552, 1967.
- 3 - ARVY, L. - Splénologie. Paris Gauthier-Villars 1965.
- 4 - ATKINS, R. ET AL. - A technique for prolonged splenic perfusion. Surgery, 67 : 306 - 312, 1970.
- 5 - BERNAN, V.D. ET AL. - Microangiographic study of the splenic arterial vascularization in the normal and leukemic rat spleen. RES. J. Reticuloendothel. Soc., 12 : 449 - 461, 1972.
- 6 - BICKERTON, R.K. - In: ARVY, L. - La rate et le métabolisme des amines. In: Splénologie. Paris Gauthier-Villars 1965, p. 455 - 472.
- 7 - BJÖRKMAN, S.E. - In: MIYOSHI ET AL. - The red pulp of the rabbit spleen studied under the scanning electron microscopy. Arch. Histol. Jap., 32 : 289 - 306, 1970.
- 8 - BOATMAN, D.L. & BRODY, M.J. - Analysis of vascular responses in the spleen. Am. J. Physiol., 207 : 155 - 161, 1964.
- 9 - BRAITHWAITE, J.L. & ADAMS, D.J. - Vascular compartments in the rat spleen. Nature, 178 : 1178 - 1179, 1956.
- 10 - BRANDÃO, H.S. - Contribuição para o estudo das zonas venosas do baço em fetos e recém-nascidos humanos. Depart. Morfol., I.C.B., U.F. Juiz de Fora. Minas, 1973.
- 11 - BRANTON, K.W. & RIND, M.J. - Acetylcholine and the sympathetic innervation of the spleen. J. Physiol. (Lond.), 157 : 18 - 32, 1961.

- 12 - BROWN, G.L. GILLESPIE, J.S. - The output of sympathetic transmitter -
from the spleen of the cat. J. Physiol. (Lond.), 138: 81 - 102 ,
1957.
- 13 - BURN, J.H. & RAND, M.J. - The action of sympathomimetic amines in
animals treated with reserpine. J. Physiol. (Lond.), 144: 314-
336, 1958.
- 14 - BURN, J.H. & RAND, M.J. - Sympathetic postganglionic mechanism. -
Nature (Lond.), 184: 163 - 165, 1959.
- 15 - BURN, J.H. & RAND, M.J. - Sympathetic postganglionic cholinergic -
fibres. Br. J. Pharmacol., 15: 56 - 66, 1960.
- 16 - DAILY, M. de B. & SCOTT, M.J. - The effects of acetylcholine on the
volume and vascular resistance of the dog's spleen. J. Physiol. -
(Lond.), 156: 246 - 259, 1961.
- 17 - DAVIES, B. N. ET AL. - Frequency - dependent differences in the -
responses of the capsular and vascular smooth muscle of the
spleen of the dog to sympathetic nerve stimulation. J. Physiol. -
(Lond.), 228: 13 - 25, 1973.
- 18 - DAVIES, B.N. & WITHERINGTON, P.G. - The responses of the isolated -
blood perfused spleen of the dog to angiotensin, oxytocin and
vasopressin. Br. J. Pharmacol., 54: 205 - 212, 1975.
- 19 - DELAUNOIS, A.L. ET AL. - Isolated perfused dog spleen method. -
Experientia (Basel), 24: 307 - 309, 1968.
- 20 - DOUGLAS, W.W. - Polypeptides - Angiotensin, Plasma Kinins, and other
vasoactive agents; Prostaglandins. In: Goodman & Gilman, ed. -
The pharmacological basis of therapeutics. 5 ed. MC MILLAN N.Y. 1975.
- 21 - EHINGER, B. & FALCK, B. - Uptake of some catecholamines and their
precursors into neurons of the rat ciliary ganglion. Acta -
Physiol. Scand., 78: 132 - 141, 1970.

- 22 - EISENBERG, S. ET AL. - Dynamics of the splenic erythrocyte reservoir -
in the dog. J. Surg. Res. 9: 595 - 604, 1969.
- 23 - FALCK, B. ET AL. - Fluorescence of catecholamines and related -
compounds condensed with formaldehyde. J. Histochem. Cytochem., -
10: 348 - 354, 1962.
- 24 - FILLENZ, M. - The innervation of the cat spleen. Proc. R. Soc. Lond. -
B. Biol. Sci., 174: 459 - 468, 1970.
- 25 - FUJITA, T. - A scanning electron microscope study of the human spleen.
Arch. Histol. Jap., 37: 187 - 216, 1974.
- 26 - GENAZZANI, & NITO. - In: ARVY, L. - La rate et le métabolisme des
amines. In: Splénologie. Paris Gauthier-Villars 1965, p. 455 - 472.
- 27 - GERSBACH, PII. - Contribution à l' étude de l' innervation de la rate. -
Étude d'anatomie comparée. Arch. Anat. Embryol., 53: 397 - 424, :
1970.
- 28 - GERO, A. - Intimate study of drug action III: possible mechanisms of
drug action. In: Drill's Pharmacology in Medicine, DiPalma ed. 3 ed.
M c Graw - Hill. 1965. p. 47 - 69.
- 29 - GILLESPIE, J. S. & KIRPEKAR, S.M. - The inactivation of infused -
noradrenaline by the cat spleen. J. Physiol. (Lond.), 176: - 205 -
227, 1965.
- 30 - GILLESPIE, J. S. & KIRPEKAR, S.M. - The uptake and release of -
radioactive noradrenaline by the splenic nerves of cats. -
J. Physiol. (Lond.), 187: 51 - 68, 1966a.
- 31 - GILLESPIE, J.S. & KIRPEKAR, S.M. - The histological localization of
noradrenaline in the cat spleen. J. Physiol. (Lond.), 187: 69 -
80, 1966b.
- 32 - GILLESPIE, J. S. - Tissue binding of noradrenaline. Proc. R. Soc. Lond.
B. Biol. Sci., 166: 1 - 10, 1966c.

- 33 - GOLDBERG, M.R. ET AL. - Unusual vasoconstrictor effects of angiotensin-
II. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 149: 707 - 713, 1975.
- 34 - GREENWAY, C.V. ET AL. - Vascular response of the spleen to nerve -
stimulation during normal and reduced blood flow. J. Physiol. -
(Lond.), 194: 421 - 433, 1968.
- 35 - GRINDLAY, J.H. ET AL. - In: ARVY, L. - La rate et le métabolisme des
amines. In: Splénologie. Paris Gauthier Villars 1965. p. 455 - 472.
- 36 - GROOM, A.C. & SONG, S.H. - Effects of norepinephrine on washout of
red cells from the spleen. Am. J. Physiol. 221: 255 - 258, 1971b.
- 37 - GROOM, A.C. & SONG, S.H. - Physical characteristics of red cells
collected from the spleen. Can. J. Physiol. Pharmacol., 49: 1092 -
1099, 1971d.
- 38 - HADLER, W.A. - Morfologia e distribuição das células reticulares do -
baço normal. Estudo efetuado mediante técnica de impregnação argên-
tica. Tese, Livre-Doc., Fac. Med. Ribeirão Preto, U.S.P., 1962.
- 39 - HADLER, W.A. & ÁVILA, R. - Relação entre os seios venosos e nódulos -
linfáticos do baço. [Apresentado ao VI Congresso Brasileiro da So-
ciedade de Anatomia, 1968].
- 40 - HAEFELY, W. - Electrophysiology of the adrenergic neuron. In: -
Catecholamines, Blaschko & Muscholl ed. Springer Verlag, 1972. p. -
661 - 715.
- 41 - HERRATH, E. von - Milza. - Estratto da Enciclopedia Medica Italiana,
Sansoni Ed. Sci., 1954 v. 6., p. 1119 - 1143.
- 42 - HERRLINGER, R. - In: MIYOSHI, M. ET AL. - The red pulp of the rabbit
spleen studied under the scanning electron microscope. Arch. -
Histol. Jap., 32: 289 - 306, 1970.
- 43 - HERTTING, G. & SUKO, J. - Influence of angiotensin, vasopressin on
changes in flow rate on vasoconstriction, changes in volume and

- [³H]-noradrenaline release following post-ganglionic sympathetic nerve stimulation in the isolated cat spleen. Br. J. Pharmacol., 26: 686 - 696, 1966.
- 44 - HOLZBUKLER, M. & SHANNAN, D.F. - The distribution of catecholamines in vertebrates. In: Catecholamines, Blaschko & Muscholl ed. Springer Verlag, 1972. p. 110 - 185.
- 45 - IGNARRO, L. J. & TITUS, E. - The presence of antagonistically acting - alpha and beta adrenergic receptors in the mouse spleen. J. Pharmacol. Exp. Ther., 160: 72 - 80, 1968.
- 46 - INNES, I. - In: ARVY, L. - La rate et le métabolisme des amines. In: Splénologie. Paris Gauthier - Villars 1965, p. 455 - 472.
- 47 - KNISELY, M.H. - Spleen studies. I Microscopic observation of the circulatory system of living unstimulated mammalian spleens. Anat. Rec., 65: 23 - 50, 1936.
- 48 - KIRPEKAR, S.M. & MISU, Y. - Release of noradrenaline by splenic nerve stimulation and its dependence on calcium. J. Physiol. (Lond.), 188: 219 - 234, 1967.
- 49 - KIRPEKAR, S.M. & WAKADE, A.R. - Release of noradrenaline from the cat spleen by potassium. J. Physiol. (Lond.), 194: 595 - 608, 1968a.
- 50 - KIRPEKAR, S.M. & WAKADE, A.R. - Factors influencing noradrenaline uptake by the perfused spleen of the cat. J. Physiol. (Lond.), 194: 609 - 626, 1968b.
- 51 - KIRPEKAR, S.M. & YAMAMOTO, H. - Release of noradrenaline and dopamine by nerve stimulation in the cat spleen perfused with ³H-dopamine. Br. J. Pharmacol., 43: 86 - 96, 1971.
- 52 - KIRPEKAR, S.M. ET AL. - Modification of the evoked release of noradrenaline from the perfused cat spleen by various ions and agents. J. Physiol. (Lond.), 221: 601 - 615, 1971.

- 53 - KOSTERLITZ, ET AL. - Interrelationships between adrenergic and cholinergic mechanisms. - In: Catecholamines, Blaschko & Muscholl. - ed. Springer - Verlag, 1972. p. 762 - 812.
- 54 - LEADERS, F.E., & DAYRIT, C. - The cholinergic component in the sympathetic innervation to the spleen. J. Pharmacol. Exp. Ther., 147: 145 - 152, 1965.
- 55 - LEBLOND, P.F. - Étude au microscope électronique à travers les parois - des sinusoides spléniques et médullaires chez le rat. Nouv. Rev. Fr. Hematol., 13: 771 - 788, 1973.
- 56 - LEVY, B. & ALLQUIST, R.P. - Adrenergic drugs. - In: Drill's Pharmacology in Medicine, Di Palma ed., 3 ed. Mc Graw Hill, 1965. p. 463 - 501.
- 57 - LEWIS, O.J. - The blood vessels of the adult mammalian spleen. J. Anat., 91: 245 - 250.
- 58 - LEWIS, J.J. - Lewis's Pharmacology. rev. Crossland, 4 ed. E & S Livingstone Edinburgh. 1970. p. 490 - 497.
- 59 - LINONGI, J.P. - Constituição química e atividade farmacológica numa série de ácidos benzena selenínicos. An. 11 Reun. Div. Quim. Biog.-Assoc. Bras. Quim. Reg. GB. LACAZ, P.S. ed., 1962. p. 182 - 188.
- 60 - MCKENZIE, D.W. ET AL. - Studies on the microscopic anatomy and physiology of living transilluminated mammalian spleens. Am. J. Anat., 68: 397 - 456, 1941.
- 61 - MELVILLE, K.I. - Coronary vasodilators: the nitrites and other agents. In: Drill's Pharmacology in Medicine, Di Palma ed., 3 ed. Mc Graw - Hill, 1965. p. 594 - 623.
- 62 - MILLIKIN, P.D. - The nodular white pulp of the human spleen. Arch. Pathol., 87: 247 - 258, 1969.
- 63 - MILLIKIN, P.D. - Epithelioid germinal centers in the human spleen.

- Arch. Pathol., 89: 314 - 320, 1970.
- 64 - MIYOSHI, M. ET AL. - The red pulp of the rabbit spleen studied under the scanning electron microscope. Arch. Histol. Jap., 32: 289 - 306, 1970.
- 65 - MIYOSHI, M. & FUJITA, T. - Stereo-fine structure of the red pulp. A combined scanning and transmission electron microscope study on dog and rat spleen. Arch. Histol. Jap., 33: 225 - 246, 1971.
- 66 - MOERWIN, E.J. ET AL. - Adrenergic receptors in the isolated perfused - dog spleen. Eur. J. Pharmacol., 5: 279 - 285, 1969.
- 67 - MÜLLER - HERMELINK, H.K. ET AL. - Enzyme histochemical observations on the localization and structure of the T cell and B cell regions in the human spleen. Cell. Tiss. Res., 154: 167 - 179, 1974.
- 68 - NURAKAMI, T. ET AL. - Closed circulation in the rat spleen as evidenced by scanning electron microscopy of vascular casts. Experientia - (Basel), 29: 1374 - 1375, 1973.
- 69 - NICKERSON, M. - Vasodilator drugs. - In: The pharmacological Basis of Therapeutics, Goodman & Gilman ed., 5 ed. MACMILLAN N.Y., 1975. p. 727 - 743.
- 70 - NOERTHEN, K. - Die nervenversorgung der Katzenmilz. Morphol. Jahrb., 95: 55 - 78, 1954.
- 71 - NORBERG, K.A. - Transmitter histochemistry of the sympathetic - adrenergic neurons system. Brain. Res., 5: 125 - 170, 1967.
- 72 - OPDYKE, D.F. - Hemodynamics of blood flow through the spleen. Am. J. - Physiol., 219: 102 - 106, 1970.
- 73 - OPDYKE, D.F. & WARD, C.J. - Spleen as an experimental model for the study of vascular capacitance. Am. J. Physiol., 225: 1416 - 1420, 1973.
- 74 - OTTIS, ET AL. - In: ARVY, L. - La rate et le métabolisme des amines. -

- In: Splénologie, ed., Paris Gauthier-Villars, 1965. p. 455 - 472.
- 75 - PABST, R. ET AL. - Rhythmic activity of the isolated spleen during longterm perfusion. Experientia (Basel), 30: 906 - 907, 1974.
- 76 - PAROLARI, J.B. - Segmentação arterial do baço. Folia Clin. Biol., 27: 161 - 165, 1957.
- 77 - PARPART, A.K. ET AL. - The microcirculation of the spleen of mouse. Angiology, 6: 350 - 362, 1955.
- 78 - PECK, H.M. & HOERR, N.L. - The intermediary circulation in the red pulp of the mouse spleen. Anat. Rec., 109: 447 - 478, 1951.
- 79 - PECK, H.M. & HOERR, N.L. - The effect of environmental temperature changes on the circulation of the mouse spleen. Anat. Rec., 109: 479 - 493, 1951.
- 80 - PICTET, R. ET AL. - An electron microscope study of the perfusion-fixed spleen I. The splenic circulation and the PES concept. Z. Zellforsch Mikrosk. Anat., 96: 372 - 399, 1969.
- 81 - PRADO-FRANCESCHI, J. - Estudo sobre convulsina. Tese, Dout. Inst. Biol. U. E. Campinas, 1970.
- 82 - ROCHA E SILVA, M. - Relação entre constituição química e atividade farmacológica. - In: Fundamentos da Farmacologia e suas Aplicações Terapêuticas, ed. 3 ed., EDART/INEC, 1973.
- 83 - RIPLE, R.T. ET AL. - Glucose metabolism of the isolated, perfused pig spleen. Effect of perfusate oxygen tension and flow rate. Arch. Surg., 99: 365 - 360, 1969.
- 84 - SAAD ET AL. - In: ARVY, L. - La rate et le métabolisme des amines. In: Splénologie, ed., Paris Gauthier-Villars, 1965. p. 455 - 472.
- 85 - SAKUMI, S. - Electron-microscopic studies on arterial blood vessels of the spleen, especially on their relationship to the reticuloendothelial system. Tohoku J. Exp. Med., 94: 23 - 35, 1968.

- 86 - SCOTT, M.J. - In: ARVY, L. - La rate et le métabolisme des amines. In: Splénologie, ed. Gauthier-Villars, 1965. p. 455 - 472.
- 87 - SHEYS, E.M. & GREEN, R.D. - A quantitative study of alpha adrenergic - receptors in the spleen and aorta of the rabbit. J. Pharmacol. Exp. Ther., 180: 317 - 325, 1972.
- 88 - SNOOK, T. - A comparative study of the vascular arrangements in - mammalian spleens. Am J. Anat., 87: 31 - 77, 1950.
- 89 - SNOOK, T. - The histology of vascular terminations in the rabbit's spleen. Anat. Rec., 130: 711 - 729, 1958.
- 90 - SNOOK, T. - Studies on the perifollicular region of the rat's spleen. Anat. Rec., 148: 149 - 159, 1964.
- 91 - SOARES DE AOURA, R. - Interação angiotensina - sistema adrenergico. - Tese Livre-Doc. Fac. Med. U. F. Rio de Janeiro, 1967.
- 92 - SONG, S.H. & GROOM, A.C. - Storage of blood cells in spleen of the cat. Am. J. Physiol., 220: 779 - 784, 1971a.
- 93 - SONG, S.H. & GROOM, A.C. - The distribution of red cells in the spleen. Can. J. Physiol. Pharmacol., 49: 734 - 743, 1971c.
- 94 - SONG, S.H. & GROOM, A.C. - Sequestration and possible maturation of reticulocytes in the normal spleen. Can. J. Physiol. Pharmacol., 50: 400 - 406, 1972.
- 95 - THOENEM, H. ET AL. - The effect of angiotensin on the response to post-ganglionic sympathetic stimulation of the cat spleen; lack of facilitation of norepinephrine liberation. Med. Pharmacol. Exp., 13: 379 - 387, 1965.
- 96 - THOENEM ET AL. - Interaction of phenoxybenzamine with guanethidine and bretylium at the sympathetic nerve endings of the isolated - perfused spleen of the cat. J. Pharmacol. Exp. Ther., 151: 189 - 195, 1966.

- 97 - TISCHENDORF, F. - In: MIYOSHI, M. ET AL. - The red pulp of the rabbit spleen studied under the scanning electron microscope. Arch. Histol. Jap., 32: 289 - 306, 1970.
- 98 - TISCHENDORF, F. - Considerazioni sul circolo terminale nella milza umana. Biochem. Biol. Exp., 1: 21 - 25, 1961.
- 99 - VAIREL, ET AL. - In: ARVY, L. - La rate et le métabolisme des amines. In: Splénologie, ed. Gauthier-Villars, 1965. p. 455 - 472.
- 100 - VEERMAN, A.J.P. & EWINK, W. van - White pulp compartments in the spleen of rats and mice. Cell. Tiss. Res., 156: 417 - 441, 1975.
- 101 - WATON, N.G. - Studies on mammalian histidine decarboxylase. Br. J. Pharmacol. Chemother., 11: 119 - 127, 1956.
- 102 - WATON, N.G. - Uptake and formation of histamine by cat tissues. J. Physiol. (Lond.), 172: 475 - 481, 1964.
- 103 - WEISS, L. - Spleen In: The cells and tissues of the immune system. structure, function, interactions, ed. Prentice Hall, 1972. p. 49 - 71.
- 104 - ZAPPALÁ, A. - Estudo anatomico da divisão terminal da A. lienalis: zonas arteriais do baço. Tese, Livre-Doc., Fac. Med. U. M. G. Belo Horizonte, 1958.
- 105 - ZELENKOVA, I.G. - Adrenergic innervation of the cat spleen. Anat. Histol. Embriol., USSR, 60: 88 - 90, 1971.