

ASPECTOS MACROSCÓPICOS, MORFOLÓGICOS E MORFOMÉTRICOS DO BAÇO DE RATOS APÓS O CLAMPEAMENTO TOTAL DO PEDÍCULO HEPÁTICO

SILVIO HENRIQUE DE FREITAS,¹ JOAQUIM EVÊNCIO NETO,² RENATA GEBARA SAMPAIO DÓRIA,¹ FÁBIO DE SOUZA MENDONÇA,³ MANUEL DE JESUS SIMÕES,⁴ LÁZARO MANOEL DE CAMARGO⁵ E ABRÃO ANTÔNIO SÉBE⁶

-
1. Professor do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Cuiabá (UNIC)
 2. Professor adjunto do Departamento de Morfologia e Fisiologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)
 3. Professor do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Cuiabá (UNIC)
 4. Professor livre docente do Departamento de Morfologia da Universidade de Federal de São Paulo (ENIFESP EPM)
 5. Professor do Departamento de Clínica da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Cuiabá (UNIC)
 6. Professor da Faculdade de Medicina da Universidade de Cuiabá (UNIC).

RESUMO

Uma das complicações do clampeamento total do pedículo hepático é a congestão esplâncnica e, consequentemente, a congestão esplênica. Este trabalho teve como objetivo observar as alterações macroscópicas, morfológicas e morfométricas que ocorreram no baço com a isquemia produzida pelo clampeamento do pedículo hepático. Para tanto, utilizaram-se quarenta ratos machos, divididos em quatro grupos de dez animais. Não se submeteu o grupo controle (C) à isquemia. Por sua vez, submeteram-se os grupos experimentais (E₁, E₂ e E₃) ao clampeamento total

por dez, vinte e trinta minutos, respectivamente. Após esses períodos, fragmentos do baço foram retirados e analisados histologicamente pela técnica de Hematoxilina-eosina e Ferrocianeto-fêrrico. Os resultados mostraram alterações microscópicas nos grupos E₁, E₂ e E₃, que permitem concluir que o clampeamento total do pedículo hepático promove intensa congestão vascular, aumento de grânulos de hemossiderina, diminuição da polpa branca e aumento da polpa vermelha, sendo essas alterações mais intensas aos trinta minutos.

PALAVRAS-CHAVES: Baço, congestão, hemossiderina, rato.

ABSTRACT

MACROSCOPIC, MORPHOLOGIC AND MORPHOMETRIC ASPECTS OF THE SPLEEN OF RATS AFTER TOTAL CLAMPING OF THE HEPATIC PEDICLE

One of the complications of hepatic pedicle total clamping is the splanchnic congestion and consequently a splenic congestion. The aim of this study was to observe the macro and microscopic alterations that occurred in the spleen during an ischemia produced by the hepatic pedicle clamping. Fourth male rats were divided in four groups of ten animals each. The control group (C) was not submitted to ischemia and the experimental groups (E₁, E₂ and E₃) were submitted to the total clamping during 10, 20 and 30

minutes, respectively. After these periods, spleen fragments were collected and histological analyzed by the eosin-hematoxilin and ferric ferrocyanide staining technique. The results showed microscopic alterations at the E₁, E₂ and E₃ groups that permitted to conclude that the total clamping of the hepatic pedicle promote intense vascular congestion, increase of the hemosiderin granules, decrease of the white pulp and increase of the red pulp, being these alterations more pronounced at the 30 minutes.

KEY WORDS: Congestion, hemossiderina, spleen, rats.

INTRODUÇÃO

O baço é um órgão constituído por uma cápsula fibroelástica, de onde partem trabéculas que servem para conduzir vasos e nervos, e por um estroma representado por uma rede de fibras e células reticulares que sustentam o parênquima ou polpa esplênica (polpas branca e vermelha) (EICHNER, 1979; BLUE & WEISS, 1981; DELLMANN & BROWN, 1982; STITES et al., 1997). A polpa branca é formada por um conjunto de nódulos linfáticos apresentando um centro germinativo e inúmeras células linfóides que se localizam ao longo das arteríolas esplênicas. Já a polpa vermelha representa a maior parte do baço, onde são observados inúmeros sinusoides sanguíneos que se entrelaçam e se anastomosam em várias direções, separados por cordões celulares esplênicos representados por fibroblastos, leucócitos, eritrócitos e macrófagos (DOASSAN et al., 1984; ATRES, 1991; BANKS, 1992; ROITT, 1992; POPE & ROCHAT, 1996).

O baço tem uma grande importância como reservatório sanguíneo, podendo, quando solidificado e sob a ação das catecolaminas, elevar o hematócrito em até 10% do seu valor normal. Possui função hematopoiética nos recém-nascidos, podendo, também, desempenhar esta função nos adultos (LIPOWITZ et al., 1981). A estrutura do baço, semelhante a uma peneira, torna-o eficiente no monitoramento de células sanguíneas viáveis, facilitando, com isso, a fagocitose destas pelos macrófagos. Estes acumulam pigmentos de hemossiderina, uma massa rica em ferro, oriunda da degradação da hemoglobina (SWENSON & REECE, 1996; COUTO & HAMMER, 1997; CARLTON & MCGAVIN, 1998). Este órgão está, também, envolvido com os mecanismos de defesa do organismo, através da produção de linfócitos e anticorpos (LIPOWITZ & BLUE, 1998; RICHARD & SHERIND, 1998; SLATTER, 1998).

Nas lesões sangrantes do fígado, o bloqueio dos vasos torna-se necessário para facilitar as manobras cirúrgicas (SILVA JR. et al., 2002; ARAÚJO JR. et al., 2005). PRINGLE (1908) já utilizava o clampeamento total do hilo hepático para conter hemorragias, manobra que resulta

na congestão esplâncnica e, conseqüentemente, perfusão sanguínea deficiente de órgãos como estômago, intestino delgado e parte anterior do intestino grosso, pâncreas e baço (SÉBE et al., 1999; FREITAS, 2000; CAMARGO et al., 2003). Da mesma forma, SÉBE et al. (1999), trabalhando com clampeamento total do pedículo hepático em ratos, observou que a privação de sangue neste órgão, por mais de vinte minutos, leva a lesões nas organelas dos hepatócitos e, também, à congestão esplâncnica.

Na congestão esplâncnica decorrente do clampeamento total do pedículo hepático, ocorre aumento da pressão sanguínea do baço, elevando a eritrofagocitose, com significativa destruição de eritrócitos (FRASER, 1991; CARLTON & MCGAVIN, 1998). O clampeamento do hilo hepático pode reduzir a concentração de energia e intensificar a acidose láctica esplênica, que poderá causar danos às membranas dos eritrócitos e alteração de sua elasticidade, aumentando a fagocitose das hemácias danificadas pelos macrófagos, o que resulta numa maior produção de pigmentos férricos de hemossiderina (POPE & ROCHAT, 1996). Também o aumento da pressão sanguínea e da temperatura esplênica pode lesionar os eritrócitos e intensificar a eritrofagocitose pelos macrófagos (FRASER, 1991; POPE & ROCHAT, 1996; CARLTON & MCGAVIN, 1998).

O objetivo deste trabalho é avaliar as possíveis alterações macroscópicas, morfológicas e morfométricas do baço durante o clampeamento total do pedículo hepático em diferentes tempos.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se quarenta ratos (*Rattus norvegicus albins*) Wistar, machos, com de três meses de idade e pesando, em média, 295 gramas. Os animais foram fornecidos pelo Biotério da Universidade de Cuiabá (UNIC) e permaneceram alojados em gaiolas de poliuretano com grade de aço, de 41 x 34 x 17cm, em número de dois animais por gaiola. Manteve-se a temperatura ambiente por condicionador de ar a 22°C, a umidade em 65% e a luminosidade controlada artificialmente com doze horas de claro e doze horas de escuro. Higienizaram-se diariamente as gaiolas.

Dividiram-se os animais em quatro grupos de dez: grupo-controle (C) e grupos experimentos (E₁, E₂ e E₃). Todos os animais foram submetidos a um mesmo protocolo anestésico, utilizando-se a associação de xilazina¹ e cetamina², na mesma seringa, nas dosagens de 25 mg/kg e 50 mg/kg, respectivamente, pela via intramuscular, na região posterior da coxa. Em seguida, realizou-se tricotomia da região abdominal ventral de cada animal e procedeu-se a posicionamento em decúbito dorsal na mesa cirúrgica, quando foi realizada antisepsia com iodo polivinilpirrolidona.³

Após cinco minutos da anestesia, foi efetuada incisão mediana pré-retro umbilical, partindo da cartilagem xifoide até 4 cm caudal à cicatriz umbilical. Após, realizou-se abertura da cavidade abdominal, identificando-se, então, o hilo hepático (artéria e veia hepática, a veia porta e o ducto hepático).

Nos animais do grupo C, não foi realizado clampeamento do hilo hepático, sendo o baço coletado após trinta minutos. Nos animais dos grupos E₁, E₂ e E₃, efetuou-se o clampeamento mediante o emprego de uma pinça de clampeamento vascular de 3 cm. Após a coleta do baço dos animais de todos os grupos, eutanasiaram-se os animais por aprofundamento do plano anestésico e cloreto de potássio a 10%.⁴

Os baços de todos os animais foram avaliados macroscopicamente quanto à coloração e, em seguida, cortados fragmentos de 0,5x0,5cm, imediatamente fixados em solução de formaldeído a 10%, por um período de 24 horas. Após a fixação, submeteu-se o material ao processamento de rotina, para inclusão em parafina, realizando-se cortes de 5mm de espessura em micrótomo rotativo, os quais foram corados pela hematoxilina-eosina (HE) e pelo ferrocianeto-férrico (reação de Perls), analisados em microscopia de luz e fotografados com fotomicroscópio Olympus.

A avaliação microscópica da congestão esplênica foi feita utilizando-se as lâminas coradas

pela técnica de HE. Para a avaliação da concentração de pigmentos férricos de hemossiderina e para a análise morfométrica do baço, utilizou-se a técnica de ferrocianeto-férrico.

A análise morfométrica foi realizada para a avaliação do percentual de ferro contido em cada amostra esplênica, por meio de um sistema captador de imagens, que consiste em câmara digital de alta resolução (Axio Vision – Carl Zeiss) acoplada em microscópio de luz (Axiolab 2.0 - Carl Zeiss) sob objetiva de 40x. Transferiram-se as imagens obtidas para computador Pentium 4.0 em ambiente Windows, contendo programa de captura de imagens (Rel 4.0 da Carl Zeiss), realizando-se a análise mediante o sistema computacional de softwares IMAGELAB 2000. No total, capturaram-se dez campos de cada amostra obtidos da região da polpa vermelha. A partir da média dos dez campos obteve-se o percentual médio de concentração de ferro no baço de cada animal. Fez-se o cálculo estatístico da avaliação morfométrica pela análise de variância, complementada pelos testes de Kolmogorov-Smirnov, Levene e Welch e Brown-Forsythe (software - SPSS 15.0). O nível de significância máximo adotado foi $P < 0,05$.

RESULTADOS

Macroscópicos

Após o período de clampeamento total do hilo hepático, observou-se que os baços de todos os animais estudados mostraram coloração vermelho-escuro a azulada.

Microscopia de luz

No grupo-controle foi observado baço circundado por uma cápsula de tecido fibromuscular que emitia septos para o seu interior (trabéculas). No interior do órgão notou-se, no parênquima, a presença de acúmulos de linfócitos (polpa branca) que formam cordões ao redor de vasos sanguíneos ou nódulos com arteríola central. Ao redor dos nódulos linfáticos, notaram-se inúmeros capilares contendo hemácias no seu interior (polpa vermelha), sendo os capilares rodeados por inúmeros

1 Virbaxil 2%, Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda., São Paulo, SP.

2 Vetanarcol, Koning do Brasil Ltda., Florianópolis, SC.

3 Riodeine tóxico, Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São Paulo, SP.

4 Cloreto de potássio 10%, Aster Produtos Médicos Ltda., Sorocaba, SP.

macrófagos (cordões de Billrot). Alguns macrófagos apresentaram pequena quantidade de grânulos alaranjados (hemossiderina) no seu interior e, após a reação ao ferrocianeto férrico (Reação de Perls), se observou pequena quantidade pigmentos férricos de coloração azulada (Figuras 1C e 2C, Tabela 1 e Figura 3).

O Grupo E₁ (dez minutos de clampeamento) apresentou uma arquitetura do baço muito semelhante ao grupo-controle. Entretanto, observaram-se ligeira vasodilatação nos capilares presentes na polpa vermelha e maior quantidade de grânulos azulados de hemossiderina que no Grupo C (Figuras 1E₁ e 2E₁, Tabela 1 e Figura 3).

No Grupo E₂ (vinte minutos de clampeamento), notou-se que o baço também apresentava a

mesma arquitetura histológica daquela observada no grupo-controle. No entanto, percebeu-se nítida diminuição da polpa branca, tanto da porção cordonal quanto da nodular. A polpa vermelha mostrou-se bem evidente, com intensa dilatação dos capilares sinusoides e concentração acentuada de grânulos de hemossiderina (Figuras 1E₂ e 2E₂, Tabela 1 e Figura 3).

No Grupo E₃ (trinta minutos de clampeamento), foi observado acentuado aumento da polpa vermelha. A polpa branca encontra-se praticamente tomada pela polpa vermelha, em virtude da acentuada dilatação dos vasos sanguíneos presentes nessa região e da elevada concentração de grânulos de hemossiderina (Figuras 1E₃ e 1E₃, Tabela 1 e Figura 3).

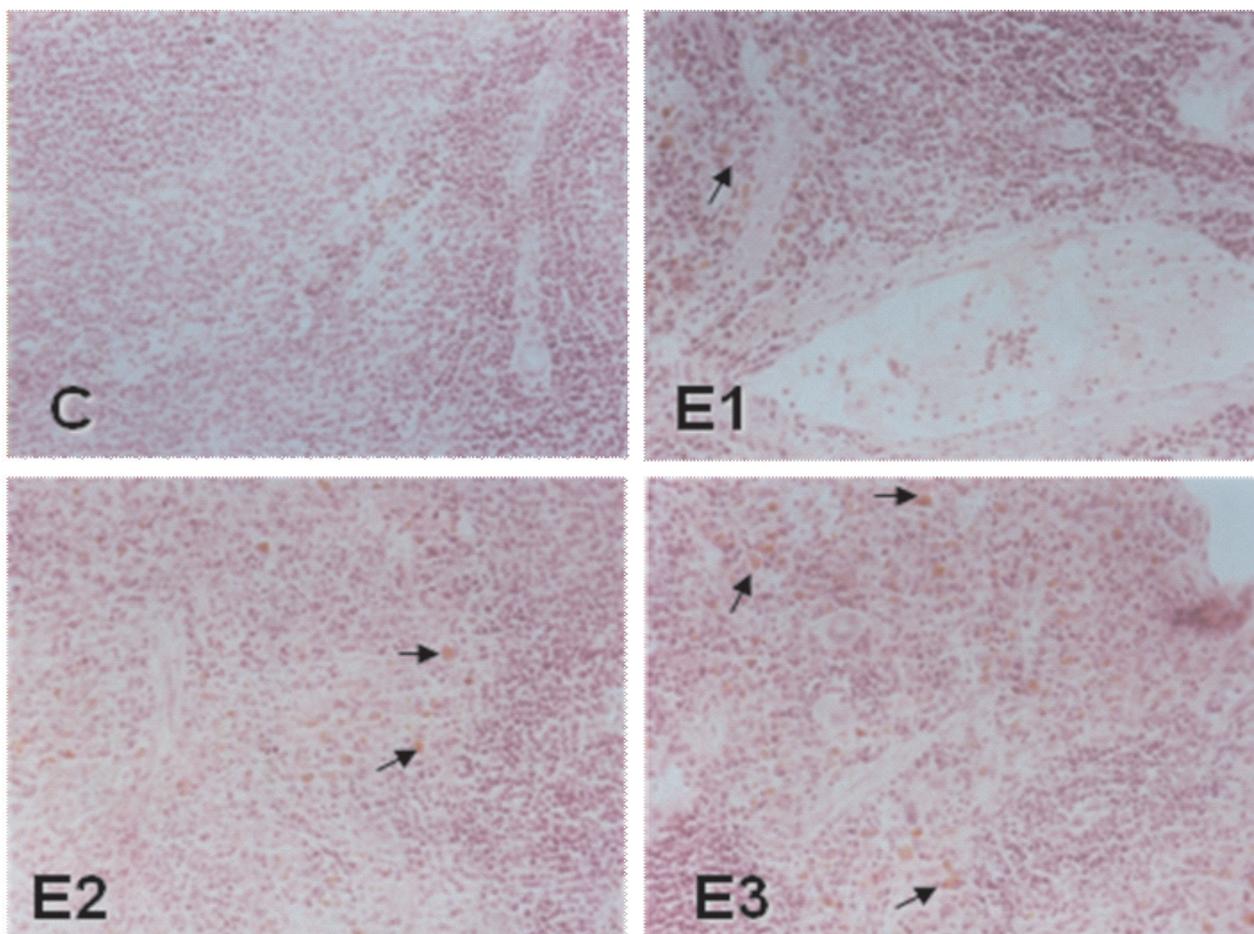


FIGURA 1. Fotomicrografias mostrando cortes histológicos de baços de ratos pertencentes aos vários grupos de estudo. Notar em C (Grupo Controle) polpa vermelha com poucos grânulos de hemossiderina, que, no entanto, estão aumentados (setas) nos grupos E₁ (10 minutos), E₂ (vinte minutos) e E₃ (trinta minutos). (H.E, 107x)

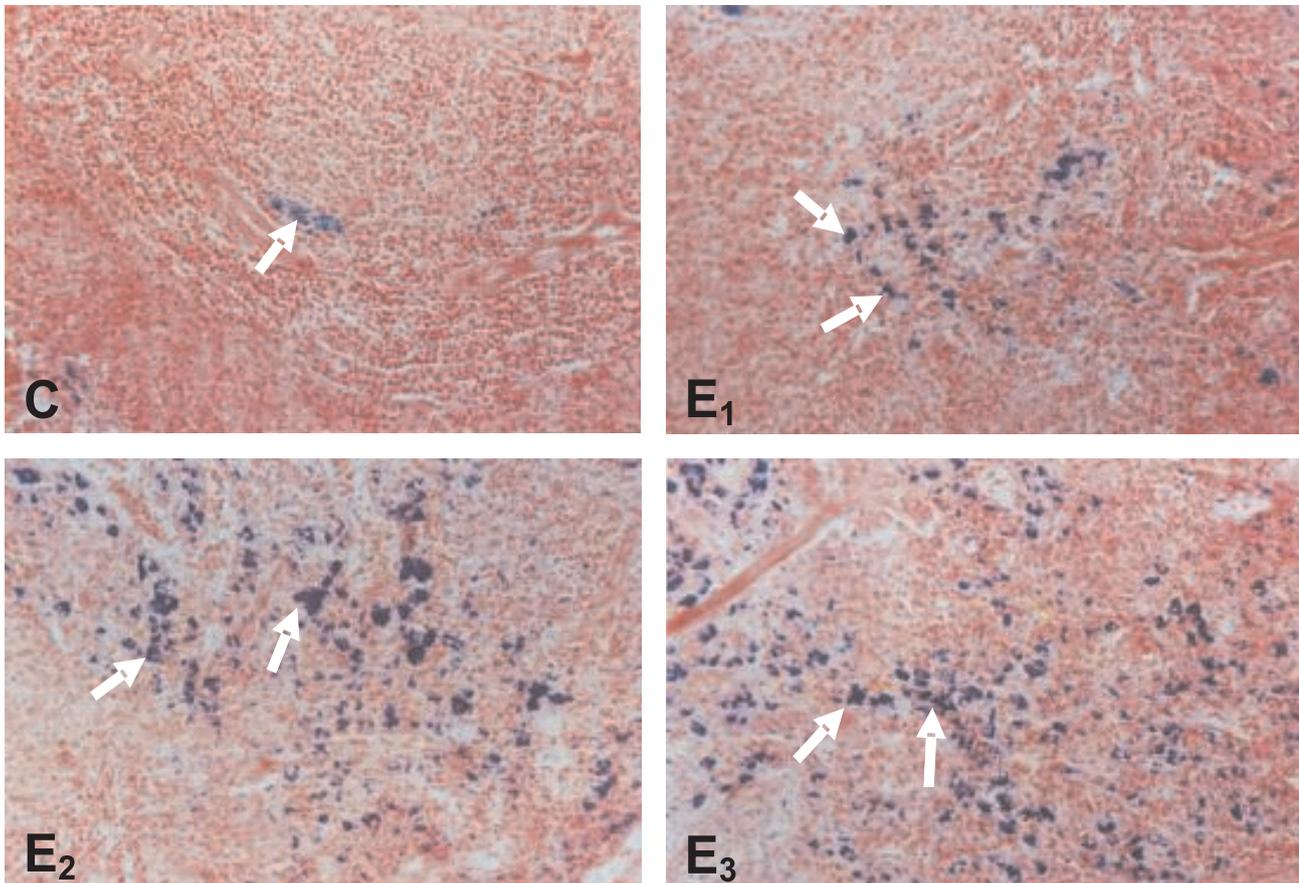


FIGURA 2. Fotomicrografias mostrando cortes histológicos de baços de ratos pertencentes aos vários grupos de estudo. Notar em C (grupo controle) pouca reatividade, que se acha aumentada, de forma acentuada e progressiva (setas), nos grupos E₁ (dez minutos), E₂ (vinte minutos) e E₃ (trinta minutos). Reação de Perls (Ferrocianeto-férrico, 107x).

Estudo morfométrico

Observou-se após análise morfométrica das amostras de baço que houve aumento pro-

gressivo do percentual de concentração de ferro (grânulos de hemossiderina) nos diferentes grupos estudados, conforme demonstrado na Tabela 1 e Gráfico 1.

TABELA 1. Porcentagem (%) de pigmento de hemossiderina (média ± desvio-padrão) obtida na polpa vermelha dos baços dos ratos pertencentes aos vários grupos (C, E₁, E₂ e E₃) após o clampeamento total do pedículo hepático

Grupos	Controle (%)	E1 (%)	E2 (%)	E3 (%)
Médias	1,45 ^A	1,95 ^B	4,92 ^C	17,05 ^D
Desvio-padrão	0,28	0,44	1,29	2,15

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ($p < 0,05$).
Média ± desvio-padrão de E₃ > E₂ > E₁ > Grupo controle.

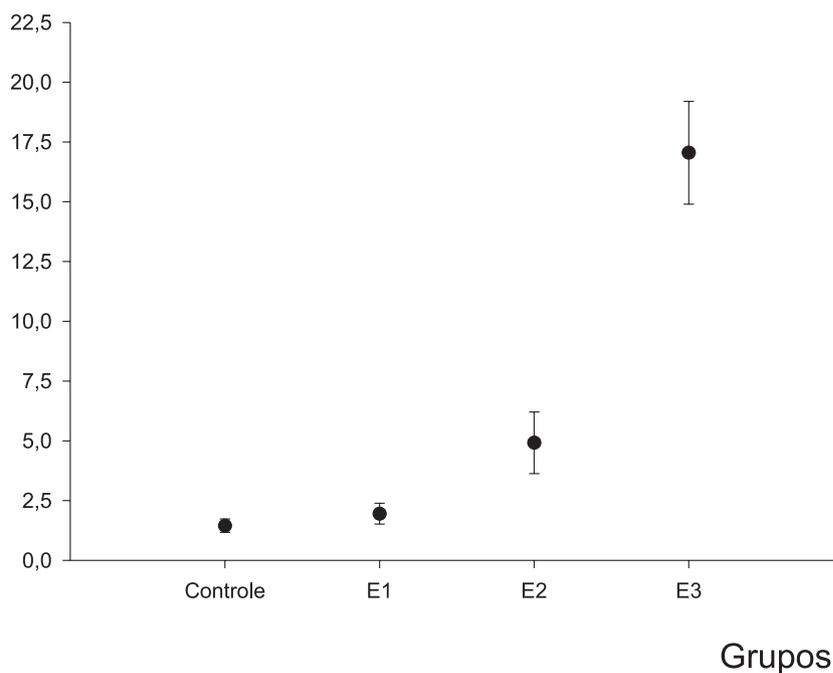


FIGURA 3. Porcentagem de pigmento de hemossiderina (média ± desvio-padrão) obtida na polpa vermelha dos baços dos ratos pertencentes aos vários grupos (C, E₁, E₂ e E₃) após o clampeamento total do pedículo hepático.

DISCUSSÃO

A isquemia total hepática, por diferentes períodos de tempo, acarreta congestão esplâncnica (SÉBE et al., 1999) e, conseqüentemente, congestão esplênica. Para produzir congestão esplâncnica que resultasse em congestão do baço, neste estudo foi utilizada a manobra sugerida por PRINGLE (1908), que consiste no clampeamento do hilo hepático (artéria e veia hepática, veia porta e ducto biliar). O acesso à cavidade abdominal, baço e hilo hepático foi realizado pela linha mediana, utilizando-se os mesmos procedimentos sugeridos por FREDERIKS et al. (1982), ASAKAVA et al. (1989), GONCE et al. (1995) e ISOZAKI et al. (1995).

A congestão esplênica é caracterizada pela diminuição da polpa branca (nódulos linfáticos) e pelo aumento da polpa vermelha, sendo essa progressiva e mais intensa aos trinta minutos, conforme relatado por FREITAS et al. (1999) e demonstrado neste trabalho, através da microscopia

de luz, que confirmou acentuada dilatação dos vasos sanguíneos e elevada concentração de grânulos de hemossiderina no parênquima esplênico.

Embora a reação de Perls ou azul da Prússia seja muito antiga, esta técnica ainda é muito utilizada nos dias atuais para identificação do ferro celular na forma de ferritina ou hemossiderina em várias patologias. A reação se processa na interação de íons ferrocianeto com íons férricos no interior da célula, resultando em um produto de cor azul-esverdeado denominado ferrocianeto férrico. Trata-se de técnica que é utilizada para detectar ferro no interior do eritroblasto (sideroblasto), de macrófagos e nas hemácias (ASANO et al., 2006; FREITAS et al., 2006; MEGURO et al., 2007). Por ser o baço um órgão que possui uma população muito grande de macrófagos que atuam na destruição das hemácias, principalmente as velhas ou danificadas, optou-se, neste experimento, por utilizar essa técnica para detectar pigmentos férricos oriundos de eritrócitos no interior dos macrófagos.

A mensuração e a quantificação dos tecidos podem ser realizadas pela morfometria manual ou digital (HALASZ et al., 1993; VEI-GA et al., 2007). A quantificação morfométrica digital (Softwares IMAGELAB 2000), por ser um método prático e confiável, foi utilizada neste experimento, permitindo mensurar, em porcentagem, os pigmentos férricos de hemossiderina presentes nos macrófagos esplênicos em diferentes tempos.

Conforme descrito por FREITAS et al. (2000), através da técnica do ferrocianeto-férrico, este trabalho demonstrou acúmulo de pigmentos férricos (hemossiderina) no parênquima esplênico de maneira progressiva em relação ao tempo de clampeamento do pedículo hepático, o que pode também ser confirmado pela análise morfométrica.

Sabe-se que a reação da hemossiderina com o peróxido de hidrogênio (reação de Fenton) produz hidroxil, substância altamente lesiva para as células (FLAHERTY & WEISFELDT, 1988; CHUA-ANUSORN, 1999; MARX & HIDER, 2002; VACARENGHI, 2006). Da mesma forma, durante o clampeamento total do pedículo hepático, haverá uma perfusão deficiente de órgãos como estômago, intestino delgado e parte anterior do intestino grosso, pâncreas, fígado e baço. Esta baixa concentração de oxigênio celular (isquemia) pode promover aumento do metabolismo anaeróbico e formação de substâncias lesivas, como as prostaglandinas e radicais livres (superóxidos – O_2^- , peróxido de hidrogênio – H_2O_2 e hidroxil – OH^\cdot) (FORYTH & GUILFORD, 1995), sugerindo a necessidade de novos trabalhos que estudem as lesões promovidas pela reperfunção deste órgão.

CONCLUSÕES

Este estudo demonstra que o clampeamento total do pedículo hepático promove, de maneira progressiva, congestão esplênica com redução da polpa branca e aumento da polpa vermelha, caracterizado por acentuada dilatação dos vasos sanguíneos e da concentração de grânulos de hemossiderina.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO JÚNIOR, F. A.; BRAZ, M. N.; ROCHA NETO, O. G.; COSTA, F. D.; BRITO, M. V. H. Efeito do óleo de copaíba nas aminotransferases de ratos submetidos à isquemia e reperfunção hepática com e sem pré-condicionamento isquêmico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 93-99, 2005.
- ASAKAVA, H.; JEPSON, B.; MACK, P.; HULTBERG, B.; HAGERTRAND, I.; BENGMARK, S. Acute ischemic liver failure in the rat: a reproducible model not requiring portal decompression. **European Surgical Research**, v. 21, p. 42-48, 1989.
- ASANO, Y.; MEGURO, R.; ODAGIRI, S.; LI, C.; IWATSUKI, H.; SHOUMURA, K. Visualization of non-heme ferric and ferrous iron by highly sensitive non-heme iron histochemistry in the stress-induced acute gastric lesions in the rat. **Histochemistry Cell Biology**, v. 125, n. 5, p. 515-525, 2006.
- ATRES, M. M. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p. 89.
- BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992. p. 377-381.
- BLUE, J.; WEISS, J. Vascular pathways in nonsinusoidal red pulp—an electron microscopy study of the cat spleen. **American Journal of Anatomy**, v. 161, p. 135-168, 1981.
- CAMARGO, L. M.; EVÊNCIO NETO, J.; FREITAS, S. H.; SIMÕES, M. J.; GOMES, P. O.; SÉBE, A. A. Aspectos ultraestruturais das vilosidades intestinais após o clampeamento do pedículo hepático de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, n. 6, p. 509-513, 2003.
- CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial**. 2. ed. Porto Alegre: Art Med, 1998. p. 305-349.
- CHUA-ANUSORN, W. The effect of prolonged iron loading on the chemical form of iron oxide deposits in rat liver and spleen. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1454, p. 191-200, 1999.
- COUTO, C. G.; HAMMER, A. S. Afecções dos linfonodos e baço. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 4. ed. São Paulo: Manole, 1997. v. 2, p. 2684-2696.
- DELLMANN, H. D.; BROWN, E. M. **Histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. p. 139-146.

- DOASSANS, C.; TORRES, M.; PRESSA, C. Vascularização esplênica. **Revista de Cirurgia del Uruguay**, v. 54, p. 153-155, 1984.
- EICHNER, R. R. Splenic function: normal, too much and too little. **The American Journal of Medicine**, v. 66, p. 311, 1979.
- FLAHERTY, J. T.; WEISFELDT, M. L. Reperfusion injury. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 5, p. 409-419, 1988.
- FORSYTH, S. F.; GUILFORD, W. G. Ischemia-reperfusion injury: a small animal perspective. **British Veterinary Journal**, v. 151, p. 281-98, 1995.
- FRASER, C. M. **Manual Merck de veterinária**. 6. ed. São Paulo: Roca, 1991. p. 26-27.
- FREDERIKS, W. M.; JAMES, J.; BOSCH, K. S.; SCHRODER, M. J. R.; SCHUYT, H. C. A model for provoking ischemic necrosis in rat liver: parenchyma and its quantitative analysis. **Experimental Pathology**, v. 22, p. 245-252, 1982.
- FREITAS, S. H.; SÉBE, A. A.; CAMARGO, L. M.; SIMÕES, M. J. Alterações esplênica em ratos após o clampeamento do pedículo hepático. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 66 (supl.), p. 61, 1999.
- FREITAS, S. H.; SIMOES, M. J.; CUBAS, J. J. M.; SÉBE, A. A.; CAMARGO, L. M. Efeito do clampeamento temporário do pedículo hepático sobre a morfologia do baço de ratos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 67 (supl.), p. 56, 2000.
- FREITAS, S. H.; EVENCIO NETO, J.; SANTOS, M. D.; SIMÕES, M. J.; CAMARGO, L. M.; RONDON, A. S. Avaliação qualitativa de pigmentos de hemossiderina em parênquima esplênico de ratos após o clampeamento da veia porta hepática. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 33., 2006, Cuiabá, **Anais...** Cuiabá: UFMT, 2006. p. 26.
- GONCE, M. E.; BRACKETT, D. J.; SQUIRES, R. A.; GIBSON, D. D.; BALLA, A. K.; LERNER, M. R.; McCAY, P. B.; PENNINGTON, L. R. A new model for inducing total hepatic ischemia while preventing circulatory collapse. Secondary to splanchnic vascular congestion. **Shock**, v. 3, p. 440-446, 1995.
- GURTLER, H. **Fisiologia veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. p. 238-286.
- HALAZ, I.; AIRD, F.; LI, L.; PRYSTOWSKY, M. B.; REDEI, E. Sexually dimorphic effects of alcohol exposure in utero on neuroendocrine and immune functions in chronic alcohol-exposed adult rats. **Molecular Cellulose Neurosciences** v. 4, p. 343-353, 1993.
- ISOZAKI, H.; ADAM, R.; GIGOU, M.; SZEKELY, A. M.; SHEN, M.; BISMUTH, H. Experimental study of the protective effect of intermittent hepatic pedicle clamping in the rat. **British Journal of Surgery**, v. 79, p. 310-313, 1992.
- ISOZAKI, H.; OKAJIMA, K.; KOBAYASHI, M.; HARA, H.; AKIMOTO, H. Experimental study of liver injury after partial hepatectomy with intermittent or continuous hepatic vascular occlusion. **European Surgical Research**, v. 217, p. 313-322, 1995.
- LIPOWITZ, A. J.; BLUE, I. Baço. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. v. 1, p. 1143-1153.
- MARTINI, R. B.; GIMÉSEZ, P. P.; GIL, O. A.; RIBICHINI, J. J. Delimitación cromática para esplenectomia segmentaria. Hemostasia comparativa por electrocoagulación y laser de CO₂. **Revista Argentina de Cirugía**, v. 63, p. 32-36, 1992.
- MARX, J.; HIDER, R. Iron: an essential but potentially harmful nutrient. **European Journal of Investigation**, v. 32, p. 1-2, 2002.
- MEGURO, R.; ASANO, Y.; ODAGIRI, S.; LI, C.; IWATSUKI, H.; SHOUMURA, K. Nonheme-iron histochemistry for light and electron microscopy: a historical, theoretical and technical review. **Archives of Histology and Cytology**, v. 70, n. 1, p. 1-19, 2007.
- OMOKAVA, S.; ARAI, Y.; SAITO, T.; FURUJIA, T.; SATO, S.; SHIRAYAMA, K.; ITO, M.; ASANUMA, Y.; KOYAMA, K. A simple experimental model of total hepatectomy, hepatic ischemia and extrahepatic portal obstruction in rats using splenic transposition. **Japanese Journal Surgery**, v. 21, p. 50-5, 1991.
- POPE, E. R.; ROCHAT, M. C. Baço. In: BOJRAB, M. J. **Mecanismo da moléstia na cirurgia dos pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1996. p. 722-728.
- PRINGLE, J. H. Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma. **Annals of Surgery**, v. 48, p. 541-549, 1908.
- RICHARD, S. J.; SHERIND, R. G. **Clínica de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 1998. p. 206-207.

- ROIT, I. M. **Imunologia**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992. p. 32-33.
- ROSKOSKI, R. JR. **Bioquímica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 15.
- SÉBE A. A.; GOMES, P. O.; NIGRO, A. J. T.; SIMÕES, M. J.; NOVO, N. F.; JULIANO, Y. Efeitos de diferentes tempos de isquemia no fígado de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 15, p. 4-8, 1999.
- SHIBAYAMA, Y.; ASAKA, S.; NISHIJIMA, A. Mechanism of liver injury following ischemia. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 55, p. 251-260, 1991.
- SILVA JR., O. C.; CENTURION, S.; EDUARDO G. PACHECO, E. G.; BRI SOTTI, J. L.; OLIVEIRA, A. F.; DAL SASSO, K. Aspectos básicos da lesão de isquemia e reperusão e do pré-condicionamento isquêmico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 17, p. 96-100, 2002.
- SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. v. 1. p. 1151-1153.
- STITES, D. P.; TERR, A.I.; PARLOW, T. G. **Medical immunology**. 9. ed. Singapore: Appleton & Lange, 1997. p. 55-59.
- SWENSON, M. J.; REECE, W.O. **Dukes fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 35.
- VALCARENGHI, D. **Avaliação toxicológica crônica do polímero quitosana ferro (III) solúvel**. 2006. 87 f. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Educação de Ciências da Saúde, Universidade do Vale do Itajai, Brasil, 2006. Disponível em: <http://www6.univali.br/tede/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=100>
- VEIGA, R. K. A.; MELO-JÚNIOR, M. R.; ARAÚJO-FILHO, J. L.; MELLO, L. A.; PONTES-FILHO, N. T. Alterações morfométricas no timo, baço e placas de Peyer durante a exposição pré e pós-natal ao álcool. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. IV, n. 1, p. 32-42, 2007.

Protocolado em: 22 nov. 2007. Aceito em: 29 jun. 2009.