

ANGIOARQUITETURA DO ÓRGÃO SUBFORNICIAL HUMANO

CARLOS OTAVIO CORSO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: **Neuroanatomia** da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para a obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Matilde Achaval Elena

PORTO ALEGRE

-1992-

A Sílvia, Caroline

e aos meus pais.

" Eu sustento que a única finalidade da Ciência está
em aliviar a miséria da existência humana."

B. Brecht

AGRADECIMENTOS

Ao meu mestre, Prof. Luiz José Alimena, pelos ensinamentos, estímulo, exemplo, dedicação e confiança sempre presentes.

À Profa. Dra. Matilde Achaval Elena pela orientação precisa, competente e dedicada em todos os momentos.

Ao biólogo Antonio Generoso Severino pela presença constante e inestimável em todos os momentos da execução deste estudo.

Ao Dr. Iran Coelho Garayp pela análise estatística e pelas sugestões valiosas.

Aos colegas Januário Vitola, Antonio Carlos Huf Marrone, Felipe Schneider, Mauro Guidotti Aquini e Marcos Antonio Frizzo pelo apoio e estímulo na execução deste trabalho.

À Profa. Rejane Maria Leal Godoy pela revisão de Português.

À Profa. Beatriz Fontana pela tradução para o Inglês.

Ao amigo José Vargas, da CET do Hospital de Pronto Socorro pela ajuda em relação à informática.

Ao Prof. Cláudio Galleano Zetler pelo auxílio na realização das fotomicrografias.

Ao Departamento de Patologia da FFFCMPA pelo uso do fotomicroscópio.

Ao Prof. Nelson Reissenweber pela utilização do fotomicroscópio do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina, Hospital de Clínicas, Montevideo, Uruguai.

Aos colegas dos Departamentos de Ciências Morfológicas da UFRGS, FFFCMPA e UPF, e do Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre pelas sugestões, críticas e apoio.

À Secretária Maria Colet Lorini pela colaboração na revisão do texto.

Ao Sr. Miguel Kolling pelo auxílio abnegado na obtenção dos encéfalos.

Ao Instituto Médico Legal pela cessão dos encéfalos, objeto deste estudo.

Ao CNPq pelo auxílio na aquisição do material de laboratório.

ABREVIATURAS

A- anterior
A II- angiotensina II
AH- área hipotalâmica anterior
ANS- sistema nervoso autônomo
AP- hipófise anterior
Arc- núcleo arqueado
ASF- artéria subfornicial
Ax- axônio
BST- núcleo próprio da estria terminal
C- central
CA- comissura anterior
Ca- caudal
CC- corpo caloso
CM- núcleo talâmico central medial
CRF- líquido céfalo-raquidiano
D- dorsal
DL- dorsolateral
DM- núcleo hipotalâmico dorsomedial
DP- desvio padrão
DR- núcleo dorsal da rafe
EP- erro padrão
F- fórnix
FA- fosfatase alcalina
FV- fonte de variação
GL- graus de liberdade
HC- comissura hipocampal
H.E.- hematoxilina-eosina
III- terceiro
IL- área infralímbica da córtex pré-frontal
L- lateral
LDTg- núcleo tegmental laterodorsal
LH- área hipotalâmica lateral
LPB- núcleo parabraquial lateral
LS- núcleo septal lateral
M- média
M (Ponto)- margo posterior palii
ml- mililitro
mm- milímetro
mm2- milímetro quadrado
MPO- área pré-óptica medial
MnPO- área pré-óptica medial
MR- núcleo mediano da rafe
MS- núcleo septal medial
N- número
nm- nanometro
NTS- núcleo do tracto solitário
OSF- órgão subfornicial
OVLt- órgão vasculoso da lâmina terminal
P- posterior
Pa- núcleo hipotalâmico paraventricular
PC- plexos coróides
PP- hipófise posterior
PV- núcleo talâmico paraventricular
QM- quadrado médio

R- rostral
Re- núcleo talâmico reuniens
S- área septal
SF- significância de F
SI- substância inominada
SNC- sistema nervoso central
SO- núcleo supraóptico
SQ- soma dos quadrados
TC- tela coroidéia
TS- núcleo septal triangular
ZI- zona incerta
um- micrometro
V- vênula
VG- veia cerebral magna de galeno
VS- veia superior
VM- ventromedial

S U M Á R I O

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

CAPITULO I. INTRODUÇÃO.....	17
1 GENERALIDADES.....	18
2 HISTORICO.....	19
3 ASPECTOS ESTRUTURAIS.....	20
3.1 Neurônios.....	21
3.2 Neuróglia.....	30
4 ONTOGENIA.....	37
5 FUNÇÃO E CONEXÕES DO OSF.....	39
6 VASCULARIZAÇÃO DO IIIo VENTRÍCULO, HIPOTÁLAMO E OSF.....	51
6.1 Territórios arteriais do IIIo ventrículo e do hipotálamo....	51
6.2 Vascularização do OSF.....	58
6.2.1 Aporte vascular do OSF dos mamíferos.....	58
6.2.2 Drenagem Venosa.....	62
6.2.3 Aporte vascular do OSF humano.....	62
7 Angioarquitetura do OSF.....	63
7.1 Dimensão dos capilares nas zonas ventromediais das diferen- tes regiões do OSF.....	68
7.2 Dimensão dos capilares nas zonas dorsais das diferentes re- giões do OSF.....	68
7.3 Comparação das zonas dorsal e ventromedial.....	69
7.4 Relação topográfica dos capilares com a citoarquitetura do OSF.....	69
CAPÍTULO II. OBJETIVOS.....	73

CAPÍTULO III. MATERIAL E MÉTODOS.....	75
1 Obtenção de encéfalos.....	76
2 Fixação e dissecação do órgão subfornicial.....	76
3 Tratamento do tecido.....	77
4 Obtenção de cortes histológicos.....	77
5 Detecção da atividade enzimática para fosfatase alcalina.....	78
5.1 Considerações bioquímicas.....	78
5.2 Considerações histoquímicas.....	79
5.3 Inibidores.....	80
5.4 Substratos inadequados.....	81
5.5 Reação enzimática.....	81
5.5.1 Método de Gomori.....	82
5.5.2 Método de Burstone.....	83
5.5.3 Considerações práticas.....	84
6 Hematoxilina-eosina.....	85
7 Injeção de gelatina carminada.....	85
8 Análise dos cortes.....	86
9 Análise estatística.....	89
9.1 Tabulação dos dados.....	91
9.2 Comparação entre médias das diferentes condições experimen- tais.....	93
9.3 Nível de significância.....	93
10 Obtenção de fotomicrografias.....	94
CAPÍTULO IV. RESULTADOS.....	95
1 Zonas e regiões do OSF humano.....	96
2 Aporte vascular ao OSF humano.....	98

3	Angioarquitetura do OSF humano.....	101
4	Análise estatística.....	114
	CAPÍTULO V. DISCUSSÃO.....	121
	CAPÍTULO VI. CONCLUSÕES.....	135
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	138

RESUMO

O Órgão Subfornicial (OSF) humano é uma estrutura de natureza neurogliovascular, que se localiza no teto do terceiro ventrículo encefálico, em estreita relação com o corpo do fórnix e seus pilares, com a tela coroidéia e plexos coróides do terceiro ventrículo e ventrículos laterais. É ímpar e se localiza na linha média, quase que totalmente recoberto pelos plexos coróides e tela coroidéia do terceiro ventrículo.

Apresenta celularidade abundante, destacando-se neurônios de várias formas e tamanhos, e células gliais. Tem um importante suprimento vascular, a partir de vasos encefálicos variados, conforme a espécie estudada. Apresenta uma rede capilar bastante desenvolvida, porém variável, que atinge a sua maior desenvoltura na zona ventromedial da região central, local onde também encontra-se a maior concentração celular.

Nos últimos anos foram estabelecidas importantes relações com núcleos vizinhos, bem como foi determinado possuir receptores para a angiotensina II, e que o OSF tem importantes funções na manutenção do equilíbrio hídrico do organismo, através de respostas pressoras e do controle do mecanismo da sede e ingesta hídrica.

Devido aos escassos relatos sobre estudos no OSF humano, realizamos este trabalho visando obter dados da angioarquitetura do OSF humano. Utilizamos 17 encéfalos humanos, com tempo

de **post-mortem** entre 8 e 12 horas, e realizamos técnicas histoquímicas para fosfatase alcalina (Métodos de Gomori e Burstone), H.E. e injeção intravascular de gelatina carminada. Em 11 dos órgãos foram realizados cortes coronais seriados, com 25 µm de espessura, em toda a sua extensão. Nos 6 órgãos restantes foram feitos cortes sagitais. Os cortes coronais assim obtidos foram projetados em uma tela, sendo realizada a divisão em zonas ventromedial e dorsolateral, e em regiões rostral, central e caudal. A observação tinha como objetivos definir o seu aporte arterial, a distribuição das arteríolas no seu interior, a concentração dos capilares nas diferentes zonas, regiões e subregiões do OSF humano, detectando diferenças estatisticamente significantes, se houvessem. Procedeu-se da mesma forma com os cortes sagitais, apenas não sendo objeto de análise estatística.

Constatamos que o aporte arterial ao OSF humano ocorre apenas através do seu pólo posterior, por ramos das artérias coroidéias posteriores. Existe um padrão variado na distribuição das arteríolas no seu interior, havendo 2 ou 3 vasos principais, que penetram no órgão pela sua extremidade posterior e se colocam em situações variadas, cumprindo um trajeto em sentido anterior, passando pela região central e atingindo a região rostral do OSF. Determinamos um predomínio na concentração dos capilares na zona ventromedial em relação à zona dorsolateral e da região central em relação às regiões rostral e caudal, com significância estatística. Igualmente, determinamos diferença com significância estatística na concentração capilar entre as sub-regiões central posterior em rela-

ção à caudal posterior, caudal média, rostral anterior, caudal anterior e rostral média; da sub-região central média em relação à caudal posterior e caudal média e da central anterior para a caudal posterior.

ABSTRACT

The human Subfornical Organ (SFO) is a neurogliovascular structure located on the roof of the third encephalic ventricle, being closely related to the body and pillars of the fornix, covered by the tela choroidea and choroid plexus of the third and lateral ventricles.

It presents an abundant cellularity, such as neurons of various sizes and shapes, and glial cells. It receives an important vascular supply from various encephalic vessels, according to the studied species. It presents a very well developed capillar net, though variable, which reaches its maximized aspect in the ventromedial zone of the central region, where the highest cellular concentration is located.

Important relationships with the nearby nuclei have been established lately, and it has been determined that in the SFO there are receptors for Angiotensin II, and that the organ has important functions in maintaining the hidric balance of the body, through pressoric answers, as well as controlling the thirst and water intake mechanisms.

Due to the lack of reports of studies about the SFO in human beings, this work was produced in order to obtain more information about the human SFO angioarchitecture. Were used 17 human brains, with 8 to 12 hour post-mortem time, and utilized histochemical

methods for alkaline phosphatase (Gomori and Burstone's methods), H.E. and carminated jelly intravascular injection. Serial coronal sections, 25 μ m thick, were made in the total extension in 11 of the organs. In the remaining 6 organs were made sagittal sections. The sections obtained this way were projected on a screen to accomplish a division in ventromedial and dorsolateral zones, as well as in rostral, central and caudal regions. The observations intended to define their arterial approach, the arteriolar distribution inside them, and the capillar concentration in different zones, regions and sub-regions of the SFO, to detect statistically significant differences, in case there were any. The same procedure was followed with the sagittal sections, but without statistical analysis.

The arterial approach to the human SFO occurs exclusively through its posterior pole, by posterior choroidal arteries branches. There is a diverse pattern in the distribution of the arterioles inside it, with 2 or 3 main vessels, which enter the organ through its posterior end, placing themselves in different situations, following a direction to the anterior extremity, passing through the central region and reaching the rostral region of the SFO. There is a main concentration of the capillaries in the ventromedial zone in relationship with the dorsolateral zone, and of the central region in relationship to the rostral and caudal regions, with statistically significant difference. Also, there was statistical relevance in the capillar concentrations between the posterior central sub-region in relationship with to the posterior

caudal, medium caudal, anterior rostral, anterior caudal and medium rostral sub-regions; of the medium central sub-region in relationship to the posterior caudal and medium caudal regions, and of the anterior central to the posterior caudal sub-region.

CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO

1 GENERALIDADES

Na superfície ventral do fórnix, ao nível dos forames interventriculares, encontra-se uma pequena formação ímpar, que se projeta na luz do terceiro ventrículo, recoberta por células ependimárias.

Devido ao fato de nos vertebrados superiores estar situado abaixo do fórnix, este nódulo foi denominado Órgão Subfornicial (OSF) (PINES & MAIMAM, 1927). Em outros vertebrados onde o fórnix está ausente, o órgão situa-se sempre na região da comunicação entre os ventrículos, tendo sido por isso também chamado de Órgão Interventricular (WATERMANN, 1965).

Pela sua posição e peculiaridades morfológicas, o OSF faz parte de um grupo de formações que têm em comum a localização circunventricular, o contato direto com o líquido céfalo-raquidiano e a característica de serem ricamente vascularizados. Estas formações, chamadas de Órgãos Circunventriculares (HOFER, 1959), apresentam, em sua maioria, ausência de barreira hemato-encefálica e não possuem estrutura típica do sistema nervoso central (SNC). Nos mamíferos, em sentido rostrocaudal, este grupo compreende o Órgão Vasculoso da Lâmina Terminal, a Eminência Média, a Neurohipófise, o Órgão Subfornicial, a Epífise, o Órgão Subcomissural e a Área Postrema (BOUCHAUD & BOSLER, 1986).

2 HISTÓRICO

Identificado pela primeira vez no final do século passado, o OSF foi descrito em sucessivos estudos, sob diferentes denominações: *crista fornicis*, "*vorderes Hockerchen*", *nucleus marginalis*, *ganglion psalterii*, *tubérculo intercolunar*. (WILDER, 1896; SMITH, 1898; TANDLER & KANTOR, 1907; JOHNSTON, 1913; SPIEGEL, 1918; PUTNAM, 1922).

Especificamente no homem, foi descrito pela primeira vez por SPIEGEL (1918), seguindo-se estudos conjuntos com outras espécies (PUTNAM, 1922; PINES & MAIMAN, 1927; COHRS & KNOBLOCH, 1936). O primeiro trabalho voltado exclusivamente ao OSF humano foi realizado por DANNHEIMER (1939). Importantes colaborações foram surgindo nos anos subseqüentes (SCEVOLA, 1941; LEGAIT, 1942; WISLOCKI & LEDUC, 1952; ARIËNS KAPPERS, 1955; WATERMANN, 1956). Surgiram estudos comparativos amplos com outras espécies (HASUNUMA, 1956; STEPHAN & JANSSEN, 1956).

Um extenso trabalho voltado ao OSF humano foi publicado por RABL (1966), que o considerou um dos Órgãos Circunventriculares. Recentemente, poucos autores dedicaram-se ao seu estudo no homem (AZAMBUJA, 1983; MARK & FARMER, 1984; ACHAVAL et al., 1987; AZAMBUJA et al., 1988; ACHAVAL et al., no prelo).

Os estudos realizados na microscopia óptica e, mais recentemente, ao microscópio eletrônico, revelaram que, embora as dife-

renças existentes entre as várias espécies, há uma organização estrutural fundamentalmente constante nos diversos vertebrados estudados (DELLMANN & SIMPSON, 1979).

3 ASPECTOS ESTRUTURAIS

O OSF é uma estrutura do SNC constituída de um estroma glial, no qual estão contidos corpos celulares e prolongamentos de neurônios e numerosos vasos sanguíneos. Está situado em correspondência sobre a conexão da lâmina terminal com a tela coróideia do terceiro ventrículo, em um ponto indicado como Ponto M (*margo posterior pallii*) por JOHNSTON (1913), onde há o revestimento pelo epêndima e o crescimento dorsocaudal das vesículas telencefálicas. Assim, o OSF segue a variação de localização do Ponto M, independente da presença ou não do corpo caloso. Em consequência desta variação, tem uma posição extremamente rostral nos marsupiais e extremamente caudal nos insetívoros, onde se localiza abaixo do esplênio do corpo caloso. Nos primatas, como nos carnívoros e roedores, entre outros, está junto das colunas do fórnix, com variações de importância secundária (AKERT et al., 1961).

O OSF humano é uma estrutura situada profundamente na linha média do diencéfalo, acolada à face ventral do corpo do fórnix, numa distância média de 12 mm do centro da comissura branca anterior (AZAMBUJA, 1983; AZAMBUJA et al., 1988). Está dorsalmente situado em relação aos forames interventriculares, nos limites antero-superiores do ventrículo diencefálico, quase que totalmente re-

coberto pela tela coroidéia e plexos coróides do terceiro ventrículo e ventrículos laterais, com a porção mais anterior da sua superfície ventral recoberta por epêndima, formando uma protrusão mais ou menos pronunciada na luz do terceiro ventrículo (Fig. 1). Ocasionalmente, sua extremidade anterior pode ser visualizada a olho nu, com o afastamento dos plexos coróides (MARK & FARMER, 1984).

Apresenta nos cortes sagitais uma forma triangular rasa, cujas dimensões médias são de 2,3 mm em seu eixo maior, orientado no sentido antero-posterior, e 0,8 mm de altura ao nível do seu vértice, com orientação dorso-ventral. Nos cortes coronais surge com forma ovalada, triangular romba ou achatada, cuja dimensão média, em sentido látero-lateral, é de 1 mm (AZAMBUJA, 1983).

3.1 Neurônios

Desde as primeiras descrições do OSF, visualizaram-se células com formato poligonal ou triangular, com núcleos redondos ou ovais, pálidos e com citoplasma finamente granular, que eram de difícil classificação (SPIEGEL, 1918; PUTNAM, 1922; PINES & MAIMAN, 1927).

Em 1936 COHRS & KNOBLOCH, estudando o OSF humano, descreveram as células "parenquimatosas", determinando 2 tipos distintos. Ambas possuíam diâmetro de 8,8 a 11,8 μm , apresentando núcleos dife-

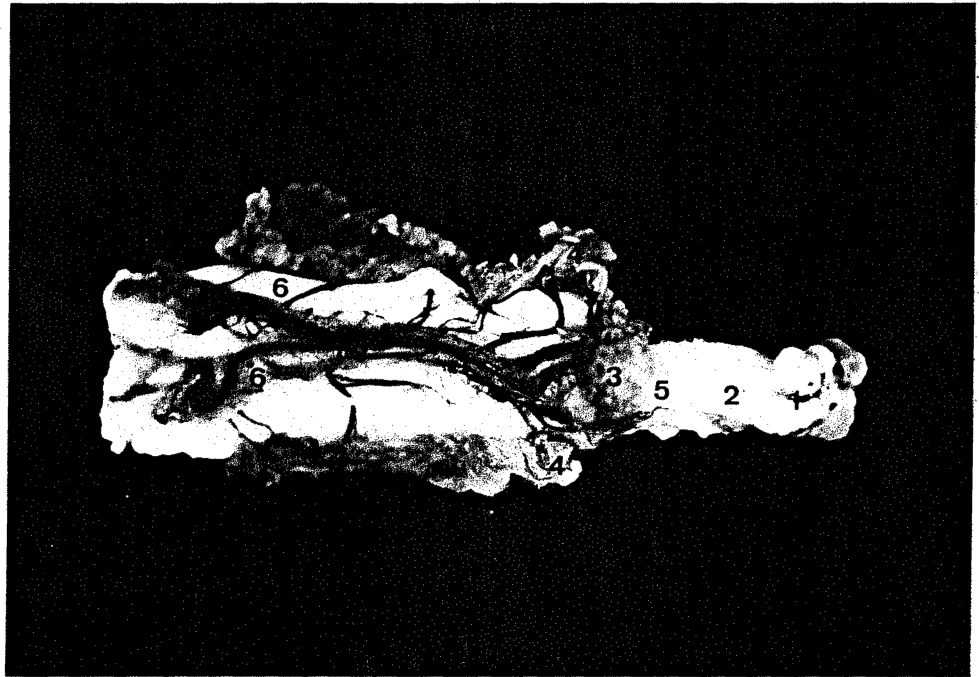


Fig. 1 - Teto do terceiro ventrículo humano com injeção intravascular de gelatina carminada. 1- comissura anterior; 2- pilares do fórnice; 3- plexos coróides do terceiro ventrículo; 4- plexos coróides dos ventrículos laterais; 5- área do OSF; 6- ramos das artérias coroidéias posteriores.

rentes, claros, com diâmetro de 5,9 a 8,8 μm e núcleos escuros com 5,9 μm de diâmetro. Estas células apresentavam forma variável, com dois ou mais prolongamentos, e citoplasma com grânulos finos, basófilos, que eram mais densos nas proximidades do núcleo.

Revisando a literatura, SPIEGEL (1937) ressaltou serem as células parenquimatosas semelhantes às células ganglionares que descrevera anteriormente (SPIEGEL, 1918). Outros autores detectaram estas células, e, embora sem dados conclusivos, sugeriram que pudessem ser neurônios (DANNHEIMER, 1939; SCEVOLA, 1941).

Estas células parenquimatosas podiam sofrer um processo de vacuolização, com produção de uma substância coloidal, que podia ocupar amplas porções do citoplasma, determinando uma deformação celular. Apresentavam núcleo claro e o nucléolo podia estar ausente. Eventualmente, esta substância coloidal podia ser observada no retículo glial do OSF humano, sob a forma de massas arredondadas de tamanho variável (LEGAIT, 1942).

HASUNUMA (1956) visualizou duas variedades celulares, células multipolares que apresentavam prolongamentos finos que se projetavam em direção aos vasos sanguíneos, acompanhando-os, e células bipolares, grandes e pequenas, onde as primeiras tinham prolongamentos desenvolvidos e grossos, e as últimas apresentavam dendritos que terminavam em torno de células endimárias e os seus axônios iam conectar-se com as células multipolares que estavam próximas dos grandes vasos da camada justa-endimária. Identificou

também, no centro do OSF, prováveis agrupamentos de neurônios.

A convicção de que as células parenquimatosas eram neurônios foi corroborada por outros estudos (ARIENS KAPPERS, 1955; WATERMANN, 1956; STEPHAN & JANSEN, 1956) e foi reforçada pelo fato de que as relações entre as células parenquimatosas e os astrócitos eram muito semelhantes às que ocorrem entre os astrócitos e os neurônios em outras regiões do SNC (HOFER, 1957), embora existisse quem acreditasse que fossem células da neuróglia adaptadas para uma função secretora (LEGAIT, 1957).

No primeiro trabalho utilizando microscopia eletrônica, no OSF do cão, ANDRES (1965b) fez uma identificação precisa, demonstrando 2 tipos de neurônios, pequenos, com 8 a 12 μm de diâmetro, que atuariam como quimiorreceptores do conteúdo líquido, que chegaria até a profundidade do OSF através de canalículos endomédulares, formando uma rede que comunicaria o estrato subependimário à profundidade, onde se situariam neurônios de um segundo tipo, de maiores dimensões. Destes grandes neurônios, com 14 a 20 μm de diâmetro, originar-se-iam as vias eferentes do OSF.

PFENNINGER et al. (1967), estudando o OSF do gato, identificaram células pequenas, que se distribuíam em grupos, com núcleo vesiculoso e citoplasma claro. Apresentavam pequeno número de dendritos que emergiam do pericário em situação oposta ao axônio. Estas células eram semelhantes às dos gânglios vegetativos. Observaram também dois tipos de neurônios secretores, um com células volumosas, preenchidas com numerosos grânulos escuros, que permitiam

visualizar apenas o contorno nuclear, podendo estes neurônios liberarem seus produtos de secreção diretamente nos capilares do OSF. O outro tipo tinha corpos celulares grandes, escuros e aspecto bipolar. Detectaram também neurônios de tamanho intermediário, em que foi sugerida uma provável função receptora. Também foi demonstrada a presença no OSF do rato de um plexo aferente utilizando um mediador colinérgico, cujas terminações estabeleciam no órgão sinapses axo-dendríticas e axo-somáticas (AKERT & STEINER, 1970).

Numa análise crítica das várias descrições e classificações dos neurônios do OSF, DELLMAN & SIMPSON (1979) definiram quatro tipos principais de neurônios nos mamíferos, salientando que talvez não correspondessem a quatro tipos distintos de células. Dentro de sua classificação, os mais facilmente encontrados e identificados são os tipos I e II, em que os corpos celulares apresentam muitas características ultraestruturais comuns, como núcleo esférico ou ovóide, com incisuras simples ou múltiplas, nucléolo bem nítido, heterocromatina escassa e aparelho de Golgi desenvolvido, com vesículas granulares e não granulares de diâmetros variáveis entre 70 e 185 nm. A diferença fundamental entre eles dá-se pelo maior desenvolvimento do retículo endoplasmático rugoso e pelo maior número de ribosomas livres e polirribosomas nos neurônios do tipo II. As numerosas semelhanças entre eles, e a observação de células em que o corpo celular mostra características intermediárias entre os dois, levou à conclusão de que é mais verossímil serem aspectos morfológicos correspondentes a diferentes estágios

funcionais de um mesmo tipo celular.

Os neurônios do tipo III são caracterizados por um citoplasma denso, que contém numerosas cisternas dilatadas do retículo endoplasmático rugoso, rico em ribosomas livres e polirribosomas. Existem complexos de Golgi desenvolvidos, relacionados com vesículas que podem conter material finamente granular ou com vesículas granulosas (CASALI et al., 1989).

O tipo IV tem como característica morfológica saliente a presença de vacúolos, que não ocupam somente o corpo celular, mas também se difundem a muitos prolongamentos. Estes vacúolos, aparentemente vazios, originar-se-iam de dilatações do retículo endoplasmático ou do aparelho de Golgi (RUDERT et al., 1968; SCHINKO et al., 1972), que progressivamente se alargariam e aumentariam de número às custas do citoplasma. Poderiam talvez confluirem em um único vacúolo gigante, que corresponderiam às células nervosas gigantes vacuolizadas, privadas de núcleo (LEGAIT, 1957; SCHINKO et al., 1972). Para DELLMANN & SIMPSON (1979), os neurônios do tipo IV seriam a expressão morfológica de uma etapa funcional diferente dos tipos I e II, porém não é conhecido qual o destino exato destes neurônios vacuolizados e nem qual o seu papel funcional. Com os critérios atuais de morfologia puramente descritiva não há possibilidade de aprofundamentos (DELLMANN, 1985), necessitando-se para isto de métodos mais desenvolvidos, tais como os imuno-histoquímicos, morfométricos e eletrofisiológicos (CASALI et al., 1989).

No OSF humano, estudado com métodos de Golgi, foi observada

uma gama variada de neurônios, bem como definidas suas localizações no interior do OSF (ACHAVAL et al., 1987) Fig. 2).

Na região dorsal do OSF há uma predominância de neurônios grandes e na região ventral de neurônios pequenos, similar às descrições realizadas no cão (ANDRES, 1965a) e no dromedário (DELLMANN & FAHMY, 1967). As variações morfológicas são mais marcantes na zona dorsal. Os prolongamentos dendríticos dos neurônios dorsais grandes e médios distribuem-se em ramificações que correm paralelas aos vasos por uma distância considerável, formando um plexo dendrítico perivascular denso. Os neurônios fusiformes grandes e médios são semelhantes aos do rato e os axônios dirigem-se em direção rostral no plano sagital, mas só foi possível segui-los por curtas distâncias. Os grandes neurônios estrelados e triangulares apresentam um axônio que emerge do corpo celular em direção à zona ventral do OSF, porém foi impossível seguir o seu trajeto e assim determinar possíveis mudanças de direção, por não ocorrer impregnação de fibras mielinizadas após o segmento inicial do axônio. As pequenas células nervosas parecem ser interneurônios, das quais as mais importantes são as células fusiformes com uma pequena árvore dendrítica e o axônio emergindo no lado oposto. Estes neurônios participariam dos circuitos locais do OSF (ACHAVAL et al., 1987) (Fig. 2).

Na região ventral os grandes neurônios são de um único tipo, triangulares, com um tronco dendrítico espesso. Não foi possível com esses métodos distinguir claramente, nos grandes e médios neu-

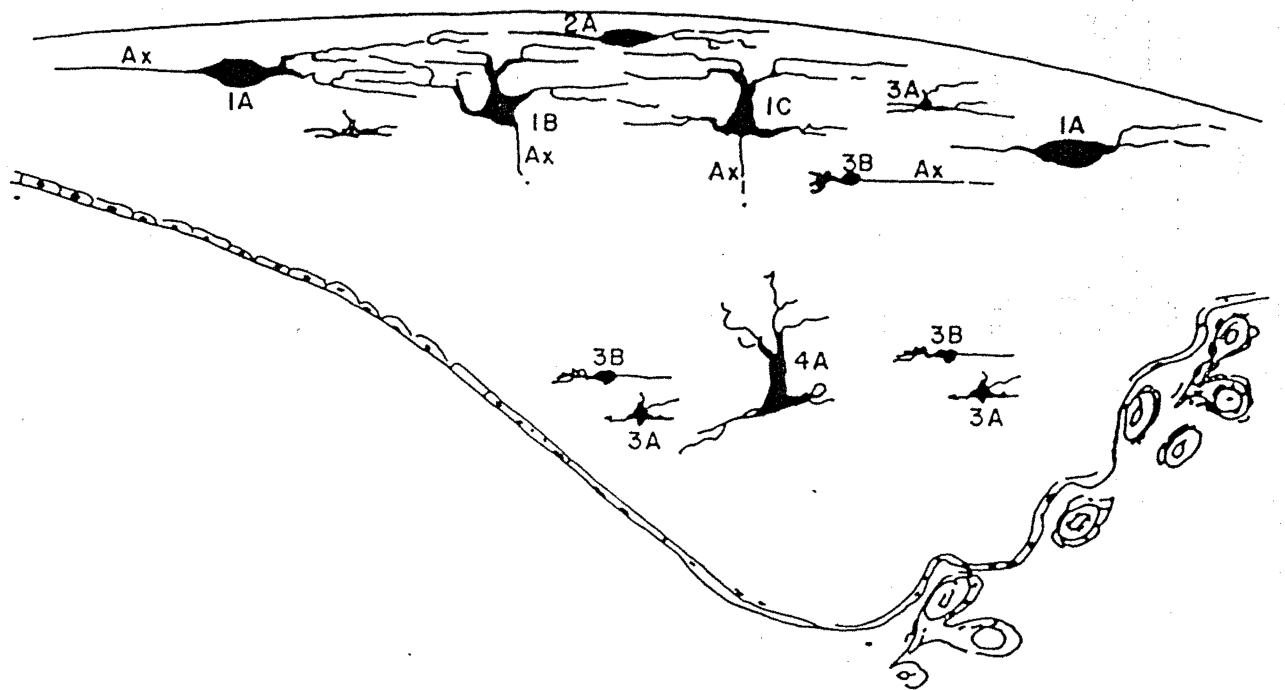


Fig. 2 - Representação esquemática do OSF humano mostrando a distribuição das células nervosas. 1A- neurônios fusiformes grandes; 1B- neurônios estrelados grandes; 1C- neurônios triangulares grandes; 2A- neurônio fusiforme médio; 3A- neurônio triangular pequeno; 3B- neurônio fusiforme pequeno; 4A- neurônio triangular com tronco dendrítico grosso; Ax- axônio (ACHAVAL et al., 1987).

rônios, o axônio e sua direção. Os pequenos neurônios da região ventral são em tudo semelhantes aos da zona dorsal, incluindo as relações com os vasos (ACHAVAL et al., 1987) (Fig. 2).

O estudo do OSF humano ao microscópio eletrônico apresentou artefatos originados pela fixação tardia do tecido. Isto fez com que ocorresse limitação na possibilidade de comparação com outras espécies e mesmo na elucidação de aspectos particulares da estrutura fina do OSF humano (MARK & FARMER, 1984).

Os corpos neuronais descritos como tipos I a IV (DELLMANN & SIMPSON, 1979), não foram claramente caracterizados no OSF humano ao microscópio eletrônico. As células gigantes vacuoladas (IV) e as células tipo (III), também chamadas células neurosecretoras tipo 2 (PFENNINGER et al., 1967) não foram visualizadas. Da mesma forma não foram evidentes as diferenças entre os tipos neuronais I e II. No homem não foi possível determinar distinções neuronais baseadas unicamente em critérios morfológicos (MARK & FARMER, 1984).

O que distinguiu os neurônios do OSF humano foram as profundas e estreitas invaginações nucleares, ou dobras do núcleo sobre si mesmo. Isto foi notado por alguns investigadores no OSF e em outros órgãos circunventriculares de outras espécies (ANDRES, 1965a; DELLMANN & SIMPSON, 1979). Esta aparência nuclear não é encontrada em outros locais do SNC, parecendo ser única dos órgãos circunventriculares, mantendo uma constância entre as espécies. O

nucléolo é invariavelmente visto muito próximo destas invaginações, não havendo explicação anatômica convincente para este fenômeno (MARK & FARMER, 1984).

Existem sinapses abundantes no OSF humano, sendo a mais frequente a do tipo axo-dendrítico e após a axo-somática. No homem não foram visualizadas sinapses em crista (MARK & FARMER, 1984), como as encontradas em outras espécies (AKERT et al., 1967). Em ambos os tipos o terminal pré-sináptico contém vesículas claras, de forma esférica ou ovóide, com cerca de 20 a 45 nm de diâmetro. Foi impossível identificar com certeza o neurotransmissor contido no interior destas vesículas, porém devido às extraordinárias semelhanças com outras espécies, deduziu-se que mais provavelmente sejam colinérgicas (MARK & FARMER, 1984). Também a presença de grânulos densos, de 80 a 175 nm, principalmente em dilatações axonais não-sinápticas, corroboram estudos em outros animais, apenas com discreta variação no volume (80 a 150 nm) (AKERT, 1967; DELLMANN & SIMPSON, 1975; ROHR, 1966b). A identificação do seu conteúdo é muito difícil e tem gerado controvérsia. Alguns estudos põem em dúvida a existência de catecolaminas (DELLMANN & SIMPSON, 1979; LICHTENSTEIGER, 1967), mas existem algumas evidências, pela demonstração de serotonina em terminais do OSF do rato (BOUCHAUD, 1975; LICHTENSTEIGER, 1967).

3.2 Neuróglia

A estrutura geral do OSF é constituída por um estroma glial, no qual estão contidos os corpos celulares, os prolongamentos neu-

ronais e numerosos vasos sanguíneos.

Foi descrita em diversas espécies, com métodos de impregnação metálica, uma trama glial onde as fibras formam malhas solidamente dispostas segundo o eixo longitudinal do órgão, porém com diferenças na orientação nas diversas espécies. Os elementos da neuróglia foram descritos como astrócitos com prolongamentos com aspecto de pedículo, que tinham conexões com a superfície endimária (SCEVOLA, 1939).

Os astrócitos protoplasmáticos e fibrosos resultaram ser componentes estruturais constantes do OSF (PFENNINGER et al., 1967). Estão situados em estreita proximidade com os vasos sanguíneos, e os contingentes dos prolongamentos desses astrócitos estão distribuídos em todo o OSF. Os astrócitos protoplasmáticos são particularmente abundantes na superfície ventral, abaixo do revestimento endimário, no qual estes prolongamentos podem também invaginar-se. Ao contrário, os astrócitos fibrosos são mais numerosos junto à base do OSF e terminam com seus grossos prolongamentos nos espaços perivasculares dos grandes vasos sanguíneos. No homem, na transição entre o OSF e o fórnice, os processos dos astrócitos fibrosos formam uma rede densa que se assemelha a uma paliçada (ACHAVAL et al., 1987). Também foram encontradas células da micróglia e raros oligodendrócitos, que apresentam delicados processos se irradiando de um corpo celular pequeno e esférico. Alguns tipos particulares de células gliais foram descritos no coelho (RUDERT et al., 1968), galo (DELLMANN & LINNER, 1979), enquanto ANDRES

(1965a) assinalou a presença de células semelhantes a glioblastos.

Relações estreitas entre neurônios e células gliais foram documentadas em vários estudos. Estas células contêm microtúbulos e as organelas citoplasmáticas habituais, núcleo reniforme ou semilunar intensamente corado e circundam o corpo celular dos neurônios, adaptando-se à sua forma (ANDRES, 1965 a; PFENNINGER et al., 1967; RUDERT et al., 1968; SCHINKO et al., 1972; DELLMANN & SIMPSON, 1979). Estas células, denominadas satélites, apresentam junto ao corpo ou prolongamentos dos neurônios, uniões à célula nervosa através de **zonula adhaerentes**. Alguns autores preferiram classificá-las a parte, devido a sua estrutura e relações particulares que estabelecem com os neurônios (DELLMANN & SIMPSON, 1979).

O epêndima que reveste o OSF é composto de células que apresentam amplas variações morfológicas. Podem ser escamosas, com aspecto pavimentoso, ou mais altas, cúbicas ou prismáticas. Na superfície ventricular, no rato, emitem finas expansões laminares, que fazem uma rica interdigitação entre uma célula e outra. As células endimárias são unidas entre si, na proximidade da superfície ventricular, por complexos de junção. Prolongamentos finos e breves se dirigem também à superfície lateral e à basal das células endimárias mais altas. As expansões laterais se invaginam nas células adjacentes formando "gap junctions" (CASALI et al., 1989).

No revestimento endimário ressaltam-se também células com

aspecto mais denso, que PFENNINGER (1969) demonstrou pela primeira vez, como células endimárias "escuras". Tornam-se mais espessas na área central do OSF e, em relação às outras células endimárias, são mais ricas em ribossomos e têm um complexo de Golgi mais amplamente desenvolvido, com vacúolos, vesículas e lisossomos. Também no revestimento endimário são localizadas ocasionalmente células contendo melanina, observadas na rã por DELLMANN & SIMPSON (1979).

Algumas células, caracterizadas como tanicitos endimários, possuem prolongamentos longos e volumosos, que se originam na superfície basal e se aprofundam no OSF, indo manter contato com os corpos celulares de neurônios ou com as lâminas basais nos espaços perivasculares (ACHAVAL et al., 1987). Estes prolongamentos contêm numerosos filamentos, retículo endoplasmático e mitocôndrias (CASALI et al., 1989).

Ao microscópio óptico, o OSF humano é recoberto por células endimárias apenas na sua região antero-ventral, livre da inserção da tela coróidea e plexos coróides. As células apresentam forma variada, de escamosas a cúbicas, com núcleo redondo ou oval, grânulos de cromatina distribuídos na periferia e um ou dois nucléolos. O citoplasma tem aspecto homogêneo e limites imprecisos (AZAMBUJA, 1983).

No OSF humano o estudo com o microscópio eletrônico revelou células endimárias pavimentosas ou levemente cubóides. Os núcle-

os são ovóides ou irregulares, com heterocromatina esparsa pela periferia. O citoplasma é escuro com grande número de ribosomas e polirribosomas e também são visualizadas mitocôndrias, lisosomas e vacúolos dilatados, especialmente na superfície ventricular ou como invaginações laterais para outra célula endimária, tanto vazios como contendo vesículas granulosas (MARK & FARMER, 1984).

A superfície ventricular do OSF se distingue claramente do resto da superfície ciliada do terceiro ventrículo, embora revele amplas variações. Pode ser uniformemente achatada ou se estender mais ou menos amplamente na luz ventricular. É recoberta, totalmente ou em parte, de microvilos de comprimento e espessura variada, apresentando cílios isolados ou agrupados em tufo. As células endimárias podem formar protrusões citoplasmáticas mais ou menos volumosas, por vezes contendo também o núcleo, que determinam à superfície luminal o aspecto de saliência, e que pode levar até à total "emissão" da célula na luz ventricular. As irregularidades na superfície igualmente podem ser determinadas pela projeção de neurônios subendimários ou neurônios gigantes vacuolizados (CASALI et al., 1989).

Em diversos mamíferos (DELLMANN & SIMPSON, 1975), mas sobretudo no gato (PFENNINGER, 1969) e no cão (ANDRES, 1965 a,b; WATERMANN, 1965), foram descritos canais endimários, que penetram a uma profundidade variável no órgão. Tais canais, com comprimento de 100 μm e diâmetro de 2 a 5 μm , são revestidos de células endimárias pavimentosas ou cúbicas, unidas entre si por des-

mosomas e dotadas de microvilos e cílios que se projetam em direção à luz. ANDRES (1965a,b), observou a freqüente comunicação destes canais com o neuropilo do OSF, sugerindo que o líquido cefalo-raquidiano possa ter um contato direto com os neurônios, que provavelmente atuariam monitorizando a sua composição química. Estes canais endimários, mesmo sendo encontrados em diversas espécies, são relativamente raros e sua distribuição parece casual em toda a superfície endimária do OSF no rato, enquanto no cão são majoritariamente concentrados na periferia do órgão. A injeção de peroxidase no terceiro ventrículo não demonstrou a presença da enzima na luz dos canais endimários nem nas células que o delimitam (PFENNINGER, 1969).

Os canais endimários também foram observados no OSF humano, apresentando diâmetro de cerca de 1 μ m, com a luz recoberta por cílios e microvilos. Vesículas cobertas às vezes são visualizadas na margem destes canais, que caracteristicamente ocorrem próximo aos grandes vasos e aos neurônios, o que fornece uma evidência funcional acerca destas vesículas, já que se sabe estarem envolvidas no processo de pinocitose. A maneira pela qual estes canais endimários terminam no interior do OSF humano não foi detectada (MARK & FARMER, 1984).

Diferenças regionais da superfície endimária descreveram-se no rato à microscopia eletrônica (PHILLIPS et al., 1974; DELLMANN & SIMPSON, 1976). As células pavimentosas ou cúbicas da região rostral e as células prismáticas da região central, têm uma super-

fície apical lisa ou providas de microvilos curtos e pouco numerosos; os cílios, isolados ou em tufo, são escassos medialmente e aumentam em sentido lateral, e o aspecto vai progressivamente se tornando semelhante ao epêndima do restante do terceiro ventrículo. Em direção caudal, onde a superfície é parcialmente recoberta por plexos coróides, os microvilos se tornam mais numerosos e longos (até 1,25 μm), determinando uma maior superfície de contato com o líquido cefalo-raquidiano, sendo também mais numerosas as células ciliadas. Protrusões de aspecto vesicular na superfície voltada ao ventrículo e dos cílios são observadas na porção rostral do OSF, mas se tornam mais numerosas e evidentes na porção central, contendo pequenos vacúolos. Nesta região também são mais numerosas as projeções endimárias determinadas pelas células nervosas subjacentes.

No homem foram observadas células de aspecto cuboidal junto à extremidade anterior do OSF, tendendo a uma forma progressivamente aplanada à medida que se aproximam da inserção do plexo coróide. Da mesma forma, na superfície ventricular lateral, estas células cúbicas apresentam tufo de cílios que vão desaparecendo conjuntamente com a transformação em células escamosas em direção à região central do órgão. Nesta região foi demonstrada uma alteração brusca no epitélio endimário. As células, até então, nitidamente planas e monoestratificadas, assumem um aspecto pseudo-estratificado e forma cuboidal (AZAMBUJA, 1983; AZAMBUJA et al., 1987).

4 ONTOGENIA

O OSF se origina na linha média da superfície da porção ímpar do telencéfalo, a lâmina terminal, em estreita proximidade com os plexos coróides do terceiro ventrículo, onde estão fixados. Segundo a espécie, tal relação primitiva com os plexos coróides pode persistir ou não, devido ao desenvolvimento variado das estruturas vizinhas (KNOBLOCH, 1936; SCEVOLA, 1941).

O esboço do OSF humano foi observado em fetos com 65 mm de comprimento céfalo-podálico, que em cortes sagitais aparece como um pequeno agrupamento de células endimárias, desde o ponto de inserção do plexo coróide no fórnix, em direção à comissura branca anterior (SCEVOLA, 1941). O esboço se reconhece pelas modificações do revestimento endimial, que se espessa, e pela presença subjacente de numerosas lacunas vasculares. Nesta área primitiva, a proliferação das células endimárias e seu aprofundamento no tecido abaixo, organizando-se como uma massa gliovascular, leva à individualização de um esboço estruturado (CASALI et al., 1989).

No rato, sua estrutura mais primitiva foi reconhecida no 15º dia de vida fetal, e desde o início mantém uma forma triangular, semelhante ao seu formato definitivo. Após manter uma relação inicial com várias estruturas, em etapas mais posteriores, até a idade adulta, apresenta contato permanente apenas com a comissura hipocampal, com a tela coroidéia, com os plexos coróides e com o terceiro ventrículo. Com o plexo coróide, inicia sua relação dire-

ta aos 19 dias de vida fetal, tendo aos 10 dias de vida pós-natal sua disposição definitiva, na qual há a inserção dos plexos dos ventrículos laterais nas porções laterais da região medial posterior, com os plexos e tela coróideia do terceiro ventrículo recobrimo sua região caudal (FERNANDES, 1985).

Apresenta um epitélio endimário que inicialmente é pseudoestratificado e que se torna gradativamente monoestratificado a partir do 1º dia pós-natal. Neste epitélio observam-se células de aspecto colunar, cuboidal e escamoso que apresentam variações regionais características. Verificou-se também a presença de cílios e tanicitos (FERNANDES, 1985).

As células da neurógliã e os neurônios observaram-se a partir dos 18 dias de vida fetal, com exceção dos neurônios vacuolados, que foram notados a partir do 1º dia de vida pós-natal (FERNANDES, 1985).

Os elementos vasculares visualizaram-se a partir do 16º dia de vida fetal, com uma proliferação progressiva que leva à formação de uma rede anastomótica, mais complexa ao nível das regiões caudal e medial, que se continua até a vida adulta (FERNANDES, 1985).

O estudo ultraestrutural no rato no período perinatal confirmou que todas as características estão definidas até a primeira semana após o nascimento e, que ao final do primeiro mês o desen-

volvimento se completa, com modificações apenas quantitativas (DELLMANN & STAHL, 1984).

No camundongo albino macho as dimensões dos núcleos das células endimárias e nervosas aumentam até a puberdade (35º dia), mas podem diminuir, uma vez que a castração no nascimento ou em época pré-puberal comporta diminuição das dimensões nucleares (CASTAÑEYRA-PERDOMO et al., 1988).

A atividade acetilcolinesterásica no OSF do rato apresentou uma forma difusa entre o 16º e o 18º dia da vida fetal, começando a adquirir um padrão definitivo a partir do 21º dia e completando-se aos 30 dias após o nascimento. Este padrão é caracterizado por ser homogêneo na região rostral, em forma de anel na região medial anterior, de ferradura na região medial posterior e a região caudal apresenta uma atividade intensa e uniforme (FERNANDES & ACHAVAL, 1986).

5 FUNÇÃO E CONEXÕES DO OSF

O OSF participa na regulação do equilíbrio hídrico do organismo. Diversas pesquisas experimentais têm sido realizadas nos últimos anos dedicadas à análise dos mecanismos de tais funções, depois das primeiras observações em situações de desidratação (PALKOVITS, 1966). A atividade de regulação exercida pelo OSF é mediada pela angiotensina II (A II), que provoca no animal as respostas que o levam a procurar e ingerir água. Também determina

respostas pressoras.

A destruição do OSF no rato provoca adipsia, parcial e temporária, enquanto lesões localizadas em áreas imediatamente adjacentes não têm nenhum efeito. A aplicação direta no OSF de colinomiméticos (carbacol) apresentam efeito dipsogênico imediato e intenso, superior ao observado com a injeção de carbacol no sistema ventricular ou na área hipotalâmica lateral. A destruição total do OSF determina uma forte redução do efeito dipsogênico do carbacol injetado no ventrículo (SIMPSON & ROUTTENBERG, 1972).

A estimulação elétrica do OSF induz a ingestão de água no rato (ROBERTSON et al., 1983), e provoca uma resposta pressora através de vasoconstrição, possivelmente mediada por uma atividade simpática aumentada e secreção de vasopressina (MANGIAPANE, 1987).

A aplicação direta de A II no OSF determina respostas comportamentais imediatas, induzindo o animal a beber (SIMPSON & ROUTTENBERG, 1973) e acelera a atividade elétrica dos neurônios do OSF (FELIX & AKERT, 1974), demonstrando a presença no órgão de neurônios especificamente capazes de responder à A II (PHILLIPS & FELIX, 1976). Experimentos eletrofisiológicos "in vitro", no OSF do rato, levaram à proposição de um modelo de organização neuronal do órgão. Nele se reconhecem duas populações de neurônios, uma formada por células situadas mais superficialmente, abaixo do epêndima, que são sensíveis à A II e que fazem sinapses com a outra população, situada mais profundamente, constituída de neurô-

nios sensíveis ao carbacol (BURANARUGSA & HUBBARD, 1979a,b) (Fig. 3).

Numerosos receptores para a A II circulante localizam-se na parte central profunda do OSF (VAN HOUTEN et al., 1980). O OSF é uma das poucas regiões cerebrais, junto com os núcleos hipotalâmicos paraventricular e periventricular, o núcleo do tracto solitário e a área postrema, onde existe uma concentração máxima de receptores para a A II e que contêm também altíssimos níveis da enzima conversora da angiotensina (MENDELSON et al., 1984).

A A II foi evidenciada com técnicas imunocitoquímicas em células e fibras nervosas do OSF. As células imunorreativas estão dispostas na periferia do órgão, formando um anel, internamente ao qual se encontra o plexo de fibras imunorreativas. Nem a desidratação, que aumenta os níveis circulantes da A II nem a nefrectomia, que os reduzem, modificaram de modo apreciável a imunocoloração. Da mesma forma, não alteraram o campo terminal das fibras imunorreativas que ocupa a região central, onde estão altamente concentrados os receptores da A II circulante (LIND et al., 1984).

Uma das interpretações mais simples seria a de que a A II circulante e a A II de circuitos nervosos específicos convergiriam para o OSF para estimular respostas importantes para o balanço hídrico. Fortalece esta idéia o fato de que a região perifornicial da área hipotalâmica lateral e as porções rostrais da zona incerta, que se sabe estão especificamente relacionadas com o mecanismo

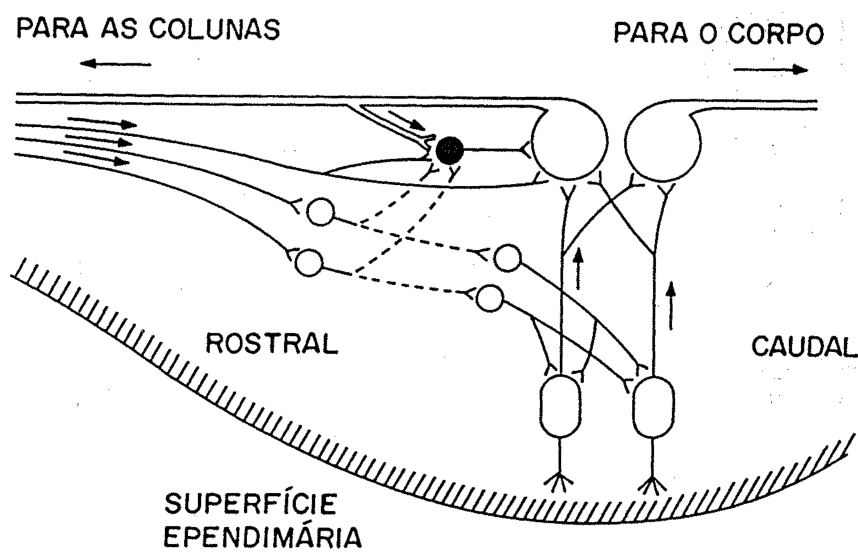


Fig. 3 - Organização hipotética dos neurônios do órgão subfor-nicial (OSF). Os neurônios superiores têm dendritos receptores e recebem impulsos excitatórios tanto das colunas quanto do corpo (não mostrado na figura) do fórnix. Esta excitação se origina de um grupo de neurônios poli-sinápticos. Os neurônios superficiais mantêm sinapses com neurônios profundos sensíveis ao carbacol, que se projetam nas colunas e/ou corpo do fórnix. Ramos colaterais dos axônios dos neurônios profundos mantêm sinapse com um interneurônio inibitório, o qual pode agir em um circuito inibitório recorrente. As fibras aferentes vindas das colunas mantêm sinapses com os interneurônios inibitórios e os neurônios profundos. Para maior clareza, foram omitidos impulsos do corpo para os neurônios profundos. (Adaptado de BURANARUGSA & HUBBARD, 1979, a, b).

da sede, são locais onde foram identificadas projeções do OSF (LIND et al., 1984). Outras projeções do OSF terminam nas porções mediais da região pré-óptica, que se acredita possuir um papel chave na indução da ingestão hídrica. Portanto, as vias imunorreativas da A II descritas devem ser parte integrante do circuito que media a regulação comportamental do equilíbrio hídrico (LIND et al., 1984) (Fig. 4).

Além dos receptores para a A II, existem evidências autorradiográficas de receptores para outras substâncias circulantes, como o peptídeo natriurético atrial (QUIRION et al., 1984), somatostatina (PEARSON & LICHT, 1982) e calcitonina (ROULEAU et al., 1984), sugerindo que outros agentes humorais além da angiotensina II tenham ações no OSF. O peptídeo natriurético atrial excita neurônios do OSF "in vitro" (BURANARUGSA & HUBBARD, 1988).

O OSF desempenha um papel de integração neuro-humoral, para o qual tem significado marcante as suas características estruturais. Seu rico leito capilar, altamente permeável, permite uma função de sensor da composição sanguínea que perfunde o órgão. Todavia, ainda está por ser demonstrado se as junções interendoteliais no OSF, e nos outros órgãos circunventriculares, seriam canais permeáveis à difusão de pequenos solutos plasmáticos. O revestimento ependimário, associado à terminações axônicas e dotados de expansões vilosas, que se projetam na luz ventricular, pode possuir função secretora, determinar canais de transporte ou agir como receptores sensoriais (ROHR, 1966b; WEINDL & JOYNT, 1972).

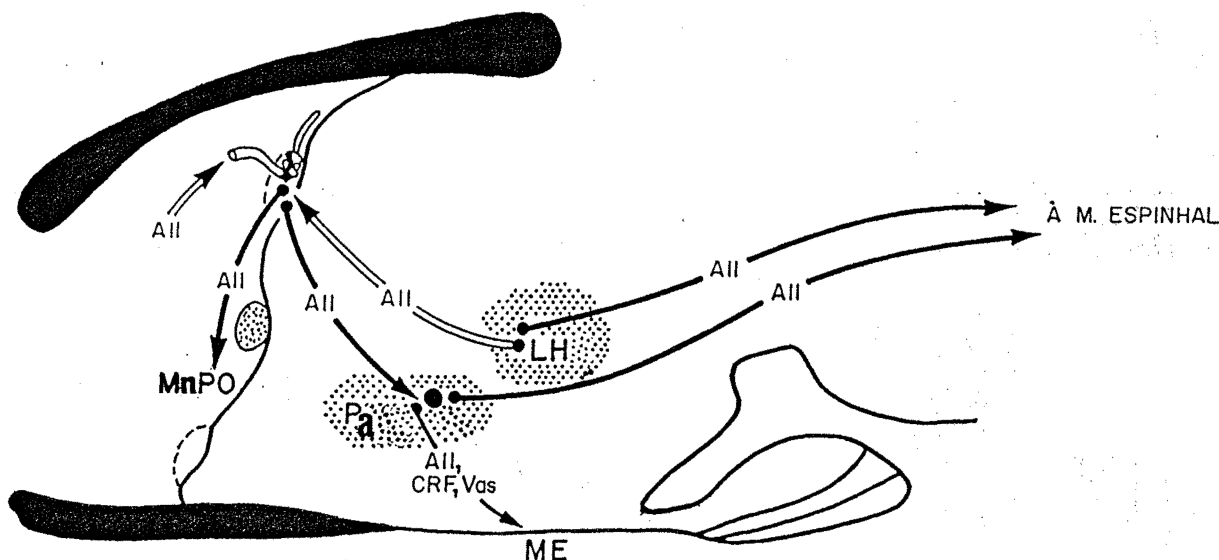


Fig. 4 - Circuitos imuno-reativos da Angiotensina II (A II) relacionados ao OSF são demonstrados numa visão esquemática sagital mediana do hipotálamo do rato. A rota humoral da Angiotensina II para a estimulação do OSF está representada por uma seta vazada na porção superior esquerda, e a outra seta vazada representa um estímulo neural mediado pela Angiotensina II originário da área hipotalâmica lateral (LH) e estruturas adjacentes (por exemplo, a zona incerta rostral). Dois feixes eferentes do OSF mediados pela Angiotensina II são mostrados, projetando-se para a região do núcleo pré-óptico mediano (MnPO) e para o núcleo hipotalâmico paraventricular (Pa). Neurônios parvocelulares no Pa, que sintetizam fator liberador de corticotrofina (CRF) para liberação na eminência média (ME) também exprimem imuno-reatividade à vasopressina (VAS) e angiotensina após adrenalectomia. A grande maioria dos neurônios magnocelulares que contem vasopressina também contem angiotensina, e ao menos um pequeno número de células do núcleo Pa, que se projetam para a medula espinhal coram-se com anti-angiotensina. Uma projeção imuno-reativa da angiotensina muito mais robusta, que se dirige para a medula espinhal, se inicia em porções periforniciais de LH. Como visto acima, células que contêm a angiotensina, deste mesmo local (LH), se projetam ao OSF, e o OSF se projeta de volta para esta área (não demonstrado na figura), embora não se saiba a identidade química deste feixe. (Adaptado de LIND et al., 1984).

A complexa matriz parenquimatosa, composta de tipos variados de neurônios, recebe impulsos aferentes da área septal (núcleo triangular, núcleo septal medial, núcleo próprio da estria terminal), do órgão vasculoso da lâmina terminal, do tálamo (núcleo reuniens, núcleo paraventricular), do hipotálamo (núcleos pré-óptico mediano e medial, regiões periforniciais anterior e lateral), do tronco encefálico (núcleo parabraquial lateral, mediano da rafe e núcleo do tracto solitário) (LEWIS & SHUTE, 1967; ZARDETTO-SMITH & WATSON, 1967; HERNESNIEMI et al., 1972; LIND et al., 1982; LIND et al., 1984; TANAKA et al., 1986; MCKINLEY et al., 1990) (Fig. 5).

As fibras eferentes deixam o OSF por um feixe pré-comissural e muitas delas terminam no núcleo pré-óptico mediano e órgão vasculoso da lâmina terminal (MISELIS, 1981; LIND et al., 1982; SAPER & LEVISOHN, 1983; OLDFIELD et al., 1986). Os núcleos supra-quiasmático e supra-óptico, como também a região pré-óptica medial são também inervados por fibras eferentes pré-comissurais. Um feixe pós-comissural do OSF atinge regiões diencefálicas que incluem os núcleos talâmicos paraventricular, **reuniens** e centromedial. Os núcleos hipotalâmicos paraventricular, dorsomedial e arqueado, e a área do hipotálamo lateral, a zona incerta e a rafe do tronco encefálico igualmente recebem fibras pós-comissurais (MISELIS, 1981; FERGUSON et al., 1984; LIND et al., 1984; SGRO et al., 1984; JOHNSON, 1985). Também chegam fibras eferentes do OSF à área infralímbica do córtex pré-frontal, à área septal e à substância inominada (SWANSON & LIND, 1986; MCKINLEY et al., 1990) (Fig. 6).

Conexões Aferentes do OSF

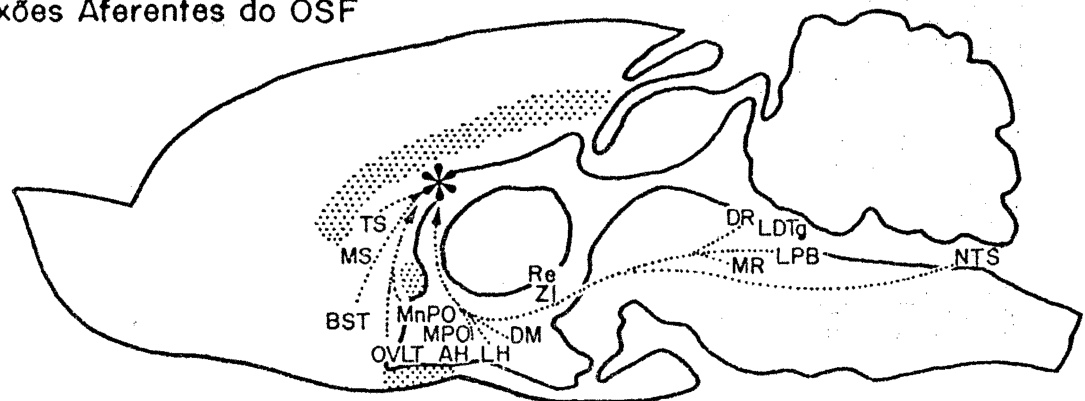


Fig. 5 - Conexões aferentes do OSF do rato. AH- área hipotalâmica anterior; BST- núcleo próprio da estria terminal; DM- núcleo dorsomedial do hipotálamo; DR- núcleo dorsal da rafe; LDTg- núcleo tegmental látero-dorsal; LH- área hipotalâmica lateral; LPB- núcleo parabraquial lateral; MnPO- núcleo pré-óptico medial; MPO- área pré-óptica medial; MR- núcleo mediano da rafe; MS- núcleo septal medial; NTS- núcleo do tracto solitário; OVL- órgão vasculoso da lâmina terminal; Re- núcleo talâmico reuniens; TS- núcleo triangular do septo; ZI- zona incerta (Adaptado de MCKINLEY et al, 1990).

Conexões Eferentes do OSF

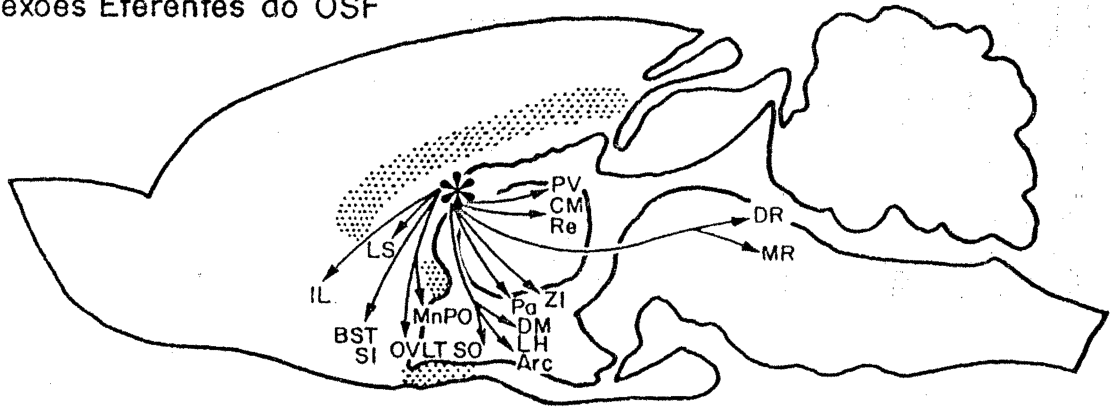


Fig. 6 - Conexões eferentes do OSF do rato. Arc- núcleo arqueado; BST- núcleo próprio da estria terminal; CM- núcleo talâmico central medial; DM- núcleo dorsomedial do hipotálamo; DR- núcleo dorsal da rafe; IL- área infralímbica do córtex pré-frontal; LH- área hipotalâmica lateral; LS- núcleo septal lateral; MnPO- núcleo pré-óptico mediano; MR- núcleo mediano da rafe; OVLT- órgão vascularizado da lâmina terminal; Pa- núcleo paraventricular do hipotálamo; PV- núcleo talâmico paraventricular; Re- núcleo talâmico reuniens; SI- substância inominada; SO- núcleo supraóptico; ZI- zona incerta (Adaptado de McKINLEY et al., 1990).

Todas as características estruturais do OSF constituem a base da sua interpretação como sensor dos estímulos da sede e integrador das respostas comportamentais, cardiovasculares e hormonais, durante a desidratação e a busca de água. Nesse sentido, com suas amplas conexões diretas e com numerosas estruturas reguladoras de integração, o OSF se comporta como as outras formações da linha média, que possuem conexões neuronais com o restante do telencéfalo, especialmente através de circuitos com a córtex associativa (GROSS, 1985).

LEWIS & SHUTE (1967), referiram as primeiras conexões nervosas com o OSF, demonstrando aferências colinérgicas do sistema límbico, originadas no septo.

HERNESNIEMI et al. (1972), individualizaram fibras provenientes do núcleo pré-óptico mediano e do núcleo triangular do septo.

MISELIS (1981) realizou o primeiro estudo com peroxidase de projeções eferentes do OSF do rato, reconhecendo duas áreas terminais distintas, uma na região pré-óptica, localizada na área antero-ventral do III ventrículo, e a outra no hipotálamo, essencialmente localizada nos núcleos magnocelulares.

LIND et al. (1982), utilizando técnicas imuno-histoquímicas, visualizaram de maneira sistemática conexões aferentes e eferentes do OSF, confirmando substancialmente as observações prévias, e definindo uma topografia mais clara do percurso das fibras. Particu-

larmente, ressaltaram as conexões bidirecionais com o núcleo pré-óptico mediano, às quais chegam, através do núcleo do tracto solitário e do núcleo parabraquial, informações dos barorreceptores cardiopulmonares, sugerindo assim que o OSF intervêm no controle do equilíbrio hídrico de modo mais amplo e complexo do que um simples receptor para a angiotensina circulante.

Foi demonstrado também que parte dos neurônios do OSF que se projetam para o núcleo paraventricular hipotalâmico podem receber estímulos inibitórios de barorreceptores periféricos via neurônios do núcleo do tracto solitário (SHIOYA & TANAKA, 1989).

Estudos eletrofisiológicos no rato demonstraram eferências diretas do OSF aos núcleos hipotalâmicos paraventricular, supraóptico e mediano e conexões bidirecionais destas estruturas com o OSF (GUTMAN et al., 1986).

Foi aventada a hipótese do OSF exercer o papel de interface entre a A II circulante e o complexo dos circuitos nervosos que mediam a regulação das respostas à hipotensão hipovolêmica. O OSF ativando o componente parvocelular do núcleo paraventricular do hipotálamo evoca um aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca provavelmente pela ativação direta ou indireta de neurônios paraganglionares simpáticos no núcleo intermediolateral da medula toracolombar. O OSF estimulado pela A II determina a ativação do componente magnocelular dos núcleos hipotalâmicos paraventricular e supra-óptico e liberação de vasopressina, provocando em

seguida, um aumento da pressão arterial e uma diminuição da diurese. Ao contrário, a ingesta de água induzida pela ação da A II sobre o OSF pode ser realizada através de conexões distintas que envolvem o núcleo mediano. A maior rapidez de ativação das eferências do OSF que vão aos núcleos paraventricular e supraóptico, em relação com a ativação das eferências que vão ao núcleo mediano, explica a precocidade das respostas cardiovasculares em relação aos efeitos dipsogênicos em situações de hipovolemias emergenciais (GUTMAN et al., 1986).

Essas projeções eferentes de neurônios do OSF para o núcleo paraventricular hipotalâmico provocam respostas excitatórias e inibitórias sobre a atividade de neurônios secretores de vasopressina (TANAKA et al., 1985).

Outras evidências também sugerem que a relaxina, peptídeo circulatório ovariano, pode ter influências inibitórias na secreção de oxitocina por neurônios hipotalâmicos paraventriculares, através da ativação de receptores no órgão subfornicial (SUMMERLEE et al, 1987).

Na análise das bases estruturais do comportamento do rato conseqüente à sede, foram individualizadas uma série de projeções do OSF, como foi visto acima. Foram demonstradas, assim, projeções nervosas diretas com regiões do encéfalo que modulam respostas somatomotoras e funções cognitivas conexas com o comportamento motivado, especificamente, a busca e ingesta de

água (SWANSON & LIND, 1986).

Entre outras funções propostas para o OSF, porém ainda não definidas claramente e sujeitas a discussão, figura em particular, interferências com a produção de gonadotrofinas no rato (KRISCH & LEONHARDT, 1980; LIMONTA et al., 1981).

6 VASCULARIZAÇÃO DO IIIo VENTRÍCULO, HIPOTÁLAMO E OSF

6.1 Territórios arteriais do IIIo ventrículo e do hipotálamo

Os territórios arteriais do terceiro ventrículo e do hipotálamo são divididos em 2 regiões, uma superior e outra inferior (LAZORTNES et al., 1976) (Fig. 7).

A região superior é representada pelo teto do terceiro ventrículo, andar talâmico superior e posterior. Esta região é vascularizada pelas artérias coroidéias anterior e posterior (LAZORTNES et al., 1976) (Fig. 7).

A região inferior corresponde ao andar talâmico inferior, porção ventral do terceiro ventrículo e hipotálamo. Esta região é subdividida em três territórios distintos, dependendo da artéria que vai vascularizá-lo (LAZORTNES et al., 1976) (Fig. 7).

O território anterior dessa região inferior tem como limite anterior a lâmina terminal e o seu limite caudal é demarcado por

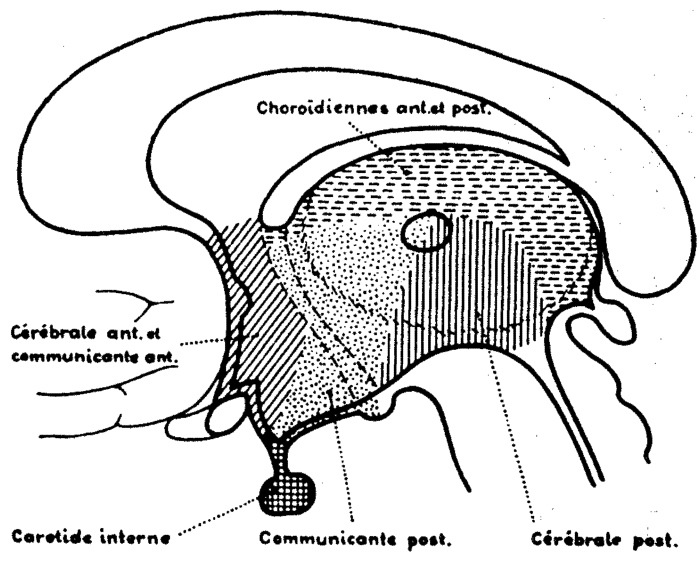


Fig. 7 - Territórios diencefálicos das artérias cerebrais. 1- Artéria carótida interna; 2- artéria comunicante posterior; 3- artéria cerebral posterior; 4- artérias cerebral anterior e comunicante anterior; 5- artérias coroidéias anterior e posterior. (LAZORTHES et al., 1976).

uma linha que, partindo do forame interventricular, margeia o bordo anterior do fórnix, chegando até o talo hipofisário. Este território é vascularizado pelas artérias cerebral anterior e comunicante anterior (LAZORTNES et al., 1976) (Fig. 7).

O território médio é limitado anteriormente pela linha descrita acima como limite caudal do território anterior e, posteriormente, pela linha que une a comissura talâmica com os corpos mamilares. Recebe o seu aporte vascular pela artéria comunicante posterior (LAZORTNES et al., 1976) (Fig. 7).

O território posterior é limitado anteriormente pela linha que une a comissura talâmica com os corpos mamilares e, posteriormente, pelo pulvinar e limite caudal do terceiro ventrículo, sendo vascularizado pela artéria cerebral posterior (LAZORTNES et al., 1976) (Fig. 7).

A artéria cerebral anterior origina-se da artéria carótida interna em sua porção intracraniana, e juntamente com a artéria comunicante anterior é responsável pela vascularização do território anterior da região inferior do terceiro ventrículo. Partindo da carótida interna, a artéria cerebral anterior faz uma curva em ângulo agudo no sentido anterior e médio, cruzando o nervo óptico anteriormente ao quiasma óptico e passando também pela fita olfatória. Quando chega à linha média, anastomosa-se com a artéria cerebral anterior do lado oposto, através da artéria comunicante anterior, e penetra na cisura inter-hemisférica. Desta porção, chamada

basal, da artéria cerebral anterior e da artéria comunicante anterior originam-se os vasos perfurantes que atingem a região diencefálica citada acima (LAZORTNES et al., 1976).

A artéria comunicante posterior é um ramo lateral que une as porções anterior e posterior do polígono de Willis, emitindo ramos diretamente para a base do diencéfalo, no seu trajeto entre as artérias carótida interna e cerebral posterior, vascularizando o território médio da região inferior do diencéfalo. Com freqüência, pode apresentar variações que envolvem hipoplasia ou agenesia em um ou em ambos os hemisférios (LAZORTNES et al., 1976).

A artéria cerebral posterior, que vasculariza o território posterior da região diencefálica inferior, origina-se da bifurcação da artéria basilar, que ocorre ao nível da fossa interpeduncular, apresentando um trajeto que é dividido em duas porções. Na porção basal ou mesencefálica, a artéria contorna o mesencéfalo, passando acima do nervo oculomotor e circunda o pedúnculo cerebral em sentido antero-posterior. Desta porção da artéria cerebral posterior partem os ramos que vascularizam a região diencefálica central. Na segunda porção, denominada hemisférica, que se inicia junto da região do tecto mesencefálico, a artéria dirige-se caudalmente, acolando-se à face inferior do lobo temporal e após descrever uma curva acentuada, penetra na cisura inter-hemisférica, vascularizando a córtex da cisura calcarina (LAZORTNES et al., 1976).

As artérias coroidéias descritas por TESTUT (1921) são divididas em três vasos, uma artéria coroidéia anterior e duas artérias coroidéias posteriores.

A artéria coroidéia anterior, ramo da carótida interna, origina-se quase ao mesmo nível que as artérias cerebrais anterior e média, descrevendo um trajeto oblíquo, em sentido posterior, junto da banda óptica. Na extremidade anterior da fenda de Bichat penetra no corno temporal do ventrículo lateral, alcançando o plexo coróide e vasculariza-o em dois terços de sua superfície. Neste trajeto, no interior dos plexos coróides, também emite ramos para a parede ventricular (TESTUT, 1921).

As artérias coroidéias posteriores são divididas em medial e lateral, e originam-se na porção mesencefálica ou retropeduncular da artéria cerebral posterior. A artéria coroidéia posterior medial, a partir da sua origem, apresenta um trajeto póstero-anterior, lateralmente à glândula pineal e, após ultrapassá-la, vasculariza os plexos coróides do terceiro ventrículo. A artéria coroidéia postero-lateral percorre um trajeto na região lateral do tecto mesencefálico (DURET, 1874), e divide-se em dois ramos, um externo que vasculariza a porção superior dos plexos coróides do ventrículo lateral e outro interno que se dirige para a tela coroidéia do terceiro ventrículo (TESTUT, 1921) (Fig. 8).

Em estudos posteriores sobre a morfologia das artérias coroidéias observou-se que a artéria coroidéia anterior emerge da caró-



Fig. 8 - Artérias coroidéias. 10- sifão carotídeo; 11- artéria basilar; 12- artéria cerebral posterior; 13- artéria coroidéia anterior; 14- artéria coroidéia póstero-medial; 15- artéria coroidéia póstero-lateral (TESTUT, 1921)

tida interna entre o óstio da comunicante posterior e da cerebral média. Logo após, cruza a banda óptica, na qual se adere em seu limite superior, e ao chegar ao corpo geniculado lateral emite vários ramos, que alcançam o plexo coróide do ventrículo lateral a partir do seu corno temporal. As artérias coroidéias posteriores são formadas por três troncos principais: anterior, médio e posterior (ABBIE, 1933; 1934).

O tronco anterior é ramo da artéria cerebral posterior, numa localização variável junto ao sulco lateral do pedúnculo cerebral. A partir de sua origem, atinge o corpo geniculado lateral, emite ramos perfurantes e curva-se em sentido lateral, penetrando no corno temporal, vascularizando os plexos coróides e tela coroidéia do terceiro ventrículo (ABBIE, 1933; 1934).

O tronco médio é composto de um ramo calibroso da artéria cerebral posterior, que logo após a sua origem contorna o corpo geniculado lateral e o pulvinar talâmico para penetrar na porção central dos plexos coróides do teto do terceiro ventrículo (ABBIE, 1933; 1934).

O tronco posterior é formado por vários ramos da artéria cerebral posterior, todos de pequeno calibre, e vasculariza as regiões anteriores dos plexos coróides e tela coroidéia do terceiro ventrículo (ABBIE, 1933; 1934).

6.2 Vascularização do OSF

6.2.1 Aporte vascular do OSF dos mamíferos

Uma característica marcante, que distingue o OSF das regiões cerebrais adjacentes e que o inclui entre os órgãos circunventriculares, é o seu abundante suprimento sanguíneo. Na maioria das espécies, as artérias penetram no OSF tanto pela sua extremidade rostral quanto caudal (DELLMANN & SIMPSON, 1979).

No estudo dos vasos responsáveis pelo aporte vascular no OSF do rato, através de injeções vasculares de gelatina com tinta da China detectou-se a presença da artéria subfornicial (SPOERRI, 1963). Este vaso, principal responsável pela vascularização do OSF do rato, é um ramo da artéria cerebral anterior, que após contornar o esplênio do corpo caloso, chega ao OSF caudalmente (DANNHEIMER, 1939; ADHAMI, 1967), através da tela coroidéia do teto do terceiro ventrículo. Antes de penetrar no OSF, a artéria subfornicial anastomosa-se com as artérias coroidéias posteriores. Esta anastomose criaria uma situação única no encéfalo, o imbricamento direto dos territórios terminais dos sistemas carotídeo e vertebral (SPOERRI, 1963) (Fig. 9).

No OSF do gato, DUVERNOY & KORITKÉ (1965) demonstraram a penetração dos vasos no OSF a partir de seus polos anterior e posterior. O pedículo anterior, ramo das artérias pré-ópticas, é o vaso mais desenvolvido e penetra no OSF pelo seu polo rostral. No polo

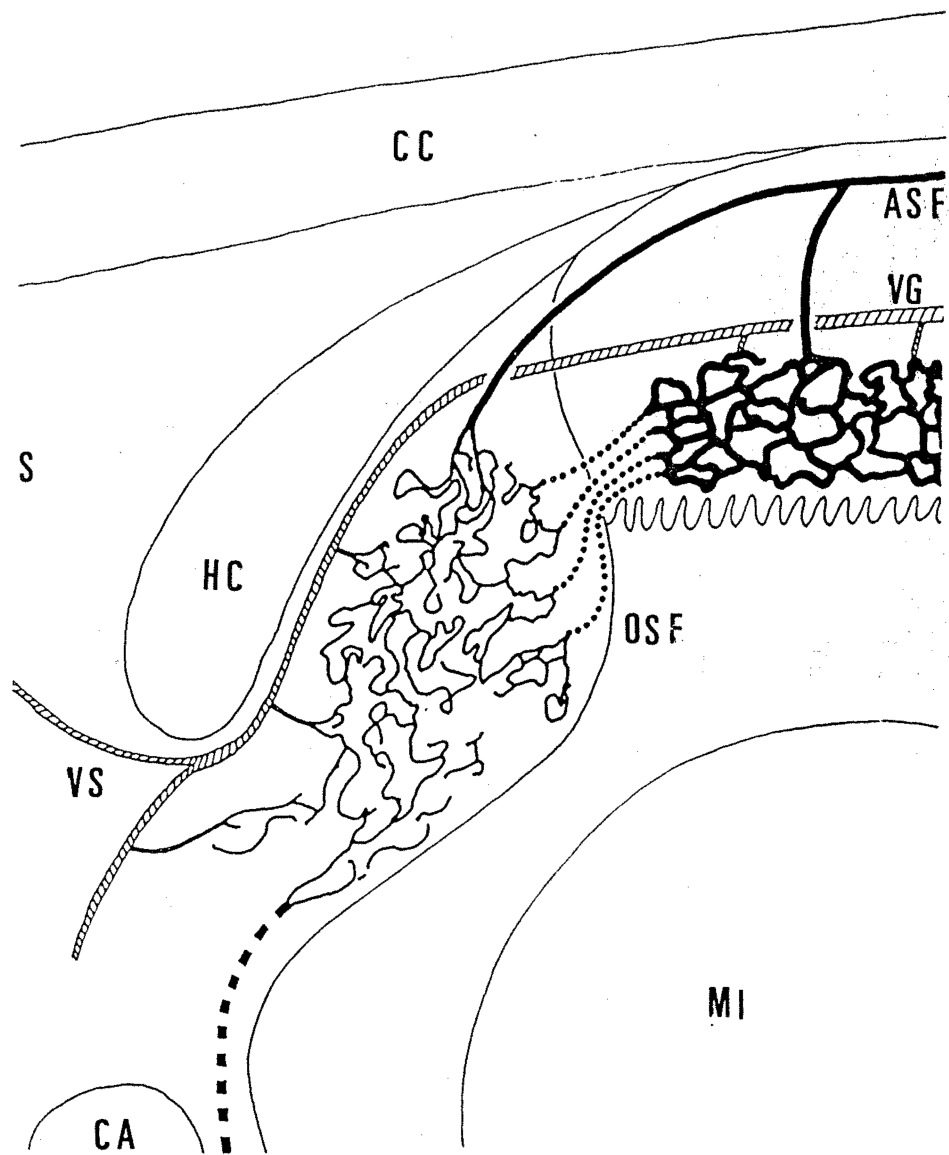


Fig. 9 - Esquema da vascularização arterial e venosa do OSF do rato (corte sagital mediano). ASF- artéria subfornicial; CA- comissura anterior; CC- corpo caloso; HC- comissura hipocampal; MI- massa intermédia; S- área septal; VG- veia cerebral magna de Galeno; VS- veia superior (SPOERRI, 1963).

posterior penetram artérias delgadas, ramos das artérias coroidéias posteriores, que cursam paralelamente ao fórnix. Os ramos destas três arterias formam uma densa rede capilar, com dilatações sinusoidais freqüentes, das quais se originam alças subependimárias (Fig. 10).

Os territórios capilares desses pedículos arteriais apresentam diferenças bem definidas. As artérias que penetram no polo posterior formam um plexo nos dois terços dorsais do órgão, originando uma rede capilar enrolada em cadeia, onde os vasos são volumosos e a trama densa. São delimitados vilos capilares que se aplanam, formando alças subependimárias. O terço ventral ou anterior do OSF possui uma rede capilar fina e frouxa. Ao penetrar no OSF as artérias são acompanhadas de tecido conjuntivo frouxo, que se expande radialmente por um breve espaço. Vasos pequenos, que se destacam do eixo arterial central, aprofundam-se na superfície ventral do OSF e delimitam áreas ovóides (CASALI et al., 1989).

As arteríolas do OSF apresentam uma ou duas camadas de células musculares lisas e células endoteliais, que formam dobras que se projetam para a luz vascular (ROHR, 1966a; SCHINKO et al., 1972). Os capilares do OSF do gato, camundongo, rato, camelo, búfalo, rã e galinha possuem fenestrações. No cão e coelho, aparentemente, são exclusivamente do tipo contínuo. Na maioria das espécies investigadas, os capilares são circundados por espaços perivasculares de tecido conjuntivo, que às vezes, são muito amplos (ANDRES, 1965a; RUDERT et al., 1966).

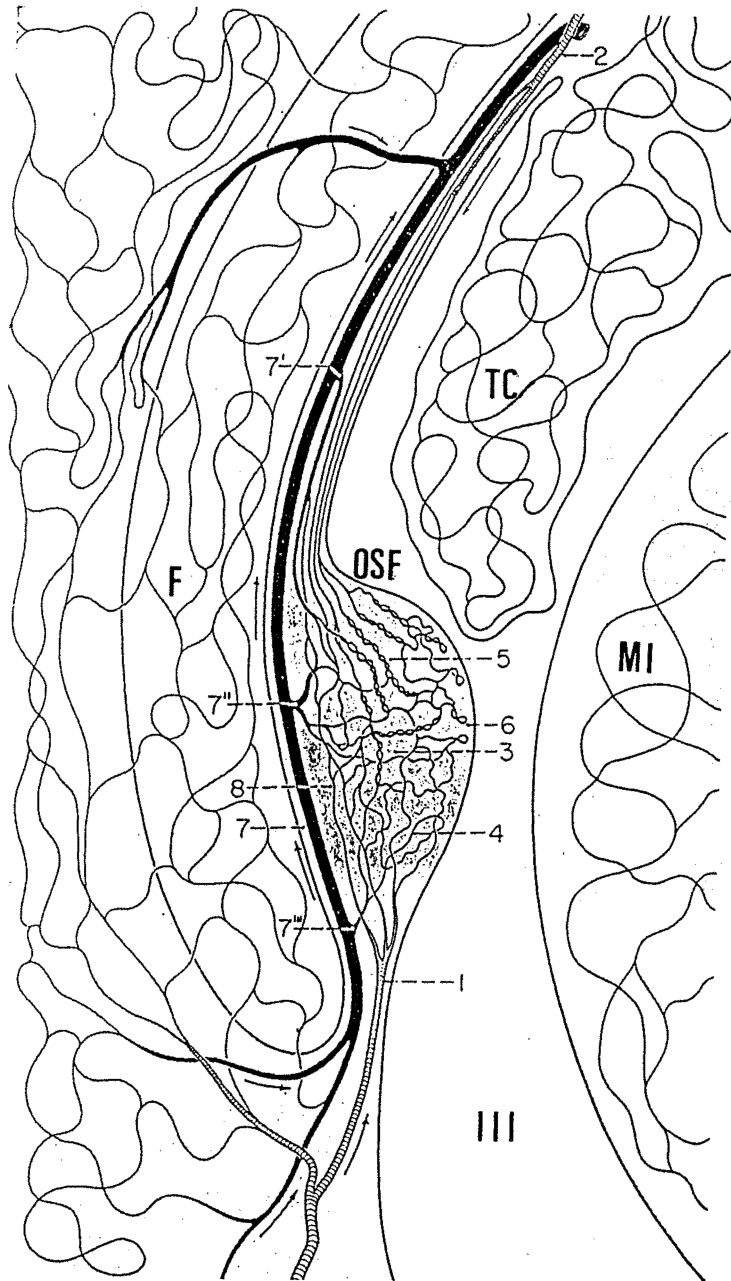


Fig. 10 - Esquema da vascularização do órgão subfornicial (OSF) do gato em corte sagital mediano. III- terceiro ventrículo; F- fórnix; MI- massa intermédia; OSF- órgão subfornicial; TC- tela coroidéia; 1- ramo volumoso de uma artéria pré-óptica dividindo-se em ramos secundários que chegam ao pólo inferior do OSF e constituem o principal aporte arterial; 2- Artéria superior destacada das artérias dos plexos coróides, dividindo-se em ramos secundários que atingem o pólo superior do órgão (as artérias superiores delgadas constituem o aporte arterial secundário); 3- rede capilar fina na porção ventral do órgão; 4- rede capilar densa na porção dorsal do órgão; 5- capilares volumosos que se enrolam, formando alças subependimárias; 6-7- veia lateral drenando a rede capilar do OSF, recebendo veias (7' - superiores; 7'' - médias; 7''' - inferiores) do órgão; 8- Anastomose artério-venosa. (Adaptado de DUVERNOY & KORITKÉ, 1965).

6.2.2 Drenagem venosa

A drenagem venosa é feita tanto por anastomoses arterio-venosas (YAMADA & HASUNUMA, 1955; HASUNUMA, 1956; DUVERNOY & KORITKÉ, 1965; AKERT, 1967; CRAMER, 1970) quanto de maneira direta por vênulas superiores, médias e inferiores que confluem para duas volumosas veias localizadas lateralmente (SPOERRI, 1963; DUVERNOY & KORITKÉ, 1964; 1965; WEINDL, 1965; DELLMANN & SIMPSON, 1976). As veias superiores, em especial, apresentam no estroma do OSF anastomoses com as artérias do pedículo dorsal (HASUNUMA, 1956; DUVERNOY & KORITKÉ, 1965; AKERT, 1967; CRAMER, 1970). As duas grandes veias laterais anastomosam-se com veias dos plexos coróides e drenam na veia cerebral magna de Galeno (COHRS & KNOBLOCH, 1936; SPOERRI, 1963; DUVERNOY & KORITKÉ, 1965; WEINDL, 1965; WATERMANN, 1965; RABL, 1966) (Figs 9 e 10).

6.2.3 Aporte vascular do OSF humano

A vascularização do OSF humano é realizada pela artérias coroidéias posteriores, ramos das artérias cerebrais posteriores (AZAMBUJA, 1983; AZAMBUJA et al., 1988). Este pedículo arterial posterior tem íntimas relações com os plexos coróides e tela coroidéia do terceiro ventrículo, mediada por um pedículo conetivo que serve de ponte para os vasos (COHRS & KNOBLOCH, 1936; SCEVOLA, 1941; LEGAIT, 1957, AZAMBUJA, 1983). Diferentemente da descrição de RABL (1966), não foi evidenciada a participação dos ramos pré-ópticos das artérias cerebral anterior e comunicante anterior, e

sua vascularização tampouco dar-se-ia através de um tronco arterial isolado como a artéria subfornicial (AZAMBUJA, 1983).

7 Angioarquitetura do OSF

Ao microscópio óptico, o estudo de cortes sagitais do OSF humano permitiu a identificação precisa de dois territórios arteriais de penetração posterior no OSF. O primeiro, caudal, após adentrar o órgão, apresenta um trajeto curvilíneo, emitindo ramos dorsais e ventrais. O segundo, anteriormente situado em relação ao descrito acima, após cursar em paralelo com a superfície ventricular, emitindo pequenos ramos junto à região central, dicotomiza-se no parênquima do OSF, perpendicularmente ao fórnix. Tais vasos descrevem um trajeto arciforme, com ramos que percorrem o órgão em seu maior diâmetro (AZAMBUJA, 1983).

Nos cortes coronais foram identificados, igualmente, dois territórios vasculares: um central, ímpar, que penetra perpendicularmente ao órgão e ramifica-se em sentido látero-lateral, e outro, bilateral, que a partir dos limites externos do OSF junto ao fórnix, penetra em seu parênquima. O território central corresponde ao ramo mais anterior, descrito nos cortes sagitais (DANNHEIMER, 1939), e o bilateral corresponde aos ramos mais posteriores (AZAMBUJA, 1983; AZAMBUJA et al., 1987). Em conclusão, o pedículo central ou anterior distribui-se na porção ventral do OSF, enquanto que os laterais ou posteriores vascularizam sua porção dorsal. Os capilares têm distribuição homogênea e apresentam, em algumas

áreas aspecto glomerular (AZAMBUJA, 1983).

No único estudo do OSF humano realizado ao microscópio eletrônico, MARK & FARMER (1984) observaram que as arteríolas do OSF podem apresentar pericitos externamente à membrana basal. Tanto as arteríolas quanto os capilares freqüentemente apresentam grandes espaços perivasculares, que são constituídos de fibras colágenas. Os astrócitos também são observados em estreita proximidade aos vasos sangüíneos. As células endoteliais dos capilares apresentam entre si tanto junções do tipo "tight-junction" (*zonulae occludentes*) como não "tight-junction" (*zonulae adhaerentes*), no mesmo vaso sangüíneo. Não foram observadas fenestrações endoteliais, o que não explicaria a ausência da barreira hematoencefálica, como ocorre no OSF de outros animais que apresentam capilares fenestrados. Os autores especulam que se poderia pensar na quebra de integridade da barreira hematoencefálica nos locais de ligação não "tight-junction". Projeções semelhantes a "línguas" foram observadas em grande número, protruindo na luz vascular, localizadas a maioria delas junto de uma junção, determinando um grande aumento da superfície luminal. Também detectaram-se vesículas cobertas de 40 a 60 nm de diâmetro saindo da parede endotelial. Essas vesículas podem ser vesículas transendoteliais, à semelhança das observadas no gato e em outros animais (MARK & FARMER, 1984).

Vários estudos histológicos caracterizaram diferentes regiões do OSF, que podem corresponder a distintas funções neuro-humorais dentro do órgão. Dentre os primeiros trabalhos realizados na mi-

croscopia óptica, foram descritas três regiões no plano sagital: rostral, central e caudal (AKERT et al., 1961; WEINDL, 1965; PHILLIPS et al., 1974; DELLMANN & SIMPSON, 1976).

As diferentes regiões do OSF foram primariamente identificadas pela presença e tipo das células endimárias, densidade capilar e a extensão dos espaços pericapilares. Assim, na região rostral visualizaram-se células endimárias cubóides, ciliadas, e poucos capilares sem espaços pericapilares. Na região central observaram-se células endimárias pavimentosas, a maioria sem cílios, um grande número de capilares e labirintos pericapilares extensos. As regiões central e caudal distinguiam-se facilmente pela presença neste limite do ponto de fixação da tela coroidéia dos plexos coróides do terceiro ventrículo no OSF. As células endimárias na região caudal eram particularmente achatadas, de formato irregular, com protruções arredondadas para a luz ventricular, e cercadas na superfície parenquimatosa justa-endimária por numerosos capilares (DELLMANN & SIMPSON, 1976).

Em estudo recente e mais aprofundado, identificou-se entre as regiões rostral e a central uma mudança na aparência vascular e endimária, a qual foi definida como uma quarta região, denominada transicional. Neste trabalho realizado no rato, observou-se que cada uma das regiões estendia-se longitudinalmente por cerca de 100 μm , possuindo uma extensão total de 400 μm (SPOSITO & GROSS, 1987) (Fig. 11).

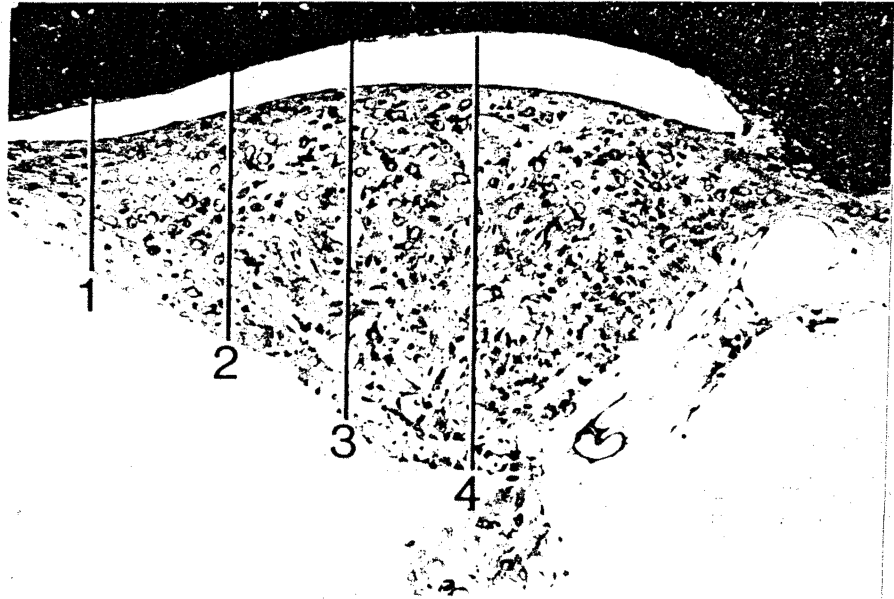


Fig. 11 - Fotomicrografia de corte sagital do OSF de rato Long-Evans, mostrando os níveis aproximados de secção para definir as quatro regiões: 1- rostral; 2- "transicional"; 3- central; 4- caudal. 160x (SPOSITO & GROSS, 1987).

Desde as primeiras observações realizadas chamou a atenção a relativamente alta concentração de capilares dentro da região central do OSF, onde também existe um grande número de neurônios e largos espaços perivasculares (ANDRES, 1965; BOUCHAUD, 1975; DELLMANN & SIMPSON, 1976), o que levou a conjectura de que existiria uma organização topográfica capilar que poderia estar relacionada com diferentes tipos de células e de funções (SPOSITO & GROSS, 1987). Também deve ser ressaltado que os capilares da região central do OSF tendem a distribuir-se mais na porção ventromedial que nas dorsolaterais (ANDRES, 1965; DELLMANN & SIMPSON, 1976). Em cortes coronais, as regiões laterais do OSF são usualmente ocupadas por grandes veias septais (SPOERRI, 1963).

Em um importante trabalho realizado no OSF do rato em diferentes espécies (Long-Evans, Brattleboro e Sprague-Dawley), SPOSITO & GROSS (1987) efetuaram cortes coronais seriados, e análise morfométrica dos mesmos, demonstrando padrões na distribuição dos capilares em cada uma das regiões do OSF. De início, excluíram de sua análise as porções laterais do OSF, permanecendo as regiões dorsais claramente definidas. Um arco de círculo foi traçado da porção central de cada corte, a partir da superfície ependimária, estendendo-se por dois terços da altura do órgão, para delimitar a zona ventromedial. A zona dorsal era representada pelo terço remanescente da altura do órgão, com a exclusão das áreas laterais ocupadas freqüentemente por vênulas, mas com discreto número de capilares. Na seqüência foram examinadas, nos cortes coronais, as variações potenciais da rede capilar do OSF, comparando as zonas

ventromedial e dorsal das regiões transicional, central e caudal. Devido ao fato da região rostral ser muito estreita e homogênea, não foi possível dividi-la em zonas, portanto foi excluída dos estudos comparativos e examinada como um todo quando necessário.

7.1 Dimensão dos capilares nas zonas ventromediais das diferentes regiões do OSF

A densidade capilar, fração de volume, comprimento e área de superfície foram significativamente maiores na zona ventromedial das regiões central e caudal do OSF, se comparadas com as regiões mais rostrais. Os capilares nas regiões central e caudal apresentaram dimensões similares e os da região rostral e transicional também o foram entre si. O diâmetro dos capilares na região rostral foi maior que os das regiões central e caudal em todos os grupos estudados (SPOSITO & GROSS, 1987).

7.2 Dimensão dos capilares nas zonas dorsais das diferentes regiões do OSF

Em geral, as dimensões dos capilares foram similares em todas as regiões do OSF. Notou-se apenas uma exceção em uma das espécies estudadas (Brattleboro), em que valores maiores foram encontrados nas regiões central e caudal (SPOSITO & GROSS, 1987).

7.3 Comparação das zonas dorsal e ventromedial

Na comparação da densidade capilar entre as zonas dorsal e ventromedial, não houve diferença na região transicional, mas foram evidenciadas grandes diferenças (40 a 93%) nas regiões central e caudal. O diâmetro capilar foi significativamente maior nas zonas dorsais das regiões central e caudal em uma das espécies analisadas (Long-Evans) (SPOSITO & GROSS, 1987).

7.4 Relações topográficas dos capilares com a citoarquitetura do OSF

A região rostral é dominada por fibras nervosas, com relativamente poucos neurônios e células gliais. Apresenta células ependimárias cubóides e ciliadas. Esta região é o local de maior passagem de fibras que entram ou saem do órgão, através da lâmina terminal (MISELIS et al., 1979; LIND et al., 1984). No centro da região rostral a densidade de pericários e neuropilo é relativamente baixa, 1.750 neurônios/mm², (DELLMANN & SIMPSON, 1976). Os capilares desta região apresentaram a menor densidade, fração de volume, extensão e área de superfície, mas também o maior diâmetro entre as regiões analisadas.

Ao microscópio eletrônico, à semelhança dos resultados de outros autores (RUDERT et al., 1966; BOUCHAUD, 1975), observou-se que a região rostral apresenta capilares sem fenestrações endoteliais ou vesículas e a lâmina basal esta firmemente aderida às

membranas plasmáticas das células endoteliais (SPOSITO & GROSS, 1987).

Foi estabelecida uma zona transicional onde identificou-se uma área de mudança na densidade e estrutura da rede capilar do OSF. No limite entre as regiões rostral e central, à medida que havia progressão em sentido rostrocaudal identificou-se um maior número de capilares, e com diâmetros menores, se comparados com a região rostral. As dimensões dos capilares eram semelhantes entre as zonas ventromedial e dorsal (Fig. 11).

Ao nível ultraestrutural observaram-se espaços pericapilares estreitos e substancialmente mais vesículas nos capilares que eram predominantemente do tipo contínuo. Portanto, é possível que esta região realmente seja uma transição, porque a região central apresentou maior densidade neuronal, maior densidade capilar e mais capilares fenestrados que a região rostral (SPOSITO & GROSS, 1987) (Fig. 11).

A região central continha a maioria dos neurônios do OSF 3.250/mm², (DELLMANN & SIMPSON, 1976). Esta região apresentou o neuropilo mais rico do órgão e as mais claras diferenças citológicas e de densidade capilar entre as zonas ventromedial e a dorsal. A densidade capilar, fração de volume, extensão e área de superfície eram maiores na zona ventromedial desta região do que na zona dorsal e também da região rostral do OSF. O diâmetro capilar foi significativamente menor na região central comparado à região ros-

tral. Nessa região, os espaços pericapilares eram particularmente amplos, as células endoteliais possuíam numerosas vesículas e fenestrações e apresentavam um predomínio de células nervosas supraependimárias (PHILLIPS et al., 1974; DELLMANN & SIMPSON, 1976). Assim, um arranjo citoarquitetônico muito mais complexo estava presente na região central, onde a densidade capilar, a fração de volume, a extensão e a área de superfície eram notavelmente altas (SPOSITO & GROSS, 1987).

A região caudal identificou-se facilmente por sua relação com a parede ventricular, coberta pela piamáter e pela fixação dos plexos coróides (AKERT et al., 1961; ANDRES, 1965; PHILLIPS et al., 1974; DELLMANN & SIMPSON, 1976). Este é o local de aporte vascular, onde os vasos sanguíneos penetram e também deixam o OSF. A densidade neuronal é muito baixa, 700 neurônios/mm², (DELLMANN & SIMPSON, 1976). Foi detectada uma alta densidade capilar, fração de volume, extensão e área de superfície, que eram quantitativamente similares àquelas da região central. Os autores encontraram uma maior densidade capilar que as descritas previamente por outros autores (DELLMANN & SIMPSON, 1976; PHILLIPS et al., 1974). Isto se justificou pelo fato de terem realizado suas medidas em regiões mais próximas da zona central. As diferenças na densidade capilar foram detectadas de maneira constante entre as zonas ventromedial e dorsal da região caudal (SPOSITO & GROSS, 1987).

Na zona ventromedial das regiões central e caudal, quatro outros achados distintos foram observados, que poderiam estar rela-

cionados com as funções neuro-humorais do OSF (SPOSITO & GROSS, 1987):

1. Um número grande de capilares localizados muito próximos das células endimárias pavimentosas ciliadas.
2. A presença de neurônios supraependimários e tanicitos foi significativa. Estas células foram relacionadas com a síntese de substratos neurosecretores, que estariam relacionados com a comunicação entre o líquido céfalo-raquidiano e neurônios profundos do OSF (WEINDL, 1965; LEONHARDT & LINDEMANN, 1973).
3. Os labirintos perivasculares eram excepcionalmente largos nessas duas regiões. Estudos anteriores haviam definido estes espaços como potenciais avenidas, facilitando o transporte entre o sangue, neurônios, sinapses e o líquido céfalo-raquidiano (ANDRES, 1965; ROHR, 1966a; RUDERT et al., 1966; KRISCH et al., 1978). Estes espaços perivasculares encontram-se no SNC somente nos órgãos circumventriculares (ROHR, 1966a; WEINDL, 1973).
4. A alta densidade capilar nas regiões central e caudal corresponde à riqueza do neuropilo adjacente. Esta constatação está em concordância com o conceito de que a vascularização e complexidade de funções estão relacionadas na maioria dos tecidos neurais (CRAIGIE, 1920; DUNNING & WOLFF, 1937; GROSS et al., 1986).

CAPITULO II. OBJETIVOS

O OSF tem sido intensamente estudado nos últimos anos, tanto em seus aspectos estruturais, quanto em relação às suas funções e interação com outras estruturas do SNC. Importantes conhecimentos foram desvendados a partir de pesquisas laboratoriais em animais de experimentação, porém a literatura mundial apresenta poucos estudos realizados no OSF humano. Devido a este fato, e pelo grande interesse dado recentemente aos estudos da vascularização do OSF, e sua interação com as células nervosas e gliais, decidimos realizar este estudo, visando esclarecer alguns aspectos da angioarquitetura do OSF humano, com ênfase na utilização de técnicas histoquímicas para fosfatase alcalina e na injeção intravascular de gelatina carminada. Baseados nesses pressupostos, definimos os seguintes objetivos:

1. Determinar o aporte vascular ao OSF humano.
2. Determinar a distribuição da vascularização do OSF humano.
3. Determinar se existe diferença na concentração dos capilares do OSF humano entre as zonas definidas no plano coronal.
4. Determinar se existe diferença na concentração dos capilares do OSF humano entre as regiões definidas no plano sagital.
5. Determinar se existe diferença na concentração dos capilares do OSF humano entre as sub-regiões.

CAPÍTULO III. MATERIAL E MÉTODOS

1 Obtenção de encéfalos

Estudaram-se 17 encéfalos humanos obtidos de necrópsias, com 8 a 12 horas de **post-mortem**. Os encéfalos utilizados foram de indivíduos que não apresentavam evidências macroscópicas de patologia neurológica. Rejeitaram-se os encéfalos com sinais de hemorragia, aumento de cavidades ventriculares e atrofia cortical, entre outras.

Para extrair os encéfalos efetuou-se uma craniotomia transversal com serra circular. Seccionaram-se as meninges, os nervos cranianos, o sifão carotídeo, as artérias vertebrais, o infundíbulo hipofisário e o tronco encefálico na transição bulbo-medular.

2 Fixação e dissecação do órgão subfornicial

Após a retirada do encéfalo da caixa craniana, este foi fixado por perfusão. Ambas as artérias carótidas e a artéria basilar foram canuladas e lavado o leito vascular com 120 ml de solução salina, por cada uma das artérias. Esta etapa foi seguida por uma perfusão de 120 ml de formol de Holt (PEARSE, 1968), por cada uma das artérias.

Para obter um bloco contendo o OSF, realizaram-se duas seções coronais dos hemisférios cerebrais, uma no limite posterior do corpo caloso e a outra ao nível dos pilares do fórnix, preservando a comissura branca anterior. O bloco assim obtido continha o

corpo caloso, o fórnix, a tela coroidéia e os plexos coróides do terceiro ventrículo, e parte do teto dos ventrículos laterais, com seus respectivos plexos coróides. O bloco de tecido contendo o OSF era então pós-fixado na mesma solução durante 24 horas, a uma temperatura de 40 C.

Após isto, efetuou-se uma nova dissecação, sendo seccionados o corpo caloso, o teto dos ventrículos laterais com os seus plexos coróides e a porção posterior do fórnix. O bloco de tecido remanescente ficou constituído pelo corpo do fórnix, plexos coróides e tela coroidéia do terceiro ventrículo, o OSF, uma pequena porção dos pilares do fórnix e os plexos coróides dos ventrículos laterais que atapetam o OSF.

3 Tratamento do tecido

Os blocos foram crioprotégidos. Para isto, foram colocados em uma solução de sacarose a 15% durante 24 horas, a 40 C, e em sequência, eram colocados em solução de sacarose a 30% à mesma temperatura, até que o tecido afundasse, o que ocorria em um período de 72 horas.

4 Obtenção de cortes histológicos

O bloco de tecido era congelado rapidamente a - 250 C na câmara do criostato (Leitz, 1720 digital). Posteriormente, o tecido foi colado no suporte com "OCT compound" (Miles R) e seccionado.

Foram realizados cortes seriados, coronais ou sagitais, com espessura de 25 μm , no criostato. Os cortes do tecido foram montados em lâminulas tratadas previamente com gelatina cromo-alúmen (MESULAM, 1982), e deixados à temperatura ambiente durante uma hora para permitir a sua aderência.

5 Detecção da atividade enzimática para fosfatase alcalina

Para visualizar a angioarquitetura do OSF foi detectada a atividade fosfatase alcalina ao nível das células endoteliais.

5.1 Considerações bioquímicas

Várias fosfatases alcalinas (FA) são conhecidas. Agem em monoésteres de ácido ortofosfórico, mas têm pouca ação em pirofosfatos, metafosfatos ou diésteres fosfóricos. Sua atividade parece depender da presença de grupos hidroxila livres da tirosina na molécula enzimática; acredita-se que atua por ligar o fosfato aos grupos hidroxila livres da tirosina ou serina em sua região ativa, formando uma "fosfato-enzima" intermediária (PEARSE, 1968).

As fosfatases alcalinas são ativadas por cátions metálicos, particularmente o magnésio, e por alguns aminoácidos. Tem sido sugerido que o metal forma uma parte essencial do centro ativo da enzima, ou que ele age como uma ligação entre a enzima e o substrato. Também se considera possível que o metal possa ativar diretamente a enzima por alterar a carga de superfície da proteína, e

portanto, seu potencial eletrocinético.

Como o seu nome indica, tem atividade na faixa alcalina de pH, entre 7,6 e 9,9, dependendo da concentração do substrato e do íon de ativação. Podem catalizar dois tipos de reações:

1. Glicerol-1-Fosfato + H₂O <-----> Glicerol + Fosfato
Inorgânico
2. Glicerol-1-Fosfato + Glicose <---> Glicerol + Glicose-6-
Fosfato

As FAs têm sido relacionadas com a manutenção da concentração intracelular de fosfato para a formação de osso e nos processos de absorção e transporte através de membranas (PEARSE, 1968).

Em homogenizados são detectadas principalmente no sobrenadante, embora existam algumas sugestões de que, sob certas condições, possam ser detectadas nas frações microsomal e nuclear do fígado do rato (PEARSE, 1968).

5.2 Considerações histoquímicas

As FAs têm sido estudadas intensivamente e muitas das regras básicas da histoquímica enzimática têm sido obtidas de estudos destas enzimas (GOMORI, 1952). Embora exista alguma discussão sobre quantas fosfatases possam existir nos tecidos, parece claro

que o termo "Fosfatase Alcalina" refere-se a uma atividade característica, que age sobre ésteres monofosfóricos otimamente em um pH alcalino, ou seja, atividade maior em pH 9,4 que 7,0.

Apresentam vantagens práticas no auxílio a diagnósticos em biópsias hepáticas humanas e no diagnóstico e prognóstico de leucemias. Ocorrem com frequência em membranas celulares onde existe transporte ativo (PEARSE, 1968).

São encontradas em abundância no endotélio dos vasos sanguíneos, nos túbulos contorcidos renais e na margem luminal do epitélio intestinal. Também utilizou-se essa característica no estudo da angioarquitetura do OSF do rato adulto, assim como no seu desenvolvimento (SCHNEIDER, 1982; FERNANDES, 1985).

5.3 Inibidores

A FA pode ser inibida se os cortes são expostos ao lugol, ácido acético ou ácido tricloroacético (BARKA & ANDERSON, 1963).

Substâncias tidas como fortes inibidores são a cistina, iodo em concentrações elevadas, arseniato de sódio e o berílio (BURSTONE, 1962). A enzima também é inibida em maior ou menor grau por vários fixadores químicos. O método de inclusão em parafina causa uma definida, porém variável, perda da atividade enzimática, que foi estimada em 75%. A elevação da temperatura acima de 37°C também leva a sua inativação (PEARSE, 1968).

Mudança de pH, acima ou abaixo do pH ótimo (9,2-9,8) interfere com o resultado, diminuindo a velocidade da reação, embora não inative a enzima completamente. Em um pH 9,2, o composto resultante é quase que absolutamente insolúvel, precipitando tão logo é produzido, mostrando um quadro que corresponde à localização exata da enzima. Em pH inferior (7,5 por exemplo), o composto é muito mais solúvel e não precipita localmente, a não ser que a velocidade da reação seja muito rápida. Falsas localizações são invariavelmente vistas com incubações em pH abaixo de 8,5 e em pH 7,5 mesmo com curtos períodos de incubação (CHAYEN et al., 1973).

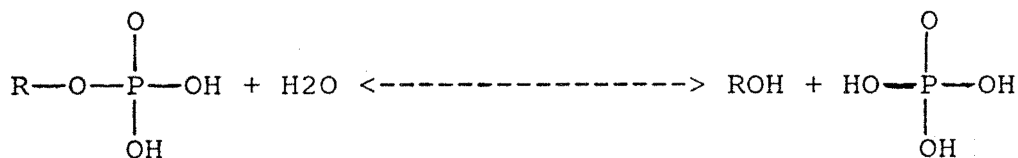
5.4 Substratos inadequados

Substratos que têm uma hidrólise mais lenta que o glicerofosfato, necessitam de períodos mais prolongados de incubação e a ocorrência de difusão e artefatos aumenta significativamente. Além disso, é difícil de se comparar resultados obtidos com o uso de diferentes substratos, pelas grandes diferenças nas velocidades de hidrólise (CHAYEN et al., 1973).

5.5 Reação enzimática

Tanto o "R" quanto o fosfato podem ser captados para dar a demonstração histoquímica de sua atividade; isto permite utilizar dois métodos distintos, um baseado na captação do fosfato e o outro na captação do "R", onde o "R" utilizado é o naftol ou algum derivado.

A reação enzimática é:



Éster monofosfórico de R

Ác. fosfórico

5.5.1 Método de Gomori

Glicerofosfato (ou qualquer fosfomonoéster que possa ser usado em pH elevado e alta concentração de cálcio) é posto em contato com o corte tecidual em pH 9,4, na presença de íons ativadores de magnésio. O fosfato liberado é captado pela alta concentração de íons cálcio do meio e precipitado como fosfato de cálcio, o qual, em pH alcalino é virtualmente insolúvel. O fosfato de cálcio é convertido também em fosfato de cobalto insolúvel através da reação com o cloreto de cobalto, e este se transforma em sulfeto de cobalto preto pela adição de sulfeto de amônio (PEARSE, 1968).

Os problemas principais deste procedimento são se a enzima ou os produtos da reação podem difundir-se dos seus locais originais. Foi provado, por interferometria, que uma vez precipitado o fosfato de cálcio, os procedimentos subseqüentes não tinham efeito em sua localização (PEARSE, 1968).

Considerável controvérsia surgiu sobre se a localização nu-

clear da atividade enzimática era por artefato, devido à difusão da enzima ou do fosfato (GOMORI, 1952; PEARSE, 1968). Certamente, parece que em cortes de tecido sem fixação prévia a enzima pode ser perdida dos tecidos para o meio de incubação e dar origem a artefatos, mas a enzima é imobilizada por uma concentração suficiente de íons cálcio no meio de incubação (CHAYEN et al, 1973). A concentração de cálcio necessária para esta imobilização não parece inibir a atividade da enzima, como tem sido sugerido por alguns autores. Devido a alteração que a inclusão em parafina pode produzir, com perda importante da atividade enzimática, recomenda-se enfaticamente o uso de cortes não fixados. O pH final resultante deste meio é 9,4 e a atividade enzimática é visualizada como um precipitado preto de sulfeto de cobalto (PEARSE, 1968).

5.5.2 Método de Burstone

Neste procedimento o substrato é o "R" (Naftol) do éster monofosfórico que é captado, por ligação simultânea com um sal de diazônio. Uma das vantagens desta técnica sobre o glicerofosfato de sódio deve-se ao fato de que a reação primária de captura e a reação de coloração se confundem. O naftol posto em liberdade é precipitado, após união com o sal diazônica presente no meio de incubação, originando um composto corado. Também se deve acrescentar que a reação desenvolve-se à temperatura ambiente e que ela é muito mais rápida que a do glicerofosfato (GABE, 1968).

As razões do bom resultado da reação são representadas pela

solubilidade do substrato, a insolubilidade do naftol formado por ocasião da reação primária, a rapidez da união e a substantividade do produto final da reação (GABE, 1968). Devido ao fato de que os fosfatos de Naftol AS são pouco solúveis em água, os substratos devem ser preparados a partir de diluição em N.N. dimetilformamida. Um precipitado preto-púrpura demonstra a atividade da Fosfatase Alcalina. O pH final do meio é 9,2 (PEARSE, 1968).

5.5.3 Considerações práticas

O meio de incubação no método de Gomori era obtido com 5 a 10 ml de Beta-glicerofosfato de sódio (SigmaR) a 3% (0,1 M), 20 a 25 ml de cloreto de cálcio (MerckR) a 2% (0,2 M), 10 gotas de sulfato de magnésio (MerckR) a 10% (0,5 M) e de 500 mg a 1 g de barbital sódico (MerckR). Esta mistura recebia água destilada deionizada até ser completado o volume de 50 ml, e era tornada homogênea através do uso de agitador magnético. Se o meio de incubação ficasse turvo, decorrente da presença de fosfatos livres na solução, procedia-se à filtração. A seguir, os cortes do tecido eram incubados nesse meio durante 3 horas a 37°C. Cumprida essa etapa, os cortes eram lavados com água destilada deionizada durante 1 minuto e após eram imersos em solução de cloreto de cobalto (MerckR) a 2% por 5 minutos. Na seqüência, procedia-se a nova lavagem em água destilada deionizada por 1 a 2 minutos e imersão em sulfeto de amônio (MerckR) a 5% por 2 a 3 minutos. Seguia-se lavagem com água destilada deionizada durante 5 minutos e montagem em lâmina com meio de Kaiser (gelatina glicerinada) e lamínula.

Para o método de **Burstone**, obteve-se o meio de incubação com 10 mg de fosfato de sódio Naftol AS-MX (SigmaR), diluídos em 0,5 ml de N. N. dimetilformamida (SigmaR). A esta mistura eram agregados 50 ml de tampão TRIS (SigmaR) pH 8,3 (0,1 M) e 10 mg de Fast Blue RR (SigmaR). Procedia-se à filtração da solução e os cortes do tecido eram incubados durante 45 minutos à temperatura ambiente. Após essa fase, lavaram-se os cortes em água destilada deionizada durante 1 minuto e foram imersos em formol de Baker por 30 minutos. Depois desta etapa eram novamente lavados com água destilada deionizada e feita montagem em lâmina com meio de Kaiser e lamínula.

6 Hematoxilina-Eosina

Paralelamente à realização do método histoquímico para fosfatase alcalina pelas técnicas de Gomori ou de Burstone, em alguns dos órgãos estudados foram separados cortes coronais seqüenciais (um em cada quatro), que foram submetidos à técnica histológica de hematoxilina-eosina (ROMEIS, 1928), visando demonstrar prioritariamente o componente celular, para estabelecer sua correlação com a distribuição vascular.

7 Injeção de gelatina carminada

Em alguns dos encéfalos estudados procedeu-se à injeção de gelatina carminada intravascular, logo após a lavagem com solução salina e perfusão com formol de Holt, através do cateterismo das

artérias carótidas internas e artéria basilar.

Inicialmente foi injetado solução salina à temperatura de 40 oC, em volume de 100 ml em cada uma das artérias carótidas internas e na artéria basilar e, em seguida, utilizada uma solução de gelatina carminada na temperatura de 40oC (DA COSTA & CHAVES, 1943), que era injetada de forma a manter-se uma pressão controlada, não excedendo 200 mm Hg. O volume de gelatina carminada injetado era de cerca de 10 ml nas artérias carótidas internas e de 20 ml na artéria basilar.

Antes de proceder-se à dissecação do bloco de tecido contendo o OSF, o órgão era mantido em um "freezer" por um período de 4 horas para que houvesse solidificação da gelatina no interior dos vasos. Posteriormente, dissecava-se o bloco de tecido contendo o OSF e o mesmo permanecia em formol de Holt por 24 horas. O preparo do tecido e a realização dos cortes eram feitos da maneira usual, descrita anteriormente.

Em alguns órgãos, após a injeção de gelatina carminada, realizou-se a técnica para fosfatase alcalina, pelos métodos de Bursstone ou de Gomori.

8 Análise dos cortes

Os cortes foram projetados e medidos numa tela através de um microscópio de projeção Jena HBO-200R. Todas as imagens foram ob-

tidas com a mesma ampliação, sendo mantidas as proporções de todas as estruturas. Os vasos sanguíneos foram nitidamente visualizados devido à coloração diferencial obtida nos cortes tratados com as técnicas histoquímicas de Gomori ou de Burstone.

O OSF humano foi dividido em três regiões no plano sagital: rostral, central e caudal, levando-se em conta o revestimento ependimário, fixação dos plexos coróides e tela coroidéia do terceiro ventrículo no OSF e a concentração vascular. Baseados nesses critérios, a região rostral estende-se da extremidade anterior do órgão até o ponto onde inicia a inserção dos plexos coróides e tela coroidéia do terceiro ventrículo no OSF. A região central parte desse plano até o ponto médio dessa metade posterior do OSF, e a região caudal compreende o restante do órgão até o seu extremo posterior (Fig. 12).

No plano coronal foram definidas duas zonas, dorsolateral e ventromedial. A partir do ponto médio da superfície inferior do OSF, revestida por epêndima ou pela tela coroidéia e plexos coróides, tomavam-se os dois terços mediais dessa superfície inferior do OSF e era traçado um arco de círculo com o centro nesse ponto médio, delimitando uma região ventral e central, denominada ventromedial, e outra dorsal e lateral, chamada dorsolateral.

Procedeu-se à contagem dos capilares (vasos com diâmetro inferior a 10 μ m), realizando-se um estudo comparativo entre as zonas ventromedial e dorsolateral das regiões rostral, central e

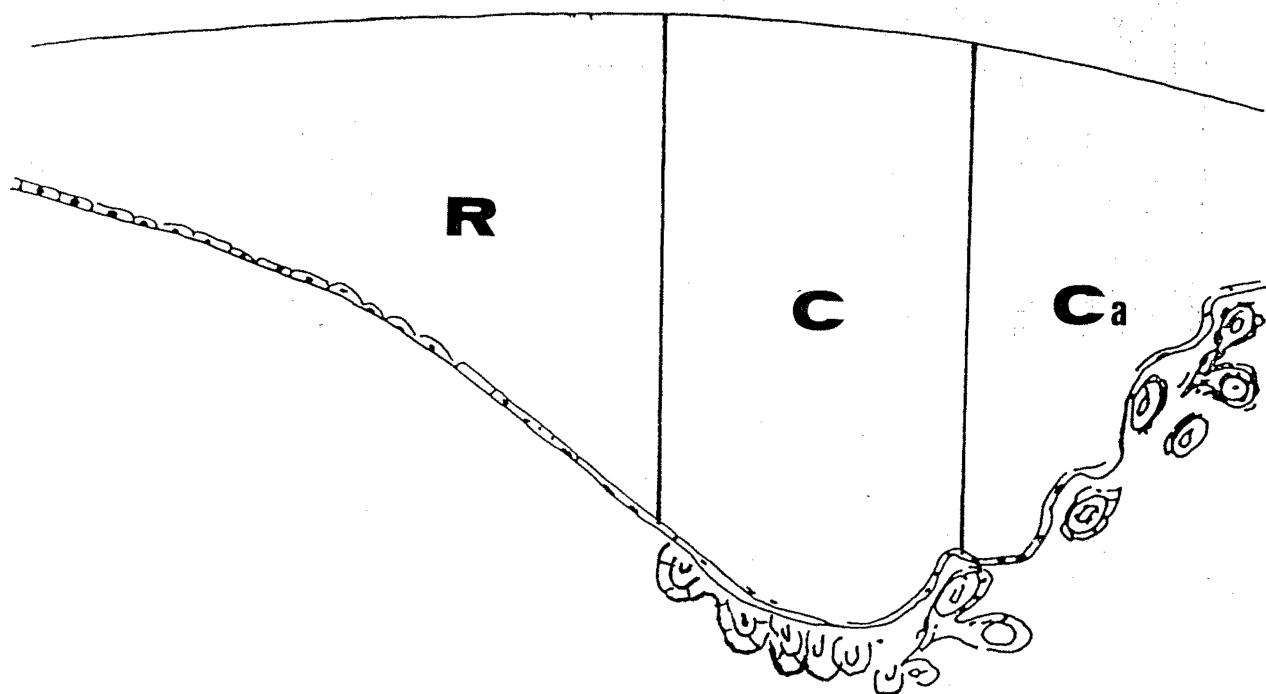


Fig. 12 - Representação esquemática do OSF humano em corte sagital mediano, com as linhas de demarcação dos limites entre as regiões no plano coronal. C- região central; Ca- região caudal; R- região rostral.

caudal, nos cortes coronais. Nessa análise foram estudados três cortes representativos de cada região, não consecutivos, em onze órgãos. Foi excluída dessa análise a região rostral anterior, visto ser ocupada predominantemente por fibras nervosas, com escassos vasos e células, não permitindo a definição das zonas ventromedial e dorsolateral.

Nos cortes sagitais descreveram-se a localização, o trajeto e o aspecto dos vasos.

9 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado nesse trabalho, face a necessidade de avaliação da influência da localização anatômica na distribuição capilar do OSF humano, foi a análise da variância. Esta se caracteriza por dividir a variação que se observa nos dados experimentais em partes distintas, cada qual atribuível a uma fonte, causa ou fator conhecidos (MATTSON, 1981).

O experimento foi estruturado dividindo-se as unidades experimentais em onze grupos, cada qual representando um fator (capilares do OSF) a ser estudado isoladamente e em conjunto com os demais. Dessa maneira é possível determinar a magnitude relativa da variação resultante de diferentes localizações anatômicas do OSF, e assinalar se uma parte particular da variação é maior do que se deve esperar, pela hipótese de nulidade (MATTSON, 1981).

Nos onze OSF estudados foram realizados 9 secções coronais, 3 em cada região (rostral, central e caudal), que foram divididas cada uma em zonas dorsolateral e ventromedial, totalizando 198 sub-cortes a serem analisados, individual e conjuntamente. Estes 198 sub-cortes foram distribuídos em 18 grupos, para permitir o estudo dos fatores abaixo discriminados, bem como sua interação:

1. Distribuição capilar nas zonas dorsolateral e ventromedial do OSF.
2. Distribuição capilar nas regiões rostral, central e caudal do OSF.
3. A interação da distribuição capilar nas regiões e zonas do OSF.
4. A interação da distribuição capilar nas sub-regiões e zonas do OSF.

Para atender às exigências do delineamento utilizado, fatores e interação, os dezoito grupos ficaram assim distribuídos:

Quanto à zona:

1. Dorsolateral.
2. Ventromedial.

Quanto à região:

1. Rostral anterior.
2. Rostral media.
3. Rostral posterior.
4. Central anterior.
5. Central media.
6. Central posterior.
7. Caudal anterior.
8. Caudal media.
9. Caudal posterior.

A tabela I resume a distribuição descrita.

Para testar a hipótese de que a distribuição capilar não é homogênea no OSF, em cada um dos 9 cortes (sub-regiões), com suas duas zonas, de todos os 11 OSF estudados, foi feita a contagem dos capilares.

9.1 Tabulação dos dados

Os dados resultantes da avaliação do número de capilares, nos cortes estudados, foram tabulados e apresentados na Tabela II. Em cada grupo de investigação, as linhas horizontais referem-se aos dados relacionados às zonas (dorsolateral e ventromedial); as colunas referem-se aos dados relacionados às regiões (rostral, central e caudal) e sub-regiões. Para cada linha e coluna da casela

Tabela I

Distribuição das 198 unidades experimentais por zona e sub-região.

	Rostral			Central			Caudal		
	A	M	P	A	M	P	A	M	P
DL	n=11	n=11	n=11	n=11	n=11	n=11	n=11	n=11	n=11
VM	n=11	n=11	n=11	n=11	n=11	n=11	n=11	n=11	n=11
Totais	n=22	n=22	n=22	n=22	n=22	n=22	n=22	n=22	n=22

n= número de unidades experimentais na casela.

A - Anterior.

M - Média.

P - Posterior.

DL - Dorsolateral.

VM - Ventromedial.

foi calculada a média, o desvio padrão e o erro padrão.

A tabulação dos dados e os cálculos necessários para análise dos resultados, foram realizados mediante a utilização do programa SPSS PC, versão 3.1 (NORUSIS, 1986), em equipamento de processamento de dados contratado para este fim.

9.2 Comparação entre médias das diferentes condições experimentais

Na comparação múltipla de médias, os cálculos seguem a análise da variância, 9×2 , com um mesmo número de unidades experimentais nas caselas. Identificada a variação entre indivíduos pode ela ser separada da variação total, com a vantagem de se poder discriminar mais facilmente as eventuais diferenças entre os efeitos devidos às condições da investigação. Como o experimento foi delineado com mais de um grau de liberdade para cada condição experimental, as diferenças entre médias, quando apontadas pelo teste F, foram detectadas pelo teste de Student-Newman-Keuls (MATTSON, 1981).

9.3 Nível de significância

O nível de significância adotado nas decisões dos testes de hipóteses nesse trabalho foi de 0,05 (MATTSON, 1981).

10 Obtenção de fotomicrografias

Os cortes obtidos foram levados ao microscópio óptico e visualizados sob diferentes aumentos. Cortes coronais representativos das regiões rostral, central e caudal do OSF, e cortes sagittais medianos e paramedianos, foram a seguir fotografados em fotomicroscópio Olympus BH2, utilizando-se filme preto e branco (Kodak, Panatomic X, 32 ASA e Kodak, T MAX, 100 ASA) e colorido (Kodak, Kodacolor Gold, 100 ASA).

CAPITULO IV. RESULTADOS

Nos diferentes tipos de cortes, sagitais e coronais, do OSF humano processados com os métodos para determinar atividade fosfatase alcalina, observou-se positividade intensa nas células endoteliais vasculares e no tecido conjuntivo perivascular. Esta atividade enzimática foi detectada nos diferentes tipos de vasos do órgão. Esses vasos apresentaram uma distribuição variada através das diferentes áreas do OSF humano.

1 Zonas e regiões do OSF humano

De acordo com trabalhos prévios sobre a morfologia do OSF humano, realizados em nosso laboratório (AZAMBUJA, 1983; ACHAVAL et al., 1987; AZAMBUJA et.al., 1988), observou-se a presença de uma diferenciação citológica no órgão. Esta diferenciação dá-se pela variação na distribuição, número e tipos de neurônios, e pelas estruturas que atapetam o OSF, tais como as células endimárias e a tela coroidéa do III ventrículo. Soma-se a isto, a variação na distribuição dos vasos e na dimensão dos espaços perivasculares, que apresenta padrões característicos nos diferentes locais do OSF.

Baseados nesses dados, pode-se dividir o OSF humano no plano sagital nas regiões rostral, central e caudal. A região rostral estende-se da extremidade anterior do órgão até o ponto em que o revestimento endimário é substituído pela tela coroidéa, e se caracteriza por apresentar células endimárias, um grande contingente de fibras nervosas e escassos neurônios na sua porção mais

anterior, aumentando o número em sentido rostrocaudal. A região central do OSF humano inicia-se onde o revestimento endodimário é substituído pela tela coroidéia e plexos coróides, sendo o local onde se observa o maior número de células nervosas. Na região caudal existe uma diminuição muito marcada dos elementos neuronais. Esta região caracteriza-se por ser o local onde penetram os vasos do OSF humano (Fig. 12).

Os elementos que tomam parte na constituição do OSF também apresentam uma variação dorsoventral, que é mais evidente quando observados em cortes coronais. Assim, nos cortes coronais, pode-se identificar duas zonas, uma dorsolateral e outra ventromedial, predominando as células nervosas nesta última. Para delimitar essas zonas utilizou-se uma metodologia semelhante à descrita por SPOSITO & GROSS (1987), diferindo apenas no fato de que esses autores desprezaram de sua análise as porções laterais da zona dorsolateral, enquanto de nossa parte preferimos considerá-la em sua totalidade. Com exceção apenas da extremidade anterior da região rostral e extremidade posterior da região caudal, as zonas ventromedial e dorsolateral eram claramente distinguíveis.

A zona dorsolateral na sua porção dorsal apresentou pequeno número de células e um grande contingente de fibras nervosas, principalmente junto do seu pólo rostral, visto ser importante local de trânsito de vias aferentes e eferentes do OSF. Esta porção dorsal era muito estreita, correspondendo apenas a cerca

de um terço a um quarto da altura total do OSF, sendo visualizada como uma estreita faixa rarefeita de células. Em sua porção lateral igualmente se observou um diminuto contingente celular, embora em muitos dos órgãos examinados apresentasse uma área de superfície maior que na porção dorsal (Figs 13 e 14).

A zona ventromedial revelou uma grande concentração celular, com muitos neurônios e células gliais. Uma característica freqüente, observada nessa zona, foi a estreita proximidade entre células e vasos sanguíneos, existindo entre ambos espaços perivascularres conjuntivos de extensão variável ao longo do OSF (Fig. 13).

2 Aporte vascular ao OSF humano

O aporte vascular ao OSF humano é dado por dois troncos vasculares, ramos das artérias coroidéias posteriores. Um tronco vascular posterior, que penetra pela região caudal após percorrer a tela coroidéia do III ventrículo, e outro tronco vascular, mais rostral, que depois de passar ao longo da tela coroidéia, penetra no OSF em sua região central. Ambos os troncos, em seu percurso fora do OSF emitem ramos arteriolares curtos que entram diretamente no OSF.

Não se detectou nenhum vaso penetrando no OSF a partir do fórnix ou pela região rostral do órgão.

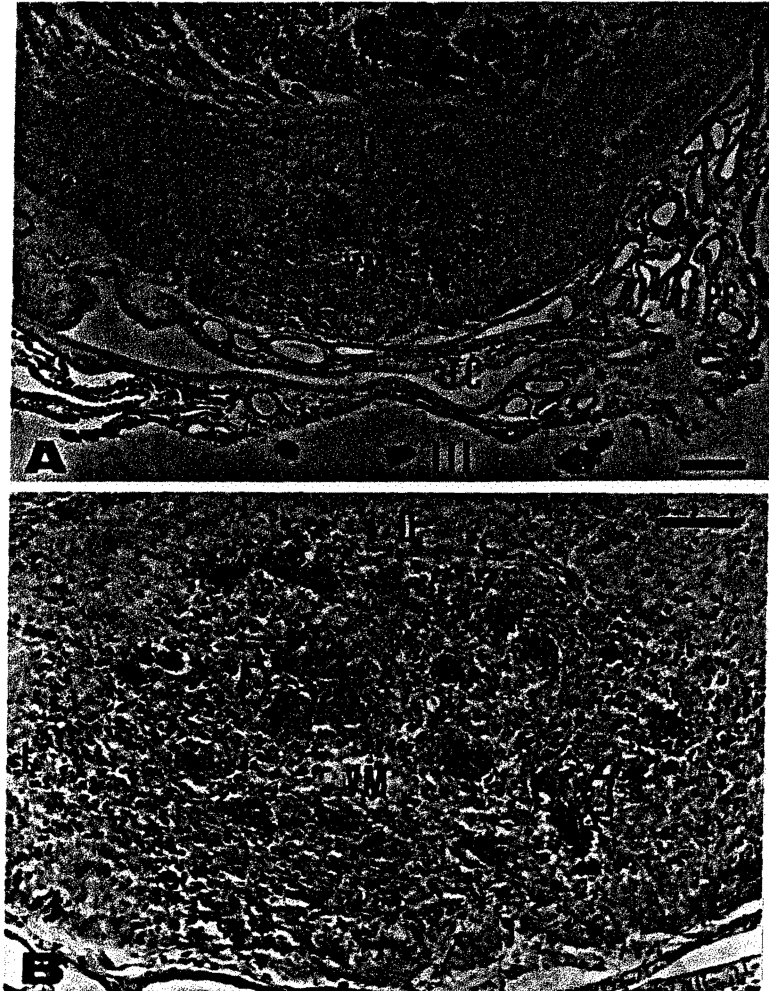


Fig. 13 - Fotomicrografias de cortes coronais da região central do OSF humano. A. D- porção dorsal da zona dorsolateral; L- porção lateral da zona dorsolateral; VM- zona ventromedial; PC- plexo coróide; TC- tela coroidéia; F- fórnix; III- terceiro ventrículo; H.E. Barra de calibração = 200 μ m. B. Detalhe magnificado da fotomicrografia anterior; D- porção dorsal da zona dorsolateral; L- porção lateral da zona dorsolateral; VM- zona ventromedial; glomérulos (setas vazadas); arteríolas (setas). H.E. Barra de calibração = 100 μ m.

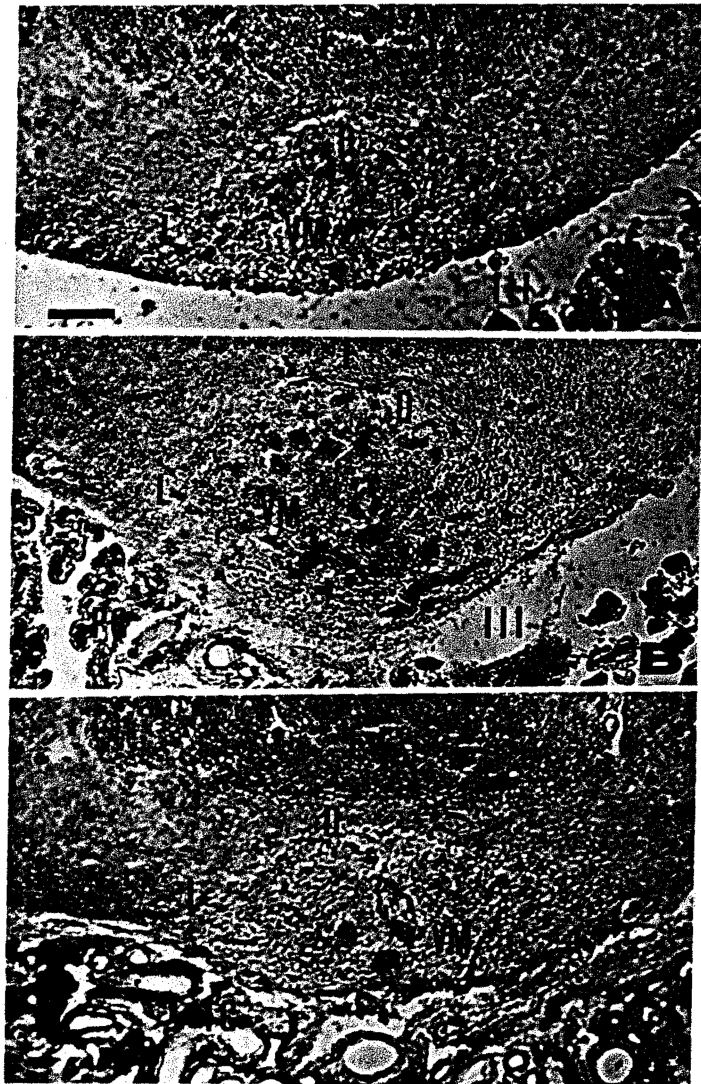


Fig. 14 - Fotomicrografias de cortes coronais do OSF humano. A- região rostral; B- região central; C- região caudal. D- porção dorsal da zona dorsolateral; L- porção lateral da zona dorsolateral; VM- zona ventromedial; F- fórnix; PC- plexo coróide; TC- tela coroidéia; III- terceiro ventrículo. Técnica de Gomori. Barra de calibração = 200 μ m.

3 Angioarquitetura do OSF humano

Nas porções mais anteriores da região rostral, por suas pequenas dimensões, homogeneidade celular, grande contingente de fibras e rarefação vascular, havia impossibilidade de se proceder à divisão em zonas e determinar o número de capilares (diâmetro menor que 10 μm), e portanto, essa região rostral anterior foi excluída da análise estatística realizada.

Após o processamento do tecido, realizado pelos métodos de Gomori e de Burstone, e com injeção de gelatina carminada e/ou H.E. em alguns casos, onze OSFs humanos foram submetidos a cortes coronais com espessura de 25 μm , ao longo de toda a sua extensão. Foram selecionados três cortes representativos de cada região, não consecutivos, perfazendo nove cortes por órgão. Em cada corte foi realizada a divisão em zonas dorsolateral e ventromedial e feita a observação e a contagem dos capilares em cada zona (Tabela II).

Detectou-se que, à medida que ocorria progressão na visualização em sentido rostrocaudal, havia um aumento gradativo no número de capilares da zona ventromedial, atingindo um valor máximo na região central do OSF e diminuindo abruptamente na região caudal. Na zona dorsolateral, a progressão em sentido rostrocaudal igualmente revelou um aumento no número de capilares na região central, porém não tão pronunciado quanto na zona ventromedial, e diminuição na região caudal (Fig. 14).

Tabela II

Número de capilares observado por zona e por sub-região.

		Rostral			Central			Caudal		
		A	M	P	A	M	P	A	M	P
OSF 1	DL	18	22	18	20	19	14	17	14	13
	VM	49	46	51	45	38	40	28	14	13
OSF 2	DL	15	14	14	17	23	13	12	11	7
	VM	29	36	42	46	51	49	27	31	15
OSF 3	DL	12	13	12	16	14	17	15	12	11
	VM	28	23	26	28	33	26	25	29	18
OSF 4	DL	18	16	19	20	28	29	18	16	10
	VM	27	25	38	42	54	61	32	43	10
OSF 5	DL	9	8	10	18	13	15	8	10	9
	VM	16	10	25	49	47	45	18	16	9
OSF 6	DL	14	11	13	25	21	19	13	19	12
	VM	20	36	43	47	42	40	37	41	28
OSF 7	DL	10	13	12	29	19	19	18	22	10
	VM	30	32	31	44	49	59	42	42	27
OSF 8	DL	10	8	12	18	22	11	14	12	14
	VM	29	29	44	43	53	40	20	23	19
OSF 9	DL	5	9	12	12	15	10	11	10	7
	VM	36	34	29	41	36	49	22	26	12
OSF 10	DL	21	23	20	28	25	29	24	12	16
	VM	32	44	47	64	56	56	38	30	28
OSF 11	DL	19	22	23	26	22	23	17	12	11
	VM	34	43	47	46	40	54	31	21	24

A - Anterior.

M - Média.

P - Posterior.

OSF - Órgão subfornicial.

DL - Dorsolateral.

VM - Ventromedial.

Na região rostral, os vasos, na sua imensa maioria capilares, apresentavam-se esparsos, com predomínio da sua orientação no sentido rostrocaudal, tanto na zona ventromedial quanto na dorsolateral (fig. 14,A). Os espaços pericapilares eram de pequenas dimensões e praticamente não foram observados capilares subependimários. Próximo da região central, na zona ventromedial, conjuntamente com um número maior de capilares, iniciou a observar-se a tendência a se localizarem em agrupamentos, formando estruturas semelhantes a novelos ou "glomérulos". Frequentemente estes novelos apresentavam uma arteríola central com diâmetro entre 15 e 20 μm , a partir da qual os capilares irradiavam-se, por distâncias variáveis, com trajeto tortuoso e irregular. Células nervosas e neurogliais eram observadas em estreita proximidade com esses capilares.

Em toda a extensão da zona dorsolateral, embora ocorresse um aumento no número de vasos na região central, as arteríolas foram visualizadas apenas de maneira ocasional, e os capilares apresentaram uma distribuição difusa, com orientação variável.

Na região central os "glomérulos" eram a característica mais marcante, sendo observados vários em cada corte. Estes agrupamentos capilares geralmente se colocavam ao redor de arteríolas com diâmetro entre 15 e 20 μm , sendo que frequentemente observou-se muitos destes capilares originando-se dessas arteríolas e formando uma rede vascular mais densa e expandindo-se a uma distância maior em relação à região rostral. Esses capilares, mais extensos,

igualmente apresentavam-se bastante tortuosos e irregulares. Havia uma tendência à confluência desses novelos vasculares, que em muitos dos cortes observados praticamente ocupavam toda a superfície dessa zona ventromedial (Figs 13,B e 15,A).

Os espaços perivasculares assumiam grandes dimensões, expandindo-se ao longo dos capilares, determinando um aspecto de labirinto. Estes espaços estavam rodeados de um grande número de células nervosas e gliais (Figs 15,A e 16). Em contrapartida, na zona dorsolateral dessa região central, não foram detectados novelos e os espaços perivasculares eram pequenos, com poucas células na sua vizinhança, estabelecendo um contraste facilmente notado (Fig. 15,B)

Nestas secções coronais da região central visualizaram-se, com freqüência, cortes transversais de duas arteríolas no limite entre as zonas ventromedial e dorsolateral, paralelas entre si, uma à direita e outra à esquerda, com diâmetro entre 20 e 30 μ m, e outra em posição mediana na região ventromedial. Estas três arteríolas, maiores e mais evidentes que as demais, formavam entre si a figura de um triângulo (Fig. 17,B). Estas arteríolas, facilmente distinguidas nos casos em que foi feita injeção de gelatina carminada, previamente aos métodos de Gomori ou de Burstone, apresentaram também outros padrões de distribuição. Outra forma de apresentação freqüente era observar-se na zona ventromedial duas arteríolas, que se localizavam lateralmente, e uma terceira, no limite dorsoventral, em situação mediana, também formando um triângulo

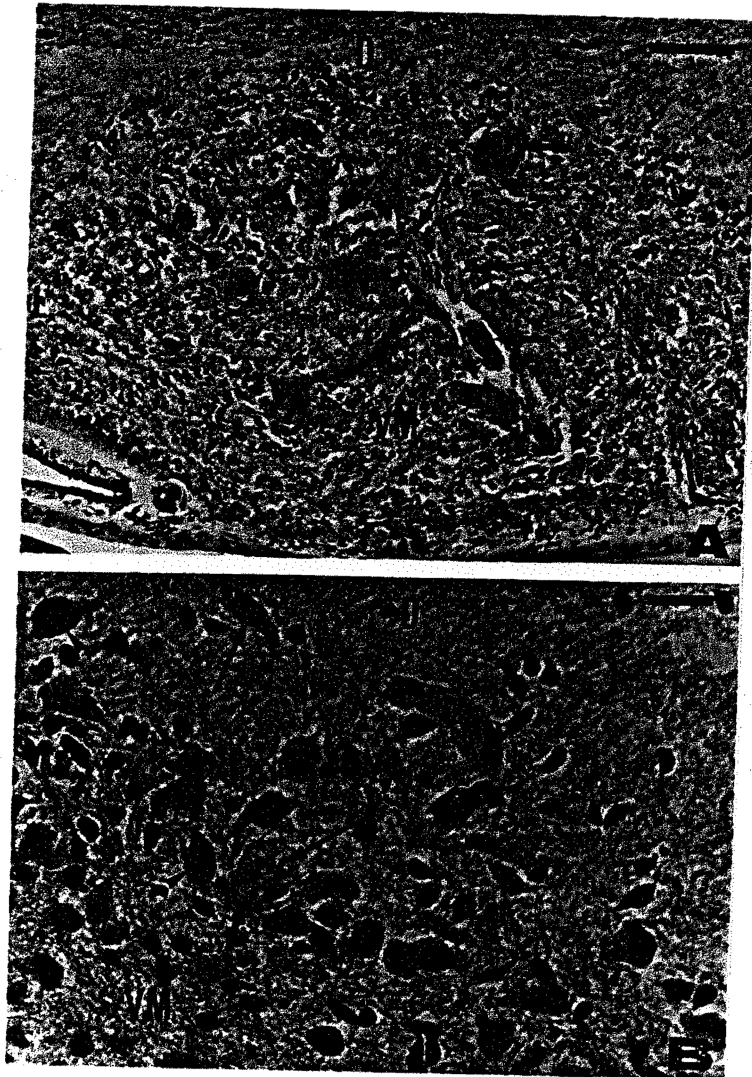


Fig. 15 - Fotomicrografias de cortes coronais da região central do OSF humano. A. VM- zona ventromedial; D- porção dorsal da zona dorsolateral; L- porção lateral da zona dorsolateral; arteríolas- (setas largas); espaços perivasculares (setas estreitas). H.E. com injeção intravascular de gelatina carminada. Barra de calibração = 100 μ m. B. Detalhe da transição entre as zonas ventromedial e dorsolateral. VM- zona ventromedial; D- porção dorsal da zona dorsolateral; arteríola (seta larga); diferentes espaços perivasculares (setas estreitas); neurônios (pontas de setas). H.E. com injeção intravascular de gelatina carminada. Barra de calibração = 20 μ m.

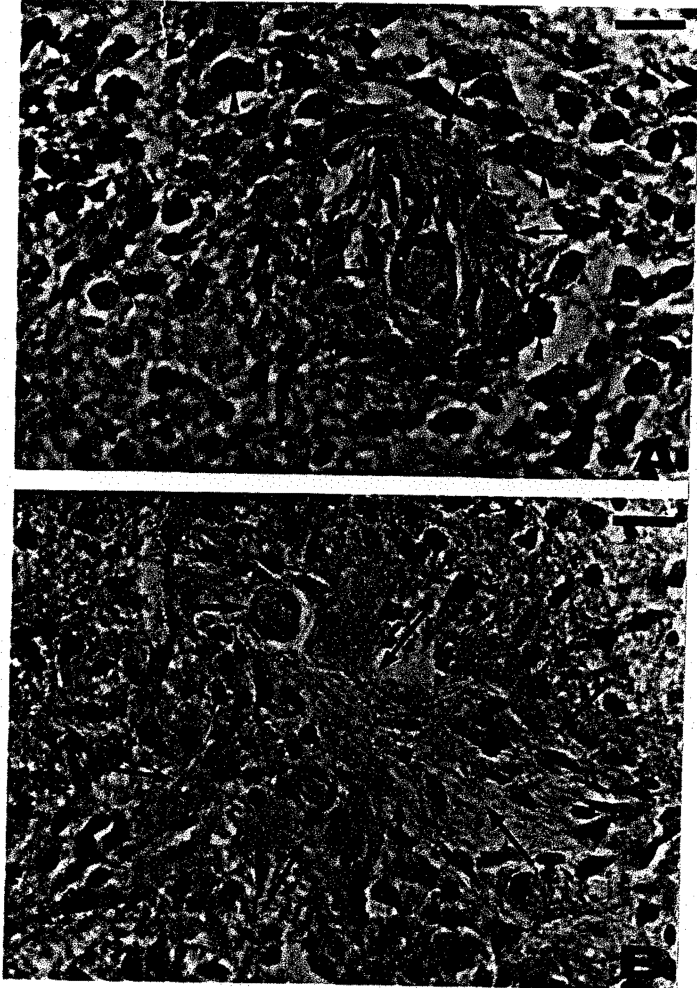


Fig. 16 - Fotomicrografias de cortes coronais da região central do OSF humano. A,B. Arteriolas (setas largas); espaços perivascu- lares (setas estreitas); neurônios (pontas de setas). H.E. com in- jeção intravascular de gelatina carminada. Barra de calibração = 20 μ m.

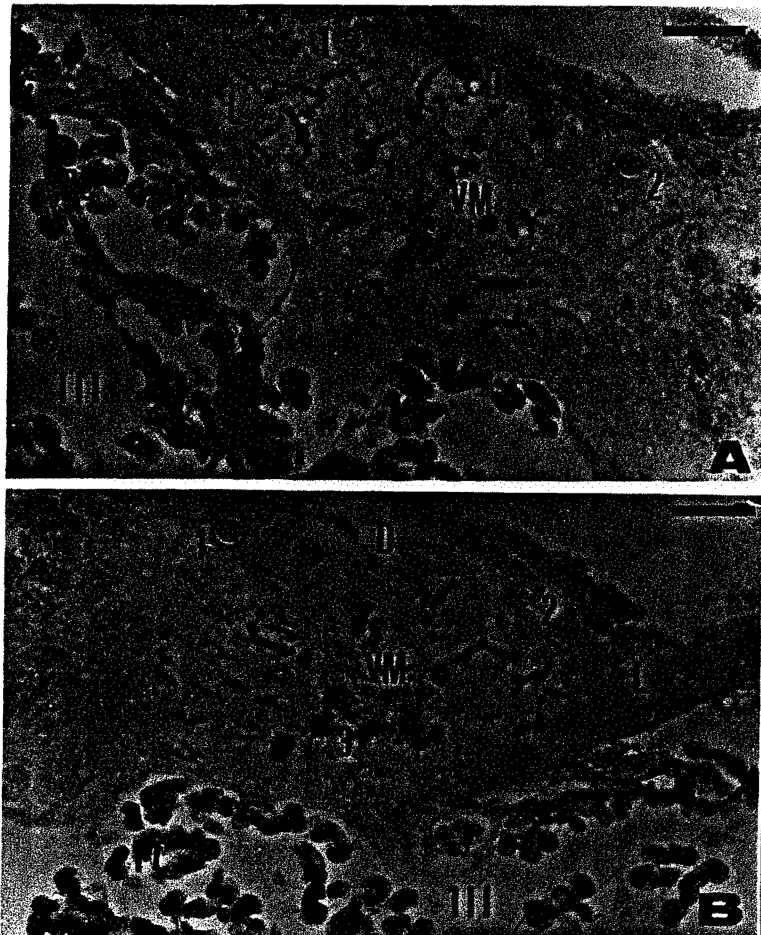


Fig. 17 - Fotomicrografias de cortes coronais da região central do OSF humano. Padrões de distribuição das arteríolas principais. A. VM- zona ventromedial; D- porção dorsal da zona dorsolateral; L- porção lateral da zona dorsolateral; 1 e 2- arteríolas no limite das zonas ventromedial e dorsolateral; PC- plexo coróide; III- terceiro ventrículo. B. VM- zona ventromedial; D- porção dorsal da zona dorsolateral; L- porção lateral da zona dorsolateral; 1 e 2- arteríolas no limite das zonas ventromedial e dorsolateral; 3- arteríola no centro da zona ventromedial; PC- plexo coróide; III- terceiro ventrículo. Método de Burstone com injeção intravascular de gelatina carminada. Barras de calibração = 100 μ m.

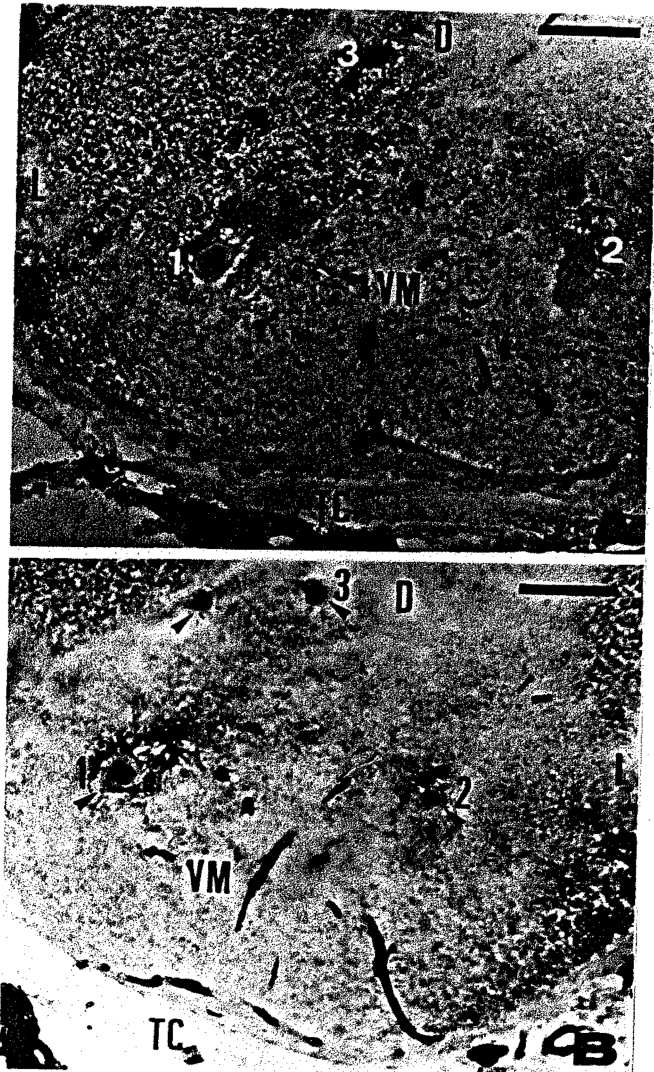


Fig. 18 - Fotomicrografias de cortes coronais da região central do OSF humano. Padrões de distribuição das arteríolas principais. A,B. VM- zona ventromedial; D- porção dorsal da zona dorsolateral; L- porção lateral da zona dorsolateral; 1 e 2- arteríolas na zona ventromedial; 3- arteríola no limite das zonas ventromedial e dorsolateral; arteríolas (pontas de setas); TC- tela coroidéia. Método de Gomori com injeção intravascular de gelatina carminada. Barras de calibração = 50 μ m.

(Fig. 18). Outras vezes observou-se a presença de apenas duas arteríolas, em situações variadas (Fig. 17,A).

Na porção lateral da zona dorsolateral, nas regiões central e caudal, e eventualmente na região rostral, visualizaram-se vênulas calibrosas, com diâmetro em torno de 150 μm (Fig. 19,A).

Com a progressão da visualização em sentido posterior, havia importante diminuição do número dos capilares, das arteríolas e também da presença dos "glomérulos" ao longo da região caudal. Próximo do limite posterior do OSF não foram detectados "glomérulos", nem as três arteríolas maiores, existindo poucos capilares e sua distribuição tendia a adquirir um padrão difuso (Fig. 14,C).

Uma característica peculiar das porções mais posteriores da região caudal era a presença de vasos que penetravam no OSF diretamente a partir dos plexos coróides, perpendicularmente ao seu eixo antero-posterior, formando, às vezes, imagens de paliçadas (Fig 19,B,C). Esses vasos, na maioria capilares, geralmente se estendiam por uma pequena distância, porém, ocasionalmente atingiam porções profundas do órgão. Em alguns dos órgãos estudados, visualizou-se a penetração na porção média do extremo caudal do OSF de uma grande arteríola (40-50 μm de diâmetro), proveniente do plexo coróide subjacente. Esta arteríola penetrava perpendicularmente no OSF, com trajeto inicial em sentido ascendente, estendendo-se até aproximadamente o limite dorso-ventral (Fig. 19,C).

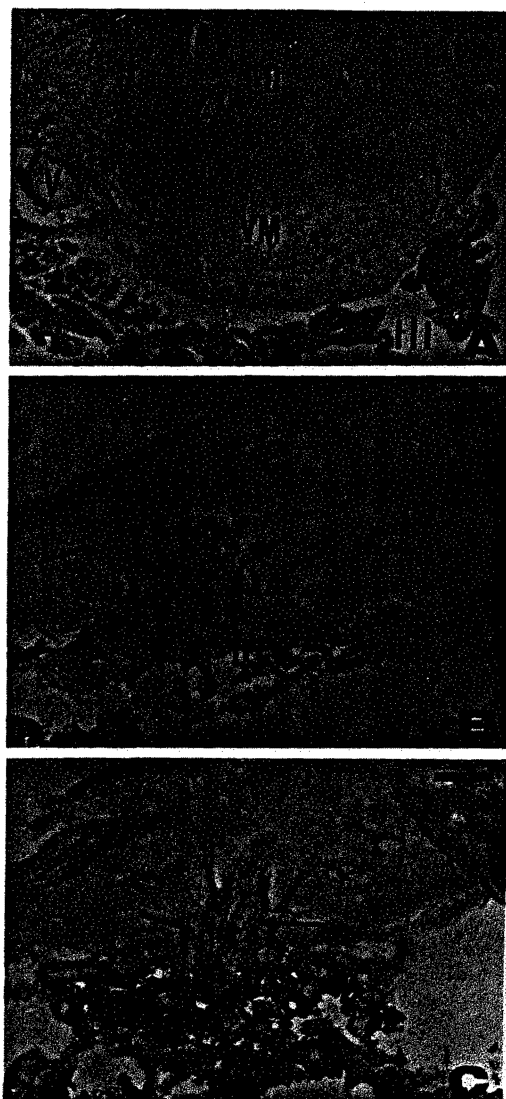


Fig. 19 - Fotomicrografias de cortes coronais do OSF humano. A. região rostral. VM- zona ventromedial; D- porção dorsal da zona dorsolateral; L- porção lateral da zona dorsolateral; V- veia lateral; F- fórnix; PC- plexo coróide; III- terceiro ventrículo. Método de Burstone. B. região caudal. capilares provenientes de vasos da tela coroidéia (setas); TC- tela coroidéia. C. Região caudal. arteríola proveniente da tela coroidéia (seta maior); capilares provenientes de vasos da tela coroidéia (setas menores); TC- tela coroidéia. Método de Burstone com injeção intravascular de gelatina carminada. Barras de calibração = 200 μ m.

Nessa região caudal os espaços perivasculares tendiam a diminuir de extensão, paralelamente à diminuição na concentração dos capilares. Era muito comum na zona ventromedial das regiões caudal e central, a observação de grande contingente de capilares em situação subjacente à tela coroidéia do terceiro ventrículo (Fig. 14,C).

Na observação dos cortes sagitais do OSF humano, os padrões de distribuição vascular acima descritos foram similares. Não foi realizada contagem dos capilares nos cortes sagitais.

Em cortes sagitais medianos observou-se uma grande arteríola, que se originava a partir de vaso abaixo da tela coroidéia da região caudal. Esta arteríola, com diâmetro entre 40 e 50 μm ao penetrar no órgão, apresentava um trajeto inicial ascendente, quase que vertical, depois voltava-se em sentido rostral, colocando-se no limite das zonas dorsolateral e ventromedial, estendendo-se geralmente até a porção média da região rostral (Fig. 20,B). Em um dos órgãos estudados esta arteríola foi visualizada até a extremidade anterior do OSF. Desta arteríola originavam-se grande número de ramos, que em sua maioria dirigiam-se para a zona ventromedial, originando os novelos glomerulares, com vasos tortuosos e irregulares. Estas arteríolas, às vezes, tinham uma extensão relativamente longa antes de originarem os "glomérulos", descrevendo um trajeto arciforme. Estes novelos eram observados desde a região caudal até a região rostral, estando ausentes apenas nas extremidades anterior e posterior do OSF (Fig. 21,B). Em cortes para-

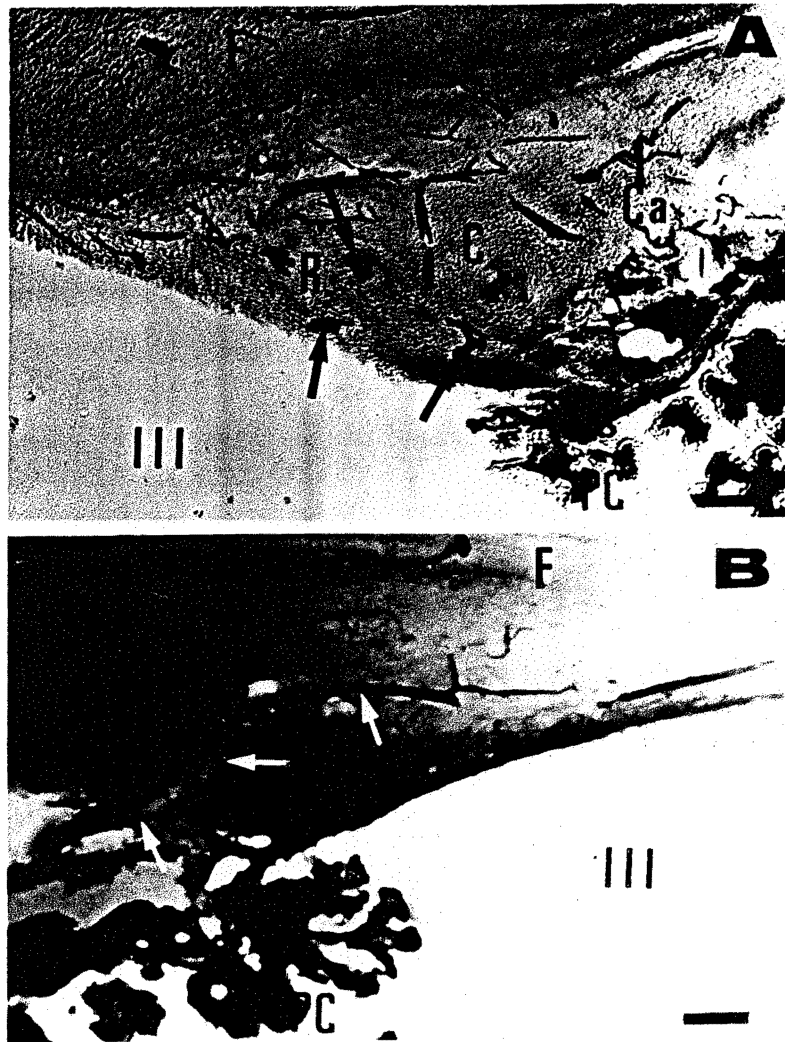


Fig. 20 - Fotomicrografias de cortes sagitais do OSF humano. A. Corte sagital paramediano. R- região rostral; C- região central Ca- região caudal; glomérulos (setas); F- fórnix; PC - plexo coróide; III- terceiro ventrículo. Método de Gomori. Barra de calibração = 200 μ m. B. Corte sagital mediano. Arteriola no limite das zonas ventromedial e dorsolateral; F- fórnix; PC- plexo coróide; III- terceiro ventrículo. Método de Gomori. Barra de calibração = 200 μ m.

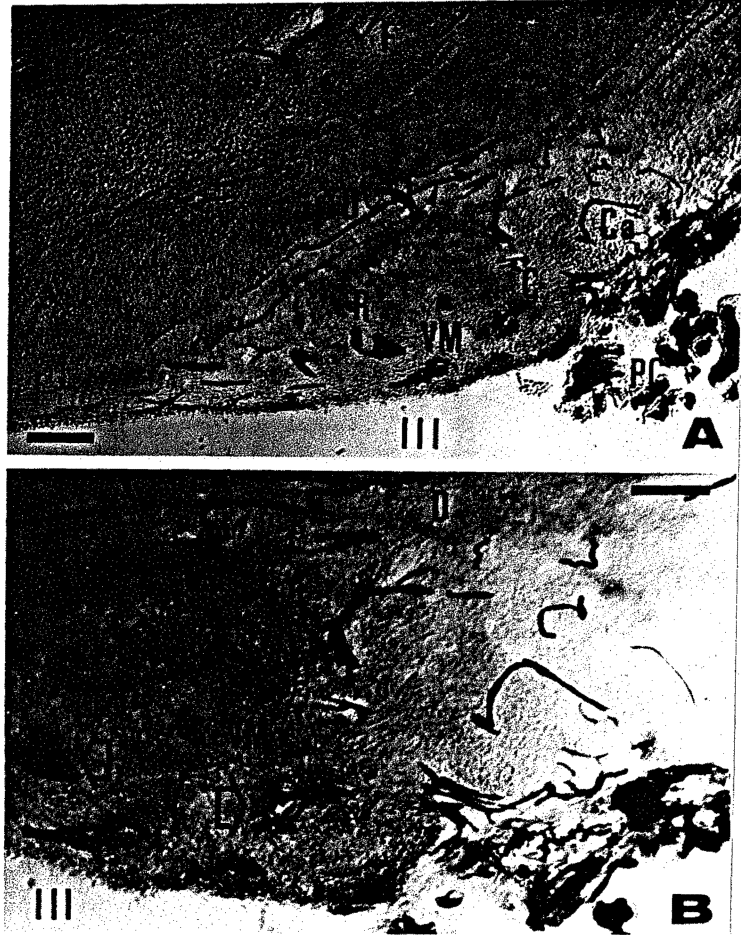


Fig. 21 - Fotomicrografias de cortes sagitais medianos do OSF humano. A. VM- zona ventromedial; D- porção dorsal da zona dorsolateral; R- região rostral; C- região central; Ca- Região caudal; arteríola (ponta de seta); F- fórnix; PC - plexo coróide; III- terceiro ventrículo. Método de Gomori. Barra de calibração = 200 μ m. B. Detalhe magnificado da figura anterior. VM- zona ventromedial; D- porção dorsal da zona dorsolateral; glomérulos (setas vazadas); arteríola (ponta de seta); III- terceiro ventrículo. Método de Gomori. Barra de calibração = 100 μ m.

medianos, a visualização destes novelos se mantinha, diminuindo em número, paralelamente à diminuição da superfície do OSF (Fig. 20,A).

Poucos ramos desta arteríola se dirigiam para a zona dorsal, e raramente determinavam a formação de novelos. Esses vasos de orientação dorsal geralmente eram capilares e foram observados em maior número na região caudal, onde aparentemente, essa zona dorsolateral aproximadamente se equivalia em superfície à zona ventromedial (Fig. 21).

Na região caudal posterior do OSF visualizavam-se arteríolas e capilares que penetravam diretamente, vindos da tela coroidéia, em sentido ascendente, e distribuíam-se na região caudal. Alguns, situados abaixo da tela coroidéia do terceiro ventrículo, apresentavam trajeto paralelo à superfície, enquanto outros se aprofundavam no órgão por distâncias variáveis (Figs 20,A e 21,B).

4 Análise estatística

Observou-se um nítido predomínio dos capilares na zona ventromedial em relação à dorsolateral, com significância estatística ($p < 0,05$) (Tabelas III e IV). Apenas na extremidade posterior da região caudal, onde às vezes era difícil delimitar estas zonas, havia tendência a uma equivalência na distribuição vascular entre ambas as zonas. A maior concentração vascular na zona ventromedial correspondia à maior concentração celular. Em todas as regiões,

com exceção da parte terminal da região caudal, a proporção entre os vasos da zona ventromedial e a dorsolateral era de cerca de 2:1 ou superior.

O estudo estatístico realizado entre as regiões demonstrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre o número de capilares da região central em relação à rostral, e da central em relação à caudal (Tabelas V, VI e VII).

A superposição dos resultados obtidos no estudo comparativo entre a maior concentração capilar entre as zonas e entre as regiões, revela que a zona ventromedial da região central é o local de maior concentração capilar no OSF.

O estudo comparativo da concentração capilar entre as nove sub-regiões do OSF, apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) da sub-região central posterior em relação às sub-regiões caudal posterior, caudal média, rostral anterior, caudal anterior e rostral média. Igualmente, da sub-região central média em relação às sub-regiões caudal posterior e caudal média, e da sub-região central anterior em relação à caudal posterior (Tabelas VIII, IX e X).

Tabela III

Análise da variância, apresentando os elementos de cálculo para os testes F do número de capilares por zona.

Zona	N	Média	DP	EP
DL	99	15,8687	5,5872	,5615
VM	99	35,2929	12,5285	1,2592
Total	198	25,5808	13,7265	,9755

DL - Dorsolateral
 VM - Ventromedial
 N - Número
 DP - Desvio Padrão
 EP - Erro Padrão

Tabela IV

Análise da variância do número de capilares por zona.

FV	SQ	GL	QM	F	SF
Entre zonas	18676,4091	1	18676,4091	198,4935	,0000
Dentro das zonas	18441,7980	196	94,0908		
Total	37118,2071	197			

FV - Fonte de variação
 SQ - Soma dos quadrados
 GL - Graus de liberdade
 QM - Quadrado médio
 SF - Significância de F

Tabela V

Análise da variância, apresentando os elementos de cálculo para os testes F do número de capilares por região.

Região	N	Média	DP	EP
Rostral	66	24,0303	12,3985	1,5261
Central	66	32,7576	15,0548	1,8531
Caudal	66	19,9545	10,1881	1,2541
Total	198	25,5808	13,7265	,9755

N - número

DP - Desvio padrão

EP - Erro padrão

Tabela VI

Análise da variância do número de capilares por região.

FV	SQ	GL	QM	F	SF
Entre Regiões	5647,2828	2	2823,6414	17,4958	,0000
Dentro das Regiões	31470,9242	195	161,3894		
Total	37118,2071	197			

FV - Fonte de variação

SQ - Soma dos quadrados

GL - Graus de liberdade

QM - Quadrado médio

SF - Significado de F

Tabela VII

Análise da variância do número de capilares por região.

<u>Média</u>	<u>Região</u>	<u>Caudal</u>	<u>Rostral</u>	<u>Central</u>
19,9545	Caudal			
24,0303	Rostral			
32,7576	Central	*	*	

Teste de variância múltipla.
 Teste Student-Newman-Keuls
 Valores para $p < 0,05$

* Demonstra pares de regiões significativamente diferentes
 ao nível $p < 0,05$

Tabela VIII

Análise da variância, apresentando os elementos de cálculo para os testes F do número de capilares por sub-região.

Sub-região	N	Média	DP	EP
Rostral A	22	21,8636	10,7628	2,2946
Rostral M	22	23,5000	12,4126	2,6464
Rostral P	22	26,7273	13,8948	2,9624
Central A	22	32,9091	14,1654	3,0201
Central M	22	32,7273	14,4096	3,0721
Central P	22	32,6364	17,1229	3,6506
Caudal A	22	22,1363	9,3823	2,0003
Caudal M	22	21,2273	9,8122	2,0920
Caudal P	22	16,5000	10,8529	2,3138
Total	198	25,5808	13,7265	,9755

A - Anterior
M - Média
P - Posterior
N - Número
D.P. - Desvio Padrão
E.P. - Erro Padrão

Tabela IX

Análise da variância do número de capilares por sub-região.

FV	SQ	GL	QM	F	SF
Entre					
Sub-regiões	6320,5253	8	790,0657	4,8485	,0000
Dentro das					
Sub-regiões	30797,6818	189	162,9507		
Total	37118,2071	197			

FV - Fonte de variação
SQ - Soma dos quadrados
GL - Graus de liberdade
QM - Quadrado médio
SF - Significância de F

Tabela X

Análise da variância do número de capilares por sub-regiões.

Média	Sub-região	Caudal			Rostral			Central		
		P	M	A	P	M	A	P	M	A
16,5000	Caudal P									
21,2273	Caudal M									
21,8636	Rostral A									
22,1364	Caudal A									
23,5000	Rostral M									
26,7273	Rostral P									
32,6364	Central P	*	*	*	*	*				
32,7273	Central M	*	*							
32,9091	Central A	*								

A - Anterior
M - Média
P - Posterior

Teste de variância múltipla.
Teste Student-Newman-Keuls.
Valores para $p < 0,05$

* Demonstra pares de sub-regiões significativamente diferentes ao nível $p < 0,05$

CAPITULO V. DISCUSSÃO

O OSF humano está localizado no limite antero-superior do terceiro ventrículo, ventralmente situado em relação à porção mais anterior do corpo do fórnix, ao qual está intimamente aderido. Esta limitado lateralmente pelo complexo nuclear anterior do tálamo e em sua porção póstero-ventral com os plexos coróides e tela coróideia do terceiro ventrículo, e os plexos coróides dos ventrículos laterais. Sua extremidade anterior relaciona-se diretamente com a cavidade do terceiro ventrículo, revestida por epitélio endimário. Em sua relação com o fórnix não se evidencia nenhuma estrutura limitante claramente definida.

Deve ser ressaltado que embora quase que completamente coberto pelos plexos coróides e tela coróideia do terceiro ventrículo, e plexos coróides dos ventrículos laterais, ocasionalmente a extremidade anterior do OSF humano pode ser visualizada o olho nú, após cuidadoso afastamento dos plexos coróides, conforme descrito por MARK & FARMER (1984), não havendo necessidade de procedimentos especiais, conforme citado por AZAMBUJA (1983). Quando é realizado o afastamento desses plexos coróides, a extremidade anterior do OSF humano é identificada como uma estrutura em forma de ogiva, de coloração róseo-amarelada, com cerca de 1 mm em seu maior diâmetro, protruindo adiante do ponto onde confluem os plexos coróides do terceiro ventrículo e dos ventrículos laterais. Inclusive, se for feito o descolamento desses plexos coróides, o OSF humano com frequência é destacado do fórnix, permanecendo acolado aos plexos coróides.

As dimensões do OSF humano apresentaram pequenas variações nos órgãos que analisamos, variando entre cerca de 1,5 a 2 mm de extensão em seu eixo rostro-caudal, e medindo cerca de 1 mm de largura média na sua porção central, tendendo a diminuir, na medida em que ocorre a progressão para as suas extremidades. Em sentido crânio-caudal, ao nível da implantação dos plexos coróides e tela coroidéia do terceiro ventrículo, mede cerca de 0,8 mm concordando com as observações de diversos autores (COHRS & KNOBLOCH, 1936; DANNHEIMER, 1939; LEGAIT, 1942; AZAMBUJA, 1983; AZAMBUJA et al., 1988).

A distância do OSF humano da comissura anterior é em média de 12 mm (AZAMBUJA, 1983; AZAMBUJA et al., 1988), com mínima variação desta distância, diferindo do determinado por outros autores (SPIEGEL, 1918; PUTNAM, 1922; PINES & MAIMAN, 1928; COHRS & KNOBLOCH, 1936; DANNHEIMER, 1939; LEGAIT, 1942; ARIENS KAPPERS, 1955; HASUNUMA, 1956; RABL, 1966). Embora não fosse objetivo específico de nossa análise, verificamos também ocorrer variação discreta na sua distância em relação à comissura anterior, estando localizado no mínimo a cerca de 10 mm da comissura anterior. Concordamos integralmente com AZAMBUJA (1983) e AZAMBUJA et al. (1988), de que sempre o OSF humano esta localizado dorsal e caudalmente em relação ao forame interventricular (Monro), diferindo portanto, das descrições de diversos autores que o situavam anterior ou ventralmente ao forame interventricular, e conseqüentemente, a distâncias menores da comissura anterior (SPIEGEL, 1918; PUTNAM, 1922; PINES & MAIMAN, 1928; COHRS & KNOBLOCH, 1936;

DANNHEIMER, 1939; LEGAIT, 1942, ARIENS KAPPERS, 1955; HASUNUMA, 1956; RABL, 1966). Como foi salientado por AZAMBUJA (1983), a causa de tais discrepâncias provavelmente seja devida a erros na identificação macroscópica do OSF, levando a uma determinação imprecisa de sua distância até a comissura anterior.

Quanto a sua situação espacial é necessário tecermos algumas considerações. Se traçarmos uma linha unindo a comissura anterior à comissura posterior, teremos um plano horizontal antero-posterior (SCHALTENBRAND & WHAREN, 1977) em relação ao qual o OSF humano, que está aderido à face inferior do corpo do fórnix, apresenta-se com uma inclinação anterior de 45° , fazendo com que seu maior eixo esteja situado obliquamente, já que neste ponto o fórnix inicia sua deflexão oroventral, localizando-se em um ângulo de 45° em relação à linha que une as comissuras anterior e posterior. Desta maneira, as maiores dimensões do OSF estão situadas em um plano sagital craniocaudal, e o ponto onde ocorre a implantação dos plexos coróides do terceiro ventrículo e dos ventrículos laterais está no ponto médio deste plano sagital, permitindo a definição de duas regiões, uma anteroventral e outra pósterodorsal, e seus limites extremos em sua maior dimensão, como antero-inferior e pósterosuperior (AZAMBUJA, 1983).

Embora na realidade seja exatamente essa a situação espacial do OSF humano, no momento em que fossemos definir as zonas ou regiões em seu interior, e mesmo na comparação com outras espécies, teríamos grandes dificuldades devido à nomenclatura utilizada, uma

vez que o OSF de outras espécies (SPOSITO & GROSS, 1987; CASALI et al., 1989) apresenta sua maior dimensão em um plano horizontal rostrocaudal, com seus limites situados em um pólo rostral e outro caudal. Nesse caso, o local onde ocorre a inserção dos plexos coróides do terceiro ventrículo e dos ventrículos laterais está situado no ponto médio da sua face ventral, definindo duas regiões, uma rostral e outra mediocaudal (central e caudal). No seu interior delimitamos zonas dorsolateral e ventromedial, o que não aconteceria com o OSF humano se utilizássemos a sua situação espacial real. Acreditamos que esta definição do maior eixo do OSF humano em um plano horizontal rostro-caudal seja fundamental para um estudo adequado do OSF humano, que possibilite comparações com outras espécies, com nomenclatura uniforme, concordando com o estudo posteriormente realizado por AZAMBUJA et al. (1988), em que esta sistemática foi adotada.

O aporte vascular do OSF humano se faz unicamente através de seu pólo posterior (AZAMBUJA, 1983), onde o OSF está conectado aos plexos coróides do terceiro ventrículo através de um pedículo de tecido conjuntivo (COHRS & KNOBLOCH, 1936; SCEVOLA, 1941; LEGAIT, 1957; AZAMBUJA, 1983). Diferentemente do que foi descrito para outras espécies (SPOERRI, 1963; DUVERNOY & KORITKÉ, 1965; DELLMANN & SIMPSON, 1979; CASALI et al., 1989) a vascularização do OSF humano é suprida exclusivamente por ramos das artérias coroidéias posteriores, não recebendo ramos de outros vasos encefálicos. Em todos os órgãos estudados a penetração dos vasos no OSF ocorreu somente pela sua extremidade póstero-inferior, nas regiões central e cau-

dal, junto à inserção da tela coroidéia e plexos coróides do terceiro ventrículo. Na região transicional entre o OSF humano e o fórnix não foi evidenciado nenhum vaso sanguíneo, nem tampouco verificou-se a presença de vaso penetrando pelo seu pólo rostral. Nesse sentido, o padrão de vascularização OSF humano assume características peculiares, já que outros animais, bastante mais estudados, apresentam outros vasos. O aporte vascular do OSF no rato é suprido pela artéria subfornicial, ramo da artéria cerebral anterior, que atinge o OSF caudalmente após contornar o esplênio do corpo caloso (SPOERRI, 1963). De outra forma, no gato a vascularização do OSF ocorre a partir de seus dois pólos, rostral e caudal, realizada respectivamente por ramos das artérias pré-ópticas e ramos das artérias coroidéias posteriores, que determinam a formação de amplas anastomoses no seu interior (DUVERNOY & KORITKÉ, 1965).

Esta diversidade em relação à vascularização do órgão humano sugere um aspecto evolutivo, porém necessita de uma correlação ampla com outros fatores relacionados à estrutura e função do OSF nas diversas espécies estudadas.

Em relação ao padrão de distribuição das principais arteríolas no interior do OSF humano, verificamos que a descrição de AZAMBUJA (1983), embora freqüente, não é absoluta. Este autor descreveu a presença de três arteríolas principais, uma mediana, com penetração no OSF em sua região central, e que se localizava na região ventromedial próximo da superfície endimária, com trajeto em sentido anterior no OSF, e duas outras, com penetração na re-

gião caudal, e que se colocavam em situação mais dorsal, praticamente no limite dorsoventral, dirigindo-se anteriormente, paralelas entre si. Além desse, encontramos outros padrões de distribuição, e entre eles, um bastante comum, era o que apresentava uma arteríola mediana na transição dorsoventral e duas arteríolas na zona ventromedial, em situação lateral, paralelas entre si e igualmente com trajeto em direção rostral. Desses vasos, o mais calibroso e com trajeto mais longo era o que se localizava no limite dorsoventral, em situação mediana, e que se originava na região caudal do OSF. Nesse sentido, essa descrição concorda parcialmente com a descrição de MARK & FARMER (1984), que evidenciaram a presença constante de uma pequena artéria localizada na base da rafe, que em nosso estudo situamos no limite dorsoventral. Nos cortes coronais também se evidenciaram outros modelos de distribuição dessas arteríolas, em que às vezes, apenas duas arteríolas eram visualizadas, em localizações variadas. Devido ao número relativamente pequeno de nossa amostra e aos vários padrões de distribuição dessas arteríolas no interior do OSF humano, impõe-se a realização de estudo de maior abrangência visando definir a frequência desses achados.

Uma observação constante foi a da existência de várias pequenas arteríolas e capilares, que penetravam diretamente na região caudal do OSF humano, levando-nos a imaginar serem o principal meio de aporte vascular às porções mais posteriores dessa região caudal, já que nesta região poucos vasos se originam das arteríolas principais que penetram no OSF e que foram acima descritas.

Esta continuidade dos vasos dos plexos coróides para o OSF também foi detectada por outros autores, no homem e em outros animais (MARK & FARMER, 1984; CASALI et al., 1989).

No tocante à visualização e mensuração do diâmetro capilar para fins de análise estatística, preferimos seguir a orientação de SIMIONESCU & SIMIONESCU (1983), que definem um diâmetro entre 5 e 10 μm , enquanto SPOSITO & GROSS (1987) definiram como capilares os vasos com diâmetro menor que 7,5 μm (BÄR, 1980). Do ponto de vista prático não existe diferença significativa entre esses dois padrões, já que a grande maioria dos capilares do OSF humano neles se incluem, e poucos são os vasos que apresentam diâmetro entre 7,5 e 10 μm .

Alguns autores (AKERT et al., 1967; PHILLIPS et al., 1974; DELLMANN & SIMPSON, 1976; 1979), dividiram o OSF do rato em três regiões, com diferentes denominações e, SPOSITO & GROSS (1987), em um estudo específico sobre a vascularização do OSF do rato, o dividiram em quatro regiões: rostral, transicional, central e caudal.

No estudo por nós realizado, baseado nas características estruturais do OSF humano, evidenciamos a existência de três regiões: rostral, central e caudal. Diferentemente de SPOSITO & GROSS (1987), não detectamos características que permitissem definir com clareza uma região transicional, entre as regiões rostral e central. Por certo, o estudo por nós realizado é bem mais sim-

ples, não abordando toda a complexidade do trabalho realizado por SPOSITO & GROSS, (1987).

Especificamente no OSF humano, os diversos critérios que permitem a diferenciação em regiões rostral, central e caudal são os mesmos utilizados pelos autores acima citados, porém, no OSF humano uma diferença importante reside no fato que o limite entre a região rostral e a região central ocorre ao nível da implantação dos plexos coróides e tela coroidéia do terceiro ventrículo no OSF, enquanto nos outros animais este local é considerado como o limite entre a região central e a região caudal. Por outro lado, da maneira como consideramos os limites entre as regiões, a diferenciação entre as regiões central e caudal se dá pelas modificações encontradas, como a diminuição no número de neurônios, a menor concentração de capilares e pela presença de espaços pericapilares de menores dimensões.

A divisão de cada região em três sub-regiões, por nós realizada, é uma tentativa de obter-se uma visão mais abrangente de cada região, que foram observadas em três locais diferentes, não consecutivos, objetivando atingirmos um padrão de diferenciação maior, e ao mesmo tempo, caracterizar mais claramente as diferenças vasculares encontradas, visando a determinação de um padrão de distribuição dos vasos no OSF humano.

Embora não tenhamos identificado a região transicional descrita no rato por SPOSITO & GROSS (1987), os resultados por nós

obtidos no estudo do OSF humano, são concordantes no que se refere à distribuição vascular nas regiões rostral, central e caudal. O aspecto dos capilares mostra semelhança com descrições realizadas em outras espécies e no homem, principalmente no que tange a sua irregularidade e tendência à formação de enovelados, semelhantes a glomérulos (DUVERNOY & KORITKÉ, 1965; AZAMBUJA, 1983; AZAMBUJA et al., 1988; CASALI et al., 1989). A distribuição desses glomérulos revela um predomínio absoluto na zona ventromedial e embora sejam visualizados nas regiões rostral e caudal, são extremamente mais freqüentes na região central. À medida que nos dirigimos para os pólos do OSF, estes novelos vão-se tornando mais escassos e estão ausentes nas extremidades das regiões rostral e caudal.

A concentração dos capilares segue um padrão similar ao dos glomérulos, e nossos dados basicamente concordam com os achados no rato (SPOSITO & GROSS, 1987), em que a maior concentração capilar ocorre nas regiões central e caudal anterior, diferindo apenas quanto ao fato de que esses autores definem um padrão homogêneo na região caudal, enquanto em nosso estudo houve uma diminuição significativa na concentração capilar nas porções mais posteriores da região caudal, semelhante ao descrito por DELLMANN & SIMPSON (1976). Esta discrepância já havia sido notada por SPOSITO & GROSS (1987), que a explicaram pelo fato de terem realizado suas análises em locais mais próximos da região central, enquanto outros autores, a exemplo do estudo por nós realizado, estenderam-se por uma distância maior em sentido caudal (PHILLIPS et al., 1974; DELLMANN & SIMPSON, 1976). Portanto, em relação às regiões, cons-

tatamos um aumento significativo na concentração dos capilares na região central em relação às regiões rostral e caudal, de modo semelhante ao observado em outros estudos (ANDRES, 1965a; BOUCHAUD, 1975; DELLMANN & SIMPSON, 1976; DELLMANN, 1985; SPOSITO & GROSS, 1987; CASALI et al., 1989).

De modo idêntico a SPOSITO & GROSS (1987), detectamos uma significativa e marcante diferença na concentração capilar entre as zonas, com maior concentração capilar na zona ventromedial, em todas as regiões. Dentre as regiões, a maior densidade capilar foi verificada na região central. Este aumento na concentração de capilares não se limitava à zona ventromedial na região central, ocorrendo simultaneamente nas zonas ventromedial e dorsolateral, embora fosse bem maior na zona ventromedial. A esta maior concentração capilar na zona ventromedial corresponde uma maior celularidade (ANDRES, 1965a; BOUCHAUD, 1975; DELLMANN & SIMPSON, 1976; MARK & FARMER, 1984; SPOSITO & GROSS, 1987; CASALI et al., 1989). Isso está de acordo com o fato de que no SNC do rato ou do homem, regiões com um maior densidade celular apresentam metabolismo mais intenso, necessitando portanto, de um aporte vascular elevado (CRAIGIE, 1920; DUNNING & WOLFF, 1937, GROSS et al., 1986).

Igualmente, concordamos com SPOSITO & GROSS (1987), quanto à impossibilidade de serem definidas as zonas ventromedial e dorsolateral na extremidade anterior do órgão, e também verificamos uma baixa concentração capilar, excluindo essa extremidade anterior da análise estatística.

Os espaços pericapilares apresentaram grandes variações em suas dimensões em diferentes locais dentro do OSF humano. Atingiram as maiores proporções na zona ventromedial da região central, e à medida que a observação progredia em direção aos pólos rostral e caudal, detectava-se uma diminuição importante. Na região central, expandiam-se intensamente formando invaginações profundas, semelhantes a labirintos, cercados de um grande contingente celular, onde se distinguíam neurônios de tamanhos variados e células gliais, semelhante às descrições de vários autores (DEMPSEY & WISLOCKI, 1955; STEPHAN & JANSEN, 1956; ANDRES, 1965a; CRAMER, 1970; DELLMANN & SIMPSON, 1976; SPOSITO & GROSS, 1987; CASALI et al., 1989). No OSF humano predominam na zona ventromedial neurônios fusiformes e triangulares de médias e pequenas dimensões (ACHAVAL et al., 1987; ACHAVAL et al., no prelo).

Na zona dorsolateral os espaços pericapilares se apresentavam em pequeno número e com dimensões reduzidas, determinando um contraste bem evidente à zona ventromedial, concordando com observações prévias em outros animais (DEMPSEY & WISLOCKI, 1955; ANDRES, 1965a; DELLMANN & SIMPSON, 1979, CASALI et al., 1979)..

A presença desses amplos espaços pericapilares na região central, associados à maior concentração celular, determina uma grande área de contato com os neurônios e células gliais, que tem um papel relevante no aporte de nutrientes, e provavelmente, na detecção de alterações na constituição plasmática (ROHR, 1966a; DEMPSEY, 1968; BOUCHAUD, 1974; DELLMANN & SIMPSON, 1979). Essas

observações foram confirmadas no estudo do OSF humano ao microscópio eletrônico, onde se verificou serem estes amplos espaços pericapilares constituídos por fibras colágenas, com muitos astrócitos na vizinhança dos vasos sanguíneos (MARK & FARMER, 1984). Igualmente, a microscopia eletrônica revelou que os capilares do OSF humano possuem apenas capilares não fenestrados, característica apenas encontrada anteriormente no cão (ANDRES, 1965a) e coelho (DELLMANN & SIMPSON, 1979). Entretanto, são muito freqüentes a observação nas células endoteliais de junções do tipo "tight-junction" e "não tight-junction", vesículas pinocíticas ou transendoteliais para o transporte através de membranas e grande número de microvilosidades e dobras semelhantes à "línguas" (MARK & FARMER, 1984). O achado de tais estruturas ao nível ultra-estrutural no OSF humano sugere que estas vesículas transendoteliais suprem a ausência das fenestrações, permitindo a passagem de substâncias do interior dos capilares para o neuropilo e vice-versa.

A estreita proximidade entre o abundante leito capilar e a alta concentração celular no OSF é de grande relevância para o entendimento das funções em que está envolvido. Além de conter receptores para a A II, e provavelmente, para outros hormônios transportados pelo sangue, existem evidências de que o OSF tem um importante papel como órgão neurosecretor ou terminal de liberação de uma série de substâncias que atingem o OSF através de fibras nervosas de núcleos vizinhos. Estes mediadores químicos liberados nos espaços perivasculares seriam captados pela circulação sanguínea, exercendo suas ações no sistema circulatório, determi-

nando respostas pressoras e regulando o mecanismo da sede e ingestão hídrica.

CAPITULO VI. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos no estudo da angioarquitetura do OSF humano, utilizando técnicas histoquímicas para fosfatase alcalina, H.E. e injeção intravascular de gelatina carminada, pode-se concluir:

1. O aporte vascular do OSF humano se faz exclusivamente através de seu pólo caudal, através de ramos das artérias coroidéias posteriores, que cursam abaixo da tela coroidéia do terceiro ventrículo. Diferentemente de outros animais (rato e gato, por exemplo) não existe a artéria subfornicial, ramo da artéria cerebral anterior, nem ramos das artérias pré-ópticas, ramos da artéria cerebral anterior. Não observamos nenhum vaso penetrando no OSF humano através do fórnix ou do seu pólo rostral.

2. Existem padrões variados de distribuição das principais arteríolas que vascularizam o OSF humano, a partir da sua penetração no órgão. Observamos com freqüência, nos cortes coronais, a presença de 3 arteríolas no interior do OSF humano em diferentes localizações. Um padrão comum apresentou duas arteríolas no limite das zonas ventromedial e dorsolateral, paralelas entre si, e uma terceira no centro da zona ventro medial. Outro padrão igualmente comum consistia de uma arteríola no limite das zonas dorsolateral e ventromedial, em posição mediana, e duas na zona ventromedial, em situação lateral e paralelas entre si. Também verificamos a presença de apenas duas arteríolas em situações variadas. No plano sagital, determinamos a presença de uma arteríola com penetração na região caudal do OSF, e trajeto inicial ascendente. Logo após,

esta arteríola situava-se no limite entre as zonas ventromedial e dorsolateral, dirigindo-se em sentido anterior, até a região rostral.

3. Determinamos uma maior concentração dos capilares na zona ventromedial em relação à dorsolateral, em todas as regiões, concordando com descrições realizadas em outras espécies.

4. Existe um predomínio na concentração dos capilares na região central do OSF humano, em relação às regiões central e caudal.

5. O local no OSF humano que apresenta a maior concentração capilar (zona ventromedial da região central) corresponde ao local de maior concentração celular, concordando com estudos realizados em outros mamíferos. Da mesma forma, comprova que no SNC os locais de maior celularidade são os que apresentam maior gasto energético, necessitando de um aporte de nutrientes em maior volume.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ABBIE, A.A. The blood supply of the lateral geniculate body, with a note on the morphology of the choroidal arteries. *J. Anat. (Lond)* 67:491-521, 1933.
- ABBIE, A.A. The morphology of the fore-brain arteries, with special reference to the evolution of the basal ganglia. *J. Anat. (Lond)* 68:433-470, 1934.
- ACHAVAL, M.; SCHNEIDER, F.L.; AZAMBUJA, N.A.V.C.; CONTU, P. The Golgi methods applied to the human and rat subfornical organ. *Z. mikrosk. anat. Forsch.* 101:619-635, 1987.
- ACHAVAL, M.; SCHNEIDER, F.L.; AZAMBUJA, N.A.V.C.; REISSENWEBER, N.; CONTU, P. Acetylcholinesterase activity in the human subfornical organ. *Arch. d'Anat., d'Hist. et d'Embriol. norm. et exp.* In Press.
- ADHAMI, H. Über das subfornikale Organ beim Meerschweinchen unter besonderer Berücksichtigung der Blut-Hirnschranke. *Acta anat.* 67:239-263, 1967.
- AKERT, K. Das subfornikalorgan. Morphologische Untersuchungen mit besonderer Berücksichtigung der cholinergen. Innervation und der neurosekretorischen Aktivität. *Schweiz Arch. Neurol. Neurochir. Psychiat.* 100:217-231, 1967.
- AKERT, K., POTTER, H.D. & ANDERSON, J.W. The subfornical organ in mammals. I. Comparative and topographical anatomy. *J. Comp. Neurol.* 116:1-13, 1961.
- AKERT, K., PFENNINGER, K. & SANDRI, C. The fine structures of Synapses in the subfornical Organ of the Cat. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 81:537-556, 1967.
- AKERT, K. & STEINER, F.A. The ganglion psalterii (Spiegel). A brief review of anatomical and physiological aspects of the subfornical organ in mammals. *Top probl. Psychiat. Neurol.* 10: 1-14, 1970.
- ANDRES, K.H. Der Feinbau des Subfornikalorgans von Hund. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 68:445-473, 1965a.
- ANDRES, K.H. Ependymkanälchen in Subfornikalorgan von Hund. *Naturwissenschaften* 52:433. 1965b.
- ARIENS KAPPERS, J. Development of the paraphysis cerebri in man with comments on its relationship to the intercolumnar tubercle and its significance for the origin of cystic tuumors in the third ventricle. *J. Comp. Neurol.* 102:435-509, 1955.
- AZAMBUJA, N.A.V.C.: O órgão subfornicial humano, Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Neuroanatomia UFRGS. Dis. Mestr. Neuroanatomia, Porto Alegre, 1983.

- AZAMBUJA, N.A.V.C.; ACHAVAL, M.; MARRONE, A.C.H.; SEVERINO, A.G. The human subfornical organ: an anatomical approach. *Folia Morphologica* 36(1):6-11, 1988.
- BARKA, T. & ANDERSON, P.J. *Histochemistry*. New York : Harper and Row, 1963, 473 p.
- BOUCHAUD, C. Differences regionales dans la permeabilité des capillaires de l'organe subfornical du rat. *Bull. Assoc. Anato.* 58:491-499, 1974.
- BOUCHAUD, C. Identification par radio-autographie des terminaisons axoniques péricapillaires dans l'organe subfornical du rat. *J. Physiol. (Paris)* 70:7b, 1975.
- BOUCHAUD, C. & BOSLER, O. The circumventricular organs of the mammalian brain with special reference to monoaminergic innervation. *Int. Rev. Cytol.* 105:283-327, 1986.
- BURANARUGSA, P. & HUBBARD, J.I. The neuronal organization of the rat subfornical organ in vitro and a test of the osmo- and morphine-receptor hypothesis. *J. Physiol.*, 291:101-116, 1979a.
- BURANARUGSA, P. & HUBBARD, J.I. Intracellular recording from neurons of the rat subfornical organ in vitro. *J. Physiol.* 294:23-32, 1979b.
- BURANARUGSA, P. & HUBBARD, J.I. Excitatory effects of atrial natriuretic peptide on rat subfornical organ neurons in vitro. *Brain Res. Bull.* 20:627-631, 1988.
- BURSTONE, M.S. *Enzyme histochemistry and its Application in the Study of Neoplasms*. New York: Academic Press, 1962, 426 p.
- CHAYEN, J.; BITENSKY, L.; BUTCHER, R.G. *Practical Histochemistry*, London: John Wiley & Sons, 1973, 271 p.
- CASALI, A.M.; LUCCHI, M.L.; MILLO, R.; FLORIANI, F.M.; SANTI, L.F.; RE, G.; CAVALLI, G. L'organo subfornicale oggi: aspetti morfologici e ruolo funzionale. *Arch. Ital. Anat. Embriol.* 94:1-53, 1989.
- CASTAÑEYRA-PERDOMO, A.; PÉREZ-DELGADO, M.M.; GONZÁLEZ-HERNANDEZ, T.; FERRES-TORRES, R. Development of the subfornical organ and area postrema of the male albino mouse. Karyometric effect of neonatal and prepuberal castration. *Acta anat.* 131:13-25, 1988.
- COHRS, P. & KNOBLOCH, D. Das Subfornikale Organ des 3 Ventrikels. Nach Untersuchungen bei den Haussäugetieren, einigen Nage-tieren und des Menschen. *Z. Anat. Entwicklungsgesch.* 105:491-510, 1936.
- CRAIGIE, E.H. On the relative vascularity of various parts of the

- central nervous system of the albino rat. *J. Comp. Neurol.* 31: 429-464, 1920.
- CRAMER, H. Zur Inkorporation von 3h-Phenylalanin in Protein der Circumventrikularen Organe bei Katzen und Meerschweinchen Autoradiographische Untersuchung. *Exp. Brain Res.* 11:343-359, 1970.
- DANIELLI, J.F. *Cytochemistry: A critical approach.* New York: Wiley, 1953, 285 p.
- DANNHEIMER, W. Über das subfornikale Organ des dritten Ventrikels beim Menschen. *Anat. Anz.* 88:351-358, 1939.
- DELLMANN, H.D. Fine structural organization of the subfornical organ. A concise review. *Brain Res. Bull.* 15:71-78, 1985.
- DELLMANN, H.D. & FAHMY, M.F.A. The subfornical organ and the area postrema of the dromedary (*Camelus dromedarius*). *Acta Neuroveg.* 29:501-519, 1967.
- DELLMANN, H.D. & LINNER, J.G. Ultrastructure of the subfornical organ of the chicken (*Gallus domesticus*). *Cell Tissue Res.* 197: 137-153, 1979.
- DELLMANN, H.D. & SIMPSON, J.B. Comparative ultrastructure and function of the subfornical organ. *Brain-Endocrine Interaction. II. The ventricular systems in neuroendocrine mechanisms.* 2nd Int. Symp. 166-189, 1975.
- DELLMANN, H.D. & SIMPSON, J.B. Regional differences in the morphology of the rat subfornical organ. *Brain Res.* 116:389-400, 1976.
- DELLMANN, H.D. & SIMPSON, J.B. The subfornical organ. *Int.Rev. Cytol.* 58:333-421, 1979.
- DELLMANN, H.D. & STAHL, S.J. Fine structural cytology of the rat subfornical organ during ontogenesis. *Brain Res. Bull.* 13:135-145, 1984.
- DEMPSEY, E.W. Fine-Structure of the rat's intercolumnar tubercle and its adjacent ependyma and choroid plexus with special reference to the appearance of its sinusoidal vessels in experimental argyria. *Exp. Neurol.* 22:568-589, 1968.
- DEMPSEY, E. W. & WISLOCKI, G.B. An electron microscopic study of the blood-brain barrier in the rat, employing silver nitrate as a vital stain. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1:245-256, 1955.
- DUNNING, H.S. & WOLFF, H.G. The relative vascularity of various parts of the central and peripheral nervous system of the cat and its relation to function. *J. Comp. Neurol.* 67:433-450, 1937.

- DURET, H. Recherches anatomiques sur la circulation de l'encéphale. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.* 2:60-91, 1874. Apud: LAZORTHES, G.; GOUMAZÉ, A.; SALAMON, G. *Vascularisation de l'encéphale. Anatomie descriptive et fonctionnelle.* v.1. Paris: Masson, 1976. 321 p.
- DUVERNOY, H. & KORITKÉ, J.G. Contribution à l'étude de l'angio-
gioarchitectonie des organes circonventriculaires. *Arch. Biol. (Liège)* 75:(Suppl.) 849-904, 1964.
- DUVERNOY, H. & KORITKÉ, J.G. Recherches sur la vascularisation de l'organ subfornical. *J. Med. Besançon*, 1:115-130, 1965.
- FELIX, D. & AKERT, K. The effect of angiotensin II on neurons of the cat subfornical organ. *Brain Res.* 76:350-353, 1974.
- FERGUSON, A.V.; DAY, T.A; RENAUD, L.P. Subfornical organ efferents influence the excitability of neurohypophyseal and tuberoinfundibular paraventricular nucleus neurons in the rat. *Neuroendocrinology* 39:423-428, 1984.
- FERNANDES, J.G. Desenvolvimento do órgão subfornical do rato. Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Neuroanatomia, UFRGS. Diss. Mestr. Neuroanatomia, Porto Alegre, 1985.
- FERNANDES, J.G. & ACHAVAL, M. Acetylcholinesterase activity during the ontogenesis of the subfornical organ of the rat. *Arch. Anat. Hist. Embr. norm. et exp.* 69:119-129, 1986.
- GABE, M. *Techniques histologiques.* Paris: Masson et Cie, Editeurs, 1968, 245 p.
- GOMORI, G. *Microscopic Histochemistry, Principles and practice.* Chicago: The University of Chicago Press, 1952, 273 p.
- GROSS, P.M. The subfornical organ as a model of neurohumoral integration. *Brain. Res. Bull.* 15: 65-70, 1985.
- GROSS, P.M.; SPOSITO, N.M.; PETERSEN, S.E.; FENSTERMACHER, J.D. Differences in function and structure of the capillary endothelium in gray matter, white matter and a circumventricular organ of rat brain. *Blood Vessels* 23:261-270, 1986.
- GUTMAN, M.B.; CIRIELLO, J.; MOGENSEN, G.J. Electrophysiological identification of forebrain connections of the subfornical organ. *Brain Res.* 382:119-128, 1986.
- HASUNUMA, S. Comparative anatomical studies on the subfornical organ (intercolumnar tubercle) of the mammals and man. *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.* 3(2):159-169, 1956.
- HERNESNIEMI, J.; KAWANA, E.; BRUPPACHER, H.; SANDRI, C. Afferent connections of the subfornical organ and of the supraoptic

- crest. *Acta Anat.* 81:321-336, 1972.
- HOFER, H. Beobachtungen an der Glia subfornikalen Organes von *Galago crassicaudatus* 1812 (Prosimiae, Lorisiformes). *Z. Anat. Entw. G. Gesch.* 120:1-14, 1957.
- HOFER, H. Zur Morphologie der circumventrikulären Organes des Zwischenhirnes der Säugetiere. *Zool. Anzeiger Suppl.* 22:202-251, 1959.
- JOHNSTON, J.B. The morphology of the septum, hippocampus and pallial commissures in reptiles and mammals. *J. Comp. Neurol.* 23:371-478, 1913. Apud: AKERT, K.; POTTER, D; ANDERSON, J. W. The subfornical organ in mammals. *J. Comp. Neurol.* 116:1-13, 1961.
- JOHNSON, A.K. Role of the periventricular tissue surrounding the antero-ventral third ventricle (AV3V) in the regulation of body fluid homeostasis. In: Schrier, RW. ed. *Vasopressin*. New York: Raven Press, 319-331, 1985.
- KNOBLOCH, D. Das subfornikale Organ des dritten Hirnventrikels in seiner embryonalen und postembryonalen Entwicklung beim Hauschwein (*Sus scrofa domesticus*). *Z. Anat. Entwkl. Ges.* 106:379-397, 1936.
- KRISCH, B.; LEONHARDT, H.; BUCCHEIM, W. The functional and structural border between the CSF and blood milieu in the circumventricular organs (organum vasculosum laminae terminalis, subfornical organ, area postrema) of the cat. *Cell Tiss. Res.* 195:485-497, 1978.
- KRISCH, B. & LEONHARDT, H. Luliberin and somatostatin fiber terminals in the subfornical organ of the rat. *Cell Tissue Res.* 210:33-45, 1980.
- LAZORTHES, G.; GOUMAZÉ, A.; SALAMON, G. *Vascularization de l'encéphale. Anatomie descriptive et fonctionnelle.* v. 1. Paris: Masson, 1976. 321 p.
- LEGAIT, E. Les organes épendimaires du troisième ventricule. L'Organe sous-comissural. L'Organe sub-fornical. L'Organe paraventriculaire. Thèse Méd. Nancy, Imp. G. Thomas, 1942, 223 p.
- LEGAIT, E. & LEGAIT, H. Recherches sur l'organe subfornical du troisième ventricule chez quelques mammifères. *C. R. Ass. Anat.* 43^{er} Lisbonne 1956, 502-508, 1957.
- LEONHARDT, H. & LINDEMANN, B. Surface morphology of the subfornical organ in the rabbit's brain. *Z. Zellforsch.* 146:243-260, 1973.
- LEWIS, P.R. & SHUTE, C.C. The cholinergic limbic system: projections to hippocampal formation, medial cortex, nuclei of the

- ascending cholinergic reticular system, and the subfornical organ and supra-optic crest. *Brain* 90:521-540, 1967.
- LICHTENSTEIGER, W. Monoamines in the subfornical organ. *Brain Res.* 4:52-59, 1967.
- LIMONTA, P.; MAGGI, R.; GIUDICI, D.; MARTINI, L.; PIVA, F. Role of the subfornical organ (SFO) in the control of gonadotropin secretion. *Brain Res.* 229:75-84, 1981.
- LIND, R.W.; SWANSON, L.W.; GANTEN, D. Angiotensin II immunoreactivity in the neural afferents and efferents on the subfornical organ of the rat. *Brain Res.* 321: 209-215, 1984.
- LIND, R.W.; VAN HOESEN, G.W.; JOHNSON, A.K. An HRP study of the connections of the subfornical organ of the rat. *J. Comp. Neurol.* 210:265-277, 1982.
- MANGIAPANE, M.L. The subfornical organ: cardiovascular regulation. In: Gross, P.M., ed. *Circumventricular organs and body fluids*, Vol. 1. Boca Raton: CRC Press, 96-108, 1987.
- MARK, M.H & FARMER, P.M. The human subfornical organ: an anatomical and ultrastructural study. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 14:427-442, 1984.
- MATTSON, D.E. *Statistics: difficult concepts, understandable explanations*, 1st Ed. St. Louis: Mosby, 1981, 482 p.
- MCKINLEY, M.J.; MCALLEN, R.M.; MENDELSON, F.A.O.; ALLEN, A.M.; CHAI, S.Y.; OLDFIELD, B.J. Circumventricular organs: Neuroendocrine interfaces between the brain and the hemal milieu. *Frontiers in Neuroendocrinology* 11, 2:91-127, New York: Raven Press, Ltd., 1990.
- MENDELSON, F.A.O.; QUIRION, R.; SAAVEDRA, J.M.; AGUILLERA, G.; CATT, K.J. Autoradiographic localization of angiotensin II receptors in rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:1575-1579, 1984.
- MESULAM, M-M. *Tracing neural connections with horseradish peroxidase*. New York: John Wiley & Sons, 1982, 251 p.
- MISELIS, R.R. The efferent projections of the subfornical organ of the rat: a circumventricular organ within a neural network subserving water balance. *Brain Res.* 230:1-23, 1981.
- MISELIS, R.R.; SHAPIRO, R.E.; HAND, P.J. Subfornical organ efferents to neural systems for control of body water. *Science* 205:1022-1025, 1979.1.
- NORUSIS, M.J. *Introductory statistics guide. STATISTICAL PACKAGE FOR THE SOCIAL SCIENCES (SPSS, version 3.1)*, 1986.

- OLDFIELD, B.J.; GANTEN, D.; MCKINLEY, M.J. A light and electron-microscopic study of the projections of the nucleus medianus with special reference to inputs to vasopressin neurones. *Soc. Neurosci. Abstr.* 12:445, 1986.
- PALKOVITS, M. The role of the subfornical organ in the salt and water balance. *Naturwissenschaften* 53:336, 1966.
- PEARSE, A.G.E. *Histochemistry, theoretical and applied*. 3rd Ed., Vol. I, Edinburgh & London: Churchill Livingstone, 1968, 759 p.
- PEARSON, A.K. & LICHT, P. Morphology and immunocytochemistry of the turtle pituitary gland with special reference to the pars tuberalis. *Cell Tissue Res.* 222:81-100, 1982.
- PFENNINGER, K. Subfornikalorgan und Liquor cerebrospinalis. In: *Zirkumventrikuläre Organe und Liquor* (G Sterba Ed.) p. 103-106, Fischer, Jena, 1969.
- PFENNINGER, K.; AKERT, K.; SANDRI, C.; BRUPPACHER, H. Zum Feinbau des Subfornikalorgan der Katze, III. Nerven und Gliazellen. *Schweiz. Arch. Neurol. Neuroch. Psychiat.* 100:232-254, 1967.
- PHILLIPS, M.I.; BALHORN, L.; LEAVITT, M.; HOFFMANN, W. Scanning electron microscope study of the rat subfornical organ *Brain Res.* 80:95-100, 1974.
- PHILLIPS, M.I. & FELIX, D. Specific angiotensin II receptive neurons in the cat subfornical organ. *Brain Res.* 109:531-535, 1976.
- PINES, L. & MAIMAM, R. Weitere Beobachtungen über das subfornicale Organ des dritten Ventrikels der Säugetiere. *Anat. Anz.* 64:424-437, 1927.
- PUTNAN, T.J. The intercolumnar tubercle, an undescribed area in the anterior wall of the third ventricle. *John Hopkins Hosp. Bull.* 38:181-182, 1922.
- QUIRION, R.; DALPE, M.; DE LEAN, A.; GUTKOWSKA, J.; CANTIN, M.; GENEST, J. Atrial natriuretic factor binding sites in brain in and related structures. *Peptide* 5:1167-72, 1984.
- RABL, R. Das Subfornikalorgan des Menschen. *J. Hirnforch.* 8:529-545, 1966.
- ROBERTSON, A.; KUCHARCZYK, J.; MOGENSEN, G.J. Drinking behaviour following electrical stimulation of the subfornical organ in the rat. *Brain Res.* 274:197-200, 1983.
- ROHR, V.U. Zum Feinbau des Subfornikal-organs der Katze. I. Der Gefaessapparat. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 73:246-271, 1966a.

- ROHR, V.U. Zum Feinbau des Subfornikal Organs der Katze: II. Neurosekretorische Aktivitat. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 75:11-34, 1966b.
- ROMEIS, B. *Guia-Formulário de Técnica Histológica*. Barcelona: Editorial Labor, 1928, 722 p.
- ROULEAU, M.F.; WARSHAWSKY, H.; GOLTZMAN, D. Specific receptors for calcitonin in the subfornical organ of the brain. *Brain* 107: 107-114, 1984.
- RUDERT, H.; SCHWINCK, A.; WETZSTEIN, R. Die Feinstruktur des Subfornikalorgans beim Kaninchen. I. Die Blutgefasse. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 74:252-270, 1966.
- RUDERT, H.; SCHWINCK, A.; WETZSTEIN, R. Die Feinstruktur des Subfornikalorgans beim Kaninchen. II. Das neuronale und gliale Gewebe. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 88:145-149, 1968.
- SAPER, C.B. & LEVISOHN, D. Afferent connections of the median preoptic nucleus in the rat: anatomical evidence for a cardiovascular integrative mechanism in the anteroventral third ventricularf (AV3V) region. *Brain Res.* 288:21-31, 1983.
- SCHALTENBRAND, G. & WAHREN, W. *Atlas for stereotaxy of the human brain*. 2 Ed., Stuttgart: G. Thieme Pub., 1977, 69 p.
- SCEVOLA, D. Ricerche istologiche sull'organo sottofornicale del terzo ventricolo. *Monit. Zool. Ital.* 49 (Suppl.):146-150, 1939.
- SCEVOLA, D. Ulteriori indagini sulla struttura e morfogenesi dell'organo sottofornicale. *Arch. Ital. Anat. Embriol.* 45:195-205, 1941.
- SCHINKO, I., ROHRSCHEIDER, I.; WETZSTEIN, R. Elektronen-Mikroskopische Untersuchungen am Subfornikalorgan der Maus. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 123:277-294, 1972.
- SCHNEIDER, F.L. O Órgão subfornicial do rato. Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Neuroanatomia, UFRGS, Diss. Mestr. Neuroanatomia, 80 p., Porto Alegre, 1982.
- SGRO, S.; FERGUSON, A.V.; RENAUD, L.P. Subfornical organ-supraoptic connections: an electrophysiological study in the rat. *Brain Res.* 303:7-13, 1984.
- SHIOYA, M. & TANAKA, J. Inputs from the nucleus of the solitary tract to subfornical organs neurons projecting to the paraventricular nucleus in the rat. *Brain Res.* 483:192-195, 1989.
- SIMIONESCU, N. & SIMIONESCU, M. The cardiovascular System. In: *Histology, Cell and Tissue Biology*, 5th Edition, Weiss, L.; New York: The Macmillan Press, 371-434, 1983.

- SIMPSON, J.B. & ROUTTENBERG, A. The subfornical organ and carbachol-induced drinking. *Brain Res.* 45:135-152, 1972.
- SIMPSON, J.B. & ROUTTENBERG, A. Subfornical organ: site of drinking elicitation by angiotensin II. *Science* 181:1172-1175, 1973.
- SMITH, G.E. Further observations upon the fornix with special reference to the brain of *Nyctophilus*. *J. Anat. Physiol.* 32:231-246, 1898.
- SPIEGEL, E. Das Ganglion psalterii. *Anat. Anz.* 51:454-462, 1918.
- SPIEGEL, E. Zur Frage der Identität von Ganglion psalterii, Intercolumnar Tubercle und Subfornikalen Organ des dritten Ventrikels. *Z. Anat. Entwicklungs. Gesch.* 107:154, 1937.
- SPOERRI, O. Über die Gefassversorgung des Subfornikalorgans der ratte. *Acta Anat. (Basel)* 54:333-348, 1963.
- SPOSITO, N.M. & GROSS, P. Topography and morphometry of capillaries in the rat subfornical organ. *J. Comp. Neurol.* 260:36-46, 1987.
- STEPHAN, H. & JANSSEN, P. Recherches sur le cerveau de l'éléphant d'Afrique (*Loxodonta africana* Blum). *Acta Neuro. Psychiat. Belg.* 56:789-812, 1956.
- SUMMERLEE, A.J.; O'BYRNE, K.T.; JONES, S.A.; ELTRINGHAM, L. The subfornical organ and relaxin-induced inhibition of reflex ejection in lactating rats. *J. Endocrinol.* 115: 347-353, 1987.
- SWANSON, L.W. & LIND, R.W. Neural projections subserving the initiation of a specific motivated behavior in the rat: new projections from the subfornical organ. *Brain Res.* 379:399-403, 1986.
- TANDLER, J. & KANTOR, H. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Vertebratengehirns. I. Die Entwicklungsgeschichte des Geckogehirns. *Anat. Hefte* 33:554-664, 1907.
- TANAKA, J., KABA, H., SAITO, H & SETO, K. Electrophysiological evidence that circulating angiotensin II sensitive neurons in the subfornical organ alter the activity of hypothalamic paraventricular neurohypophyseal neurons in the rat. *Brain Res.* 342: 361-365, 1985.
- TESTUT, L. *Traité d'Anatomie Humaine*. 7ed. v. 2. Paris: Gaston Doin Éditeur, Paris, 1921, 1067p.
- VAN HOUTEN, M.; SCHIFFRIN, E.L.; MANN, J.F.E.; POSNER, B.I.; BOUCHER, R. Radioautographic localization of specific binding si-

- tes for blood-borne angiotensin II in the rat brain. **Brain Res.** 186 :480-485, 1980.
- WATERMANN, R. Über das Verkommen von interstitiellen Vakuolen in Subfornikalen Organ. **Deutsch. Z. Nervenheilk.** 174:593-596, 1956.
- WATERMANN, R. Interventrikularorgan und Trigonum Supracommissurale **Anat. Anz.** 117:261-279, 1965.
- WEINDL, A. Zur Morphologie und Histochemie von Subfornikalorgan, Organum Vasculosum Laminae Terminalis und Area Postrema Bei Kaninchen und Ratte. **Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.** 67:740-755, 1965.
- WEINDL, A. Neuroendocrine aspects of circumventricular organs. In W.F. GANONG and L. MARTINI (eds): **FRONTIERS IN NEUROENDOCRINOLOGY.** New York: Oxford, pp 3-32, 1973.
- WEINDL, A. & JOYNT, R.J. Ultrastructure of the ventricular walls. **Arch. Neurol. (Chic.)** 26:420-427, 1972.
- WILDER, B.G. Neural terms, international and national. **J. Comp. Neurol.** 6: 216-352, 1896.
- WISLOCKI, J.B. & LEDUC, E.H. Vital staining of hematoencephalic barrier by silver nitrate and trypan blue, and cytological comparisons of the neurohypophysis, pineal body, area postrema, intercolumnar tubercle and supraoptic crest **J. Comp. Neurol.** 96:371-413, 1952.
- YAMADA, H. & HASUNUMA, S. Finer structure of the subfornical organ (intercolumnar tubercle) of the dog. **Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.** 2(1):67-75, 1955.
- ZARDETTO-SMITH, G. & WATSON, C. A direct neural projection from the nucleus of the solitary tract to the subfornical organ in the rat. **Neurosci. Lett.** 80:163-166, 1967.