

RODOLFO MALAGÓ

AUTOTRANSPLANTE EXPERIMENTAL DE BAÇO

CAMPINAS

Unicamp

2008

RODOLFO MALAGÓ

AUTOTRANSPLANTE EXPERIMENTAL DE BAÇO

Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Cirurgia, área de concentração Pesquisa Experimental

ORIENTADOR: Prof. Dr. NELSON ADAMI ANDREOLLO

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. NORAIR SALVIANO DOS REIS

CAMPINAS

Unicamp

2008

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

M294a Malagó, Rodolfo
Autotransplante experimental de baço / Rodolfo Malagó. Campinas,
SP: [s.n.], 2008.

Orientadores: Nelson Adami Andreollo, Norair Salviano dos Reis
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Transplante Autólogo. 2. Baço. 3. Esplenectomia. 4. Rato como
animal de laboratório. I. Andreollo, Nelson Adami. II. Reis, Norair
Salviano dos. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Ciências Médicas. IV. Título.

Título em inglês: Experimental Autotransplant of Spleen

Keywords: • Transplantation, Autologus
• Spleen
• Splenectomy
• Rat

Titulação: Mestre em Cirurgia

Área de concentração: Pesquisa Experimental

Banca examinadora:

Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo

Profa. Dra. Ilka de Fátima Santana Ferreira Boin

Prof. Dr. José Meciano Filho

Data da defesa: 28 - 02 - 2008

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador: Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo

Membros:

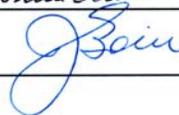
1. Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo



2. Prof. Dr. José Meciano Filho



3. Prof^a. Dr^a. Ilka de Fátima Santana Ferreira Boin



Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 28/02/2008

Dedicatória

*Mãe,
sinal de força,
palavra de esperança,
que nos aconchega
nos momentos mais difíceis,
a ti dedico.*

Aos Professores
NELSON ADAMI ANDREOLLO
e
NORAIR SALVIANO DOS REIS

*“Leve os jovens a enxergar os singelos momentos,
a força que surge nas perdas,
a segurança que brota no caos,
a grandeza que emana dos pequenos gestos...”*

*Educar
é ser um artesão da personalidade,
um poeta da inteligência,
um semeador de idéias.”*

(Augusto Cury)

AGRADECIMENTOS

À **Família**, pelos exemplos de dignidade e honestidade.

À **Carolina Resck Sirineu**, pelo amor, paciência e valiosos estímulos durante nossa trajetória.

À **Maria Cristina Costa Resck**, por me ensinar a organizar os pensamentos, administrar as emoções, ser líder de mim mesmo, superar perdas e frustrações.

À **Taís Maria Pinheiro Soares**, pelas risadas e momentos de descontração ao longo do nosso caminho acadêmico.

Ao **Thiago Pires Anacleto**, pela amizade e troca de experiências profissionais.

À **Claudia Beatriz Muros de Carvalho**, amiga e irmã de todos os momentos, pela esperança de melhores dias e incentivo na vida profissional.

À **Karine Helena Theodoro**, amiga e companheira no convívio profissional, pela sinceridade e pelas conversas científicas produtivas.

À **Roseane de Souza Cândido Irulegui**, pelo valioso apoio na leitura das lâminas histológicas.

Ao **Luis Donizete dos Santos Junior**, pela disponibilidade e companhia no levantamento bibliográfico.

À **Marina Rachel Araújo**, bióloga do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da FCM – UNICAMP, pela imensa alegria que irradia de seu coração, pelos auxílios na pesquisa experimental e pela amizade sincera.

À **Maria Madalena de Abreu Rodrigues**, técnica do laboratório do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da FCM – UNICAMP, pela disponibilidade e dedicação nos procedimentos cirúrgicos e cuidados pós-operatórios com os animais.

À **Vera Maria Barbosa**, secretária da pós-graduação em cirurgia, pela disposição e prontidão em ajudar nos assuntos acadêmicos.

Ao **Adilson Abílio Piazza**, técnico de laboratório, pela sua importante contribuição na digitalização das imagens fotográficas.

Ao **Departamento de estatística da FCM – UNICAMP**, pela elaboração da análise estatística.

À **Faculdade de Ciências Médicas FCM – UNICAMP**, pela oportunidade e apoio no desenvolvimento científico.

Ao **Centro Universitário de Itajubá**, instituição que me acolheu e depositou confiança no meu profissionalismo.

À **Capes** pelo auxílio financeiro da pesquisa.

*Acredite,
é hora de vencer,
Essa força vem de
dentro de você,
Você pode até
tocar o céu
se crer.*

*Acredite
que nenhum de nós,
Já nasceu com jeito pra
super herói,
Nossos sonhos
a gente é quem constrói,
É vencendo os limites,
escalando as fortalezas,
Conquistando o impossível
pela fé.*

BENO CÉSAR E SOLANGE DE CÉSAR

	Pág.
RESUMO	xviii
ABSTRACT	xxi
1- INTRODUÇÃO	24
1.1- Revisão de Literatura	26
1.2- Objetivo	34
2- MATERIAL E MÉTODOS	35
2.1- Animais e ambiente de experimentação	36
2.1.1- Acondicionamento.....	36
2.1.2- Alimentação.....	36
2.2- Grupo de animais	36
2.2.1- Grupo I.....	36
2.2.2- Grupo II.....	37
2.2.3- Grupo III.....	37
2.2.4- Grupo IV.....	37
2.3- Material cirúrgico	37
2.4- Anestesia	38
2.4.1- Condições pré-anestésicas.....	38
2.4.2- Procedimento anestésico.....	38
2.5- Procedimento cirúrgico	38
2.5.1- Esplenectomia total.....	38
2.5.2- Técnica do autotransplante esplênico.....	39
2.5.2.1- Grupo II – Reimplante livre na cavidade peritoneal.....	39

2.5.2.2- Grupo III – Reimplante no epíplon.....	41
2.5.2.3- Grupo IV – Reimplante na raiz do mesentério.....	42
2.6- Cuidados pós-operatórios.....	42
2.7- Eutanásia dos animais e remoção dos fragmentos.....	45
2.8- Conservação e processamento do material.....	45
2.9- Estudo histológico.....	45
2.10- Análise estatística.....	46
3- RESULTADOS.....	48
3.1- Análise do peso do baço por grupo.....	49
3.2- Análise do tamanho do baço por grupo.....	49
3.3- Análise do peso dos animais, por grupo, no pré e pós-operatório.....	49
3.4- Análise do peso dos fragmentos dos baços, por grupo, no pré e pós-operatório.....	50
3.5- Análise do tamanho dos fragmentos dos baços, por grupo, no pré e pós-operatório.....	52
3.6- Análise macroscópica dos implantes.....	53
3.7- Análise histológica qualitativa.....	56
3.7.1- Análise histológica dos fragmentos de baço normal (Grupo I).....	56
3.7.2- Análise histológica dos fragmentos de baço reimplantados na cavidade (Grupo II).....	57
3.7.3- Análise histológica dos fragmentos de baço reimplantados no epíplon (Grupo III).....	57
3.7.4- Análise histológica dos fragmentos de baço reimplantados no mesentério (Grupo IV).....	57
3.8- Análise histológica quantitativa.....	65
3.8.1- Análise da contagem do número de linfócitos por grupo.....	65

3.8.2- Análise da contagem do número de macrófagos ativo por grupo.....	65
3.8.3- Análise da contagem do número de macrófagos fagocitando hemossiderina por grupo.....	66
3.8.4- Análise da contagem do número de células endoteliais por grupo.....	66
3.8.5- Análise da contagem do número de espaço intersticial por grupo.....	66
3.8.6- Análise da contagem do número de plasmócitos por grupo.....	66
3.8.7- Análise da contagem do número de fibras de colágeno por grupo.....	67
3.8.8- Análise da contagem do número de fibroblastos por grupo.....	67
3.8.9- Análise da contagem do número de células gigantes tipo corpo estranho por grupo.....	67
3.8.10- Análise da contagem do número de fibrócitos por grupo.....	67
3.8.11- Análise da contagem do número de monócitos por grupo.....	67
4- DISCUSSÃO.....	68
4.1- Modelo experimental.....	69
4.2- Aspectos gerais dos autotransplantes.....	69
4.2.1- Peso dos implantes.....	69
4.2.2- Tamanho dos implantes.....	71
4.2.3- Formato dos implantes.....	72
4.2.4- Número de implantes.....	72
4.3- Aspectos histológicos dos autotransplantes.....	73
4.4- Autotransplante versus local de implantação.....	75
4.5- Resultados do presente trabalho versus literatura.....	78
5- CONCLUSÃO.....	83
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85
7- APÊNDICES.....	89

LISTA DE ABREVIATURAS

CEMIB Centro de Bioterismo da UNICAMP

et al. e outros

cm centímetros

g gramas

H.E. hematoxilina eosina

mg miligramas

mm milímetros

mm² milímetros quadrado

n^o número

TC^{99M} marcado com tecnécio-99

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 Estatísticas descritivas da variável peso do baço, por grupo.....	91
Tabela 2 Estatísticas descritivas da variável tamanho do baço, por grupo.....	91
Tabela 3 Estatística descritiva da variável peso do rato, por grupo e tempo.....	91
Tabela 4 Resultados da análise de variância do peso do rato com um fator repetido.....	91
Tabela 5 Estatísticas descritivas da variável peso do fragmento do baço, por grupo e tempo.....	92
Tabela 6 Resultados da análise de variância do peso do fragmento do baço com um fator repetido.....	92
Tabela 7 Estatísticas descritivas da variável tamanho do fragmento do baço, por grupo e tempo.....	93
Tabela 8 Resultados da análise de variância do tamanho do fragmento do baço com um fator repetido.....	93
Tabela 9 Relação dos pesos dos ratos, pesos dos baços, pesos dos fragmentos de baços, tamanho dos baços, tamanho dos e fragmentos de baços, pré-implante e pós-implante na cavidade peritoneal.....	94
Tabela 10 Relação dos pesos dos ratos, pesos dos baços, pesos dos fragmentos de baços, tamanho dos baços e tamanho dos fragmentos de baços, pré e pós-implante no omento maior.....	95
Tabela 11 Relação dos pesos dos ratos, pesos dos baços, pesos dos fragmentos de baços, tamanho dos baços e tamanho dos fragmentos de baços, pré e pós-implante no mesentério.....	96
Tabela 12 Análise descritiva da contagem de linfócitos entre os grupos.....	97

Tabela 13	Análise descritiva da contagem de macrófagos ativos entre os grupos.....	97
Tabela 14	Análise descritiva da contagem de macrófagos fagocitando hemossiderina entre os grupos.....	97
Tabela 15	Análise descritiva da contagem de células endoteliais entre os grupos.....	97
Tabela 16	Análise descritiva da contagem de espaços intersticiais entre os grupos.....	98
Tabela 17	Análise descritiva da contagem de plasmócitos entre os grupos.....	98
Tabela 18	Análise descritiva da contagem de fibras de colágeno entre os grupos.....	98
Tabela 19	Análise descritiva da contagem de fibroblastos entre os grupos.....	98
Tabela 20	Análise descritiva da contagem de células gigantes tipo corpo estranho entre os grupos.....	99
Tabela 21	Análise descritiva da contagem de fibrócitos entre os grupos.....	99
Tabela 22	Análise descritiva da contagem de monócito entre os grupos.....	99

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Esplenectomia total do baço.....	40
Figura 2 Retirada do excesso de sangue do baço.....	40
Figura 3 Pesagem do baço e fragmentos.....	41
Figura 4 Fragmentação do baço.....	41
Figura 5 Grupo II- Reimplante do fragmento de baço na cavidade peritoneal.....	42
Figura 6 Grupo III- Reimplante do fragmento de baço no epíplon.....	43
Figura 7 Grupo III- Sutura do epíplon em forma de bolsa.....	43
Figura 8 Grupo IV- Exposição da raiz do mesentério para reimplante do fragmento de baço.....	44
Figura 9 Grupo IV- Reimplante do fragmento de baço na raiz do mesentério.....	44
Figura 10 Retículo anexado à foto do corte histológico do fragmento.....	47
Figura 11 Enxerto do grupo II após 24 semanas de implantação.....	53
Figura 12 Enxerto do grupo III após 24 semanas de implantação.....	54
Figura 13 Enxerto do grupo IV após 24 semanas de implantação.....	54
Figura 14 Enxerto do grupo II com presença de neovascularização.....	55
Figura 15 Massa nodular encapsulada com presença de material caseoso.....	55
Figura 16 Massa nodular encapsulada retirada do epíplon.....	56
Figura 17 Grupo I- Polpa branca no arranjo de folículos linfóides com a arteríola excêntrica.....	58
Figura 18 Grupo I- Polpa branca com presença de bainha linfóide periarteriais....	59

Figura 19	Grupo I- Polpa vermelha com presença de macrófagos de tamanhos variados e material acastanhado no citoplasma.....	59
Figura 20	Grupo I- Polpa vermelha com presença de plasmócito.....	60
Figura 21	Grupo I- Polpa vermelha com presença de célula gigante tipo corpo estranho.....	60
Figura 22	Grupo I- Eritrócitos circunscritos aos sinusóides e espalhados entre os cordões celulares.....	61
Figura 23	Grupo II- Polpa branca preservada na forma de bainha linfóide periarteriolas.....	61
Figura 24	Grupo II- Eritrócitos confinados aos sinusóides e também no interstício.....	62
Figura 25	Grupo III- Polpa branca com formação de bainha linfóide e presença de arteríola central.....	62
Figura 26	Grupo III- Polpa vermelha em aspecto cordonal, com presença de macrófagos ativados e gigantócito.....	63
Figura 27	Grupo IV- Depleção de polpa branca e polpa vermelha com presença de grandes macrófagos fagocitando hemossiderina.....	63
Figura 28	Grupo IV- Presença de células grandes com cromatina frouxa e nucléolo evidente.....	64
Figura 29	Grupo IV- Polpa branca preservada com melhor arranjo celular.....	64
Figura 30	Grupo IV- Tecido pericapsular com presença de vaso íntegro.....	65

LISTA DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 1 Box-plot da variável peso do rato, por grupo e tempo.....	50
Gráfico 2 Box-plot da variável peso do fragmento de baço, por grupo e tempo.....	51
Gráfico 3 Box-plot da variável tamanho do fragmento de baço, por grupo e tempo.....	52

RESUMO

O baço é um órgão linfóide que tem importante papel na defesa dos organismos, participando no processo de filtração, fagocitose e produção de imunoglobulinas. Histologicamente é formado pelo estroma e o parênquima, sendo seu arranjo celular diferenciado em polpas branca e vermelha. Os principais tipos celulares na estrutura esplênica são: linfócitos T e B, macrófagos, plasmócitos, fibrócitos, reticulócitos e células dendríticas. Os doentes vítimas de traumatismos esplênicos e esplenectomizados assumem um estado de asplenia e conseqüentemente adquirem grande susceptibilidade à sepse a qual pode ser rapidamente progressiva e fatal. Assim, têm surgido opções terapêuticas após as esplenectomias, utilizando técnicas cirúrgicas conservadoras (tratamento conservador, esplenectomia parcial e esplenorrafias com ou sem aplicação de agentes hemostáticos) e por fim as técnicas de autotransplante esplênico. Os objetivos desta pesquisa experimental foram analisar macro e microscopicamente a evolução tardia do autotransplante de fragmentos de baço na cavidade peritoneal, epíplon e mesentério, após 24 semanas de observação. Foram utilizados 52 ratos Wistar, machos e adultos, submetidos a esplenectomia total e divididos em quatro grupos. O grupo I (controle) foi formado por oito animais escolhidos aleatoriamente entre os três grupos estudados. O grupo II por dezessete animais com implante de fragmento de baço solto na cavidade peritoneal; grupo III por dezoito animais com implante no epíplon e o grupo IV por dezessete animais com implante fixado na raiz do mesentério. Na avaliação histológica foram adotados critérios qualitativos e quantitativos, com a contagem de elementos celulares e não celulares. Os resultados mostraram que se formaram aderências aos tecidos adjacentes e neovascularização em todos os fragmentos transplantados. O grupo II apresentou polpa branca e vascularização preservadas. No grupo III foram observados polpa branca com formações folicular e bainha linfóide, e a polpa vermelha em aspecto cordonal apesar de hemorrágica. No grupo IV foram observados alguns cortes histológicos com depleção de polpa branca e vermelha, enquanto outros evidenciavam melhor preservação das polpas. A contagem de linfócitos revelou diferença significativa entre os grupos I e II e o grupo I e IV ($p < 0,05$). A contagem de macrófagos ativos revelou diferença significativa entre os grupos III e IV ($p < 0,05$) e similaridade entre I e III ($p > 0,05$). Os outros elementos: macrófagos ativos fagocitando hemossiderina, plasmócitos, fibroblastos, fibrócitos, células gigantes, monócitos, espaços intersticiais e fibras de colágeno, não apresentaram diferença significativa entre os grupos.

O autotransplante esplênico é factível, sendo o grande epíplon o melhor local para a sua fixação. Esta pesquisa demonstrou por meio de análise histológica qualitativa e quantitativa que o tecido esplênico autotransplantado no epíplon preserva sua função de defesa dos organismos.

ABSTRACT

The spleen is a lymphoid organ that plays important part in the organism defense, participating in filtration processes, phagocytosis and immunoglobulin production. Histologically, is formed by a stroma and the parenquima being its cellular arrangement differentiated in white and red pulps. The main cellular types in the splenic structure are: T and B lymphocytes, macrophages, plasmocytes, fibrocytes, reticulocytes and dendritic cells. The patients victims of spleen traumatism and splenectomized assume an asplenia state and consequently they acquire a larger susceptibility to the sepsis, which can be quickly progressive and fatal. Thus, it has appeared therapeutic options after the splenectomies, using techniques of conservative surgery (conservative treatment, partial splenectomies and splenorrhaphies with or without application of haemostatics agents), as well as techniques of splenic autotransplantation. The objectives of the research were to evaluate macro and microscopically the late evolution of the fragments of spleen autotransplanted in the greater omentum, mesenterium and peritoneal cavity, after 24 weeks of observation. To perform the experimental study, were employed fifty two Wistar rats, males and adults, submitted to total splenectomy and divided in four groups. The group (control) I was formed by eight animals chosen aleatorily among the three groups studied. The group II - seventeen animals with implant of spleen fragment in the peritoneal cavity; group III - eighteen animals with implant in the omentum and group IV - seventeen animals with implant fixed in mesenterium root. In the histological analysis were adopted qualitative and quantitative criteria, with the counting of no cellular e cellular elements. The results showed adherences to the adjacent tissues and vascularization in all of the fragments transplanted. The group II presented white pulp and preserved vascularization. The group III showed white pulp with follicular formations and lymphoid tissue preserved, and the red pulp in cordon aspect and hemorrhagic. The group IV presented depletion of white and red pulp, while others evidenced better preservation of the pulps. The counting of lymphocytes revealed significant difference between the groups I and II and the group I and IV ($p < 0.05$). The counting of active macrophages revealed significant difference between the groups III and IV ($p < 0.05$) and similarity between I and III ($p > 0.05$). The other elements: active macrophages phagocytizing hemosiderine, plasmocytes, fibroblasts, fibrocytes, giant cells, monocytes, interstitial spaces and fibers of collagen, did not show significant difference among the groups. The splenic autotransplantation is feasible, being the

better place the greater omentum. This research demonstrated through qualitative and quantitative histological analysis that the splenic tissue autotransplanted in the omentum of Wistar rats preserves its function of defense of the organisms.

1- INTRODUÇÃO

Na década de 80, aproximadamente 80% das contusões, provenientes de traumatismos abdominais, foram responsáveis pela lesão do baço. Nas contusões abdominais outros órgãos associados como o fígado e o intestino delgado sofreram lesões com maior frequência, sendo que o baço na casuística global representou o terceiro órgão mais atingido (Kobata et al., 1986). Com a elevada incidência de lesões abdominais associadas às do baço, tanto em ferimento como em contusões, levam os respectivos pesquisadores a questionarem: em que situações pode-se optar pelo tratamento conservador do baço?

A esplenectomia foi o procedimento adotado no século XIX para o tratamento dos traumas abdominais com comprometimento da integridade esplênica, inclusive recomendado pelos livros textos de cirurgia: “esplenectomia é o tratamento recomendável, indiferentemente do tipo de extensão do trauma esplênico” (Schwartz, 1976).

O baço desempenha importante função de defesa do organismo, participando de processos de filtração e fagocitose, e produção de imunoglobulinas. Os pacientes com de traumatismos de baço assumem um estado de asplenia e conseqüentemente ficam com maior susceptibilidade aos quadros de sepse, podendo ser rapidamente progressiva e fatal, sobretudo com maior incidência em crianças e pacientes portadores de hemopatias. Por este motivo é que têm surgido várias atitudes terapêuticas frente aos traumatismos esplênicos, desenvolvendo-se várias técnicas de cirurgia conservadora (tratamento conservador, esplenectomias parciais e esplenorrafia com ou sem aplicação de agentes hemostáticos), assim como técnicas de autotransplante esplênico (Petroianu, 2003).

Assim, na tentativa de se restabelecer essas funções em indivíduos esplenectomizados, os implantes autólogos têm sido realizados com sucesso em estudos experimentais. A literatura é rica nos trabalhos experimentais e clínicos, mostrando a eficácia do enxerto autólogo de baço na proteção do organismo contra infecções.

Diversos fatores influenciam a viabilidade do implante, tais como o seu tamanho, formato e localização. Várias técnicas já foram adotadas, podendo-se implantar $\frac{1}{4}$ do tecido esplênico (Lau e Ong, 1982), a parte central do órgão (Sotelo et al., 1983) ou 50% do tecido esplênico normal (Rodrigues Jr. et al., 1987). Alguns autores preconizam o autotransplante na forma de fatias, com a justificativa de que é melhor para manter a função esplênica de filtro, porque se conserva a arquitetura do baço (Torres et al., 1994).

Quanto à localização dos implantes, vários locais têm sido estudados, como o epíplon, cavidade peritoneal, loja esplênica, retroperitônio, intraportal, bainhas do músculo reto abdominal, axilas e subcutâneo de parede abdominal. O epíplon tem várias vantagens, como a vascularização acentuada permitindo grande aporte sanguíneo, que é resultado essencial para a adequada vascularização o que evita a migração do implante e a permanência do baço no território portal. (Paredes et al., 1992).

Atualmente, dois aspectos importantes são relatados para o autotransplante esplênico: a efetiva capacidade de regeneração do órgão e o melhor sítio para transplantação (Marques et al., 2002).

Os estudos histológicos do implante esplênico revelam duas fases distintas: uma fase degenerativa onde o fragmento perde peso e uma fase regenerativa (Tavassoli et al., 1973). A redução da polpa branca tem sido observada em estudos com ratos, sendo que a sua regeneração mais tardia, em relação à polpa vermelha, provavelmente aconteça pelo fato da neovascularização do implante ocorrer da periferia da polpa vermelha para o centro da polpa branca (Marques et al., 2002). Desta forma, o período de recuperação do tecido esplênico implantado é muito variável podendo prolongar-se por até seis meses (Petroianu, 2003).

Rezende et al.(1990) concluem em sua pesquisa que o epíplon como sítio de enxertia e a implantação de fragmento íntegro favorecem os melhores resultados. E, por estes motivos, sugerem que a realização de pesquisas futuras para obtenção de resultados satisfatórios devam ser cerca de seis meses após o enxerto autólogo de baço. Novas variáveis na avaliação da função esplênica após o auto-enxerto merecem estudo detalhado, como: proximidade aos grandes vasos, envolvimento completo ou parcial pelo epíplon, a massa crítica para enxertia, estudo comparativo dos vários sítios receptores, utilizando padrões imunológicos, além do destino, sob ponto de vista estatístico, do enxerto colocado livremente na cavidade peritoneal.

1.1- Revisão de Literatura

O baço é um órgão linfóide pertencente ao sistema imune, classificado como periférico ou secundário, cuja principal característica anatomo-fisiológica é estar interposto na corrente circulatória. Suas principais funções são: produção de linfócitos; hemocaterese,

ou seja, faz a remoção e destruição de eritrócitos velhos do sangue periférico, permite a recirculação do íon ferro enviando-o à medula hematopoética para a produção de novas moléculas de hemoglobina; remove também microrganismos e faz parte do “pool” periférico de armazenamento de sangue, sendo esta última função, particularmente, melhor desenvolvida no camundongo e no rato (Petroianu, 2003).

Histologicamente é formado por um estroma e pelo parênquima. O estroma é constituído por uma cápsula fibromuscular que reveste o órgão por completo e emite trabéculas para o seu interior, tentando a septação que é incompleta. A cápsula é formada por fibras de colágeno tipo I e células musculares lisas. O estroma também é formado por colágeno III, também chamado de fibra reticular ou argentófilo. É reticular porque forma uma delicada rede de sustentação do parênquima e argentófilo por sua capacidade de reduzir o nitrato de prata (incolor), resultando em precipitado negro que desenha todo o trajeto fibrilar (Junqueira e Carneiro, 2004; Samuelson, 2007).

O parênquima é a parte nobre e traduz a organização citológica do baço. Assim, os tipos celulares presentes na estrutura esplênica são: linfócitos T e B com distribuição peculiar, macrófagos, plasmócitos, células reticulares que também fazem parte do estroma e células dendríticas (Junqueira e Carneiro, 2004; Samuelson, 2007).

Os linfócitos são leucócitos que circulam na corrente sangüínea e dirigem-se aos órgãos linfáticos secundários após sofrerem maturação no timo e medula óssea. Os linfócitos que amadurecem no timo são chamados de linfócitos T e os que passam pelo tecido da medula óssea, linfócitos B. Os linfócitos T, por meio de receptores específicos, desempenham no organismo diversas funções: agressão celular; produção de linfocinas; destruição de bactérias e células provenientes de enxertos com alótipos diferentes presentes nos receptores e função de células de memória imunológica. Enquanto que os linfócitos B são capazes de se diferenciar em plasmócitos secretores de imunoglobulinas (Petroianu, 2003).

Os macrófagos podem ser encontrados em outros tecidos do organismo, como no fígado, pulmões, sistema nervoso e tecido conjuntivo. Entre suas funções destacam-se: fagocitose, apresentação de antígenos aos linfócitos T e B, secreção de fatores inflamatórios e enzimas, ação tumoricida e modulação da resposta imune (Petroianu, 2003).

Os plasmócitos são originados da diferenciação dos linfócitos B, apresentam grande quantidade de ribossomos e abundante retículo endoplasmático, responsáveis pela produção de imunoglobulinas ou anticorpos (Petroianu, 2003).

Diferentemente de outros órgãos linfóides, como o timo e o linfonodo, cuja organização do tecido linfóide nodular e ou cordonal faz-se em regiões cortical e medular, no baço o arranjo tissular é feito segundo as polpas branca e vermelha. A polpa branca se apresenta formada por bainha linfóide periarterial, bainha linfóide periarteriolar e os corpúsculos esplênicos ou de Malpighi, enquanto a polpa vermelha está constituída pelos cordões linfóides esplênicos ou de Billroth (Petroianu, 2003).

As pesquisas de autotransplantes esplênicos realizadas, a partir do século XIX, podem ser classificadas em duas linhas diferentes de trabalhos, os clínicos e experimentais. Dentre os trabalhos clínicos podemos destacar os seguintes autores:

Em 1911, Faltin¹, levantou a primeira suspeita de auto-enxerto de tecido esplênico na cavidade peritoneal de um jovem de 19 anos de idade, com diagnóstico de apendicite crônica, observando uma série de nódulos implantados que, ao microscópio, revelaram estrutura esplênica. Como o paciente tinha histórico de esplenectomia, por rotura de baço, correlacionou os fatos e introduziu o problema do enxerto autólogo.

Buchbinder e Lipkoff (1939) durante procedimento cirúrgico observaram múltiplos implantes peritoneais, que ao exame anatomo-patológico foram diagnosticados como tecido esplênico e desta forma introduziram o termo esplenose para descrevê-los.

Bunch e Spivey (1946) descrevem que o auto-enxerto esplênico em pacientes com ruptura de baço espalha-se por diversos pontos de acordo com a gravidade, possuem formato variado, não apresentam hilo e a cápsula esplênica, quando presente, só os envolve em partes. A análise microscópica revela que a estrutura parenquimatosa imita a polpa normal e os vasos sanguíneos são irregulares em sua penetração.

Na literatura nacional o primeiro relato de auto-enxerto de baço foi de Sampaio (1950). Durante uma apendicectomia de um paciente com histórico de esplenectomia há 10 anos, encontrou nódulos vermelho-escuros de consistência mole espalhando-se pelo

¹Faltin R apud Rezende AM. Enxerto autólogo de baço estudo comparativo e experimental no abdome [Tese-Mestrado]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais; 1989.

mesentério, ceco, íleo terminal e peritônio posterior. O exame microscópico revelou tratar-se de tecido esplênico.

Tschakarov et al.² (1975) realizaram enxerto autólogo de baço no epíplon, com aproximadamente 5 a 20 % do peso do baço dividido em fatias de dois a três milímetros de espessura, em 11 pacientes com rotura traumática. Clinicamente e por meio de exames laboratoriais nove pacientes se mostraram sem sinais de asplenia e dois com hipoesplenismo.

Em 1980, Galvão e Azevedo, em experiência inicial, realizavam enxerto autólogo de baço na loja esplênica e no músculo reto abdominal com fragmento íntegro do tecido.

Willians et al. (1982) fizeram enxerto autólogo com fatias de tecido esplênico de 3 mm de espessura e peso de 20 gramas. O sítio de enxertia escolhido pelos autores foi o epíplon, pois os fragmentos estariam dentro do sistema porta. A técnica de fatias preserva a arquitetura sinusoidal do baço que é importante para a função de filtração, além das lâminas de pouca espessura prevenir a necrose e perda do enxerto.

Kusminsky et al. (1982), após cinco meses de cirurgia, constataram em 11 pacientes a existência de função do auto-enxerto esplênico fatiado realizado no epíplon.

Weber et al. (1998) relatam a avaliação tardia de oito pacientes submetidos ao autotransplante esplênico no epíplon. Os intervalos entre o autotransplante e a avaliação médica variaram de 1,2 a 9,2 anos. Foram empregadas as técnicas cintilográficas, ultrassonográficas, assim como as avaliações imunológicas.

Knezevic et al. (2002) executou a autotransplantação em 12 pacientes com ruptura isolada de baço e hemoperitônio, sendo que em oito pacientes um fragmento era colocado no epíplon, três outros dentro do tecido adiposo que circunda o fígado e um dentro da parede abdominal anterior.

Recentemente, Petroianu e Petroianu (2005), utilizam a técnica de autotransplante esplênico para o tratamento de hipertensão portal. Seus estudos relatam 43 casos de hipertensão portal secundária à esquistossomose, os quais foram submetidos à

²Tschakarov et al. apud Rezende AM. Enxerto autólogo de baço estudo comparativo e experimental no abdome [Tese-Mestrado]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais; 1989.

esplenectomia subtotal, mantendo-se um remanescente esplênico na cavidade peritoneal. Os pacientes foram posteriormente submetidos a avaliações clínica, hematológica, imunológica e cintilográfica.

Nas pesquisas experimentais podemos destacar, historicamente, os seguintes pesquisadores:

Von Stubenrauch³ (1912) foi o primeiro a demonstrar experimentalmente essa possibilidade, em cães cujo baço reduzido a fragmentos eram dispersos sobre o peritônio, comprovando por autópsia, três meses depois, a vitalidade e adaptação perfeita do enxerto.

Willians⁴ (1950) estudou os enxertos autólogos de baço feitos dentro de câmaras instaladas em orelhas de coelhos, os quais foram avaliados durante seis meses e então removidos para um detalhado estudo microscópico com coloração pela prata e hemotoxilina e eosina (H.E.).

Tavassoli et al. (1973) durante experimento com enxerto autólogo de baço na tela subcutânea de ratos, desenvolveram um estudo completo de crescimento do implante e notaram que o mesmo tem uma fase degenerativa, na qual perde peso e uma fase regenerativa que se inicia por volta do segundo ou terceiro dia para se estabilizar por volta da quinta semana.

Schwartz et al. (1977) após realizarem esplenectomia em ratos, aplicaram a técnica de enxerto autólogo com macerado de tecido esplênico implantados na tela subcutânea, epíplon e cavidade peritoneal livre. Além disso, testaram a capacidade dos implantes em formar anticorpos contra hemácias de carneiro.

Por meio de estudos experimentais, Chatterge et al. (1979) realizaram enxertos esplênicos autólogos na tela subcutânea e músculo reto abdominal, e após oito semanas de enxertia verificaram a reconstituição celular dos linfócitos B e T.

Kovacs et al. (1981) fizeram enxerto autólogo utilizando homogenado de tecido esplênico injetado na cavidade peritoneal para testar a capacidade de regeneração do mesmo em ratos jovens e adultos.

³Von Stubenrauch apud Lau JTK, Ong GB. Experimental splenosis: A comparative study in rats. Aust N Z J Surg 1982; 52(2): 210-215.

⁴Willians RG apud Rezende AM. Enxerto autólogo de baço estudo comparativo e experimental no abdome [Tese-Mestrado]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais; 1989.

Lau e Ong (1982) fizeram também estudos comparativos de enxerto autólogo de baço, com ¼ do peso total do órgão, na tela subcutânea, no epíplon e retro peritônio. Fizeram enxertos fatiados de um milímetro de espessura sem macerar, sendo o animal de experimentação o rato.

Sotelo et al. (1983) desenvolveram estudos experimentais de autotransplante de tecido esplênico. Vinte ratos sofreram intervenção cirúrgica para extração do baço e reimplantação de fragmento. Após a esplenectomia, os baços eram seccionados em três partes de medidas semelhantes e a porção central escolhida para reimplantação no epíplon, próximo de sua inserção com o colo transverso. Transcorrido 30 dias do enxerto, os ratos foram sacrificados e os fragmentos reimplantados encaminhados para coloração de hematoxilina-eosina que permitiram o estudo microscópico das estruturas histológicas do baço.

Christenson et al. (1986) desenvolveram implantes de tecido esplênico no epíplon de 130 ratos e avaliaram a função de filtração de hemácias marcadas com TC^{99m}, resistência a infecções por *Streptococcus pneumoniae* e exames histológicos com coloração H.E., durante 2, 4, 6, 10, 18, 20, 24, 28 e 30 semanas após a implantação.

Em estudos experimentais de ratos Wistar, Rodrigues et al. (1987) realizaram autotransplantes com e sem remanescente esplênico. No grupo caracterizado como II, o procedimento cirúrgico consistia em esplenectomia total e reimplante intraperitoneal dos fragmentos de baço retirados, e no grupo III foi realizada esplenectomia parcial 50%, seguida de reimplante intraperitoneal dos 50% retirados, além do grupo I caracterizado como controle. Os fragmentos obtidos foram acomodados entre os folhetos anterior e posterior da bolsa omental, após serem seccionados longitudinalmente com espessura de um a dois milímetros que, em seu conjunto, corresponderam a aproximadamente 50% do volume original do baço.

Rezende et al. (1990) utilizando cobaias *Cavea porcellus* realizaram enxertos autólogos de baço em vários sítios abdominais: tela subcutânea, músculo reto abdominal, pró-peritônio, epíplon e raiz do mesentério. As cobaias foram divididas em dois grupos de 16 animais para o enxerto de fragmento macerado e fatiado de tecido esplênico com peso inicial de 50 mg. Após de 16 semanas de enxertia, os fragmentos de baço foram coletados para avaliação da capacidade de fagocitose, peso e padrão histológico. A capacidade de

fagocitose foi verificada, através de hemácias heterólogas, marcadas com TC^{99m} e alteradas pelo calor, fragmentos eram pesados em balança de precisão e os estudos histológicos com coloração hematoxilina e eosina (celularidade), tricômio de Masson (colágeno) e coloração pela prata (arquitetura). As amostras avaliadas pelo padrão histológico foram classificadas em quatro categorias de acordo com a sua proximidade com o padrão esplênico, sendo tipo 0 para análogos ao padrão esplênico, tipo 1 para polpa branca pouco desenvolvida, tipo 2 para tecido linfóide escasso com fibrose moderada e tipo 3 para predomínio de fibrose.

Sasaki (1990), em estudos com camundongos, realizou esplenectomia com posterior implantação de fatias de baço no epíplon. A formação da polpa branca foi avaliada ao longo de 28 dias com microscopia de luz e eletrônica.

Paredes et al. (1992) realizaram estudo experimental com ratos Sprague-Dawley implantando tecido esplênico em bolsa do epíplon. Foram operados 26 ratos machos, sendo implantado 50% do órgão, divididos em quatro partes, após prévia esplenectomia. No período pós-operatório compreendido entre três e cinco meses e meio, o tecido esplênico foi recuperado para exame histológico.

Torres et al. (1994) avaliaram a evolução histológica da regeneração de autotransplante esplênico. Quarenta e oito ratos Wistar, adultos e machos, foram submetidos a esplenectomia total. O órgão foi seccionado transversalmente no seu eixo craniocaudal em quatro fatias, sendo que duas fatias da porção média apresentavam de três a cinco milímetros e foram utilizadas para o autotransplante no epíplon gastrocólico. Os animais eram divididos em quatro grupos de 12 espécimes e avaliados, respectivamente, depois de 7, 14, 21 e 28 dias do procedimento cirúrgico. A avaliação histológica foi realizada com coloração hematoxilina-eosina e tricômio de Masson.

Fatouros et al. (1995) estudaram a relação entre o baço e o metabolismo lipídico. Concluíram que o baço tem um papel no metabolismo lipídico e pode, desta forma, influenciar arteroscleroses.

Reconhecendo o aumento da susceptibilidade à infecção severa após esplenectomia, Torres et al. (2000) analisaram a regeneração histológica do tecido esplênico, utilizando trinta ratos machos adultos, da linhagem Wistar, submetidos à esplenectomia subtotal.

Em seus estudos, Gomez et al. (2000), utilizaram ratos com 12 semanas de idade e média de 250 g de peso. Um grupo de 25 ratos teve os fragmentos esplênicos reimplantados no epíplon, com dois a três milímetros de espessura e peso aproximado de 70 mg; outro grupo de 25 animais recebeu o implante na região cervical com a adoção de técnica de anastomose arterial e venosa. Seus resultados histológicos foram classificados segundo os critérios de Moore (1986)⁵.

Marques et al. (2002) submeteram ratos Wistar jovens e adultos a esplenectomia combinado com autotransplante no epíplon. Dezesesseis semanas após os implantes, as fatias do tecido esplênico foram coletadas para análise histológica e avaliação fagocitária, observando regeneração do implante esplênico de todos os animais.

Miko et al (2003) utilizaram estudos morfológicos, entre outras técnicas, para avaliar camundongos submetidos à autotransplante de baço, seis semanas após esplenectomia. O epíplon foi adotado como sítio do autotransplante esplênico e houve a realização de anastomose vascular.

Marques et al. (2004) analisaram a regeneração morfológica de tecido esplênico auto-implantado em 32 ratos Wistar, 13 machos e 19 fêmeas. As fatias de baço, seccionadas transversalmente, de dois milímetros de espessura foram implantadas no epíplon e avaliadas após 16 semanas de enxertia. Foi também verificado a função fagocitária bacteriana de seus macrófagos através da inoculação de *Escherichia coli* via jugular interna. Todos os ratos tiveram regeneração dos auto-implantes esplênicos sendo que os animais jovens apresentaram maior percentual de regeneração.

Para avaliar a capacidade de regeneração esplênica, Souza et al. (2005) realizaram enxertos autólogos em 44 ratos Wistar, sendo que no Grupo A, com 22 ratos, os animais receberam o implante na tela subcutânea abdominal, entre a região do flanco e o hipocôndrio esquerdo; e o Grupo B, com 22 ratos, na raiz do mesocólon transversal. Ambos os grupos foram subdivididos em dois e receberam fragmento único ou quatro fragmentos de baço, estes últimos com distanciados um centímetro entre si. Os fragmentos

⁵Moore et al. apud Gomez L, Egido R, Guarino G, Perez L, Piñol C. Studio istologico del trapianto splenico sperimentale nei ratti. Minerva Chir. 2000; 55: 741-4.

reimplantados estavam em fatias de um centímetro e possuíam peso variando entre 180 e 200 mg. No decorrer de cinco semanas os animais sofreram eutanásia e os fragmentos encaminhados a processamento histológico. Os critérios de avaliação histológica foram: 1- análise da constituição dos elementos histológicos e comparadas com o baço normal (controle); 2- análise da reação entre a área receptora e os fragmentos implantados e regenerados. Concomitante foi realizado o estudo citológico pelo esfregaço do enxerto regenerado e corado pelo método de Leishmann.

Paulo et al. (2006) avaliaram os aspectos técnicos, morfológicos e funcionais do pólo inferior do baço de um grupo de dez ratos Wistar submetidos à esplenectomia subtotal. Outros dois grupos tiveram dez animais submetidos à laparotomia com manipulação do baço (operação simulada) e 16 animais submetidos à esplenectomia total. Os ratos foram mortos após 90 dias e o baço e o remanescente esplênico foram removidos para estudo macro e microscópico com coloração hematoxilina-eosina.

Karagülle et al. (2007) além de proporem um estudo dos efeitos do autotransplante na imunidade, examinaram a sua viabilidade. Utilizaram três grupos com 20 coelhos New Zealand. Um grupo recebeu a laparotomia, o segundo grupo esplenectomia e o terceiro esplenectomia e implantes esplênicos no epíplon. Para a evolução dos efeitos da autotransplantação esplênica foi utilizado métodos de cintilografia, testes hematológicos-imunológicos e exame histopatológico.

Estudos recentes de Simões et al. (2007) avaliaram o perfil lipídico em ratos submetidos à esplenectomia isolada ou combinada com autotransplante esplênico. Os resultados mostraram que a esplenectomia isolada altera o metabolismo lipídico em ratos que se alimentaram com ração específica e o autotransplante esplênico é efetivo no restabelecimento dos níveis normais.

1.2- Objetivo

O estudo tem como objetivo avaliar macro e microscopicamente a evolução tardia do autotransplante de fragmentos de baço na cavidade peritoneal, epíplon e mesentério.

2- MATERIAL E MÉTODOS

2.1- Animais e ambiente de experimentação

Nesta pesquisa foram utilizados 52 ratos Wistar (*Rattus Novergicus Albinus*, Rodentia, Mammalia), machos, com peso variável de 238 a 554 g., adquiridos pelo CEMIB - Centro de Bioterismo da UNICAMP. Os animais foram mantidos no biotério do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental, sob temperatura ambiente e condições de luz natural. Os animais utilizados foram criados no Centro de Bioterismo da UNICAMP em condições especiais, podendo ser considerados saudáveis e livres de doenças.

O trabalho recebeu prévia aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia sob o nº. 745-2 (Apêndice I).

2.1.1- Acondicionamento

Os animais foram acondicionados em gaiolas de poliuretano, com 33 cm de largura, 40 cm de comprimento e 18 cm de altura, forrada com maravalha e tampo de grade metálica.

2.1.2- Alimentação

Os ratos foram alimentados com ração peletizada para roedores, usado no biotério do CEMIB, trocada uma vez por semana e livre acesso à água durante o período de experimentação.

2.2- Grupo de animais

Para a realização do experimento os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais, a saber:

2.2.1- Grupo I

Oito ratos submetidos à esplenectomia total e coletado fragmento de baço destinado à confecção de lâminas histológicas para padrão histológico normal. Os animais foram escolhidos aleatoriamente dos grupos II, III e IV e este grupo foi denominado de Grupo controle.

2.2.2- Grupo II

Dezessete ratos submetidos à esplenectomia total e reimplante intra-abdominal de fragmento de baço em peritônio livre. Os animais foram observados e em seguida sacrificados na 24ª semana de seguimento pós-cirúrgico. Este grupo foi denominado de Grupo da cavidade.

2.2.3- Grupo III

Dezoito ratos submetidos à esplenectomia total e reimplante intra-abdominal de fragmento de baço no epíplon. Os animais foram observados e em seguida sacrificados na 24ª semana de seguimento pós-cirúrgico. Este grupo foi denominado de Grupo do epíplon.

2.2.4- Grupo IV

Dezessete ratos submetidos à esplenectomia total e reimplante intra-abdominal de fragmento de baço na raiz do mesentério. Os animais foram observados e em seguida sacrificados na 24ª semana de seguimento pós-cirúrgico. Este grupo foi denominado de Grupo do mesentério.

2.3- Material cirúrgico

Para a realização do procedimento cirúrgico foram utilizados os seguintes instrumentais e materiais:

- Pinça hemostática tipo mosquito, retas e curvas;
- Bisturi cabo n. 4 e lâmina 22;
- Pinça anatômica de 15 cm;
- Pinça dente-de-rato delicada;
- Pinça hemostática curva;
- Tesoura fina;

- Tesoura romba de 15 cm;
- Porta agulha;
- Fio de algodão 4-0 agulhado;
- Campo operatório fenestrado, compressas e gases.

2.4- Anestesia

2.4.1- Considerações pré-anestésicas

Os animais foram submetidos à restrição alimentar e hídrica nas 12 horas que antecederam o procedimento cirúrgico, e obtiveram acesso à água e ração após o retorno da anestesia.

2.4.2- Procedimento anestésico

A anestesia foi realizada com éter etílico, em chumaço de algodão no interior de um cone, colocado próximo às narinas do animal, o qual foi mantido por períodos intermitentes, conforme a necessidade de cada animal, até o término do procedimento cirúrgico.

2.5- Procedimento cirúrgico

2.5.1- Esplenectomia total

Após anestesiados, foi realizada a tricotomia da região abdominal, antissepsia com álcool iodado e colocado campo fenestrado. O acesso à cavidade abdominal foi realizado através de uma laparotomia mediana com o uso do bisturi e posteriormente o manuseio das vísceras abdominais para localização do baço.

O baço foi exposto no campo operatório e individualizados os seus vasos. Os vasos foram pinçados próximo do hilo esplênico com pinça hemostática curva, feita ligadura com fio de algodão 4-0 e em seguida seccionados com auxílio de uma tesoura delicada, e o órgão foi removido da cavidade abdominal (Figura 1). Imediatamente após,

foi colocado em solução de cloreto de sódio 0,9% para retirar o excesso de sangue e enxuto com auxílio de uma gaze, sendo então pesado e medido (Figura 2).

A pesagem foi realizada em balança de precisão para pequenos fragmentos da marca Ohaus-USA, e medido com régua simples em milímetros, após ser colocado em placa de vidro com a sua face visceral voltada para cima (Figura 3). Em seguida, foi fragmentado transversalmente em três porções semelhantes, com base no seu tamanho total. Os fragmentos das extremidades esquerda e direita do baço foram chamados, respectivamente, de “F1” e “F3”, enquanto que o fragmento do meio, chamado de “F2” (Figura 4). O fragmento F1, da esquerda, e o F3, da direita, foram colocados em formol tamponado 10%, sendo que o F3 foi enviado a estudos histológicos, para preparação de lâminas utilizadas como controle na comparação de um padrão microscópico na fase pré e pós-enxerto. O fragmento “F2”, de proporções relativamente homogêneas, foi escolhido para ser reimplantado nos diferentes sítios: cavidade peritoneal, epíplon e raiz do mesentério.

Todos os fragmentos, antes de serem reimplantados, foram pesados individualmente utilizando a balança de precisão para pequenos fragmentos. A seqüência dos procedimentos, incluindo a esplenectomia, pesagem, medição, fragmentação e implante duravam em torno de 20 a 30 minutos.

2.5.2- Técnica do autotransplante esplênico

2.5.2.1- Grupo II: Reimplante de fragmento livre na cavidade peritoneal (n=17)

Neste grupo foi realizado o reimplante livre na cavidade peritoneal, sendo a sua média de peso e tamanho, respectivamente de 421,06 mg e 15,19 mm. Os animais foram submetidos à laparotomia mediana e o fragmento de escolha solto aleatoriamente dentro da cavidade peritoneal (Figura 5). O fechamento da incisão foi realizado com pontos simples separados de fio de algodão 4-0.

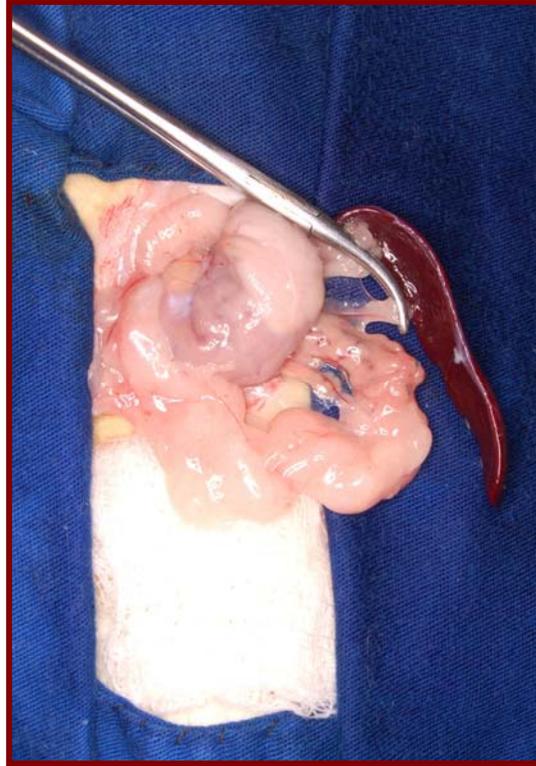


Figura 1- Exposição do baço e porção da curvatura maior do estômago para realização de esplenectomia total. Pinçamento dos vasos com pinça hemostática e ligadura com fio algodão 4-0.



Figura 2- Baço em placa de vidro contendo solução de cloreto de sódio 0,9% para retirada do excesso de sangue, além de medição com régua simples em milímetros.



Figura 3- Pesagem do baço em balança de precisão para pequenos fragmentos.



Figura 4- Fragmentação do baço em três partes e medição com régua simples em milímetros.

2.5.2.2- Grupo III: Reimplante no omento maior (n=18)

Neste grupo foi realizado o reimplante do fragmento no epíplon, com média de peso e tamanho, respectivamente de 314,18 mg e 14,53 mm. O fragmento foi envolvido nos folhetos do epíplon, próximo à curvatura maior do estômago, formando-se uma bolsa a qual foi suturada com fio de algodão 4-0 (Figuras 6 e 7). O fechamento da incisão foi realizado com pontos simples separados de fio de algodão 4-0.

2.5.2.3- Grupo IV: Reimplante na raiz do mesentério (n=17)

Neste grupo foi realizado reimplante do fragmento na raiz do mesentério com média de peso e tamanho, respectivamente de 422,29 mg e 15,41 mm. Após a manipulação das vísceras abdominais, foi localizado o jejuno expondo-se os segmentos intestinais para melhor observação da raiz do mesentério. O fragmento foi colocado o mais próximo da origem deste mesentério, fixando as suas extremidades com auxílio de fio agulhado algodão 4-0, tomando-se o cuidado para que os pontos de fixação atingissem apenas a cápsula esplênica (Figuras 8 e 9). O fechamento da incisão foi realizado com pontos simples separados de fio de algodão 4-0.

2.6- Cuidados pós-operatórios

Após o período de recuperação anestésica, os animais obtiveram acesso à água e ração peletizada. Durante todo o processo de observação, os animais foram pesados mensalmente. Foram incluídos no estudo somente os animais que sobreviveram seis meses após o procedimento cirúrgico até a data do sacrifício.

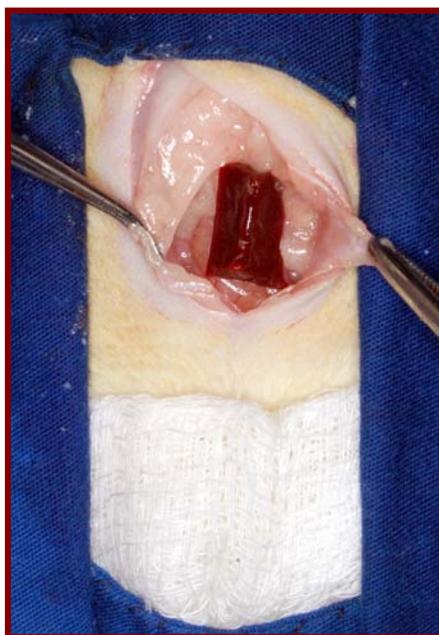


Figura 5- Grupo II: Reimplante de fragmento de baço na cavidade peritoneal.

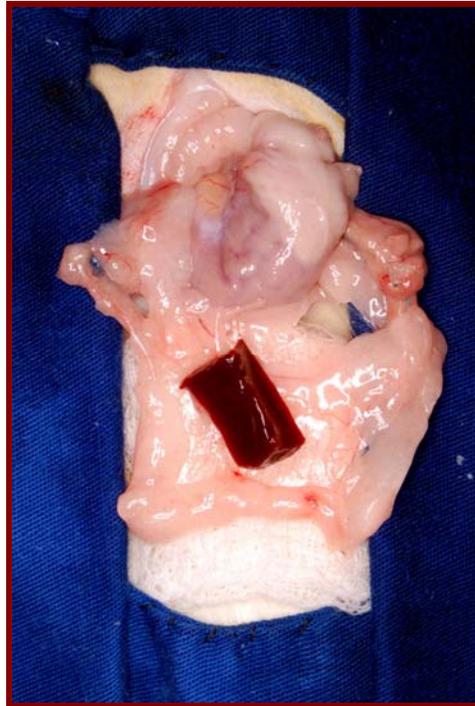


Figura 6- Grupo III: Reimplante do fragmento de baço no epíplon.

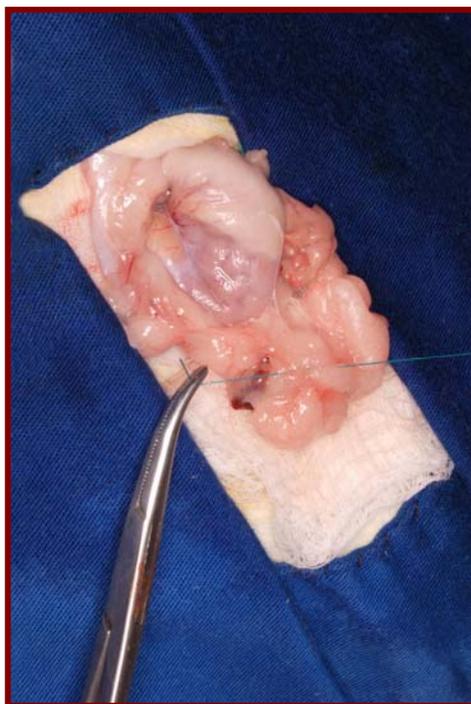


Figura 7- Grupo III: Sutura do epíplon em forma de bolsa com fio de algodão.

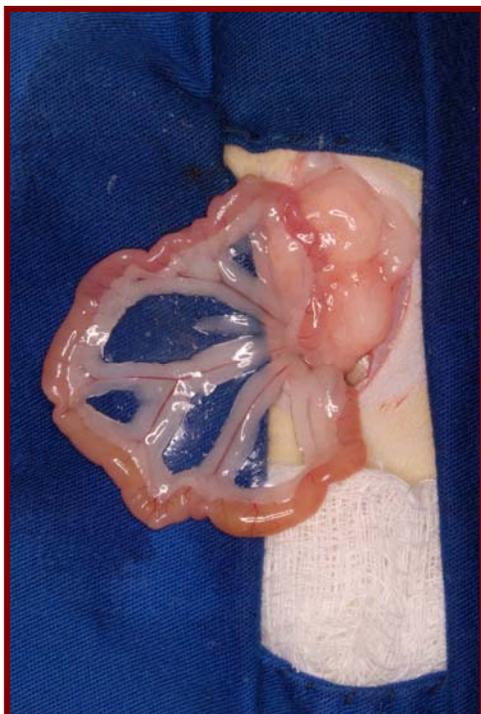


Figura 8- Grupo IV: Exposição da raiz do mesentério para reimplante do fragmento de baço.

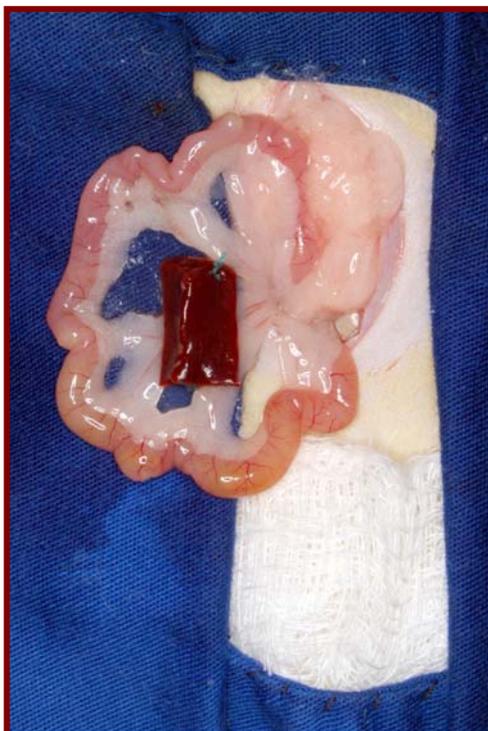


Figura 9- Grupo IV: Reimplante do fragmento de baço na raiz do mesentério.

2.7- Eutanásia dos animais e remoção dos fragmentos

Os animais foram novamente submetidos à anestesia contínua com éter etílico, de acordo com o protocolo anestésico citado anteriormente, até obtenção de parada cardíaco-respiratória.

A laparotomia mediana foi realizada e subsequente inspeção da cavidade em busca do fragmento reimplantado. Os fragmentos reimplantados no epíplon e raiz do mesentério foram cuidadosamente examinados em busca de neovascularização e retirados com auxílio de pinça anatômica e tesoura romba, dissecando-se os tecidos adjacentes, sem comprometer o tecido esplênico.

A inspeção da cavidade abdominal, do grupo II, foi cuidadosamente realizada procurando a localização do fragmento, assim como a presença de neovascularização. Localizado o destino do fragmento o mesmo foi removido, liberando-se as aderências, sendo em seguida devidamente fotografados dentro e fora da cavidade abdominal. Passaram, ainda, pelo processo de pesagem em balança de precisão para pequenos fragmentos da marca Ohaus – USA e medição em placa de vidro com régua simples em milímetros.

2.8- Conservação e processamento do material

Os fragmentos coletados foram fatiados em duas ou três partes e colocados dentro de grade de plástico devidamente identificado. O material permaneceu em solução de formol 10% nas primeiras 24 horas e em seguida foi submerso em solução de álcool a 70% até serem processados. Os fragmentos foram destinados à inclusão em parafina, microtomia e corados com coloração de rotina (hematoxilina e eosina).

2.9- Estudo histológico

O exame histológico foi realizado em microscópio óptico comum. Foram adotados dois critérios de avaliação histológica dos fragmentos reimplantados: a análise qualitativa e quantitativa.

A análise qualitativa consistiu na evolução dos fragmentos autotransplantados, com ênfase na regeneração esplênica. Foram considerados os seguintes aspectos na avaliação: cápsula esplênica, estrutura tecidual (polpa branca e vermelha) e vascularização.

A análise quantitativa consistiu na contagem de elementos celulares e não celulares dos cortes histológicos transversais seriados, com auxílio da ocular contendo um retículo com 100 quadrantes de 1mm² (Figura 10). Para a realização da contagem celular foi utilizada uma amostra de oito ratos por grupo (Grupo I, II, III e IV). De cada lâmina histológica do fragmento reimplantado foram fotografados três campos diferentes, em objetiva de 100 x, com câmera digital e posteriormente anexado o retículo por meio de programa de software Photoshop®.

Na análise quantitativa os elementos celulares considerados foram: linfócitos, macrófagos ativos, macrófagos com hemossiderina, células endoteliais, plasmócitos, fibrócitos, fibroblastos, células gigantes tipo corpo estranho e monócitos. Por outro lado, os elementos não celulares considerados foram: fibras de colágeno e espaço intersticial.

Durante a análise quantitativa foram adotados os respectivos critérios: considerar a presença de elementos celulares, a contagem de apenas uma célula por quadrante, a contagem da célula cujo núcleo estivesse no centro do quadrante ou mais próximo dele, e considerar elementos não celulares. Para facilitar a contagem dos elementos celulares, quando encontrados em grande número nos quadrantes, o núcleo das células que tocassem a linha esquerda e a linha inferior do quadrante foram conjugados ao respectivo quadrante.

Foram contados 300 elementos por rato/grupo, sendo 100 elementos de cada campo fotografado.

2.10- Análise estatística

Nesta análise foram empregadas estatísticas descritivas (média, desvio-padrão, mínimo, mediana e máximo) para as variáveis contínuas (peso e tamanho) e tabela de frequência para a variável categórica (Grupo).

Quanto à homogeneidade entre os grupos, com relação as variáveis peso e tamanho do baço foi utilizado a Análise de Variância (ANOVA), com transformação Rank.

Na comparação das variáveis: peso do rato, peso e tamanho do fragmento de baço entre os Grupos (cavidade, epíplon e mesentério) e entre os momentos (pré e pós-implante), foi empregada a análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas, com transformação Rank, devido a não existência de normalidade dos dados, visando diminuir a assimetria e variabilidade. Quando a diferença foi significativa foram realizados testes de comparação múltipla (Teste de Tukey e Contraste) para identificar as diferenças.

Para a comparação das contagens de elementos celulares e não celulares entre os grupos foi utilizada a análise de variância (ANOVA) com transformação por postos, seguido pelo teste de Tukey.

O nível de significância adotado foi de 5%, ou seja, $p \leq 0,05$.

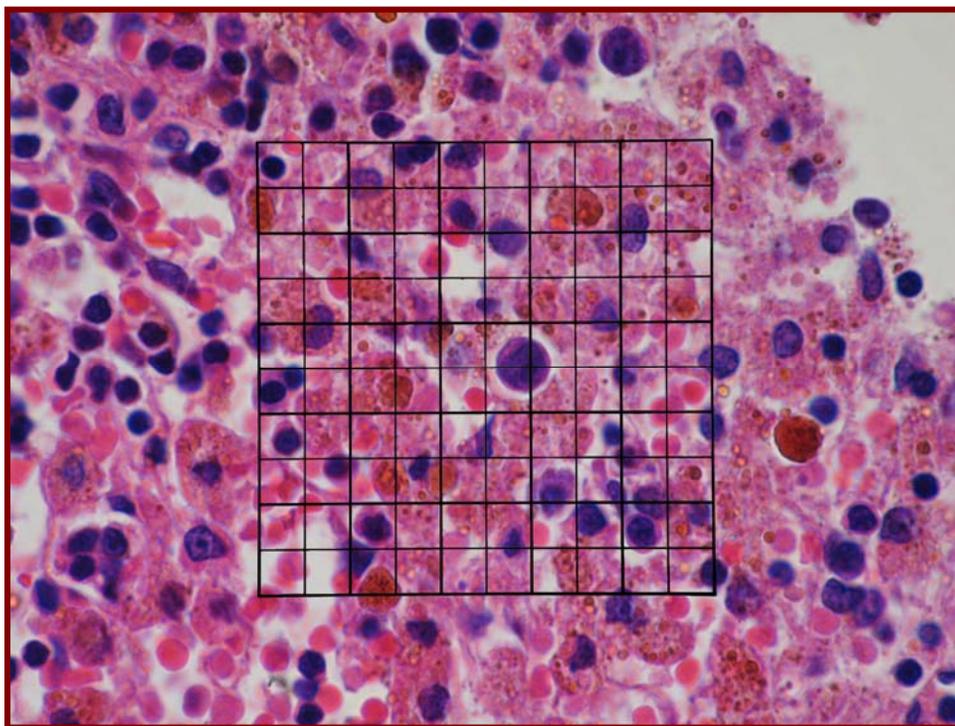


Figura 10- Foto do corte histológico (H.E.) do fragmento reimplantado, em objetiva de 100X. O retículo anexado na foto apresenta 100 quadrantes de 1 mm².

3- RESULTADOS

3.1- Análise do peso do baço por grupo

A média de peso do baço (em miligramas), nos grupos II, III e IV, respectivamente foi 1127,00 mg; 897,50 mg e 1180,59 mg (Apêndice II).

A análise de variância realizada mostrou diferença significativa entre o peso do baço, em relação aos grupos. De maneira geral, o grupo III se comporta diferente dos grupos II e IV ($p = 0,0001$).

3.2- Análise do tamanho do baço por grupo

A média do tamanho do baço (em milímetros), nos grupos II, III e IV, respectivamente, foi 46,18 mm; 44,17 mm e 46,71 mm (Apêndice III).

A análise de variância realizada mostrou diferença significativa entre o tamanho do baço, em relação aos grupos. O grupo III, de modo geral, se comporta diferente dos grupos II e IV ($p = 0,0001$).

3.3- Análise do peso dos animais, por grupo, no pré e pós-operatório

A média de peso dos animais (em gramas) no pré-operatório, nos grupos II, III e IV, respectivamente foi de 457,24 g; 338,39 g e 457,35 g. No pós-operatório, a média de peso dos grupos foi, respectivamente, de 581,47 g; 544,28 g e 581,12 g (Apêndice IV).

O gráfico 1, abaixo, e os apêndices X, XI e XII mostram a variação do peso dos ratos, por grupo, no pré e pós-operatório.

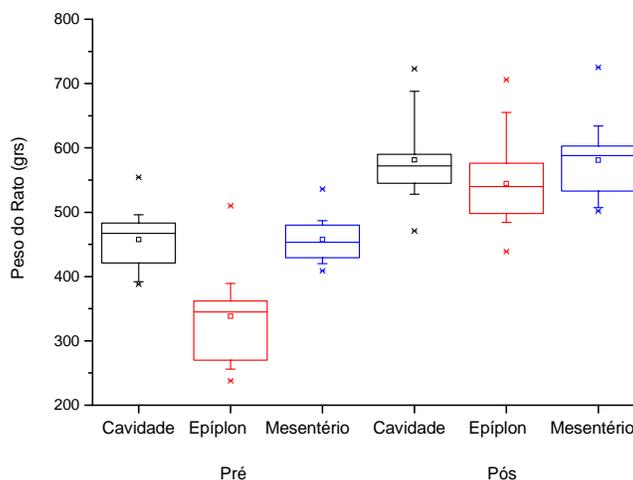


Gráfico 1- Box-plot da variável peso do rato, por grupo e tempo.

A análise de variância realizada, comparando as três variáveis, mostra diferença significativa ($p \leq 0,05$), entre o peso dos animais em relação aos grupos. O grupo III mostrou diferença significativa aos demais ($p=0,0006$), sendo que de maneira geral o grupo III se comporta diferente dos grupos II e IV (Apêndice V).

Do mesmo modo, houve diferença significativa entre o peso dos animais no pré e pós-operatório ($p=0,0001$), ou seja, ao longo das 24 semanas de enxertia os ratos ganharam peso de modo semelhante nos grupos (Apêndice V).

3.4- Análise do peso dos fragmentos dos baços, por grupo, no pré e pós-operatório

A média de peso (em miligramas) dos fragmentos dos baços no pré-operatório, nos grupos II, III e IV, respectivamente foi de 421,06 mg; 314,18 mg e 422,29 mg. Enquanto que no pós-operatório a média de peso dos fragmentos por grupo foi, respectivamente, 290,50 mg; 205,29 mg e 209,59 mg. (Apêndice VI).

O gráfico 2, abaixo, e os apêndices X, XI e XII mostram a variação do peso dos fragmentos, por grupo, no pré e pós-operatório.

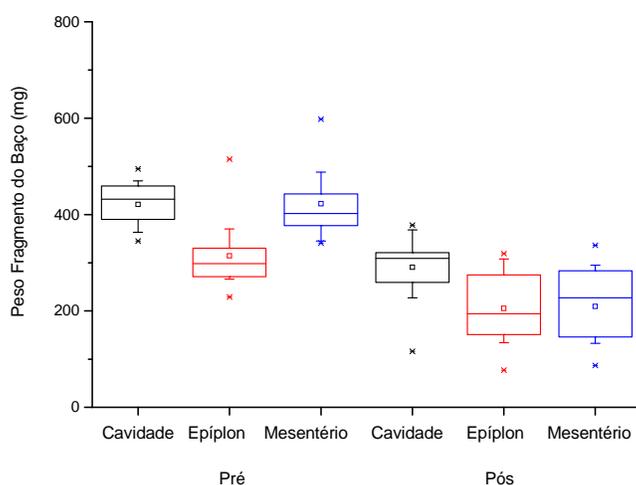


Gráfico 2- Box-plot da variável peso do fragmento do baço, por grupo e tempo.

A análise de variância realizada comparando as três variáveis mostrou diferença significativa ($p \leq 0,05$), entre o peso dos fragmentos em relação aos grupos ($p=0,0001$), ou seja, os grupos II, III e IV se comportam de modo diferente (Apêndice VII).

Na comparação dos grupos, no pré e pós-operatório, houve diferença estatística ($p=0,0001$).

Na interação entre o grupo e o tempo, a análise de variância mostrou diferença significativa ($p=0,0003$). No tempo pré-operatório, o grupo III se comporta de maneira diferente dos grupos II e IV, enquanto que no pós-operatório o grupo II se comporta de maneira diferente dos grupos III e IV (Apêndice VII).

Ao longo das 24 semanas de enxertia ocorreu redução de peso dos fragmentos entre os grupos. Os fragmentos dos grupos II, III e IV perdem em média, respectivamente, 31 %; 34,66 % e 50,36 % do peso inicial.

3.5- Análise do tamanho dos fragmentos dos baços, por grupo, no pré e pós-operatório

A média do tamanho (em milímetros) dos fragmentos no pré-operatório, nos grupos II, III e IV, respectivamente, foi de 15,19 mm; 14,53 mm e 15,41 mm. No pós-operatório, a média do tamanho dos fragmentos nos grupos foi, respectivamente, 13,63 mm; 11,65 mm e 11,94 mm (Apêndice VIII).

O gráfico 3, abaixo, e apêndices X, XI e XII mostram a variação do tamanho dos fragmentos, por grupo, no pré e pós-operatório.

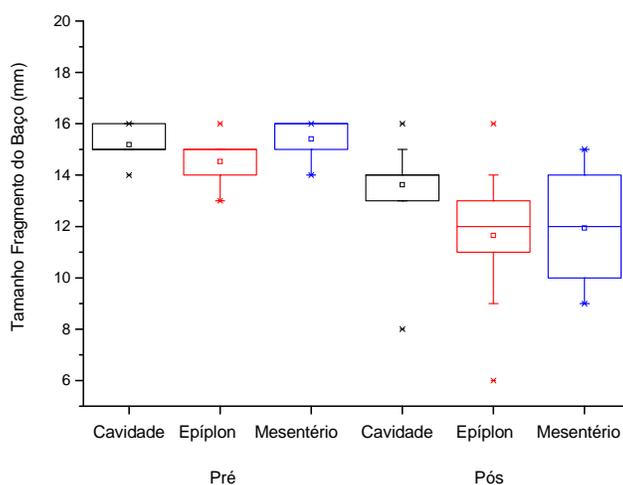


Gráfico 3- Box-plot da variável tamanho do fragmento do baço, por grupo e tempo.

A análise de variância realizada, comparando as três variáveis, mostrou diferença significativa ($p \leq 0,05$), entre o tamanho dos fragmentos em relação aos grupos. O grupo III, de maneira geral, apresentou diferença significativa em relação aos grupos II e IV ($p = 0,0113$), sendo que grupo III \neq grupo II = grupo IV (Apêndice IX).

Do mesmo modo, houve diferença significativa do tamanho dos fragmentos no pré e pós-operatório ($p = 0,0001$).

Ao longo das 24 semanas de enxertia ocorre uma redução semelhante do tamanho dos fragmentos dos grupos (Apêndice IX).

3.6- Análise macroscópica dos implantes

A análise macroscópica após 24 semanas mostrou que os enxertos eram visualizados com facilidade nos diferentes sítios de enxertia, ocorrendo a implantação dos fragmentos junto aos tecidos adjacentes. Pode-se observar a presença de neovascularização em todos os enxertos dos grupos, provenientes do epíplon ou do mesentério (Figuras 11, 12, 13 e 14).

No grupo III foi observada em um rato, no local do implante, uma massa nodular encapsulada com presença de material caseoso em seu interior. A massa possuía em torno de 10 mm de diâmetro e apresentava consistência macia (Figuras 15 e 16).

No grupo II, em um rato, não foi encontrado o fragmento de baço. O restante dos fragmentos implantados na cavidade peritoneal tiveram destinos variados. Em 93,75 % dos casos, os fragmentos tiveram como destino de implantação o epíplon, enquanto que 6,25 % tiveram a implantação junto ao mesentério. Não ocorreu nenhum óbito entre os animais.



Figura 11- Enxerto do Grupo II ressaltando sua implantação nos tecidos adjacentes.

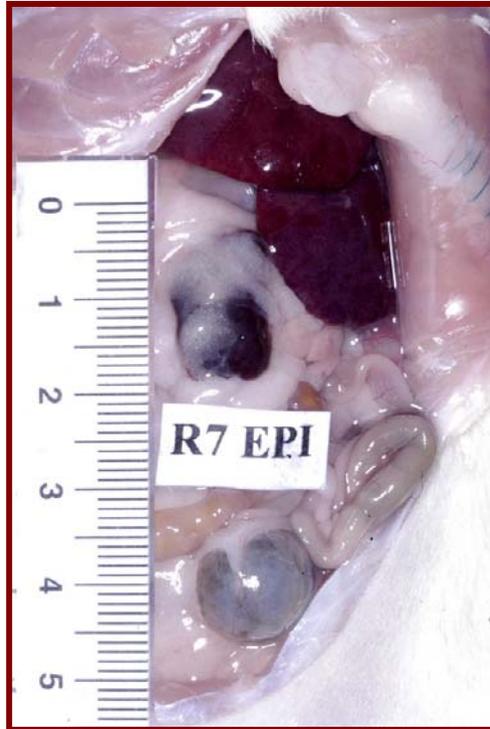


Figura 12- Enxerto do Grupo III ressaltando sua implantação no epíplon.

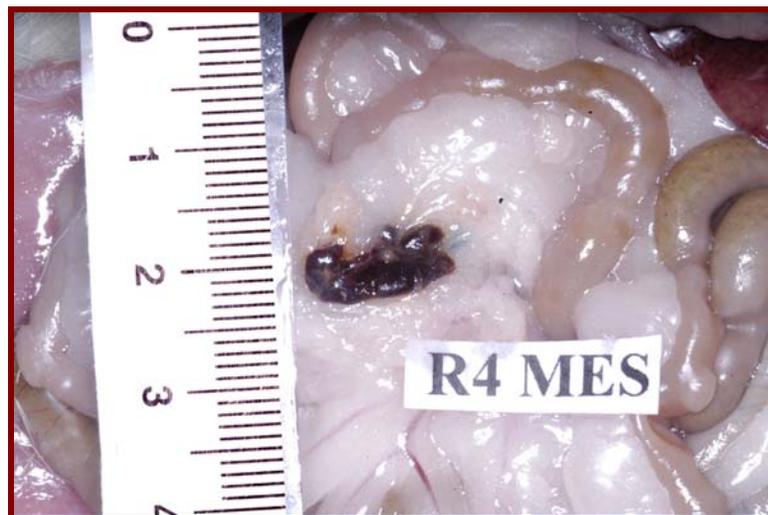


Figura 13- Enxerto do Grupo IV ressaltando sua implantação no mesentério.

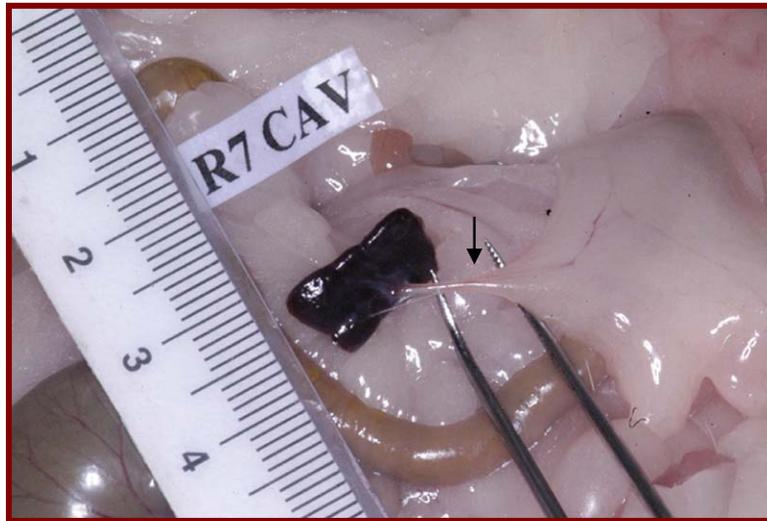


Figura 14- Enxerto do Grupo II com presença de neovasculização proveniente do epíplon (seta).



Figura 15- Massa nodular encapsulada com conteúdo caseoso implantado no epíplon (Grupo III).



Figura 16- Massa nodular encapsulada retirada do epíplon (Grupo III).

3.7- Análise histológica qualitativa

3.7.1- Análise histológica dos fragmentos de baço normal (Grupo I)

A análise microscópica do material deste grupo revelou a polpa branca no arranjo de folículos linfóides com a arteríola excêntrica (corpúsculo esplênico ou de Malpighi) e/ou como bainhas linfóides periarteriais e periarteriolares (Figura 17) que são aglomerados de linfócitos (células pequenas com núcleo pequeno esférico e cromatina bastante condensada); a polpa vermelha apresenta-se no formato de cordões celulares irregulares, também composto de linfócitos, macrófagos (células de tamanhos variados na dependência do seu estado funcional, com núcleo ora grande e claro, ora menor embora em ambos os casos há heterocromatina aderente à carioteca; o formato nuclear também exhibe variações indo desde o riniforme ao esférico ou elipsóide; vários apresentam material acastanhado no citoplasma, o que significa célula ativada e fagocitose), plasmócitos (citoplasma basófilo, núcleo excêntrico e halo perinuclear); e, vez ou outra, depara-se com células gigante tipo corpo estranho (Figuras 18, 19, 20 e 21).

Outro detalhe que chama a atenção é a quantidade de eritrócitos ora circunscritos aos sinusóides ou espalhadas entre os cordões celulares, conferindo aspecto hemorrágico à estrutura. Contudo, a congestão vascular é sinônimo de estase de decúbito; e a hemorragia pode ser resultado de sangramento do material (Figura 22).

3.7.2- Análise histológica dos fragmentos de baço reimplantados na cavidade peritoneal (Grupo II)

A análise microscópica do material deste grupo revelou a cápsula esplênica ora hígida, ora com aspecto de hialinização. A polpa branca estava preservada e apresentando-se mais na forma de bainha linfóide periarteriolar. Notou-se, como em outros materiais, a presença de eritrócitos confinados aos sinusóides, mas também no interstício e menor quantidade de macrófagos fagocitando hemossiderina, presença de células blásticas mono e multinucleadas. Quanto à vascularização, os vasos septais, as arteríolas e os sinusóides estavam bem preservados (Figuras 23 e 24).

3.7.3- Análise histológica dos fragmentos de baço reimplantados no epíplon (Grupo III)

A análise microscópica dos fragmentos revelou cápsula esplênica ora mais fina e com aspecto de atrofia, ora mais espessada com aspecto de hialinização, sendo que o mesmo aconteceu nos septos. O tecido linfóide apresentava-se parcialmente preservado, a polpa branca tanto com formações foliculares, quanto em bainha linfóide e a polpa vermelha com aspecto cordonal, embora bastante hemorrágica. Estavam presentes macrófagos ativados, com citoplasma repleto de grânulos de hemossiderina, além de gigantócitos (Figuras 25 e 26).

3.7.4- Análise histológica dos fragmentos de baço reimplantados no mesentério (Grupo IV)

A análise microscópica dos cortes histológicos deste grupo apresentou diferentes aspectos evolutivos dos animais entre si. Houve, por exemplo, grande rarefação de tecido linfóide com grande depleção das polpas branca e vermelha, aliada a uma considerável destruição eritrocitária traduzida pela presença de grandes macrófagos com o citoplasma repleto de hemoglobina ou hemossiderina; havia importante quantidade de

hemácias no interior de vasos e no interstício (Figura 27); neste material foram encontrados células grandes, multinucleadas com cromatina frouxa e nucléolo evidente (gigantócitos ou células gigantes tipo corpo estranho) (Figura 28). Alguns cortes evidenciavam melhor preservação e maior quantidade de polpas (Figura 29) e no tecido pericapsular havia vasos íntegros, gordura unilocular, às vezes com áreas de fibrose, significando presença de aderência (Figura 30).

Outros aspectos histológicos podem ser observados neste grupo, por exemplo, alguns animais exibem desde necrose da polpa branca a um melhor arranjo celular da mesma.

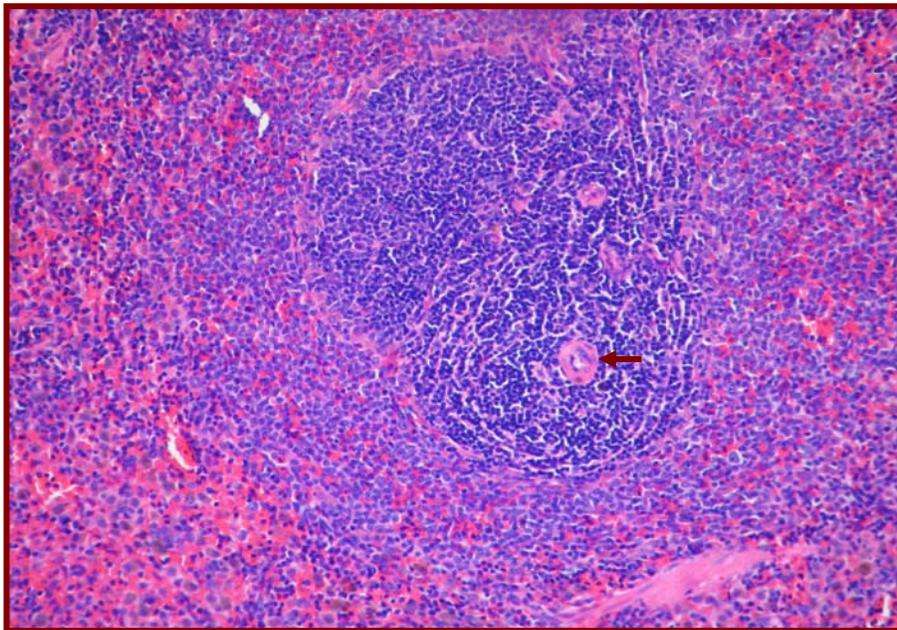


Figura 17- Polpa branca no arranjo de folículos linfóides com a arteríola excêntrica (seta) (corpúsculo esplênico ou de Malpighi) (H.E.-40X).

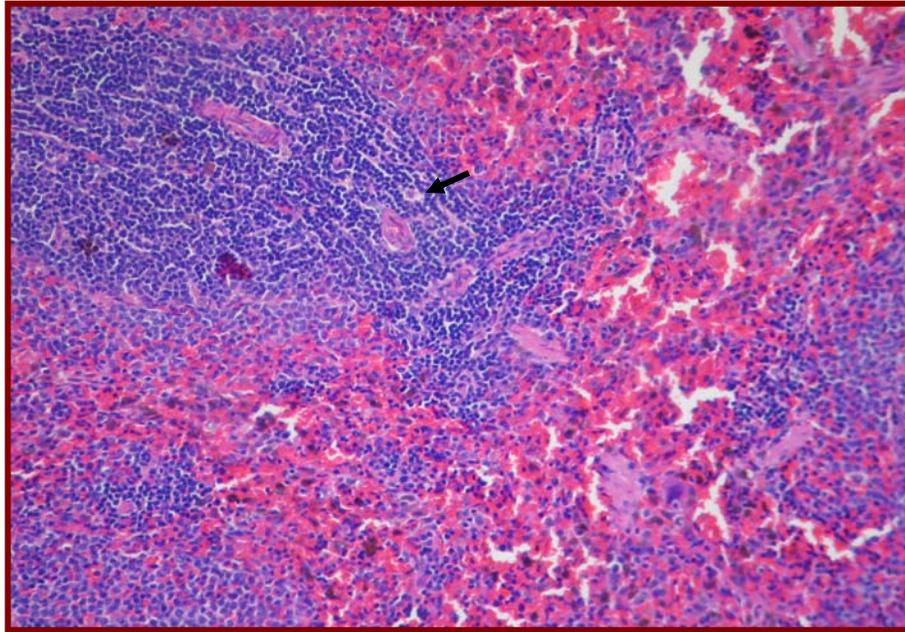


Figura 18- Polpa branca com presença de bainha linfóide periaorticais (seta) (H.E. - 40X).

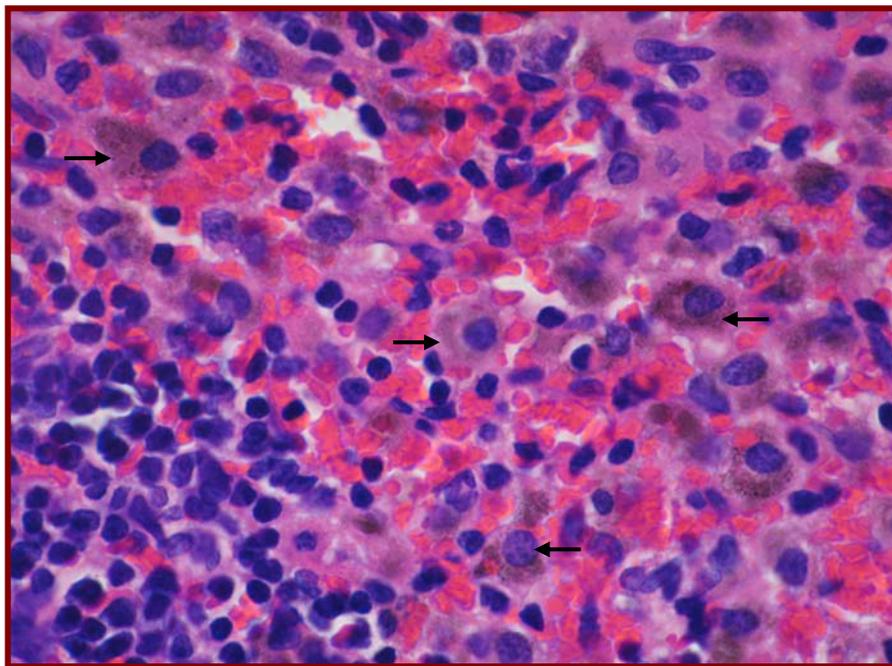


Figura 19- Polpa vermelha com presença de macrófagos de tamanhos variados, núcleo com heterocromatina aderente a carioteca e material acastanhado no citoplasma (setas) (H.E.-100X).

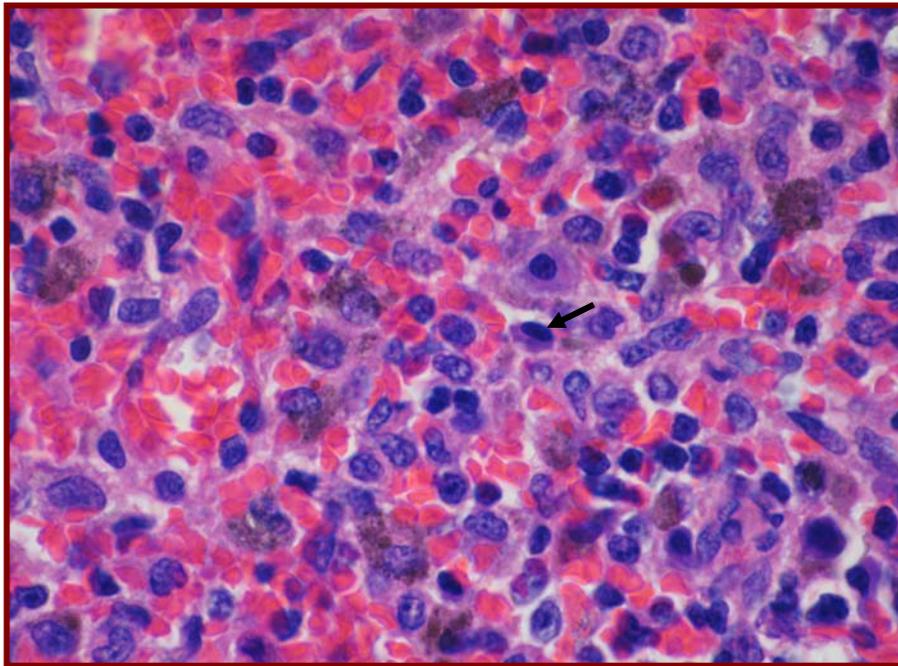


Figura 20- Polpa vermelha com presença de plasmócito (citoplasma basófilo, núcleo excêntrico com halo perinuclear) (seta) (H.E.-100X).

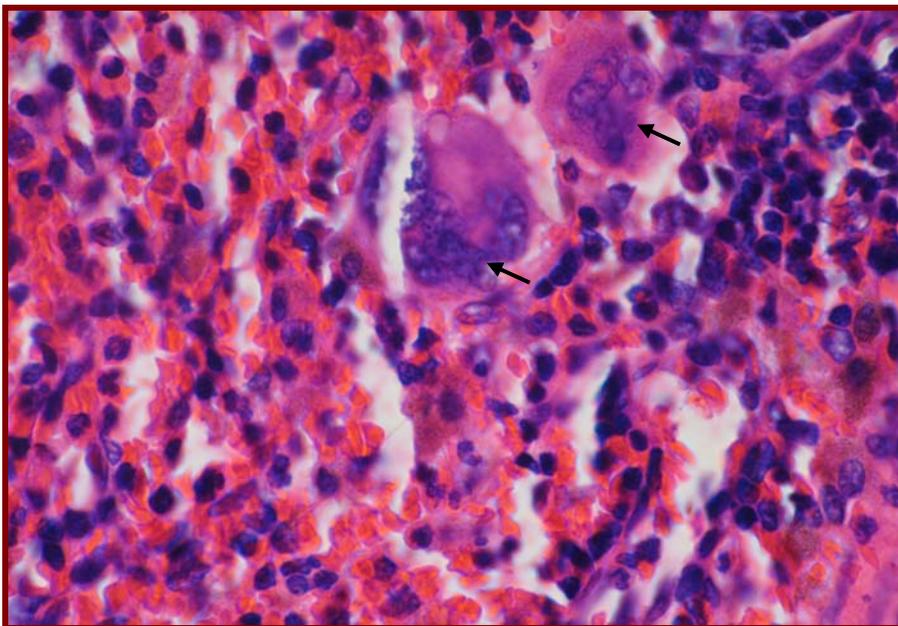


Figura 21- Polpa vermelha com presença de célula gigante tipo corpo estranho (setas) (H.E.-100X).

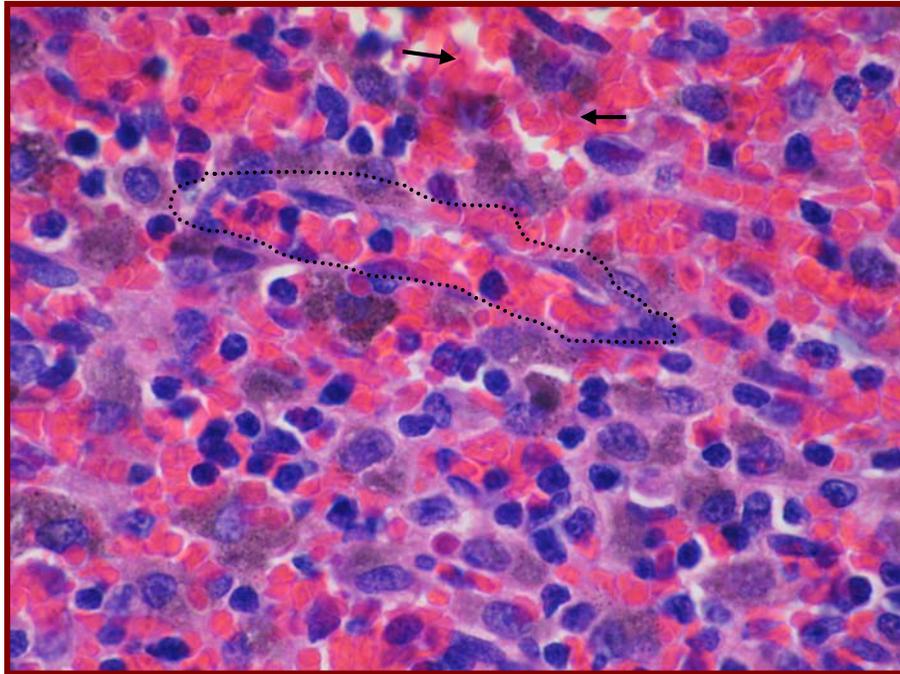


Figura 22- Eritrócitos circunscritos aos sinusóides (delimitado pela linha pontilhada) e espalhados entre os cordões celulares (setas). (H.E.-100X).

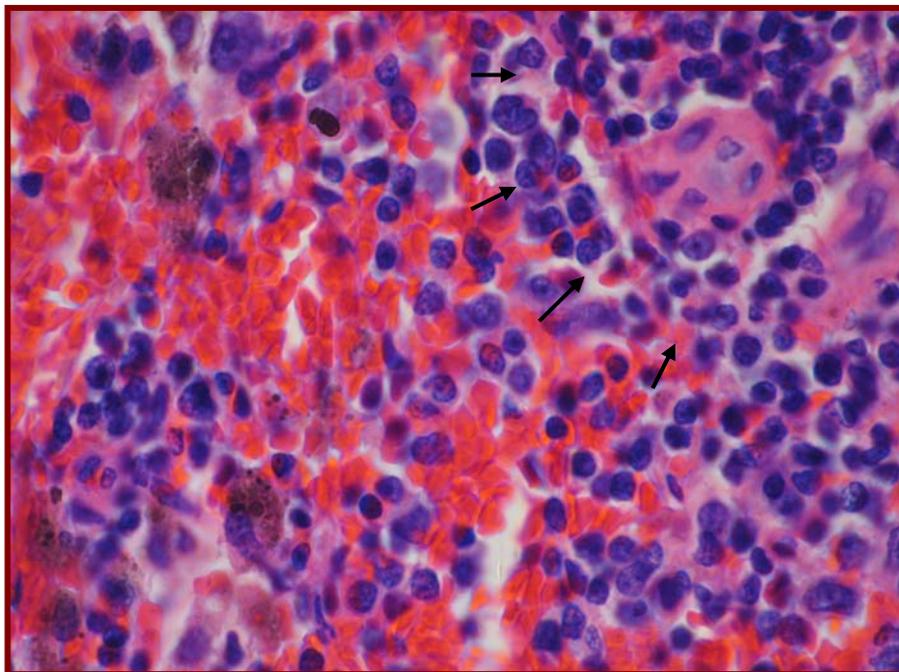


Figura 23- Polpa branca preservada na forma de bainha linfóide periarteriolar (setas) (H.E.-100X).

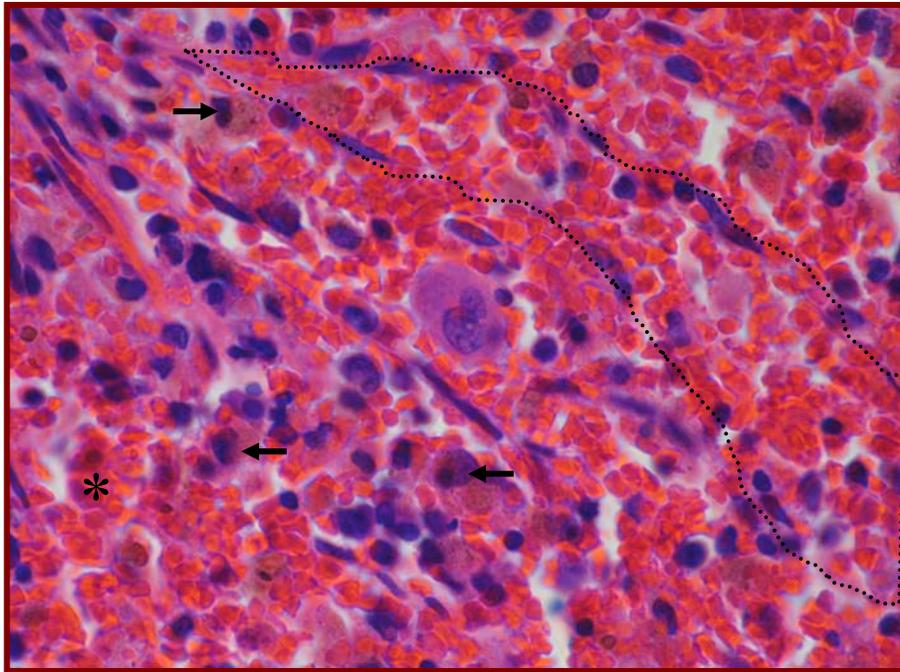


Figura 24- Presença de eritrócitos confinados aos sinusóides (delimitado pela linha pontilhada) e também no interstício (*). Foi encontrado menor número de macrófagos (setas) (H.E.-100X).

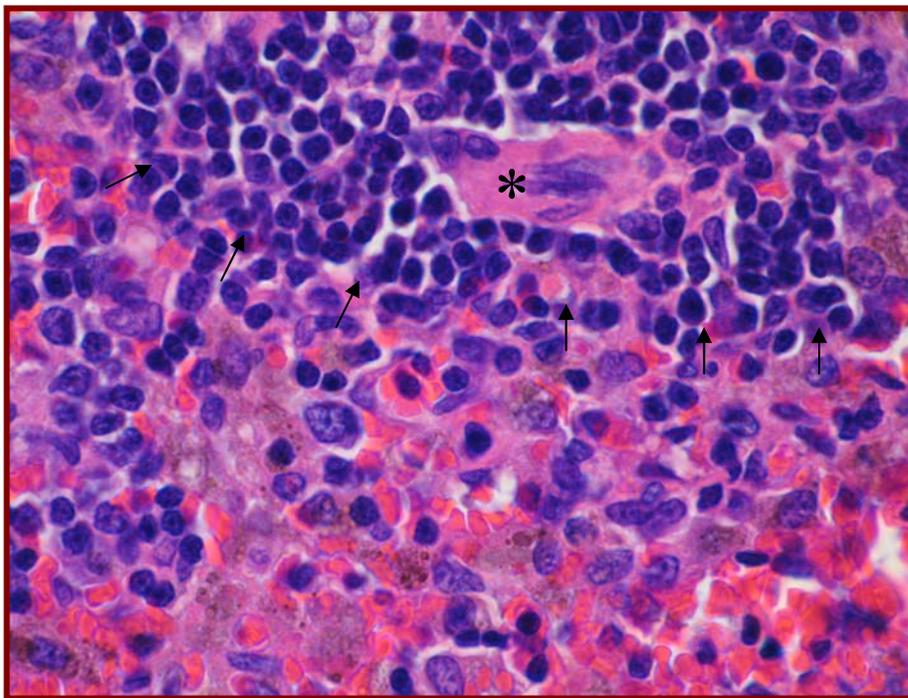


Figura 25- Polpa branca com formação de bainha linfóide (setas) e presença de arteríola central (*) (H.E.-100X).

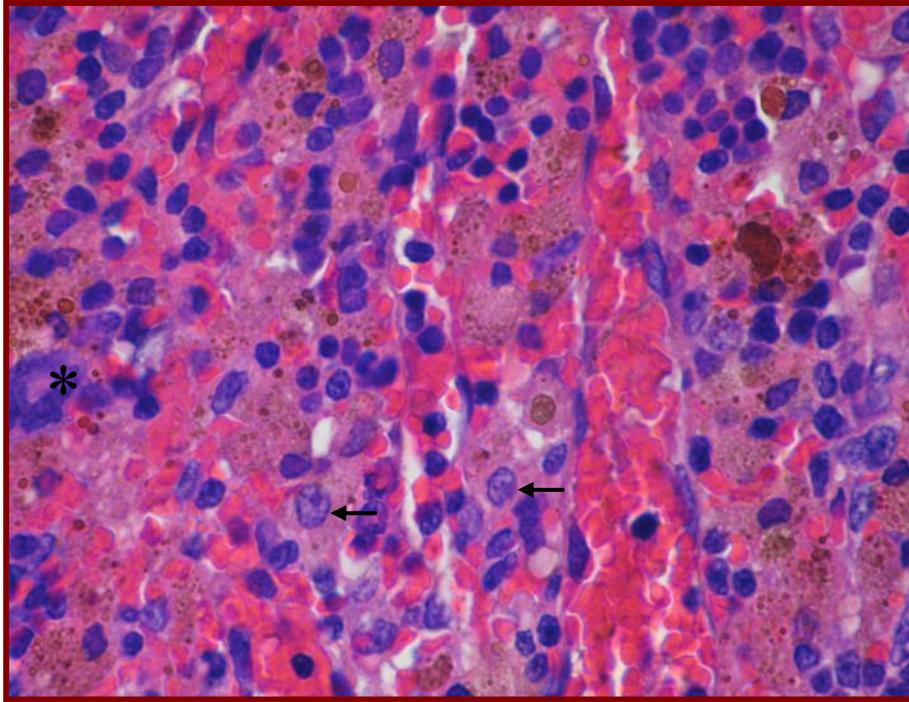


Figura 26- Polpa vermelha em aspecto cordonal e com presença de macrófagos ativados (setas), além de gigantócito (*) (H.E.-100X).

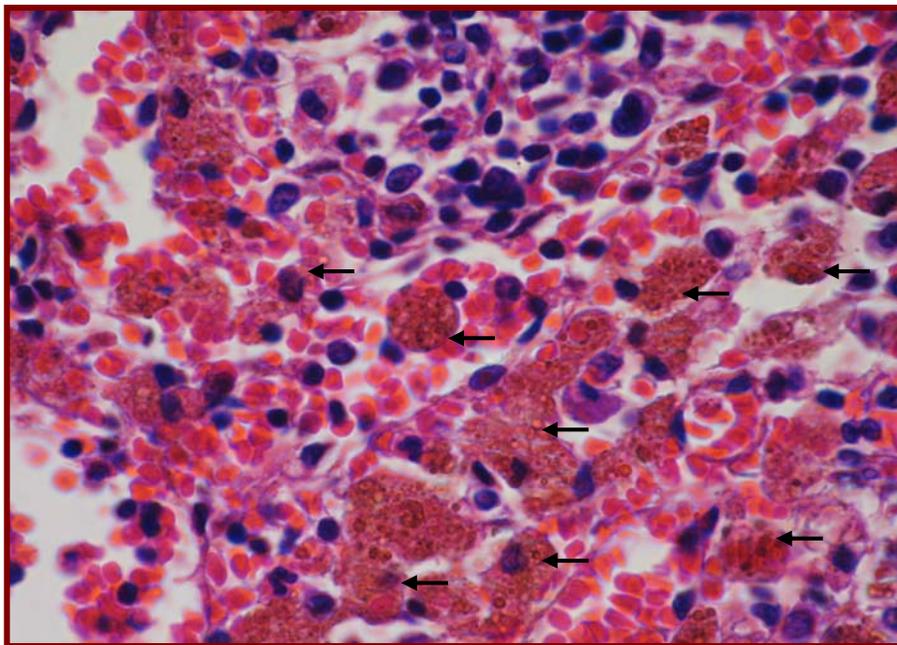


Figura 27- Depleção de polpa branca e polpa vermelha, associada à destruição eritrocitária com presença de grandes macrófagos fagocitando hemossiderina (setas) (H.E.-100X).

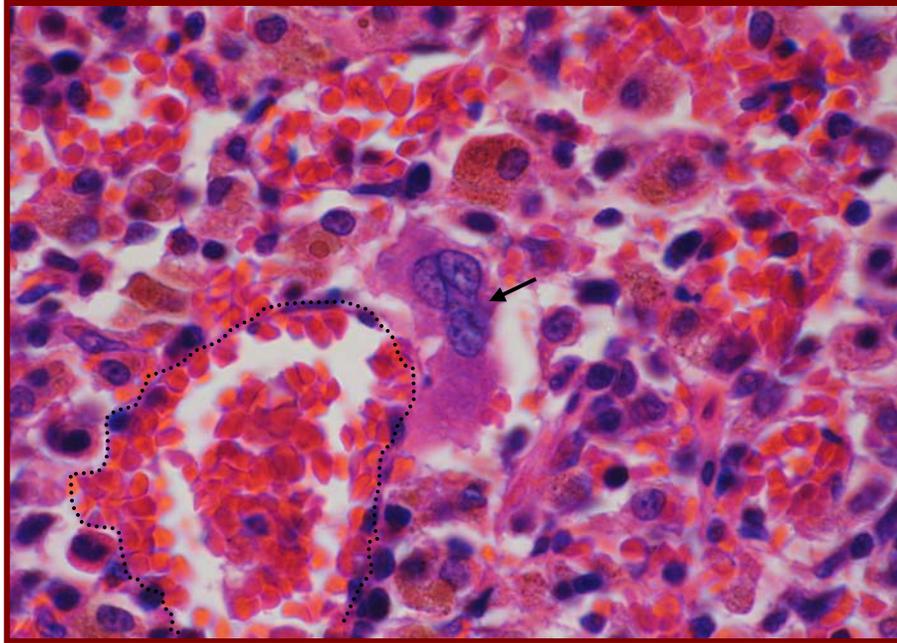


Figura 28- Presença de células grandes com cromatina frouxa e nucléolo evidente (seta). Grande quantidade de hemácias no interior de vasos (delimitado pela linha pontilhada) (H.E.-100X).

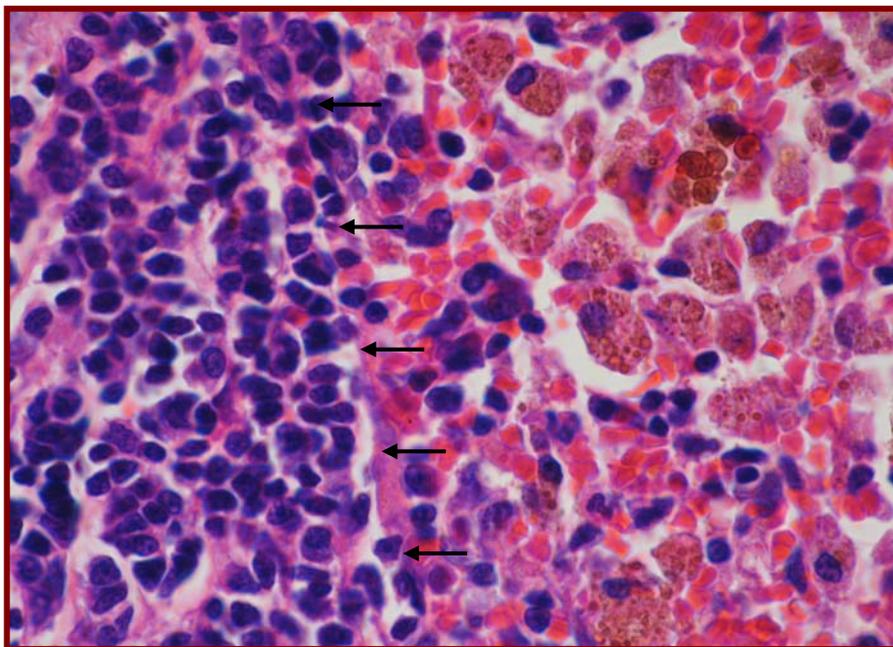


Figura 29- Polpa branca preservada com melhor arranjo celular (setas) (H.E.-100X).

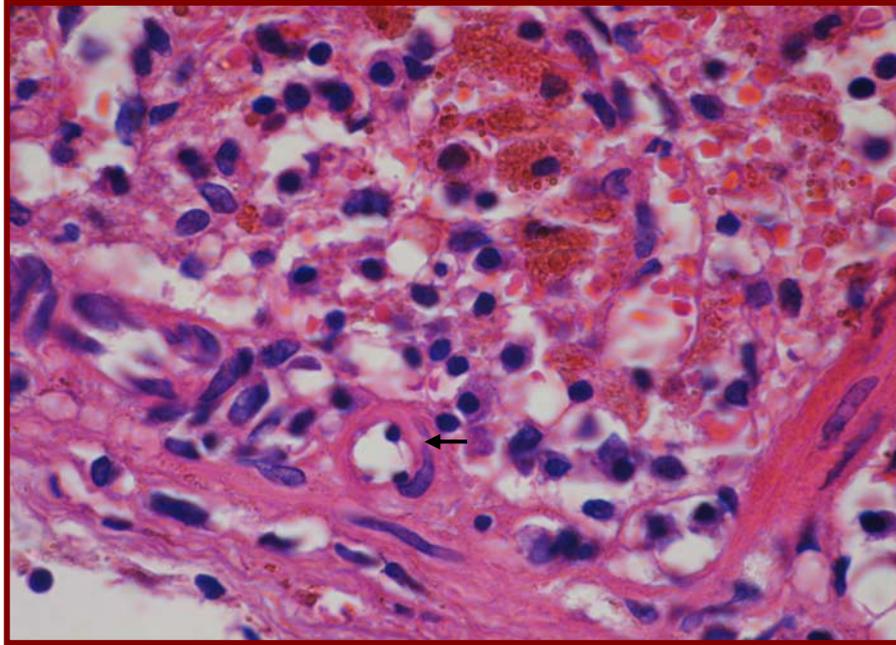


Figura 30- Tecido pericapsular com presença de vaso íntegro (seta) (H.E.-100X).

3.8- Análise histológica quantitativa

3.8.1- Análise da contagem do número de linfócitos por grupo

A média de linfócitos encontrados, na contagem celular dos cortes histológicos, nos grupos I, II, III e IV, respectivamente, foi de 32,8; 17,1; 24,3 e 16,8. (Apêndice XIII).

A análise de variância realizada mostrou diferença significativa em relação aos grupos. Houve diferença significativa ($p = 0,0020 - p \leq 0,05$) entre os grupos I e IV, e grupos I e II.

3.8.2- Análise da contagem do número de macrófagos ativo por grupo

A média de macrófagos ativos, na contagem celular dos cortes histológicos, nos grupos I, II, III e IV, respectivamente, foi de 5,7; 3,1; 6,1 e 7,0. (Apêndice XIV).

A análise de variância mostrou que o grupo II apresentou diferença significativa ($p = 0,0370 - p \leq 0,05$) em relação aos grupos III e IV.

3.8.3- Análise da contagem do número de macrófagos fagocitando hemossiderina por grupo

A média de macrófagos fagocitando hemossiderina, na contagem celular dos cortes histológicos, nos grupos I, II, III e IV, respectivamente, foi de 10,7; 9,6; 15,3 e 11,9. (Apêndice XV).

A análise de variância revelou que não houve diferença significativa entre os grupos ($p = 0,0560 - p > 0,05$).

3.8.4- Análise da contagem do número de células endoteliais por grupo

A média de células endoteliais, na contagem dos cortes histológicos, nos grupos I, II, III e IV, respectivamente, foi de 1,8; 0,7; 0,4 e 1,0. (Apêndice XVI).

A análise de variância revelou diferença significativa ($p = 0,0409 - p \leq 0,05$) entre os grupos I e III.

3.8.5- Análise da contagem do número de espaços intersticiais por grupo

A média de espaço intersticial, na contagem de elementos não celulares dos cortes histológicos, nos grupos I, II, III e IV, respectivamente, foi de 3,7; 4,5; 7,5 e 6,5. (Apêndice XVII).

A análise de variância mostrou que não existe diferença significativa entre os grupos ($p = 0,2532 - p > 0,05$).

3.8.6- Análise da contagem do número de plasmócitos por grupo

A média de plasmócitos, na contagem celular dos cortes histológicos, nos grupos I, II, III e IV, respectivamente, foi de 0,3; 0,1; 0,6 e 0,5. (Apêndice XVIII).

A análise de variância mostrou que não existe diferença significativa entre os grupos ($p = 0,3426 - p > 0,05$).

3.8.7- Análise da contagem do número de fibras de colágeno por grupo

A média de fibras de colágeno, na contagem dos cortes histológicos, nos grupos I, II, III e IV, respectivamente, foi de 0,5; 0,1; 1,3 e 2,1. (Apêndice XIX).

A análise de variância mostrou que não existe diferença significativa entre os grupos. ($p = 0,3625 - p > 0,05$).

3.8.8- Análise da contagem do número de fibroblastos por grupo

A média de fibroblastos, na contagem dos cortes histológicos, nos grupos I, II, III e IV, respectivamente, foi de 0,2; 0,2; 0,4 e 0,2. (Apêndice XX).

A análise de variância mostrou que não existe diferença significativa entre os grupos. ($p = 0,9947 - p > 0,05$).

3.8.9- Análise da contagem do número de células gigantes tipo corpo estranho por grupo

A média de células gigantes tipo corpo estranho, na contagem dos cortes histológicos, nos grupos I, II, III e IV, respectivamente, foi de 0,0; 0,1; 0,0 e 0,1. (Apêndice XXI).

A análise de variância mostrou que não existe diferença significativa entre os grupos. ($p = 0,5831 - p > 0,05$).

3.8.10- Análise da contagem do número de fibrócitos por grupo

A média de fibrócitos, na contagem dos cortes histológicos, nos grupos I, II, III e IV, respectivamente, foi de 0,0; 0,0; 0,0 e 0,1. (Apêndice XXII).

3.8.11- Análise da contagem do número de monócitos por grupo

A média de monócito, na contagem dos cortes histológicos, nos grupos I, II, III e IV, respectivamente, foi de 0,0; 0,0; 0,0 e 0,0. (Apêndice XXIII).

4- DISCUSSÃO

4.1- Modelos experimentais

Os ratos são animais de laboratório apontados como adequados para a realização da esplenectomia e do autotransplante de tecido esplênico, assim como investigação da vascularização esplênica.

O baço humano, em condições fisiológicas mede, aproximadamente, 12 cm de comprimento, por 8 cm de largura e 3 cm de espessura. Nas espécies animais como o rato, o baço é proporcionalmente maior do que o do homem e possui um formato alongado (Petroianu, 2003).

A esplenectomia total é um procedimento de fácil execução (Torres et al., 2000; Petroianu, 2003). Os ligamentos esplênicos são frouxos e avasculares, permitindo a sua manipulação durante a realização da técnica cirúrgica, e o padrão vascular dos ratos não difere muito do seres humanos. (Petroianu, 2003)

Torres et al. (2000) ressaltam que o aspecto histológico do tecido esplênico do rato é semelhante ao dos seres humanos, desta forma, permitindo pesquisas experimentais de regeneração esplênica e contribuição para o avanço científico.

O autotransplante de baço em ratos é uma técnica fácil e rápida, permitindo que o tecido esplênico fique viável após uma esplenectomia total (Paredes et al., 1992).

4.2- Aspectos gerais dos autotransplantes

Para a realização do autotransplante experimental de baço e assegurar a viabilidade do enxerto, vários fatores são considerados pelos pesquisadores, a saber: peso, tamanho, formato e número de fragmentos.

4.2.1- Peso dos implantes

Vários autores discutem em suas publicações os aspectos e questões relacionadas ao peso do fragmento transplantado. Tavassoli et al. (1973) revelaram um estudo completo do crescimento do enxerto autólogo de baço no tecido subcutâneo. Destacam os resultados do grupo que recebeu fragmento com peso variando de 40 para 60 mg. Durante os dois primeiros dias de implantação, houve uma pequena perda de peso dos enxertos que foi seguido, nos próximos quatro dias, por um pequeno aumento.

Entretanto, durante a segunda semana, ocorreu uma redução do peso dos fragmentos em torno de 10% do peso inicial, que estendeu-se por alguns dias. Na quarta semana, houve um segundo ganho de peso, e no final da quinta semana, o peso dos implantes estabiliza-se acima do peso original do tecido. A variação do peso dos fragmentos está correlacionada com a seqüência dos eventos histológicos direcionados para a completa regeneração do implante. Ainda, os estudos realizados por Tavassoli et al. (1973), destacam a correlação entre o peso inicial do fragmento e o que se regenera, somente para implantes menores que 100 mg, já que para os pesos superiores o processo de degeneração supera a regeneração.

Lau e Ong (1982) utilizaram $\frac{1}{4}$ do peso inicial do baço para a implantação em diferentes sítios de enxertia e destacam os resultados do implante no epíplon, sendo que somente no epíplon houve um crescimento considerável ou não tiveram diminuição.

Christenson et al. (1986) realizaram implantes no epíplon com média de 214 mg de peso. Durante uma série de 30 semanas, os implantes aumentaram gradualmente de peso e parecem alcançar uma estabilidade, havendo um nível muito lento de crescimento em 24 semanas após o procedimento. Nesta fase, o peso era aproximadamente o dobro do peso inicial do implante (417 mg).

Rezende et al. (1990) implantaram fragmentos de baço, em diferentes sítios, com média de 50 mg e constataram, após 16 semanas, que o peso médio de todos os sítios era sensivelmente menor que o peso inicial. A perda de peso foi menor para os fragmentos fatiados implantados no epíplon, seguido pelo mesentério. Os fragmentos implantados no epíplon tiveram uma redução, aproximadamente, 9,4% do peso inicial, enquanto que os implantados na raiz do mesentério perderam, em média, 58,2% do peso inicial.

No experimento realizado por Paredes et al. (1992), o peso médio inicial dos fragmentos implantados no epíplon foi de 131,25 mg. Em intervalos de três a cinco meses e meio, os fragmentos recuperados apresentaram média de peso de 72,52 mg, sendo que, somente nove fragmentos dos 52 implantes recuperados, ganharam peso. Houve uma perda de, aproximadamente, 44,75% em relação ao peso inicial dos fragmentos.

Marques et al. (2002) verificaram que a média de pesos das massas teciduais implantadas no grupo I (animais jovens) foi de 0,51 g e das recuperadas foi de 0,14 g, após 16 semanas de enxertia no epíplon. O grupo II (animais adultos) apresentou a média de pesos de 0,67 g, enquanto que as massas recuperadas tiveram uma média de 0,22 g.

O problema metodológico mais controverso com os autotransplantes esplênicos é a pequena quantidade de fragmento esplênico implantado que, mesmo funcionando, não é suficiente para combater infecções induzidas experimentalmente nos organismos animais. Petroianu (2003) descreve que para que o baço possa se manter em estado de funcionalidade, são necessários pelo menos 25 a 30% de sua massa tecidual normal.

Rodrigues Jr et al. (1987) após a intervenção cirúrgica, observaram os animais de todos os grupos durante 40 semanas. O grupo submetido a esplenectomia parcial e autoimplante de 50% de tecido esplênico no epíplon revelou resultados histológicos satisfatórios, com arquitetura esplênica preservada.

4.2.2- Tamanho dos implantes

Petroianu (2003) descreve que não existe um consenso nos estudos experimentais, quanto ao tamanho de cada secção a ser implantada. Alguns autores utilizaram tecido esplênico com espessuras de 1 mm (Lau e Ong, 1982; Rodrigues Jr et al., 1987), de 2 mm (Gomez et al., 2000; Marques et al., 2002; Karagülle et al, 2007), de 3 à 5 mm (Paredes et al., 1992; Torres et al., 1994), de 1 cm (Souza et al., 2005), além de fragmentos maiores (Sotelo et al., 1983).

Os resultados das pesquisas experimentais, de maneira geral, que utilizaram implantes variando de 1mm até fragmentos maiores que 1cm de espessura apresentaram regeneração do tecido esplênico. Porém, fragmentos muito espessos estariam sujeitos a um processo de regeneração mais tardio, pois as áreas de necroses centrais teriam que ser totalmente acometidas para assim iniciar o processo regenerativo (Torres et al., 1994). É importante salientar que a evolução do implante também recebe influência do local de implantação e do tempo transcorrido pós-enxerto.

Marques et al. (2002) realizaram implantes de 2 mm no epíplon e avaliaram a capacidade de fagocitose do tecido esplênico com injeções venosas de *Escherichia coli* AB 1157. Os pesquisadores observaram no estudo histológico com coloração de Gram a presença de grumos de bactérias no citoplasma de macrófagos.

Apesar de Christenson et al. (1986) não especificarem a espessura dos fragmentos implantados junto ao epíplon, constataram que existe um aumento gradual do tamanho dos implantes, porém ocorreram de maneira lenta até 24 semanas de enxertia e deram maior destaque a variação dos pesos.

4.2.3- Formato dos implantes

O tecido esplênico pode ser implantado em forma homogeneizada (Schwartz et al., 1977; Kovacs et al., 1981; Rezende et al., 1990) ou fragmentado (Lau e Ong, 1982; Sotelo et al., 1983; Vega et al., 1983; Christenson et al., 1986; Rodrigues et al., 1987; Rezende et al., 1990; Sasaki, 1990; Paredes et al., 1992; Torres et al., 1994; Torres et al., 2000; Marques et al., 2002; Miko et al., 2003; Souza et al., 2005; Karagülle et al., 2007).

Apesar de Schwartz et al. (1977) e Kovacs et al. (1981) utilizarem o implante na forma homogeneizada, seus estudos destacam, respectivamente, a influência dos sítios de implantação e a idade do animal no processo de regeneração esplênica.

A pesquisa de Rezende et al. (1990) demonstrou que não existem diferenças significativas em relação à função de fagocitose entre o enxerto macerado e fatiado. Entretanto, as diferenças significativas existiram quanto ao crescimento do implante e o padrão histológico. O tecido esplênico fatiado obteve maior sucesso de regeneração e as maiores médias de peso, no epíplon.

Paredes et al. (1992) destacam que o baço quando transplantado em fragmentos é melhor para a manutenção da sua função de filtro porque é mantida a sua arquitetura microscópica tecidual.

4.2.4- Número de implantes

A técnica operatória de implantes esplênicos autógenos em humanos foi descrita por Petroianu (2003) utilizando-se várias fatias de baço. O autor ressalta que devem ser implantados pelo menos 20 fragmentos para alcançar uma massa tecidual esplênica necessária para uma função adequada.

A maioria dos estudos experimentais consultados revela a utilização de vários fragmentos de baço na realização do auto-implante (Rodrigues Jr et al., 1987; Rezende et al., 1990; Sasaki, 1990; Paredes et al., 1992; Torres et al., 1994; Marques et al., 2002; Souza et al., 2005; Karagülle et al., 2007).

Deve ser ressaltado o trabalho de Paredes et al (1992) que realizaram a implantação de quatro fragmentos no epíplon de 26 ratos Sprague-Dawley. Transcorrido o tempo de enxertia, os pesquisadores resgataram 52 implantes de um total de 104 em 25 ratos, pois em um rato não foi encontrado o tecido esplênico.

Souza et al. (2005) relatam que ao se realizar múltiplos implantes, o crescimento precoce de alguns fragmentos pode ser prejudicial no desenvolvimento dos demais. Desta forma, pode-se explicar por que geralmente o número de fragmentos regenerados é menor do que os inicialmente implantados.

Os estudos de Sotelo et al. (1983) utilizaram implantação de uma porção central do baço no epíplon e puderam observar macroscopicamente a presença do enxerto de tecido esplênico. A microscopia revelou que o enxerto de baço tem característica de tecido esplênico normal.

4.3- Aspectos histológicos

Em relação aos aspectos histológicos do autotransplante esplênico, a bibliografia consultada mostra padrão tecidual diversificado de acordo com o tempo e local de enxertia.

Nos primeiros dois dias de implantação no epíplon, o fragmento passa por uma necrose quase completa do tecido esplênico, sendo que uma pequena faixa periférica de tecido se mantém viável. No terceiro dia a periferia do implante é preenchida por tecido de granulação e pode ser observada grande proliferação de células, semelhantes a fibroblastos. Após o quinto dia, o fragmento adota características de polpa vermelha e pequenos aglomerados de células linfóides circulam as arteríolas. Nos dias que se seguem, a área de necrose central diminui e é substituída por tecido esplênico (Christenson et al., 1986).

O tecido esplênico recuperado após sete dias nas pesquisas de Torres et al. (1994) apresenta recentes áreas de necrose isquêmica, porções do tecido com indicações de atividade regenerativa, assim como foram encontradas células reticulares e grande

quantidade de pigmentos de hemossiderina. Entre os elementos linfóides, foi observado uma primitiva polpa vermelha com células plasmáticas, macrófagos e linfócitos em processo de formação. Quanto à vascularização, estavam presentes alguns sinusóides bem definidos, marcados pela congestão com eritrócitos em seu interior. A cápsula estava composta por tecido de granulação, densas fibras de colágeno e com poucas trabéculas penetrando a área central do tecido. Os folículos linfóides não foram observados nesta fase. Paredes et al (1992) também relatam que o tecido esplênico transplantado sofre necrose isquêmica em sua porção central que se estende de forma centrífuga.

Todavia, Torres et al. (1994) ressaltam que o grupo de ratos Wistar avaliado histologicamente, com técnica de H.E. e tricômio de Masson, após 28 dias de enxertia no epíplon apresentou semelhança importante entre o tecido esplênico autotransplantado e o normal. A polpa vermelha apresentava estrutura de tecido esplênico, trabéculas foram observadas na maioria do tecido, além de áreas de cicatrização e alguns macrófagos. Já a polpa branca tinha pequenos folículos linfóides, com linfócitos maduros, centros germinativos ativos, bainhas linfóides periarteriais e zonas marginais bem diferenciadas, apesar da artéria centrofolicular não estar bem diferenciada.

Sotelo et al. (1983) utilizaram ratos Wistar para implantar enxerto autólogo de baço no epíplon e constataram, transcorrido 30 dias de enxertia, presença de centro germinativo constituído de linfócitos maduros. Foram observados nódulos linfáticos com presença de uma artéria de pequeno calibre, em posição central, denominada artéria folicular. Ao redor destas zonas observaram abundantes sinusóides congestos pela presença de hemácias e os cordões esplênicos apresentaram células reticulares e células plasmáticas.

Torres et al. (2000) em estudos com remanescentes esplênicos recuperados 30 dias após o procedimento cirúrgico, relatam leve espessamento da sua cápsula com focos de proliferação fibroblástica e pouca quantidade de macrófagos. A polpa branca estava mais desenvolvida, com aumento do tecido linfóide, enquanto que a polpa vermelha mostrou-se menos congesta, porém não apresentava padrão de desenvolvimento normal. Os trabalhos com períodos de avaliação de 90 dias demonstram uma fibrose capsular no local da incisão, assim como depósitos de hemossiderina na polpa vermelha (Paulo et al. (2006).

Histologicamente, após 11 semanas de enxertia, as polpas branca e vermelha estão nitidamente separadas, em situação semelhante à encontrada no tecido esplênico normal, mas com a polpa branca bem expressiva (Petroianu, 2003).

Durante os estudos com 26 ratos Sprague-Dawley, que receberam a reimplantação de fragmentos de baço no epíplon, Paredes et al. (1992) observaram após três a cinco meses e meio de enxertia, em lâminas histológicas de 12 ratos (46,15%) 1/3 do tecido esplênico afetado, com presença de depósitos de hemossiderina nas células do sistema mononuclear fagocitário esplênico em forma de grossos grânulos citoplasmáticos corados com o azul da Prússia. Em 15 casos (57,69%) foram constatados granulomas de corpos estranhos constituídos por células gigantes multinucleadas, além de lipogranulomas consistentes em focos de necrose rodeados por histiócitos espumosos e células gigantes multinucleadas em dois casos (7,69%). Casos de fibrose puderam ser observados em 13 ratos (50%) e calcificação em dois casos (7,69%).

O autotransplante de tecido esplênico avaliado após 16 semanas demonstrou que, quando implantados no epíplon de ratos Sprague-Dawley, presença de folículos esplênicos, com sinusóides e polpa vermelha presentes e normais (Lau e Ong, 1982). Em pesquisas com cobaias *Cavea porcellus*, foi observado nódulo bem encapsulado constituído por parênquima esplênico (polpas vermelha e branca) e presença de arteríola folicular excêntrica (Rezende et al., 1990). E quando utilizaram ratos Wistar, as análises histológicas exibiram polpas branca e vermelha com moderado desarranjo arquitetônico, embora uma redução da polpa branca fosse observada, folículos linfóides estavam presentes e os centros germinativos não foram encontrados (Marques et al., 2002).

Em estudos com 40 semanas de enxertia, Rodrigues Jr et al. (1987) observaram, histologicamente, que os fragmentos reimplantados no epíplon apresentam arquitetura esplênica preservada com cápsula, polpa vermelha e folículos linfóides com presença de arteríola central.

4.4- Autotransplantes *versus* local de implantação

Duas linhas de raciocínio foram adotadas nas pesquisas experimentais em relação ao local de implantação e o autotransplante esplênico. Para averiguar a sua capacidade de regeneração, os pesquisadores adotaram preferencialmente os sítios

intra-abdominais (Schwartz et al., 1973; Kovacs et al., 1981; Lau e Ong, 1982; Sotelo et al., 1983; Vega et al., 1983; Christenson et al., 1986; Rodrigues et al., 1987; Rezende et al., 1990; Sasaki, 1990; Paredes et al., 1992; Torres et al., 1994; Torres et al., 2000; Marques et al., 2002; Miko et al., 2003; Souza et al., 2005; Karagülle et al., 2007) e ou implantação no tecido subcutâneo (Schwartz et al., 1973; Tavassoli et al., 1973; Chatterge et al., 1979; Lau e Ong, 1982; Vega et al., 1983; Rezende et al., 1990; Souza et al., 2005).

As pesquisas com ratos esplenectomizados de Schwartz et al. (1973) constataram que os enxertos autólogos realizados no epíplon e cavidade peritoneal tiveram valores semelhantes ao normal, quando testaram a capacidade do macerado esplênico em produzir anticorpos contra hemácias de carneiro. Os resultados foram considerados desfavoráveis para os enxertos localizados na tela subcutânea, pois não mostraram diferença significativa.

Tavassoli et al (1973) descreveram uma seqüência completa de regeneração de enxerto autólogo de baço no tecido subcutâneo de ratos ao longo de seis meses de estudo. Entretanto, apesar de haver regeneração no subcutâneo, estudos realizados por Lau e Ong (1982) constataram que os implantes realizados nos sítios, subcutâneo e retroperitônio, apresentaram pobre regeneração e a arquitetura esplênica é de difícil identificação histológica e, desta forma, classificaram-nos como de pouco valor para aplicação prática. Ao comparar os resultados, concluíram que o epíplon foi um local muito bom para o desenvolvimento do enxerto pelo maior suprimento sangüíneo neste local.

Os resultados publicados por Chatterge et al (1979) mostraram que a reconstituição celular dos enxertos esplênicos, na tela subcutânea e músculo reto abdominal, após oito semanas é observada por meio de valores de linfócitos B e T próximo do normal, sendo que existe, preferencialmente, uma resposta aos linfócitos B. Contudo, os autores descreveram que tais resultados ainda não se encontram bem esclarecidos e, desta maneira, devem ser realizados novos estudos antes da adoção da técnica de autoimplante.

Vega et al. (1983) desenvolveram estudos com ratos e avaliaram diversas funções de enxertos esplênicos implantados nos diferentes sítios: cavidade peritoneal livre, tela subcutânea, epíplon e mesentério. Em relação à capacidade de fagocitose de hemácias

marcadas com TC^{99m} os resultados foram benéficos, entretanto, quando os animais receberam injeções intraperitoneais de pneumococos tipo I, as melhores respostas foram alcançadas com o tecido esplênico implantado no epíplon, mesentério e cavidade peritoneal. Na pesquisa da drenagem venosa realizada pelos enxertos, após injeção de TC^{99m} no próprio tecido esplênico, foi constatado que no subcutâneo a via sistêmica foi utilizada para drenagem, enquanto os demais sítios drenados pelo sistema porta.

Estudo comparativo de auto-implante realizado nos diferentes sítios de enxertia: tela subcutânea, músculo reto abdominal, pró-peritônio, epíplon e mesentério, revelam, quanto ao padrão histológico e a capacidade de fagocitose (hemácias heterólogas de cobaias marcadas com TC^{99m} e alteradas pelo calor), maior proximidade com o tecido esplênico normal e os sítios intra-abdominais epíplon e raiz do mesentério (Rezende et al., 1990).

Souza et al. (2005) durante pesquisas experimentais concluíram que a regeneração do tecido esplênico heterotópico é viável, tanto na cavidade peritoneal como na tela subcutânea, ocorrendo de maneira equivalente, com alta taxa regenerativa, além de aspectos histológicos semelhantes aos do baço normal.

Karagülle et al. (2007) avaliaram a efetividade do autotransplante esplênico em coelhos *New Zealand* e concluíram que no caso de esplenectomia é indicada a técnica de autotransplante no epíplon, podendo ser um método seguro para restaurar suas funções e a sua viabilidade pode ser acompanhada por cintilografia e exames laboratoriais.

De maneira geral, os trabalhos que utilizaram o epíplon como sítio de escolha para o autotransplante, constataram a presença de regeneração e organização tecidual esplênica semelhante ao órgão normal (Torres et al., 1994; Sasaki, 1990; Paredes et al., 1992; Sotelo et al., 1983; Marques et al., 2002; Torres et al., 2000).

Atualmente já existe um consenso entre os autores de que o epíplon seria o sítio de implantação ideal, seguido do mesentério e mesocólon. Isto se deve não somente pela sua extensão e riqueza vascular, mas, principalmente, por sua drenagem venosa pertencer ao sistema porta, desta forma mimetizando as condições normais do baço (Petroianu, 2003).

4.5- Resultados da pesquisa *versus* literatura

O presente estudo mostra que após 24 semanas de enxertia, houve uma perda de peso dos fragmentos em relação ao seu peso inicial. No princípio, os fragmentos implantados nos diferentes sítios abdominais possuíam em média 385,84 mg, enquanto que no pós-operatório os tecidos recuperados apresentaram peso médio de 235,13 mg. De acordo com Tavassoli et al. (1973), os grandes implantes (acima de 100 mg) não apresentam um aumento de peso do tecido esplênico recuperado equivalente ao observado nos implantes menores que 100mg. Além disso, a função linear entre o peso inicial e final dos enxertos deixa de existir quando o peso ultrapassa 100 mg.

Os implantes realizados por Christenson et al (1986) no epíplon demonstraram um ganho de peso ao longo de 24 semanas, chegando ao dobro do peso inicial (417 mg). Os animais do grupo II que também receberam o implante no epíplon não apresentaram os mesmos resultados, ao contrário, ocorreu uma perda de peso, os fragmentos com média de peso inicial de 314,18 mg apresentaram no pós-operatório peso médio de 205,29 mg. Essa diferença encontrada em relação ao trabalho de Christenson et al (1986) poderia ser explicada pelos implantes espessos (14,53 mm) e, desta forma, sujeitos a um processo regenerativo tardio (Torres et al., 1994). Segundo Tavassoli et al. (1973), as variações de peso estão correlacionadas com os eventos histológicos desenvolvidos durante a regeneração dos implantes.

De certa forma, parece existir uma relação entre os fatores peso e tamanho dos fragmentos, sendo assim justificável a redução do tamanho dos fragmentos no tempo pós-operatório. Christenson et al. (1986) descreveram que o tamanho e o peso dos fragmentos acompanham um crescimento durante a avaliação do experimento.

A diminuição de peso dos fragmentos ocorreu de maneira diferente entre os grupos II, III e IV, que receberam os implantes, respectivamente, na cavidade peritoneal, epíplon e mesentério.

Em relação à porcentagem de perda do tecido esplênico, podemos destacar os fragmentos do grupo IV, implantados no mesentério, que apresentaram perda de, aproximadamente, 50,36% do peso inicial; os maiores índices comparados ao grupo II (31%) e III (34,66%). O presente trabalho assemelha-se ao de Rezende et al. (1990) que

obtiveram fragmentos com perda de aproximadamente 58,2 % do peso inicial, quando implantados na raiz do mesentério.

A porcentagem de perda de peso dos fragmentos implantados no epíplon (34,66%) foi menor que os resultados de Paredes et al. (1992), que alcançaram perda de, aproximadamente, 44,75% do peso inicial dos fragmentos, em intervalos de três a cinco meses e meio. Entretanto, após 16 semanas de enxertia no epíplon, Rezende et al. (1990) obtiveram fragmentos com uma redução apenas de 9,4% do peso inicial, sendo que esta diferença pode ser explicada devido ao tamanho do fragmento transplantado.

O grupo II (31%), que recebeu os fragmentos soltos aleatoriamente na cavidade peritoneal, obtiveram perda de peso semelhante ao grupo III (34,66%), provavelmente porque os fragmentos foram encontrados, em 93,75% dos casos, fixados ao epíplon.

A análise histológica mostrou que os melhores padrões histológicos ocorreram no epíplon, com características próximas do tecido esplênico normal, seguidos pela cavidade peritoneal e mesentério.

Com 24 semanas de enxertia, o tecido linfóide apresentava-se parcialmente preservado, polpa branca tanto com formações foliculares, quanto em bainhas linfóides. Padrão histológico de polpa branca semelhante foram observados nos estudos de Torres et al. (1994) com enxertos avaliados entre 21 e 28 dias após a implantação e por Marques et al. (2002) com 16 semanas após o procedimento de autotransplante.

Marques et al. (2002) ressaltaram que a polpa branca apresentava moderado desarranjo da arquitetura tecidual e folículos linfóides estavam presentes, enquanto que Torres et al. (1994) descreveram que a polpa branca não estava bem definida na avaliação dos enxertos após 21 dias de implantação e a formação das bainhas linfóides iniciaram-se neste período, mas puderam ser melhores observadas com 28 dias de enxertia.

Já foi enfatizado previamente que os fragmentos maiores (acima de 100 mg) e os mais espessos necessitam de maior tempo de regeneração (Tavassoli et al, 1973; Torres et al., 1992). Além disso, os autores sugerem existir uma correlação entre o peso, tamanho e fator regenerativo (Tavassoli et al., 1973; Christenson et al., 1986), desta forma, seria justificável o fato dos implantes, do presente trabalho, terem apresentado características histológicas de tecido esplênico implantados com espessuras de 3 a 5 mm, recuperado entre 21 e 28 dias (Torres et al., 1994).

Sotelo et al. (1983) utilizaram uma porção central do baço para o autotransplante e transcorridos 30 dias após o procedimento cirúrgico observaram a polpa branca com formação nodular constituídos por linfócitos maduros e, na sua porção central, presença de uma pequena artéria, denominada de artéria folicular. A presente pesquisa também utilizou para a enxertia uma porção central do baço e as análises histológicas revelaram padrão tecidual semelhante após 24 semanas de implantação.

Já a polpa vermelha dos implantes do grupo III, no presente trabalho, revelou aspecto cordonal, apesar de hemorrágica. As pesquisas de Sotelo et al. (1983) também revelam a presença de células em aspectos cordonais ao lado dos sinusóides congestionados, devido a grande quantidade de eritrócitos. Com 21 dias após o autotransplante esplênico, os sinusóides congestionados também foram observados no experimento de Torres et al. (1994).

Rodrigues Jr et al. (1987) e Rezende et al. (1990) também revelaram a presença de arquitetura esplênica preservada para os sítios do epíplon próximo ao normal, respectivamente, com 40 semanas e 16 semanas após a enxertia.

Nos implantes realizados no epíplon foram observados macrófagos ativados, com citoplasma repleto de grânulo de hemossiderina, além de gigantócitos. O trabalho de Paredes et al. (1992) descreveram detalhadamente a presença dos macrófagos e gigantócitos. Depósitos de hemossiderina, considerados leves (1/3 do tecido esplênico afetado), foram constatados nas células do sistema fagocitário mononuclear do baço em 46,15 % dos ratos, e as células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho em 15 casos (57,69%). Nos grupos II – Cavidade e IV – Mesentério também foram encontrados a presença de macrófagos com pigmentos de hemossiderina, porém em maior quantidade para os fragmentos implantados no mesentério.

Os fragmentos implantados aleatoriamente na cavidade peritoneal (grupo II) apresentaram semelhança histológica com o grupo que recebeu o implante no epíplon (grupo III), provavelmente porque os fragmentos tiveram como destino de enxertia o epíplon na maioria dos casos (93,75%). De acordo com a pesquisa de Souza et al. (2005), nos casos de migração do implante de tecido esplênico na cavidade peritoneal, foram observados regeneração dos fragmentos distante final do local de enxertia, como nas curvaturas do estômago e no epíplon.

De maneira geral, o epíplon parece ser o sitio ideal para enxertia, devido o seu rico suprimento sanguíneo e, principalmente, por sua drenagem pertencer ao sistema porta. Além disso, Petroianu (2003) relatou que o epíplon possui uma fração lipídica que estimularia a neoformação vascular.

Macroscopicamente foi visualizado em um caso entre os fragmentos implantados no epíplon, a presença de um pequeno abscesso no local do tecido esplênico. Paredes et al. (1992) relatam, em quatro ratos, a presença de formação esférica, lisa, com conteúdo interno de coloração branco-amarelado, inodoro, rodeado por cápsula conjuntiva; que corresponderam a fragmentos de tecido esplênico necrosados no epíplon. Sotelo et al. (1983) também observaram dois casos de abscesso cobertos por uma grossa cápsula e no seu interior presença de pus e detritos celulares. Do mesmo modo que ocorreu nesta pesquisa, os autores não relataram óbitos entre os animais transplantados.

A análise microscópica quantitativa revelou diferenças significativas para a contagem de linfócitos, macrófagos ativos e células endoteliais, enquanto que para a contagem de macrófagos ativos fagocitando hemossiderina, plasmócitos, fibroblastos, fibrócitos, células gigantes tipo corpo estranho, monócitos, espaços intersticiais e fibras de colágeno os valores não foram significativos ($p > 0,05$). Assim, sugere-se que a análise quantitativa deva ser correlacionada com a evolução tecidual nos diferentes sítios de enxertia e, desta maneira, feita a interpretação das contagens.

A contagem de linfócitos e macrófagos ativos do grupo que recebeu o implante no epíplon foi semelhante ao tecido esplênico normal, ressaltando o epíplon como sítio ideal de implantação e regeneração esplênica.

A contagem de macrófagos ativos do grupo que recebeu o implante na cavidade apresentou diferença significativa em relação aos grupos que receberam o implante no epíplon e mesentério. Contudo, a contagem do grupo II, III e IV, não tem diferença com o tecido esplênico normal. A presença de macrófagos ativos no local do enxerto está relacionada, provavelmente, a fase inicial de necrose do implante fagocitando os elementos sanguíneos originados do processo hemorrágico e, desta forma, surgiriam os macrófagos com citoplasma repleto de hemossiderina ou a fagocitose de eritrócitos provenientes da corrente sanguínea (Marques et al., 2002).

Em relação à contagem de células endoteliais, a análise estatística revelou que o número de células endoteliais do tecido esplênico normal é diferente do grupo que recebeu o implante no epíplon. Entretanto, a análise qualitativa revelou a presença de formações vasculares nos implantes do epíplon e mostrou formação dos cordões esplênicos da polpa vermelha. Tavassoli et al. (1973) reescreveram que as artérias e veias surgem durante a terceira e quarta semana pós-implante, e ficam evidenciadas as formações da polpa vermelha.

Destacamos o trabalho de Souza et al. (2005) que realizaram análises citológicas, com uso de esfregaços dos enxertos regenerados e coloração pelo método de Leishmann, para comparar os grupos que receberam o implante na cavidade peritoneal e tela subcutânea. As células reticulares mostraram-se mais numerosas no grupo que tiveram enxertia na cavidade peritoneal, enquanto que as demais células (linfóides, plasmócitos, neutrófilos, eosinófilos e monócitos) não mostraram diferença significativa.

Os resultados da presente pesquisa mostraram que o melhor local para realizar autotransplantes é no epíplon, uma vez que a análise histológica dos fragmentos de tecido esplênico recuperados após seis meses de observação mostram significativa semelhança com o tecido esplênico normal, quanto aos aspectos qualitativos e quantitativos. Além disso, mesmo realizando autotransplantes com fragmentos de aproximadamente 15 mm e ocorrendo mais de 30% de redução no peso dos fragmentos recuperados, o tecido esplênico aparentemente estava funcionando, pois foi constatado número significativo de macrófagos ativos, macrófagos fagocitando hemossiderina e plasmócitos. Entretanto, não sabemos explicar o motivo da ocorrência de número menor de células endoteliais no grupo III do epíplon.

Certamente que futuras pesquisas ainda são necessárias de serem realizadas sobre o assunto. Até o presente momento, a revisão de trabalhos experimentais e clínicos demonstram que o autotransplante de tecido esplênico é totalmente viável de ser realizado, preservando a sua importante função de defesa dos organismos.

5- CONCLUSÃO

- 1- A análise macroscópica revelou que ocorreu neovascularização em todos os sítios de implantação dos fragmentos.
- 2- A análise microscópica revelou que o autotransplante de tecido esplênico em ratos Wistar nos diferentes sítios de implantação estudados é viável, entretanto ocorrendo melhor regeneração e aspectos histológicos semelhantes aos do tecido esplênico normal, no epíplon.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Buchbinder JH, Lipkoff CG. Splenosis multiple peritoneal splenic implants following abdominal injury a report of case and review of literature. *Surgery*. 1939; 6: 927-34.
- Bunch GH, Spivey CG. Intraperitoneal transplants following traumatic rupture of the spleen. *Am J Surg*. 1946; 71(1): 542-5.
- Chatterge SN, Eckles D, Gershwin ME. Preferential B. cell reconstitution following splenic autotransplantation in mice. *Transplant Proc*. 1979; 11(2): 1458-9.
- Christenson JT, Owunwanne A, Al-Hassan EE, Ryd W. Regeneration and function autotransplantation of splenic tissue after splenectomy. *World J Surg*. 1986; 10: 860-6.
- Fatouros M, Bourantas K, Bairaktari E, Elisaf M, Tsolas O, Cassioumis D. Role of the spleen in lipid metabolism. *Br J Surg*. 1995; 82(12):1675-7.
- Galvão L, Azevedo N. Enxerto autólogo de baço. *Rev Bras Cir*. 1980; 7(3): 143-6.
- Gomez L, Egido R, Guarino G, Perez L, Piñol C. Studio istologico del trapianto splenico sperimentale nei ratti. *Minerva Chir*. 2000; 55: 741-4.
- Junqueira LC, Carneiro J. Sistema imunitário e órgãos linfáticos. In: Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica*. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2004. p. 276-80.
- Karagülle E, Hoscoskun Z, Kutlu AK, Kaya M, Baydar S. The effectiveveness of splenic autotransplantation: na experimental study. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2007; 13(1): 13-9.
- Knezevic S, Stefanovic D, Petrovic M, Matic S, Artiko V, Milovanovic A, Popovic M. Autotransplantation of the spleen. *Acta Chir Iugosl*. 2002; 49(3): 101-6.
- Kobata CM, Chacon JP, Leonardi LS. Traumatismo do baço: esplenectomia. *An Paul Med Cir*. 1986; 113(1-2): 19-25.
- Kovacs KF, Caride VJ, Toulankian RJ. Regeneration of splenic autotransplants in sulckling and adults rats. *Arch Surg*. 1981; 116(3): 355-6.
- Kusminsky RE, Chang HH, Hossino N, Lekan SM, Boland JP. Am omental implantation technique for salvage of the spleen. *Surg Gynecol Obstet*. 1982; 155: 406-8.
- Lau JTK, Ong GB. Experimental splenosis: A comparative study in rats. *Aust N Z J Surg*. 1982; 52(2): 210-5.

- Marques RG, Petroianu A, Coelho JMCO, Portela MC. Morfologia e função fagocitária de implante esplênico autógeno regenerado em ratos. *Acta Cir Brás.* 2004; 19(6): 642-8.
- Marques RG, Petroianu JM, Coelho JMCO, Portela MC. Regeneration of splenic autotransplants. *Ann Hematol.* 2002; 81: 622-6.
- Miko I, Brath E, Nemeth N, Toth FE, Sipka S, Kovacs SJr et al. Hematological, hemorheological, immunological and morphological studies of spleen autotransplantation in mice: preliminary results. *Microsurgery.* 2003; 23(5): 483-8.
- Paredes JP, Caínos M, Pérez E, Otero R, Rodriguez S, Potel J. Valoración del autotransplante esplênico em epiplón mayor. *Rev Esp Digest.* 1992; 81(1): 29-33.
- Paulo DNS, Paulo ICAL, Kalil M, Vargas PM, Silva AL, Baptista JFA, Guerra AJ. Subtotal splenectomy preserving the lower pole in rats: technical, morphological and functional aspects. *Acta Cir Bras.* 2006; 21(5): 321-7.
- Petroianu A. O baço. São Paulo: CLR Balieiro; 2003. 436 p.
- Petroianu A, Petroianu LP. Splenic autotransplantation for treatment of portal hypertension. *Can J Surg.* 2005; 48(5): 382-6.
- Resende V, Petroianu A. Funções do remanescente esplênico após esplenectomia subtotal ou auto-implantes esplênicos para tratamento de lesões complexas do baço humano. *An Fac Med Fed Pernanb.* 2000; 45(2): 100-5.
- Rezende AM, Silva AL, Maciel RARS. Enxerto autólogo de baço estudo comparativo e experimental no abdome. *Arq Gastroenterol.* 1990; 27(4): 174-81.
- Rezende AM. Enxerto autólogo de baço estudo comparativo e experimental no abdome [Tese-Mestrado]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais; 1989.
- Rodrigues Jr AJ, Rodrigues CJ, Yamamuro E, Komo E, Birolini D, Oliveira MR. Desenvolvimento de autotransplantes intraperitoneais de baço com e sem remanescente esplênico tóxico (estudo experimental em ratos). *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo.* 1987; 42(5): 209-12.
- Sasaki K. Splenic autotransplantation in nude mice. The formation of white pulp. *APMIS.* 1990; 98: 507-13.
- Sampaio P. Autotransplante de tecido esplênico na cavidade peritoneal. *Rev Bras Cir.* 1950; 20: 59-62.

- Samuelson DA. Sistema imune. In: Samuelson DA. Tratado de Histologia Veterinária. [tradução de Newton da Cruz Rocha et al.]. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007. p. 241-61.
- Schwartz AD, Dadash-zaden M, Goldstein R, Luck S, Conway JJ. Antibody response to intravenous immunization following splenic tissue autotransplantation in Sprague-Danley rats. *Blood*. 1977; 49(5):779-83.
- Schwartz S. Baço. In: Schwartz S. Princípios de cirurgia. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1976. p. 1318. vol. 2.
- Simões FC, Marques RG, Diestel CF, Caetano CE, Dinis AP, Horst NL, Nogueira Neto JF, Portela MC. Lipidic profile among rats submitted to total splenectomy isolated or combined with splenic autotransplant. *Acta Cir Bras*. 2007; 22(1):46-51.
- Sotelo PR, Sosa VMR, Jimenez DC, Rozhkova GG. Autotrasplante libre de tecido esplênico. *Rev Cub Cir*. 1983; 22: 197-203.
- Souza JCL, Athiê E, Marigo C, Rahal F, Fagundes DJ. Estudo da regeneração esplênica autóloga e heterotópica em ratos. *Acta Cir Bras*. 2005; 20(3): 253-7.
- Tavassoli M, Ratzan RJ, Crosby WH. Studies on regeneration of heterotopic splenic autotransplants. *Blood*. 1973; 41(5): 701-9.
- Torres OJM, Dietz UA, Lima EJB, Loddo G, Salazar RM, Malafaia O. Histological evaluation of the regeneration of splenic autotransplants. Experimental study in rats. *Acta Cir Bras*. 1994; 9(2): 81-7.
- Torres OJM, Macedo EL, Picciani ERG, Nunes PMS, Costa JVG, Carvalho AB et al. Histological study of splenic regeneration in rats underwent to subtotal splenectomy. *Acta Cir Bras*. [serial on-line] 2000 Abr-Jun [acesso em 03 jun de 2006]; 15(2). Disponível em: URL: <http://www.scielo.br/acb>.
- Vega A; Howell C; Krasna I; Campos J; Heyman R; Ziegler M; Koop CE. Splenic autotransplantation: optimal functional factors. *J Pediatr*. 1983; 16(6): 898-903.
- Weber T; Hanisch E; Baum R; Seufert RM. Late results of heterotopic autotransplantation of splenic tissue into the greater omentum. *World J Surg*. 1998; 22: 883-9.
- Willians JS, Patel JM, Hinshae JR. Omental pouch technique for hemitransplantation of the spleen. *Surg Gynecol Obstet*. 1982; 155(5): 730-1.

7- APÊNDICES

Apêndice I-

I. Certificado da Comissão de Ética na Experimentação Animal



Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia



CEEA-IB-UNICAMP

Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA-IB-UNICAMP

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Protocolo nº 745-2, sobre "DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL DE AUTOTRANSPLANTES INTRAPERITONIAIS DE BAÇO" sob a responsabilidade de Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo / Rodolfo Malagó está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 02 de dezembro de 2004.

C E R T I F I C A T E

We certify that the protocol nº 745-1, entitled "_____", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on December 2nd, 2004.

Campinas, 02 de dezembro de 2004.

Profa. Dra. Liana Verinaud
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP

Fátima Alonso
Secretária - CEEA/IB/UNICAMP

Apêndice II- Peso do Baco

Tabela 1- Estatísticas descritivas da variável peso do baco, por grupo.

Grupo	Nº de ratos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Cavidade	17	1127,00	124,79	880,00	1146,00	1399,00
Epíplon	18	897,50	149,51	615,00	886,00	1310,00
Mesentério	17	1180,59	190,95	875,00	1196,00	1552,00

Anova nos ranks, p-valor = **0,0001** (Epíplon ≠ Cavidade e Mesentério).

Apêndice III- Tamanho do Baco

Tabela 2- Estatísticas descritivas da variável tamanho do baco, por grupo.

Grupo	Nº de ratos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Cavidade	17	46,18	2,30	42,00	45,00	50,00
Epíplon	18	44,17	3,01	40,00	45,00	50,00
Mesentério	17	46,71	2,76	42,00	48,00	50,00

Anova nos ranks, p-valor = **0,0001** (Epíplon ≠ Mesentério e Cavidade).

Apêndice IV- Peso do Rato

Tabela 3- Estatística descritiva da variável peso do rato, por grupo e tempo.

Grupo	Nº de ratos	Tempo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Cavidade	17	Pré	457,24	48,27	388,00	467,00	554,00
		Pós	581,47	68,32	471,00	572,00	723,00
Epíplon	18	Pré	338,39	76,18	238,00	341,00	510,00
		Pós	544,28	74,94	439,00	535,00	706,00
Mesentério	17	Pré	457,35	33,77	409,00	453,00	536,00
		Pós	581,12	60,09	502,00	588,00	725,00

Apêndice V- Análise de Variância

Tabela 4- Resultados da análise de variância do peso do rato com um fator repetido (Ranks).

Fonte de Variação	p – valor	Resultado da Comparação
Grupo	0,0006	Epíplon ≠ (Cavidade = Mesentério)
Tempo	0,0001	Pré ≠ Pós
Grupo*Tempo	0,0973	

Apêndice VI- Peso dos Fragmentos dos Baços

Tabela 5- Estatísticas descritivas da variável peso do fragmento do baço, por grupo e tempo.

Grupo	Nº de ratos	Tempo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Cavidade	16	Pré	421,06	47,58	345,00	429,00	495,00
		Pós	290,50	65,86	116,00	308,00	378,00
Epíplon	17	Pré	314,18	66,26	229,00	298,00	515,00
		Pós	205,29	75,30	77,00	194,00	319,00
Mesentério	17	Pré	422,29	77,67	341,00	402,00	598,00
		Pós	209,59	76,32	87,00	227,00	336,00

Apêndice VII- Análise de Variância

Tabela 6- Resultados da análise de variância do peso do fragmento do baço com um fator repetido (Ranks).

Fonte de Variação	p-valor
Grupo	0.0001
Tempo	0.0001
Grupo*Tempo	0.0003

Fixando Tempo	Comparação dos grupos
Pré	Epíplon ≠ (Cavidade = Mesentério)
Pós	Cavidade ≠ (Epíplon = Mesentério)

Fixando Grupo	Comparação dos tempos
Cavidade	pré ≠ pós
Epíplon	pré ≠ pós
Mesentério	pré ≠ pós

Apêndice VIII- Tamanho dos Fragmentos dos Baços

Tabela 7- Estatísticas descritivas da variável tamanho do fragmento do baço, por grupo e tempo.

Grupo	N° de ratos	Tempo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Cavidade	16	Pré	15,19	0,66	14,00	15,00	16,00
		Pós	13,63	1,71	8,00	14,00	16,00
Epíplon	17	Pré	14,53	0,94	13,00	15,00	16,00
		Pós	11,65	2,45	6,00	12,00	16,00
Mesentério	17	Pré	15,41	0,80	14,00	16,00	16,00
		Pós	11,94	2,22	9,00	12,00	15,00

Apêndice IX- Análise de Variância

Tabela 8- Resultados da análise de variância do tamanho do fragmento do baço com um fator repetido (Ranks).

Fonte de Variação	p – valor	Resultado da Comparação
Grupo	0,0113	Epíplon ≠ Cavidade
Tempo	0,0001	Pré ≠ Pós
Grupo*Tempo	0,0657	

Apêndice X- Grupo II

Tabela 9- Relação dos pesos dos ratos (g), pesos dos baços (mg), pesos dos fragmentos de baços (mg), tamanho dos baços (mm), tamanho dos e fragmentos de baços (mm), pré-implante e pós-implante na cavidade peritoneal.

N° do Rato	PRÉ-IMPLANTE					PÓS-IMPLANTE		
	Peso do Rato	Peso do Baço	Peso do Fragmento	Tamanho do Baço	Tamanho Fragmento	Peso do Rato	Peso do Fragmento	Tamanho Fragmento
1	467	1257	426	48	16	545	309	14
2	525	1399	465	50	16	723	350	14
3	389	1013	363	45	15	530	256	14
4	481	1189	470	45	15	697	259	14
5	404	880	355	42	14	528	227	13
6	554	1120	451	49	16	579	sem baço	sem baço
7	493	999	363	45	15	574	307	14
8	421	1193	458	45	15	629	225	13
9	392	976	345	45	15	502	348	14
10	469	1146	390	50	16	549	312	15
11	476	1196	495	48	16	688	116	8
12	462	1087	397	45	15	572	321	13
13	496	1193	470	46	15	586	294	15
14	388	1010	411	43	14	471	317	13
15	436	1230	459	48	16	590	378	16
16	437	1110	432	45	15	551	368	14
17	483	1161	438	46	15	571	261	14

Apêndice XI- Grupo III

Tabela 10- Relação dos pesos dos ratos (g), pesos dos baços (mg), pesos dos fragmentos de baços (mg), tamanho dos baços (mm) e tamanho dos fragmentos de baços (mm), pré e pós-implante no omento maior.

Nº do Rato	PRÉ-IMPLANTE					PÓS-IMPLANTE		
	Peso do Rato	Peso do Baço	Peso do Fragmento	Tamanho do Baço	Tamanho do Fragmento	Peso do Rato	Peso do Fragmento	Tamanho do Fragmento
1	270	824	266	42	14	484	97	9
2	260	951	271	45	15	498	181	11
3	238	865	262	40	13	530	151	11
4	239	884	298	42	14	500	209	12
5	350	866	305	42	14	540	134	9
6	256	615	229	42	14	505	192	11
7	295	719	271	40	13	484	194	12
8	345	799	300	46	15	544	175	13
9	350	888	363	45	15	655	77	6
10	335	957	337	45	15	586	abscesso	abscesso
11	334	820	295	44	15	544	217	13
12	365	927	293	45	15	439	308	13
13	359	1102	370	47	15	523	275	14
14	337	772	276	40	13	440	317	15
15	362	973	330	45	15	563	199	12
16	389	929	310	45	15	576	148	9
17	510	954	387	50	16	706	297	12
18	497	1310	515	50	16	680	319	16

Apêndice XII- Grupo IV

Tabela 11- Relação dos pesos dos ratos (g), pesos dos baços (mg), pesos dos fragmentos de baços (mg), tamanho dos baços (mm) e tamanho dos fragmentos de baços (mm), pré e pós-implante no mesentério.

N° do Rato	PRÉ-IMPLANTE					PÓS-IMPLANTE		
	Peso do Rato	Peso do Baço	Peso do Fragmento	Tamanho do Baço	Tamanho do Fragmento	Peso do Rato	Peso do Fragmento	Tamanho do Fragmento
1	487	1364	402	48	16	592	87	9
2	445	1420	474	49	16	502	163	10
3	479	1350	403	48	16	588	117	10
4	453	966	345	42	14	586	168	11
5	420	989	345	42	14	634	146	11
6	423	875	341	43	14	507	227	12
7	409	1140	415	49	16	533	133	9
8	429	1030	387	47	16	502	296	14
9	495	969	364	44	15	662	283	15
10	480	1399	598	50	16	607	146	9
11	455	1246	425	46	15	556	243	14
12	472	1077	386	45	15	585	256	13
13	486	1228	443	50	16	603	232	13
14	444	1060	377	45	15	588	295	15
15	443	1196	391	48	16	599	142	10
16	419	1209	488	50	16	510	336	15
17	536	1552	595	48	16	725	293	13

Apêndice XIII- Contagem de Linfócitos

Tabela 12- Análise descritiva da contagem de linfócitos entre os grupos.

Grupo	N° de ratos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Controle	8	32,8	8,2	18,7	33,5	42,7
Cavidade	8	17,1	2,2	13,7	16,8	20,7
Epíplon	8	24,3	10,3	13,3	22,5	47,3
Mesentério	8	16,8	6,8	6,7	17,3	27,3

ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos, $p = 0,0020$
(Controle \neq Mesentério e Controle \neq Cavidade).

Apêndice XIV- Contagem de Macrófagos Ativos

Tabela 13- Análise descritiva da contagem de macrófagos ativos entre os grupos.

Grupo	N° de ratos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Controle	8	5,7	2,1	2,7	6,0	8,7
Cavidade	8	3,1	1,6	1,0	3,0	6,0
Epíplon	8	6,1	2,9	0,7	6,7	10,0
Mesentério	8	7,0	3,8	3,7	5,3	12,7

ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos, $p = 0,0370$;
(Epíplon \neq Cavidade e Mesentério \neq Cavidade).

Apêndice XV- Contagem de Macrófagos Fagocitando Hemossiderina

Tabela 14- Análise descritiva da contagem de macrófagos fagocitando hemossiderina entre os grupos.

Grupo	N° de ratos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Controle	8	10,7	2,4	2,7	9,8	14,0
Cavidade	8	9,6	3,1	1,0	9,8	14,7
Epíplon	8	15,3	4,0	0,7	15,5	21,7
Mesentério	8	11,9	6,2	3,7	11,3	22,3

ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos, $p = 0,0560$.

Apêndice XVI- Contagem de Células Endoteliais

Tabela 15- Análise descritiva da contagem de células endoteliais entre os grupos.

Grupo	N° de ratos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Controle	8	1,8	1,1	0,0	1,7	3,3
Cavidade	8	0,7	1,1	0,0	0,2	3,0
Epíplon	8	0,4	0,6	0,0	0,0	1,7
Mesentério	8	1,0	0,9	0,0	0,8	2,3

ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos, $p = 0,0409$; (Controle \neq Epíplon)

Apêndice XVII- Contagem de Espaços Intersticiais

Tabela 16- Análise descritiva da contagem de espaços intersticiais entre os grupos.

Grupo	N° de ratos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Controle	8	3,7	2,5	0,7	3,5	9,0
Cavidade	8	4,5	3,6	0,3	4,7	8,7
Epíplon	8	7,5	4,0	3,3	6,5	14,0
Mesentério	8	6,5	5,2	2,0	4,0	15,7

ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos, $p = 0,2532$.

Apêndice XVIII- Contagem de Plasmócitos

Tabela 17- Análise descritiva da contagem de plasmócitos entre os grupos.

Grupo	N° de ratos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Controle	8	0,3	0,3	0,0	0,2	0,7
Cavidade	8	0,1	0,2	0,0	0,0	0,3
Epíplon	8	0,6	0,8	0,0	0,2	2,3
Mesentério	8	0,5	0,4	0,0	0,3	1,0

ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos, $p = 0,3426$.

Apêndice XIX- Contagem de Fibras de Colágeno

Tabela 18- Análise descritiva da contagem de fibras de colágeno entre os grupos.

Grupo	N° de ratos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Controle	8	0,5	1,3	0,0	0,0	3,7
Cavidade	8	0,1	0,2	0,0	0,0	0,7
Epíplon	8	1,3	1,7	0,0	0,3	4,3
Mesentério	8	2,1	3,8	0,0	0,0	10,7

ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos, $p = 0,3625$.

Apêndice XX- Contagem de Fibroblastos

Tabela 19- Análise descritiva da contagem de fibroblastos entre os grupos.

Grupo	N° de ratos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Controle	8	0,2	0,3	0,0	0,0	0,7
Cavidade	8	0,2	0,5	0,0	0,0	1,3
Epíplon	8	0,4	0,7	0,0	0,0	2,0
Mesentério	8	0,2	0,4	0,0	0,0	1,0

ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos, $p = 0,9947$.

Apêndice XXI- Contagem de Células Gigantes Tipo Corpo Estranho

Tabela 20- Análise descritiva da contagem de células gigantes tipo corpo estranho entre os grupos.

Grupo	N° de ratos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Controle	8	0,0	0,1	0,0	0,0	0,3
Cavidade	8	0,1	0,2	0,0	0,0	0,3
Epíplon	8	0,0	0,1	0,0	0,0	0,3
Mesentério	8	0,1	0,2	0,0	0,0	0,3

*ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos, p = 0,5831.

Apêndice XXII- Contagem de Fibrócitos

Tabela 21- Análise descritiva da contagem de fibrócitos entre os grupos.

Grupo	N° de ratos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Controle	8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cavidade	8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Epíplon	8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Mesentério	8	0,1	0,4	0,0	0,0	1,0

Apêndice XXIII- Contagem de Monócitos

Tabela 22- Análise descritiva da contagem de monócito entre os grupos.

Grupo	N° de ratos	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Controle	8	0,0	0,1	0,0	0,0	0,3
Cavidade	8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Epíplon	8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Mesentério	8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

