

ARGOS SOARES DE MATOS FILHO

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS E FUNCIONAIS
DO IMPLANTE DE TECIDO ESPLÊNICO
AUTÓGENO PREVIAMENTE CONSERVADO
EM SOLUÇÃO DE RINGER-LACTATO**

**Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à
Oftalmologia
Faculdade de Medicina da UFMG
Belo Horizonte, MG – Brasil**

2013

ARGOS SOARES DE MATOS FILHO

**Aspectos morfológicos e funcionais do implante
de tecido esplênico autógeno previamente
conservado em solução de Ringer-lactato**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia
da Faculdade de Medicina da Universidade Federal
de Minas Gerais, como requisito final para a
obtenção do grau de Doutor em Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Andy Petroianu

Belo Horizonte, MG – Brasil

2013

M433a Matos Filho, Argos Soares de.
Aspectos morfológicos e funcionais do implante de tecido esplênico autólogo previamente conservado em solução de Ringer-lactato [manuscrito]. / Argos Soares de Matos Filho. - - Belo Horizonte: 2013. 62f.: il.
Orientador: Andy Petroianu.
Área de concentração: Ciências aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Baço/cirurgia. 2. Esplenectomia/métodos. 3. Transplante Autólogo
4. Soluções Isotônicas. 5. Dissertações Acadêmicas. I. Petroianu, Andy. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.

NLM: WH 600

ARGOS SOARES DE MATOS FILHO

**Aspectos morfológicos e funcionais do implante
de tecido esplênico autógeno previamente
conservado em solução de Ringer-lactato**

Tese de Doutorado

Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia
do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal
de Minas Gerais.

Belo Horizonte, 4 de fevereiro de 2013.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Andy Petroianu (Orientador)

Prof. Dr. Paulo Roberto Savassi Rocha

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Prof. Dr. Hamilton Petry de Souza

Prof. Dr. Paulo Roberto Corsi

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Prof. Dr. Clélio Campolina Diniz

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Dr. Ricardo Santiago Gomes

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Dr. Renato de Lima dos Santos

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Prof. Dr. Francisco José Penna

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha

Chefe do Departamento de Cirurgia: Prof. Dr. Marcelo Eller Miranda

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia: Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia:

Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva

Prof. Dra. Ivana Duval de Araújo

Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches

Prof. Dr. Márcio Bittar Nehemy

Prof. Dr. Renato Santiago Gomez

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Representante Discente: Sumara Marques Barral

Aos meus avós, Joakim e Victória.

Ao meu tio Vega Senna Jeronymo, pioneiro na medicina em minha família, um pai para as irmãs e sobrinhos. Por todo carinho, pelos conselhos de vida, pela sabedoria e bondade !

À minha esposa Anauru, pelo amor.

Aos meus filhos, João Pedro e Pedro Henrique, pela amizade e companheirismo, e minha pequena Victória, presente tão sonhado.

Aos meus pais, Argos e Betelgeuse, pela vida, pela educação e cultura, essenciais à minha formação pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Ronaldo Alberti pela orientação e auxílio na avaliação estatística.

Ao Prof. Dr. Valbert Nascimento Cardoso pela orientação e auxílio nos exames cintilográficos.

À Dra. Paula Vieira Teixeira Vidigal, pela orientação na realização dos estudos de histologia.

À funcionária Laudilene Raquel de Brito pelo carinho no preparo e confecção das lâminas para estudo histológico.

Ao médico formado na Faculdade de Medicina da UFMG, Daniel Cruz Ferreira dos Reis, pela auxílio nas operações e cuidados com os animais, e pela dedicação, incentivo e amizade, consolidada durante todo o período de realização deste trabalho.

À estudante de iniciação científica do Laboratório de Radioisótopos da Faculdade de Farmácia da UFMG, Carolina de Aguiar Ferreira, pelo auxílio na realização dos exames cintilográficos.

À secretária do Centro de Pós-graduação da Faculdade de Medicina da UFMG, Mari Rocha, pela gentileza e eficiência sempre que precisei de seu auxílio.

Aos membros da banca de qualificação, Prof. Dr Tarcizo Afonso Nunes, Prof. Dra. Vivian Resende e Prof. Dr. Luiz Ronaldo Alberti, pelas valorosas contribuições.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS	XIII
1. RESUMO	1
2. ABSTRACT	3
3. INTRODUÇÃO	5
4. OBJETIVOS	8
5. RELEVÂNCIA	9
6. MÉTODO	10
6.1 Ética	10
6.2 Material e Delineamento Experimental	10
6.3 Cálculo Estatístico	21
7. RESULTADOS	22
7.1 Estudos Cintilográficos	24
7.2 Exames laboratoriais	30
7.3 Avaliação histológica	38
8. DISCUSSÃO	42
9. CONCLUSÃO	49
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
11. APÊNDICES	56

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 – Composição da solução de Ringer-lactato, por 100 ml.	17
TABELA 2 – Captação relativa (percentual) do radiofármaco por órgão ou tecido, após 90 dias	29
TABELA 3 – Resultados dos exames laboratoriais dos animais por grupo	32
TABELA A1 – Contagem de hemácias (Hem x 10 ⁶ /dl) por grupos, após 90 dias	59
TABELA A2 – Concentração da hemoglobina (g/dl) por grupos, após 90 dias	59
TABELA A3 – Hematócrito (%) por grupos, após 90 dias	60
TABELA A4 – Contagem de leucócitos (Leuc x 10 ³ /dl) por grupos, após 90 dias	60
TABELA A5 – Contagem de plaquetas (Plaq x 10 ³ /dl) por grupos, após 90 dias	61
TABELA A6 – Eletroforese de proteínas, albumina (g/dl), após 90 dias	61
TABELA A7 – Eletroforese de proteínas, fração gama (g/dl), após 90 dias	62

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 – Estudo cintilográfico no Rato 1-5 no aparelho de gama-câmara.	13
FIGURA 2 – Imobilização do Rato 7-2 com esparadrapo, sobre prancha cirúrgica, em posição de decúbito dorsal, mantendo suas patas abduzidas.	15
FIGURA 3 – Sequência da esplenectomia no Rato 2-1: A – Exposição do baço para esplenectomia; B – Ligaduras vasculares rentes ao baço	15
FIGURA 4 – Baço seccionado em cinco fatias sobre uma gaze	16
FIGURA 5 – Sequência da operação de implante de tecido esplênico autógeno: A – Exposição do omento; B – Sutura de três fragmentos esplênicos sobre o omento maior, utilizando fio de prolene 6-0	17
FIGURA 6 – Aspecto macroscópico dos implantes sobre o omento maior, no grupo com fatias de baço conservado inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C, após 90 dias do implante (Rato 6-2)	23
FIGURA 7 – Aspecto macroscópico dos implantes sobre o omento maior, no grupo com fatias de baço conservadas em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C, após 90 dias do implante (Rato 7-3)	23
FIGURA 8 – Imagem cintilográfica do fígado e baço após 20 minutos de infusão do estanho coloidal marcado com tecnécio-99m, em animal do grupo sem esplenectomia (Rato 1-2) (A) e grupo com esplenectomia total (Rato 2-5) (B)	24

FIGURA 9 – Imagem cintilográfica do fígado e implante em animal com implante autógeno no mesmo ato operatório no Rato 3-3 (A) e Rato 3-4 (B). No Rato 3-4 o implante foi retirado, para captação da imagem, devido a sobreposição do fígado	25
FIGURA 10 – Imagem cintilográfica do fígado após 20 minutos de infusão do estanho coloidal marcado com tecnécio-99m, em animal do Grupo 4 (Rato 4-5) (A) e do Grupo 5 (Rato 5-2) (B)	26
FIGURA 11 – Imagem cintilográfica do tecido esplênico isolado de implante autógeno após 20 minutos de infusão do estanho coloidal marcado com tecnécio-99m, em animal do Grupo 6 (Rato 6-2 e 6-3) (A) e do Grupo 7 (Rato 7-2) (B) após 90 dias do implante	27
FIGURA 12 – Captação relativa (percentual) do radiofármaco por órgão ou tecido, após 90 dias	28
FIGURA 13 – Média \pm EPM de hemácias por grupos, após 90 dias (ANOVA).	31
FIGURA 14 – Média \pm EPM da concentração da hemoglobina (A) e do hematócrito (B) por grupos, após 90 dias (ANOVA).	33
FIGURA 15 – Média \pm EPM da contagem de leucócitos por grupos, após 90 dias (ANOVA e comparação múltipla de Tukey-Kramer).	34
FIGURA 16 – Média \pm EPM da contagem de plaquetas por grupos, após 90 dias (ANOVA).	35
FIGURA 17 – Média \pm EPM da albumina (g/dl) na Eletroforese de proteínas, por grupos, após 90 dias (ANOVA)	36

FIGURA 18 – Média \pm EPM da Eletroforese de proteínas, fração Gama (g/dl), por grupos, após 90 dias (Kruskal-Wallis)	37
FIGURA 19 – Aspecto histológico do baço no grupo sem esplenectomia (hematoxilina e eosina, 200x). Observar a arquitetura esplênica com presença de polpa branca com artéria central e polpa vermelha	38
FIGURA 20 – Aspecto histológico do baço inteiro conservado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente (A) e a 4°C (B) após 24 horas (hematoxilina e eosina, 200x). Observar a arquitetura preservada com presença de polpa branca com artéria central e polpa vermelha	39
FIGURA 21 – Aspecto histológico do baço fatiado conservado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C após 24 horas (hematoxilina e eosina, 100x (A) e 200x (B)). Observar a arquitetura preservada com presença de polpa branca com artéria central e polpa vermelha	39
FIGURA 22 – Aspecto histológico de implante no grupo em que o implante autógeno foi realizado imediatamente após a esplenectomia (Rato 3-3) após 90 dias (hematoxilina e eosina, 200x). Observar a presença de polpa branca com artéria central e polpa vermelha	40
FIGURA 23 – Aspecto histológico de implantes após 90 dias, no grupo em que o baço foi seccionado e suas fatias foram preservadas em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C por 24 horas (Rato 7-5). Observar a arquitetura com presença de polpa branca com artéria central e polpa vermelha (hematoxilina e eosina, 200x)	41

FIGURA 24 – Aspecto histológico de implantes após 90 dias, no grupo em que o baço foi conservado inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C por 24 horas (Rato 7-5). Observar a presença de polpa branca e polpa vermelha (hematoxilina e eosina 200x e 400x) 41

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

ANOVA	análise de variância
cpm	contagem por minuto
dl	decilitro
EPM	erro padrão das médias
<i>et al.</i>	e outros
g	grama
HE	hematoxilina e eosina
hem.	hemácias
Ig A	imunoglobulina A
Ig G	imunoglobulina G
Ig M	imunoglobulina M
kg	quilograma
leuc.	leucócitos
MBq	megabecquerel
mCi	millicurie
mg	miligrama
ml	mililitro
µm	micrômetro
n	número de animais nos grupos
p	probabilidade de significância
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

99mTc

tecnécio 99 metaestável

%

porcentagem

°C

graus Celsius

1. RESUMO

Para interromper sangramentos em traumas esplênicos graves com pacientes instáveis, a operação mais adotada é a esplenectomia total. Esse procedimento pode salvar a vida, porém acompanha-se dos riscos do estado asplênico, incluindo sepse fulminante, tromboembolismo e óbito precoce.

A conscientização da importância do baço na defesa orgânica vem estimulando o desenvolvimento de operações conservadoras, como a esplenectomia parcial, a esplenectomia subtotal e os implantes autógenos de tecido esplênico. Com vista a preservar as funções do baço em doentes submetidos a controle do dano após trauma grave desse órgão, propôs-se a realização do implante autógeno tardio.

O objetivo deste trabalho foi avaliar, em modelo experimental, a vitalidade, a morfologia e a função do tecido esplênico autógeno implantado no dia seguinte ao da retirada do baço e verificar um meio de conservação do tecido esplênico que mantivesse sua vitalidade até o seu implante.

Foram estudados 35 ratos (*Rattus norvegicus albinus*) machos, distribuídos em sete grupos (n = 5): Grupo 1: sem esplenectomia; Grupo 2: esplenectomia total; Grupo 3: esplenectomia total complementada por implante de tecido esplênico autógeno sobre o omento maior, imediatamente após a retirada do baço; Grupo 4: esplenectomia total, com conservação de todo o baço em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente durante 24 horas; em seguida o baço foi fatiado e implantado sobre o omento maior; Grupo 5: esplenectomia total, seguida de secção do baço em cinco fatias, que foram conservadas em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente; depois de 24 horas, as fatias esplênicas foram

implantadas sobre o omento maior; Grupo 6: esplenectomia total, com conservação de todo o baço em solução de Ringer-lactato a 4°C durante 24 horas; em seguida o baço foi fatiado e implantado sobre o omento maior; Grupo 7: esplenectomia total, seguida de secção do baço em cinco fatias, que foram conservadas em solução de Ringer-lactato a 4°C; depois de 24 horas, as fatias esplênicas foram implantadas sobre o omento maior. Após 90 dias, foram realizados estudos cintilográficos do fígado, pulmão, baço ou implante e coágulo, com estanho coloidal marcado com ^{99m}Tc , hematológico (eritrograma, leucometria fracionada e dosagem de plaquetas), bioquímico (eletroforese de proteínas) e anatomopatológico do tecido esplênico.

Ocorreu regeneração dos implantes esplênicos autógenos em todos animais dos grupos com conservação do baço a 4°C, com divisão de polpa branca e vermelha bem definida. A captação de estanho coloidal foi superior nos grupos 1, 3, 6 e 7 em relação aos demais grupos ($p = 0,0003$). Não houve diferença nos valores hematimétricos dos sete grupos. A eletroforese de proteínas mostrou tendência a diminuição da fração gama no grupo de animais esplenectomizados em relação a todos os grupos operados.

O tecido esplênico conservado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C por 24 horas mantém sua vitalidade e permite sua recuperação funcional após ser implantado no omento maior.

2. ABSTRACT

Total splenectomy is adopted during the damage control to stop the bleeding of unstable patients with severe splenic traumas. This procedure saves life, however, it does present risks due to the asplenic status, including overwhelming sepsis, thromboembolism, and sudden death.

The raising of awareness concerning the importance of the spleen in the organic defense system has inspired the development of conservative operations, such as the partial splenectomy, the subtotal splenectomy, and the autogenous implants of spleen tissue. This investigation proposes a late autogenous implant in an attempt to preserve the functions of the spleen in patients undergoing damage control after severe trauma to the organ.

The present work, using an experimental model, evaluated the vitality, morphology, and function of the implanted autogenous spleen tissue the day after the spleen had been removed and to verify a fluid through which the spleen tissue is able to maintain its vitality before the implantation.

This study analyzed 35 male rats (*Rattus norvegicus albinus*), distributed in seven groups: Group 1: without splenectomy; Group 2: total splenectomy; Group 3: total splenectomy, combined with an implant of autogenous spleen tissue on the greater omentum immediately after removal of the spleen; Group 4: total splenectomy, combined with the preservation of the entire spleen in lactated Ringer's solution at room temperature for 24 hours; next, the spleen was sliced and implanted on the greater omentum; Group 5: total splenectomy, followed by the sectioning of the spleen in five sections, which were preserved in lactated Ringer's solution at room temperature; after 24 hours, the spleen sections were implanted

on the greater omentum; Group 6: total splenectomy with the preservation of the entire spleen in lactated Ringer's solution at 4°C for 24 hours; next, the spleen was sliced and implanted on the greater omentum; Group 7: total splenectomy, followed by the sectioning of the spleen in five slices, which were preserved in lactate Ringer's solution at 4°C; after 24 hours, the spleen sections were implanted on the greater omentum. After 90 days, scintigraphic studies were performed on the liver, lungs, spleen or implants, and a blood clot, with hematologic (erythrogram, fractionated leucometry, and platelet doses), biochemical (protein electrophoresis), scintigraphy assessment of the phagocytic function of the implanted splenic tissue using sulphur colloid labeled with ^{99m}Tc , and anatomopathologic study of liver, lung and splenic implants.

The regeneration of the autogenous splenic implants occurred in all of the animals from the groups with spleen preserved at 4°C, with a well-defined division between the white and red pulps. The outcome of the colloidal tin proved to be higher in groups 1, 3, 6, and 7, as compared to the other groups ($p = 0.0003$). No difference was observed in the hematimetric values in the seven groups. Protein electrophoresis presented a tendency toward the reduction of the gamma fraction in the group of animals that had undergone splenectomy, as compared to the other operated groups.

In conclusion, the spleen tissue conserved in lactated Ringer's solution at a temperature of 4°C for 24 hours maintains its vitality and allows for its functional recovery after having been implanted on the greater omentum.

3. INTRODUÇÃO

A cirurgia de controle de danos consiste na interrupção rápida e transitória da hemorragia e da contaminação, por meio de tamponamento com compressas dos vasos e vísceras lesados, seguida de fechamento provisório da cavidade corpórea, para manter o tamponamento, prevenir novas contaminações e evitar perdas hídricas. Em um segundo tempo, após a estabilização do paciente, durante 24 a 48 horas, realiza-se outra intervenção para resolver definitivamente as lesões decorrentes do trauma ¹⁻⁵.

As feridas de órgãos sólidos, como fígado, baço e grandes vasos são as que mais necessitam dessa abordagem, por desencadearem, em pouco tempo, acidose, hipotermia e coagulopatia, mesmo com atendimento inicial adequado. Portanto, é fundamental que o cirurgião identifique a gravidade da situação e interfira na resposta inflamatória sistêmica, para reduzir a sua intensidade.

A esplenectomia total tem sido utilizada como tratamento de lesões esplênicas graves. Entretanto, essa conduta vem sendo substituída por tratamentos conservadores do baço, pelo reconhecimento da importância de sua função imunitária e pelos efeitos adversos decorrentes da asplenia ⁶⁻¹².

O baço contém 25% dos macrófagos teciduais, 25% do total de linfócitos T e cerca de 15% dos linfócitos B do organismo¹³. Nesse órgão ocorre a formação de linfócitos e monócitos e a fagocitose de partículas estranhas, parasitas, bactérias, fungos e vírus^{14, 15}, sendo responsável por 30% da função do sistema mononuclear fagocitário. Esse órgão também participa da síntese de fatores do

complemento e de imunoglobulinas. Difere dos linfonodos, por receber antígenos oriundos do sangue e não da linfa^{16, 17}.

Além de ser fundamental no sistema de defesa do organismo, o baço retira da circulação eritrócitos alterados e partículas anômalas do interior das células circulantes, como os corpúsculos de Howell-Jolly, Heintz e Pappenheimer. Essa depuração é realizada pelos macrófagos dos cordões esplênicos, por meio de fagocitose direta sem a necessidade de opsonização^{14, 17}.

Lesões esplênicas decorrentes de trauma abdominal passaram a ser tratadas na maioria dos casos, sem operação. Mesmo quando é necessária a intervenção cirúrgica, as opções têm sido pela preservação do órgão, com suturas esplênicas, ligaduras vasculares, aplicação de agentes hemostasiantes tópicos, esplenectomias parciais e esplenectomias subtotais⁶⁻¹². Nos casos em que é inevitável a retirada completa do baço, a alternativa tem sido o implante autógeno do tecido esplênico retirado¹⁸.

Com base nos trabalhos de Zappalá em 1958¹⁹ e 1959²⁰, relativos à anatomia segmentar do baço, Campos Christo²¹ iniciou o tratamento cirúrgico conservador das lesões esplênicas tendo por base a vascularização segmentar desse órgão. Entretanto, a esplenectomia parcial ou regrada é indicada apenas quando a condição do paciente for estável e o pedículo vascular esplênico estiver íntegro²²⁻²⁴. Petroianu iniciou as pesquisas sobre operações conservadoras do baço, por meio de esplenectomia subtotal, após descrever a vascularização esplenogástrica, independente do pedículo esplênico, em 1979²⁵⁻⁴⁴. Nos casos em que não foi possível preservar pelo menos parte do órgão em posição ortotópica, Petroianu, a partir de 1985, passou a realizar implantes esplênicos autógenos⁴⁵⁻⁵⁶.

Em pacientes com politraumatismo e lesões abdominais complexas graves, que podem desencadear coagulopatia, acidose, hipotermia e resposta inflamatória sistêmica grave, o óbito ocorre mais pela falência sistêmica por causa de uma operação prolongada do que pelo trauma inicial. Se houver lesão grave do baço, o cirurgião deve atuar apenas para controlar a hemorragia, por meio da ligadura dos vasos esplênicos e esplenectomia.

Para evitar o estado asplênico, é possível durante o segundo tempo do controle de dano, antes de fechar a cavidade abdominal, implantar tecido do baço retirado sobre o omento maior. Esse procedimento facilmente factível sem prorrogar o segundo ato operatório pode ser eficaz na manutenção das funções esplênicas se o tecido esplênico preservar sua vitalidade e capacidade funcional.

4. OBJETIVOS

Avaliar a vitalidade, a morfologia e a função do tecido esplênico autógeno implantado no dia seguinte à retirada do baço.

Verificar uma solução conservadora do tecido esplênico, em temperatura que preserve sua vitalidade até o implante.

5. RELEVÂNCIA

Este estudo faz parte de uma linha de pesquisa, que avalia a morfologia e a função do baço íntegro e após diversas operações.

Este trabalho propõe pela primeira vez na literatura a preservação de tecido esplênico em solução conservadora para posterior implante autógeno.

Na eventualidade de encontrarem-se resultados favoráveis, serão propostas novas pesquisas visando a futura aplicação clínica de implante esplênico autógeno durante as reintervenções de procedimentos para controle de dano.

Caso esse tecido mantenha sua vitalidade e função, os pacientes serão beneficiados sob aspecto imunitário, de filtração sanguínea e metabólico, prevenindo as adversidades da asplenia.

6. MÉTODO

6.1 Ética

Este trabalho foi realizado de acordo com as recomendações das Normas Internacionais de Proteção aos Animais e do Código Brasileiro de Experimentação Animal^{57, 58}. O projeto desta pesquisa foi aprovado pela Câmara do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) em 03/12/2008 e pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (CETEA) em 10/03/2009, protocolo n°265/2008 (APÊNDICE 1).

6.2. Material e Delineamento Experimental

Animais e Cuidados

Este estudo teve como modelo 35 ratos (*Rattus norvegicus albinus*) machos, da linhagem Holtzman, adultos, provenientes do Biotério do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG e transferidos para o Biotério Central da Faculdade de Medicina da UFMG.

Os animais foram identificados e alocados em gaiolas apropriadas com até cinco ratos por gaiola, mantidos em condições de temperatura ambiente com luminosidade natural, obedecendo ao ciclo circadiano murino descrito na literatura, com 12 horas de luz e 12 horas de escuridão⁵⁹. Eles foram acompanhados diariamente, recebendo água e ração para ratos (Purina®, Paulínia, Brasil) à vontade.

Os animais foram pesados em balança comum (Filizola®, São Paulo, Brasil) e mantidos em observação por um período de 15 dias, quando foi realizado exame minucioso em cada rato, a fim de garantir a ausência de sinais de doença.

Composição dos Grupos de Animais

Os 35 ratos foram distribuídos aleatoriamente em sete grupos ($n = 5$) e identificados pelo número de seu grupo e ordem da operação:

Grupo 1: Sem esplenectomia.

Grupo 2: Esplenectomia total.

Grupo 3: Esplenectomia total complementada por implante de tecido esplênico autógeno sobre o omento maior, imediatamente após a retirada do baço.

Grupo 4: Esplenectomia total, com conservação de todo o baço em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente durante 24 horas. Em seguida o baço foi fatiado e implantado sobre o omento maior.

Grupo 5: Esplenectomia total, seguida de secção do baço em cinco fatias, que foram conservadas em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente. Depois de 24 horas, as fatias esplênicas foram implantadas sobre o omento maior.

Grupo 6: Esplenectomia total, com conservação de todo o baço em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C durante 24 horas. Em seguida o baço foi fatiado e implantado sobre o omento maior.

Grupo 7: Esplenectomia total, seguida de secção do baço em cinco fatias, que foram conservadas em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C. Depois de 24 horas, as fatias esplênicas foram implantadas sobre o omento maior.

Ato Anestésico

Os ratos foram anestesiados com associação de cloridrato de quetamina (Dopalen®, Vetbrands, Jacareí, Brasil), na dose de 50,0 mg/kg de peso corporal, e cloridrato de xilazina (Calmiun®, Agener União, São Paulo, Brasil), na dose de 5,0 mg/kg de peso corporal, por via intramuscular na região glútea⁶⁰. Não foi administrado antimicrobiano ou outro medicamento.

Durante todo o período de anestesia, foram observadas as frequências cardíaca e respiratória, além da movimentação voluntária dos ratos, com vista a detectar o nível da anestesia e possíveis complicações anestésicas.

Procedimentos no Grupo 1

Sob anestesia geral, foi injetado 1,0 ml de solução de estanho coloidal (INPEN®, São Paulo, Brasil) marcado com ^{99m}Tc (110 MBq correspondente a 3,0 mCi) na veia da cauda. Depois de 20 minutos, realizou-se estudo cintilográfico de todo o rato em aparelho de gama-câmara (Nuclide® TH22, MEDSO, Budapeste, Hungria), para avaliação da imagem cintilográfica (FIGURA 1).

Em seguida, através de laparotomia mediana, coletaram-se 3,0 ml de sangue da veia cava abdominal, para estudos hematológico e imunitário. Uma amostra coletada em frasco com EDTA para eritrograma, leucometria fracionada e

dosagem de plaquetas. Outra amostra de sangue foi coletada em frasco, sem anticoagulante, para avaliação da albumina e fração gama, utilizando o método de eletroforese de proteínas. Esses exames foram realizados no Laboratório da Faculdade de Medicina Veterinária da UFMG e no Laboratório Hermes Pardini.



FIGURA 1 – Estudo cintilográfico no Rato 1-5 (seta) no aparelho de gama-câmara.

Depois da coleta do sangue, retiraram-se o baço, o fígado, os pulmões e um coágulo sanguíneo, que foram colocados em um copo de plástico de 20 ml e introduzidos no colimador do aparelho de gama-câmara (PerkinElmer 1480 Automatic Gamma Counter Wizard® 3”, Turku, Finlândia), para dosagem da captação do radiofármaco em cada tecido e seu remanescente sanguíneo.

Após o estudo cintilográfico, o baço foi fixado em formaldeído salino tamponado a 10%, para posterior avaliação histológica.

Operações dos Grupos 2 a 7

Todos os procedimentos foram realizados nas dependências do Laboratório de Pesquisa do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG, obedecendo às normas técnicas de assepsia e antisepsia.

Após a indução anestésica, os ratos foram imobilizados com esparadrapo sobre prancha cirúrgica, em decúbito dorsal, mantendo suas patas abduzidas (FIGURA 2). Realizou-se tricotomia e antisepsia da parede abdominal com polivinilpirrolidona (Riodene iodopolvidona degermante, Rioquímica, São José do Rio Preto, Brasil) e colocação de campo cirúrgico fenestrado estéril.

Os ratos foram submetidos a laparotomia mediana supraumbilical de três centímetros e, após exploração da cavidade abdominal, visando a identificar alterações que poderiam excluir o animal deste trabalho, os procedimentos cirúrgicos foram conduzidos de acordo com o grupo ao qual o animal pertence.

No Grupo 2, realizou-se esplenectomia total, após a ligadura do pedículo vascular, com fio de seda 4-0 (Ethicon®, São José dos Campos, Brasil) (FIGURA 3).



FIGURA 2 – Imobilização do Rato 7-2 com esparadrapo, sobre prancha cirúrgica, em posição de decúbito dorsal, mantendo suas patas abduzidas.

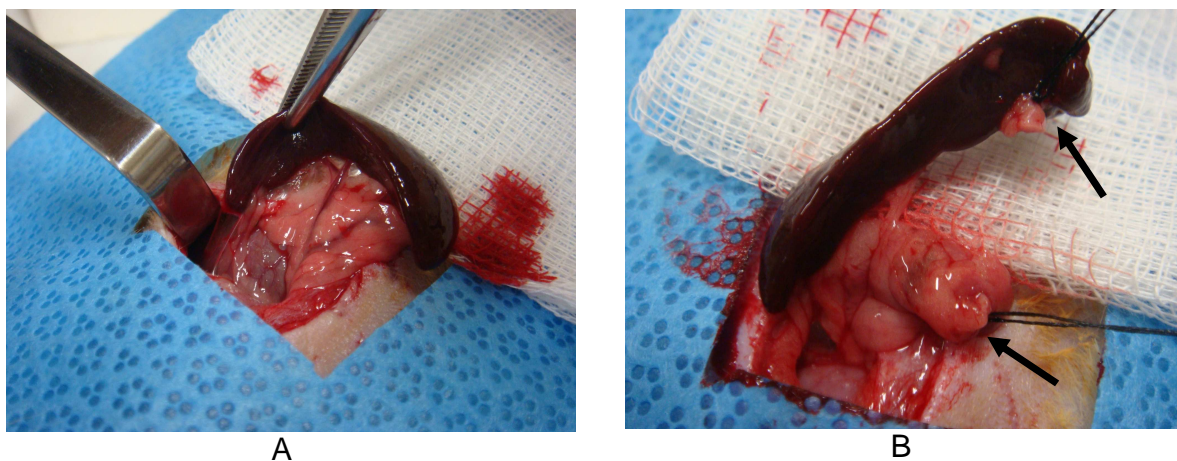


FIGURA 3 – Sequência da esplenectomia no Rato 2-1: A – Exposição do baço para esplenectomia; B – Ligaduras vasculares rentes ao baço (setas).

No Grupo 3, realizou-se esplenectomia total. Em seguida, o baço foi seccionado transversalmente em cinco fatias (FIGURA 4), das quais três, correspondentes a cerca de 60% do tecido esplênico, foram suturados imediatamente sobre o omento maior, com chuleio, utilizando fio de prolene 6-0 (Ethicon®, São José dos Campos, Brasil). As outras duas fatias foram descartadas. Ao término dessa fixação, o omento foi dobrado sobre si, para recobrir os segmentos esplênicos (FIGURA 5).



FIGURA 4 – Baço seccionado em cinco fatias sobre uma gaze.

Nos grupos seguintes, o implante autógeno foi realizado após 24 horas.

No Grupo 4, o baço retirado foi colocado em um frasco de Becker de 25 ml, contendo solução de Ringer-lactato (Glicolabor, Ribeirão Preto, Brasil) (TABELA 1) e mantido à temperatura ambiente por 24 horas.

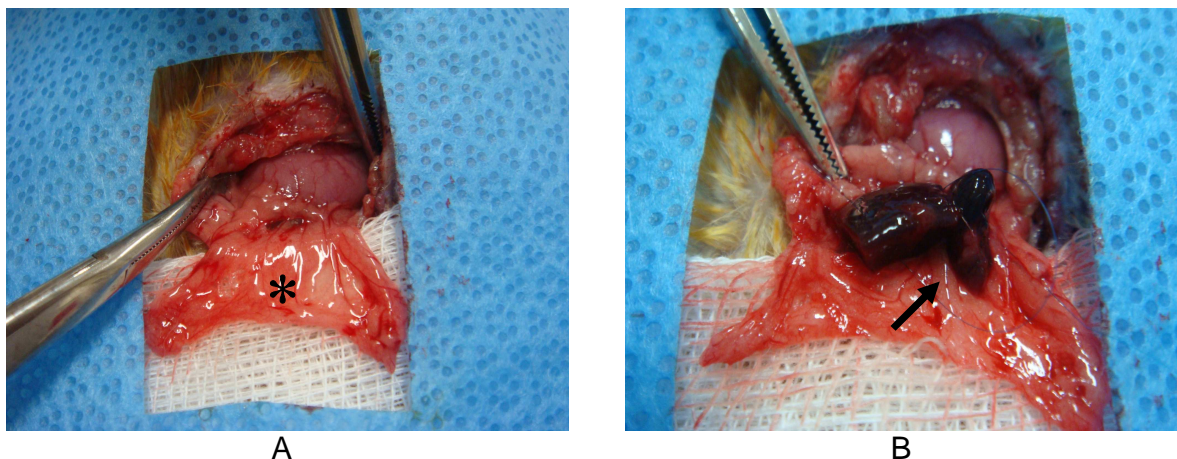


FIGURA 5 – Sequência da operação de implante de tecido esplênico autógeno:
 A – Exposição do omento (*); B – Sutura de três fragmentos esplênicos sobre o omento maior, utilizando fio de prolene 6-0 (seta).

TABELA 1: Composição da solução de Ringer-lactato, por 100 ml.

Cloreto de sódio	0,6 g
Cloreto de potássio	0,03 g
Cloreto de calcio	0,02 g
Lactato de sódio	0,3 g
Água	100 ml

No Grupo 5, o baço retirado foi seccionado em cinco fatias (FIGURA 4), colocadas em um frasco de Becker de 25 ml, contendo solução de Ringer-lactato e mantido à temperatura ambiente por 24 horas.

No Grupo 6, o baço retirado foi colocado em um frasco de Becker de 25 ml, contendo solução de Ringer-lactato e mantido à temperatura de 4°C por 24 horas.

No Grupo 7, o baço retirado foi seccionado em cinco fatias (FIGURA 4), colocadas em um frasco de Becker de 25 ml, contendo solução de Ringer-lactato e mantido à temperatura de 4°C por 24 horas.

Após a revisão da cavidade abdominal e da hemostasia, em todos os grupos operados, a parede abdominal foi fechada em dois planos, com chuleio, utilizando fio multifilamentar de seda 2-0 (Brasuture®, S.S. Grama, Brasil).

Nos grupos 4, 5, 6 e 7, após 24 horas, a cavidade abdominal foi reaberta no local suturado e os implantes autógenos realizados utilizando a mesma técnica descrita para o Grupo 3 (FIGURA 5).

Durante todo o período pós-operatório, os ratos foram acomodados em gaiolas, cinco animais por gaiola, tendo sido administrada analgesia com dipirona (Mariol®, Barretos, Brasil), na dose de 6,0 mg/kg de peso, diluída na água, nas primeiras 48 horas, e oferecida dieta com água e ração à vontade. Os animais foram avaliados diariamente na busca de possíveis complicações e detecção de sinais de infecção.

Reoperações

Decorrido o período de acompanhamento de 90 dias, os ratos foram anestesiados, de acordo com a descrição prévia. Injetou-se 1,0 ml de solução de estanho coloidal (INPEN®, São Paulo, Brasil) marcado com ^{99m}Tc (110 MBq correspondente a 3 mCi) na veia da cauda. Depois de 20 minutos, realizou-se estudo cintilográfico em aparelho de gama-câmara de todo o animal. Em seguida, através da reabertura da cavidade abdominal, foram retirados 3,0 ml de sangue da

veia cava abdominal, para estudos hematológico e imunitário. Uma amostra coletada em frasco com EDTA para eritrograma, leucometria fracionada e dosagem de plaquetas. Outra amostra de sangue foi coletada em frasco sem anticoagulante, para avaliação da albumina e imunoglobulinas, utilizando o método de eletroforese de proteínas. Em seguida, foi retirado todo o omento maior junto com os fragmentos esplênicos implantados, além de fragmentos de fígado, pulmões e coágulo sanguíneo da cavidade abdominal, que foram colocados separadamente em copos de plástico de 20 ml (um tecido ou coágulo por copo). Cada copo com sua amostra foi introduzido no colimador do aparelho de gama-câmara para dosagem radioativa.

Preparo do Material Coletado para Análise Histológica

Após o estudo cintilográfico, os implantes esplênicos foram retirados do omento maior e imediatamente fixados em solução de formaldeído salino tamponado a 10%. Depois de 24 a 48 horas de fixação, esses fragmentos foram desidratados com imersão em bateria de soluções de etanol com concentrações crescentes de 70%, 80%, 90% e 100%, seguida por imersão em xilol, para diafanização. Em seguida, os tecidos foram incluídos em blocos de parafina histológica (Histosec®), previamente derretida em uma estufa à temperatura aproximada de 60°C. O tecido incluído nesses blocos foi seccionado longitudinalmente, ao longo do seu maior eixo, em cortes com 4 µm de espessura, utilizando micrótomo rotativo (LEIKA®, modelo RM2125, Germany). Os cortes foram fixados sobre lâminas de vidro e corados com hematoxilina e eosina (HE), para análise histológica em microscópio binocular de dois observadores (LEIKA®,

modelo DMLB, Germany) acoplado à máquina digital (LEIKA®, modelo DC300, Germany). As imagens foram avaliadas no programa analisador de imagens LEIKA® IM50.

Os cortes foram analisados quanto às alterações morfológicas macro e microscópicas, pelo autor deste trabalho com auxílio de um único patologista.

Determinação da radioatividade

A análise da função fagocitária, por meio da captação do estanho coloidal pelo método cintilográfico, foi estimada pelas contagens radioativas por grama de tecido. Cada amostra foi pesada imediatamente após a sua retirada. Levando em consideração o peso das amostras de fígado, baço, pulmão e coágulo sanguíneo, a radioatividade da amostra foi calculada pela contagem por minuto (cpm) de captação por grama (g) de tecido.

$$\text{Radioatividade da amostra} = \frac{\text{cpm}}{\text{g}}$$

Para efeito de cálculo, considerou-se a soma das radioatividades das amostras de fígado, tecido esplênico, pulmão e coágulo sanguíneo de um mesmo animal como equivalente a 100% da radioatividade injetada nele. Para calcular o percentual de captação de cada tecido, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\% = \frac{\text{cpm/g da amostra} \times 100}{\text{cpm/g de todas as amostras}}$$

6.3. Cálculo Estatístico

Os dados foram apresentados como média e erro padrão da média. Para comparação dos valores hematimétricos e imunitários, e da porcentagem captada pelo sistema mononuclear fagocitário do fígado, baço ou implantes, pulmões e coágulo dos diferentes grupos utilizou-se o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, seguido pelo teste de Bartlett. Quando os dados apresentavam distribuição normal e mesma variância, foi realizado o teste paramétrico de análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer. Quando os valores não apresentavam a distribuição normal, realizou-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunn-Bonferroni.

Todos os resultados foram considerados significativos para uma probabilidade de significância superior a 95% ($p < 0,05$).

7. RESULTADOS

Todos os ratos toleraram bem a anestesia e evoluíram satisfatoriamente, com recuperação pós-anestésica rápida e atividade motora aparentemente normal dentro das gaiolas. A esplenectomia foi realizada sem complicações intraoperatórias em todos os animais.

Todos os ratos sobreviveram 90 dias, exceto o Rato 5-5 que morreu preso na grade da gaiola no terceiro mês após os implantes. À necropsia foi encontrado um abscesso abdominal. O Rato 7-4 morreu durante o exame cintilográfico e, à toracotomia para coleta de tecido pulmonar, encontrou-se coleção purulenta no pulmão direito.

Nas reoperações após 90 dias, não se observaram coleções intra-abdominais, exceto no Rato 5-1, no qual formou-se um grande abscesso no omento maior, onde foram realizados os implantes autógenos do tecido esplênico conservado à temperatura ambiente. Em todos os animais dos grupos 4 e 5 não foram encontrados implantes esplênicos no omento. Nos grupos 6 e 7 observaram-se implantes esplênicos (FIGURA 6 e 7).



FIGURA 6 – Aspecto macroscópico dos implantes (setas) sobre o omento maior, no grupo com fatias de baço conservado inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C, após 90 dias do implante (Rato 6-2).

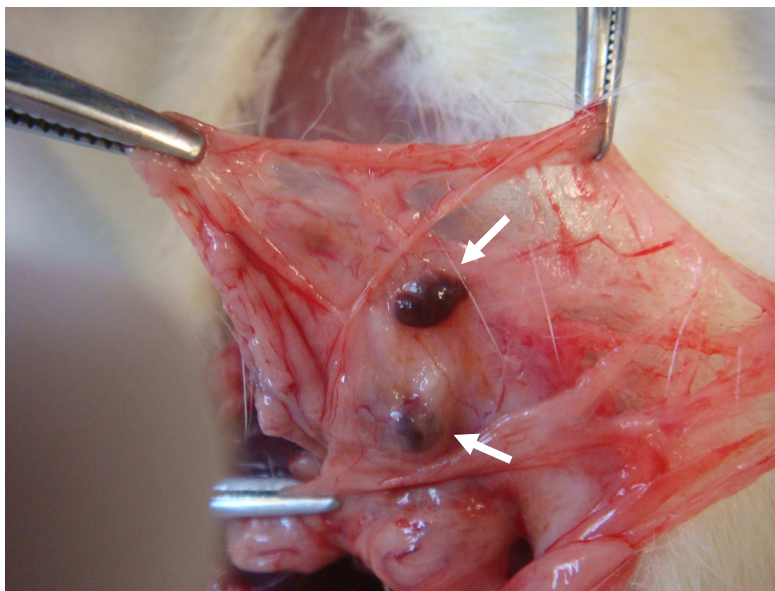


FIGURA 7 – Aspecto macroscópico dos implantes (setas) sobre o omento maior, no grupo com fatias de baço conservadas em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C, após 90 dias do implante (Rato 7-3).

7.1 Estudos cintilográficos

A cintilografia mostrou imagens nítidas do fígado e baço inteiro no grupo sem esplenectomia (Grupo 1) (FIGURA 8A) e ausência do baço no grupo com esplenectomia total (Grupo 2) (FIGURA 8B).

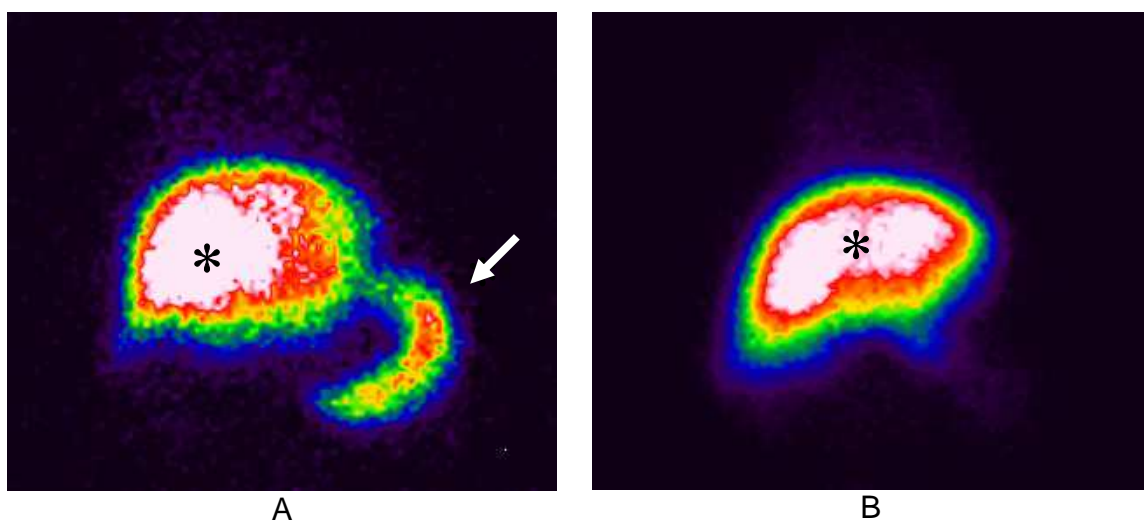


FIGURA 8 – Imagem cintilográfica do fígado (*) e baço (seta) após 20 minutos de infusão do estanho coloidal marcado com tecnécio-99m, em animal do grupo sem esplenectomia (Rato 1-2) (A) e grupo com esplenectomia total (Rato 2-5) (B).

No grupo em que a esplenectomia total foi complementada com implante de tecido esplênico autógeno no omento maior, imediatamente após a retirada do baço (Grupo 3), a cintilografia mostrou imagens nítidas do fígado e dos implantes esplênicos (FIGURA 9).

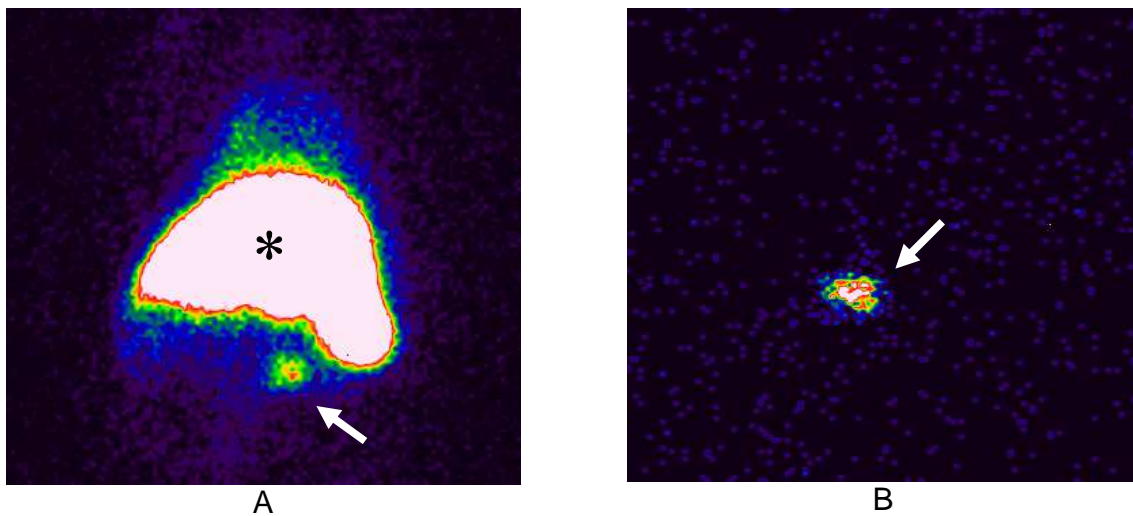


FIGURA 9 – Imagem cintilográfica do fígado (*) e implante (seta) em animal com implante autógeno no mesmo ato operatório no Rato 3-3 (A) e Rato 3-4 (B). No Rato 3-4 o implante foi retirado, para captação da imagem, devido a sobreposição do fígado.

A cintilografia mostrou imagens nítidas do fígado e ausência de captação dos implantes no grupo com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente durante 24 horas e, em seguida, seu implante segmentado no omento maior (Grupo 4) e no grupo com baço fatiado com conservação em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente durante 24 horas e, em seguida, seu implante no omento maior (Grupo 5) (FIGURA 10).

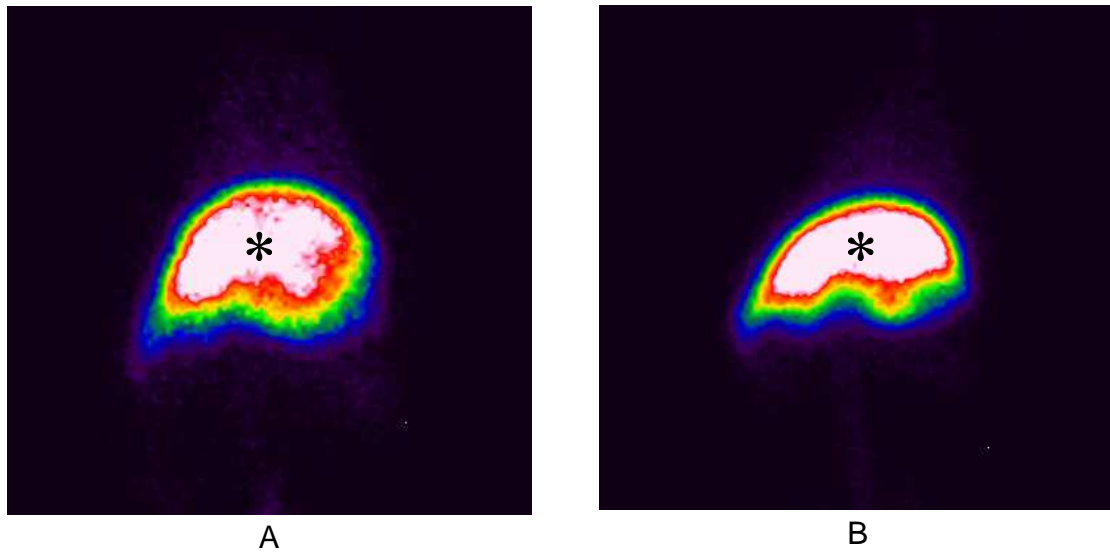


FIGURA 10 – Imagem cintilográfica do fígado (*) após 20 minutos de infusão do estanho coloidal marcado com tecnécio-99m, em animal do Grupo 4 (Rato 4-5) (A) e do Grupo 5 (Rato 5-2) (B).

No grupo com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C durante 24 horas (Grupo 6) e no grupo com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura 4°C durante 24 horas (Grupo 7), a cintilografia mostrou imagens nítidas dos implantes (FIGURA 11). O omento com os implantes foram retirados para imagem cintilográficas, devido à sobreposição do fígado.

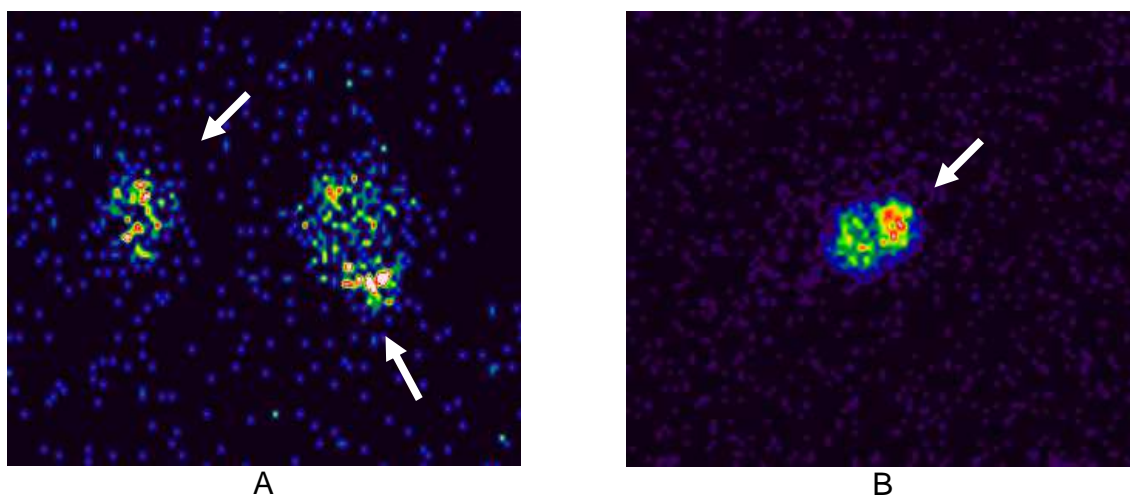
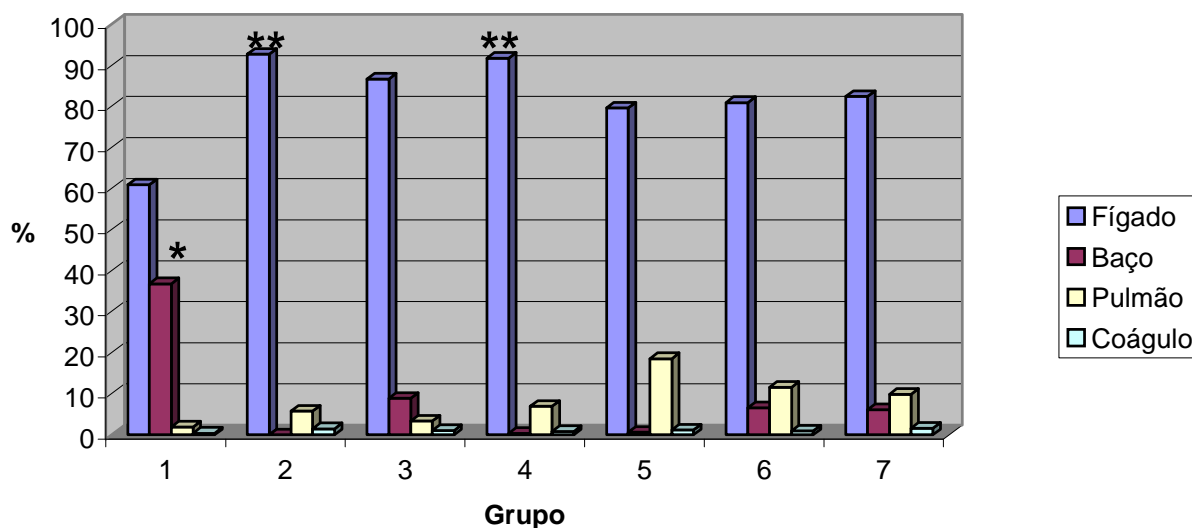


FIGURA 11 – Imagem cintilográfica do tecido esplênico isolado de implante autógeno (setas) após 20 minutos de infusão do estanho coloidal marcado com tecnécio-99m, em animal do Grupo 6 (Rato 6-2 e 6-3) (A) e do Grupo 7 (Rato 7-2) (B), após 90 dias do implante.

A captação relativa (percentual) do radiofármaco foi maior no tecido esplênico do Grupo 1 (sem esplenectomia), Grupo 3 (implante autógeno imediato, Grupos 6 e 7 (implantes autógenos após conservação do baço em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4° C) ($p = 0,0003$). Nos demais grupos (2, 4 e 5) não houve registro de tecido esplênico (FIGURA 12). A captação do radiofármaco pelo baço inteiro (Grupo 1) foi superior ao Grupo 2 (esplenectomizados) ($p < 0,001$), Grupo 4 (baço conservado inteiro à temperatura ambiente) ($p < 0,05$) e Grupo 5 (baço conservado fatiado à temperatura ambiente) ($p < 0,01$). Não houve diferença entre os grupos 1, 3, 6 e 7 ($p > 0,05$).

A comparação cintilográfica comparativa dos tecidos do sistema mononuclear fagocitário indicou em todos os grupos maior captação no fígado,

seguido pelo baço (no grupo em que houve sua preservação) e depois pulmão (FIGURA 12) ($p = 0,0271$). A captação do radiofármaco pelo fígado foi superior no Grupo 2 (esplenectomizado) ($p < 0,05$) e Grupo 4 (baço conservado inteiro à temperatura ambiente) ($p < 0,05$) em relação ao Grupo 1 (sem esplenectomia).



* $p = 0,0003$ (Kruskal-Wallis) 1 > 2 = 4 = 5 (Dunn-Bonferroni)

** $p = 0,0271$ (ANOVA) 2 = 4 > 1 (Tukey-Kramer)

FIGURA 12: Captação relativa (percentual) do radiofármaco por órgão ou tecido após 90 dias.

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas.

TABELA 2: Captação relativa (percentual) do radiofármaco por órgão ou tecido após 90 dias

Órgão ou tecido	Fígado	Baço ou implante	Pulmão	Coágulo
1	60,90 ± 3,78	36,82 ± 4,08	1,90 ± 0,50	0,39 ± 0,09
2	92,72 ± 2,62	0,02 ± 0,01	5,78 ± 1,94	1,48 ± 0,74
3	86,69 ± 9,05	8,89 ± 7,25	3,36 ± 1,48	1,07 ± 0,52
4	91,76 ± 4,32	0,33 ± 0,25	6,95 ± 3,98	0,80 ± 0,25
5	79,67 ± 14,26	0,58 ± 0,51	18,55 ± 14,43	1,20 ± 0,90
6	80,94 ± 3,25	6,58 ± 4,55	11,59 ± 2,35	0,90 ± 0,31
7	82,44 ± 3,66	6,14 ± 2,65	9,85 ± 1,17	1,57 ± 0,51

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas.

Comparando a presença de radiofármaco no sangue circulante (coágulo), indicando a não captação pelos tecidos do sistema mononuclear fagocitário (TABELA 2), a captação do coloide de estanho mais eficaz ocorreu no Grupo 1 (sem esplenectomia) em relação a todos os outros grupos. Entretanto, o teste paramétrico ANOVA não mostrou diferença entre os grupos ($p = 0,3155$).

7.2 Exames laboratoriais

A coleta de sangue na veia cava abdominal ocorreu sem complicações. Ocorreu tendência a elevação da média do hematócrito ($p = 0,0831$) e contagem de hemácias ($p = 0,095$) no grupo de animais esplenectomizados em relação a todos os outros grupos após 90 dias das operações. Por não ter sido significativa, não houve diferença eritrocitária. As FIGURAS 13 e 14 e a TABELA 3 mostram a comparação das dosagens do eritrograma, concentração da hemoglobina e hematócrito por grupos após 90 dias.

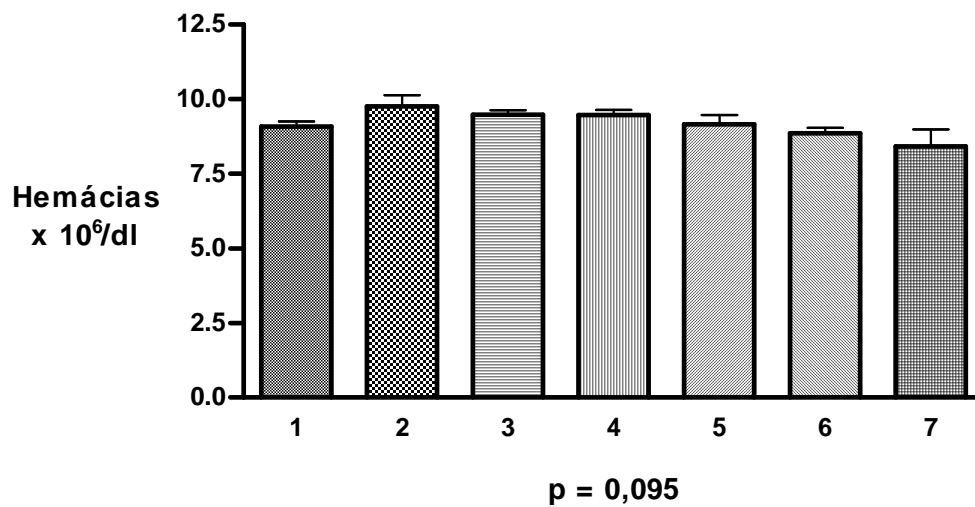


FIGURA 13: Média ± EPM de hemácias por grupos, após 90 dias (ANOVA)

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas. ANOVA = Análise de variância.

TABELA 3: Resultados dos exames laboratoriais dos animais por grupo.

Grupo	Exame	Eletroforese de proteínas						
		Hemácias (Hem x 10 ⁶ /dl)	Hemoglobina (g/dl)	Hematócrito (%)	Leucócitos (Leuc x 10 ³ /dl)	Plaquetas (Plaq x 10 ³ /dl)	Albumina (g/dl)	Fração gama (g/dl)
1		9,07 ± 0,17	15,54 ± 0,20	49,56 ± 0,97	5,21 ± 1,40	555,20 ± 35,07	2,22 ± 0,06	0,31 ± 0,13
2		9,76 ± 0,38	15,86 ± 0,67	51,18 ± 2,18	6,90 ± 0,98	583,20 ± 98,76	1,96 ± 0,09	0,09 ± 0,01
3		9,49 ± 0,14	15,90 ± 0,27	49,55 ± 0,88	6,46 ± 0,70	744,75 ± 55,45	2,00 ± 0,14	0,43 ± 0,13
4		9,47 ± 0,18	15,38 ± 0,18	47,90 ± 0,87	7,91 ± 1,46	700,20 ± 78,98	2,00 ± 0,09	0,49 ± 0,16
5		9,16 ± 0,31	14,53 ± 0,96	45,05 ± 3,08	15,89 ± 4,48	756,00 ± 129,40	1,74 ± 0,24	0,59 ± 0,15
6		8,86 ± 0,19	14,86 ± 0,24	46,14 ± 1,00	10,09 ± 2,19	625,00 ± 46,26	2,12 ± 0,09	0,55 ± 0,18
7		8,42 ± 0,56	13,86 ± 1,09	42,76 ± 3,46	13,63 ± 2,94	615,80 ± 47,27	1,88 ± 0,21	0,60 ± 0,17

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas.

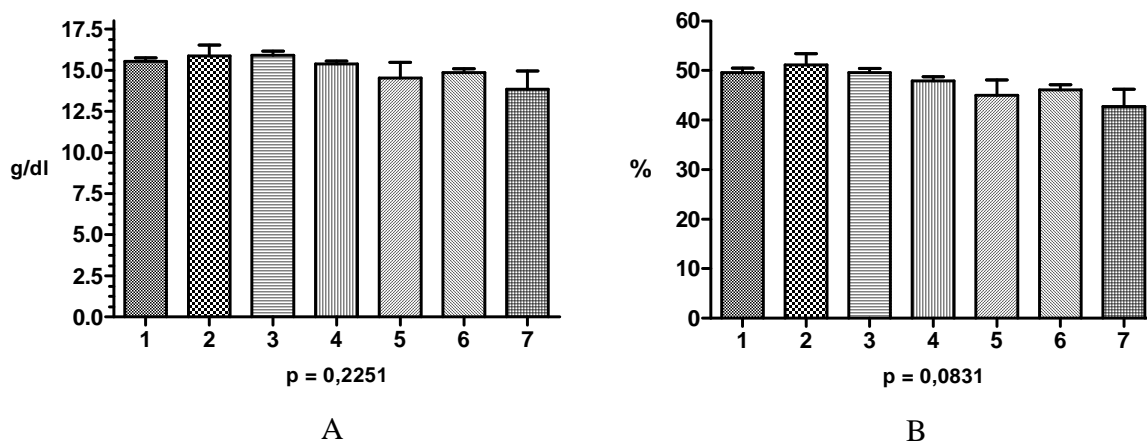


FIGURA 14: Média \pm EPM da concentração da hemoglobina (A) e do hematócrito (B), por grupos, após 90 dias (ANOVA)

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas. ANOVA = Análise de variância.

Ocorreu elevação da média da contagem de leucócitos no grupo de animais com implante autógeno de fragmentos esplênicos conservados a temperatura ambiente em relação ao Grupo 1 (sem esplenectomia) e a todos os outros grupos após 90 dias das operações ($p = 0,0235$). A contagem de plaquetas não foi diferente entre os grupos ($p = 0,3902$). As FIGURAS 15 e 16, e a TABELA 3,

mostram a comparação das médias da contagem de leucócitos e de plaquetas, por grupos após 90 dias.

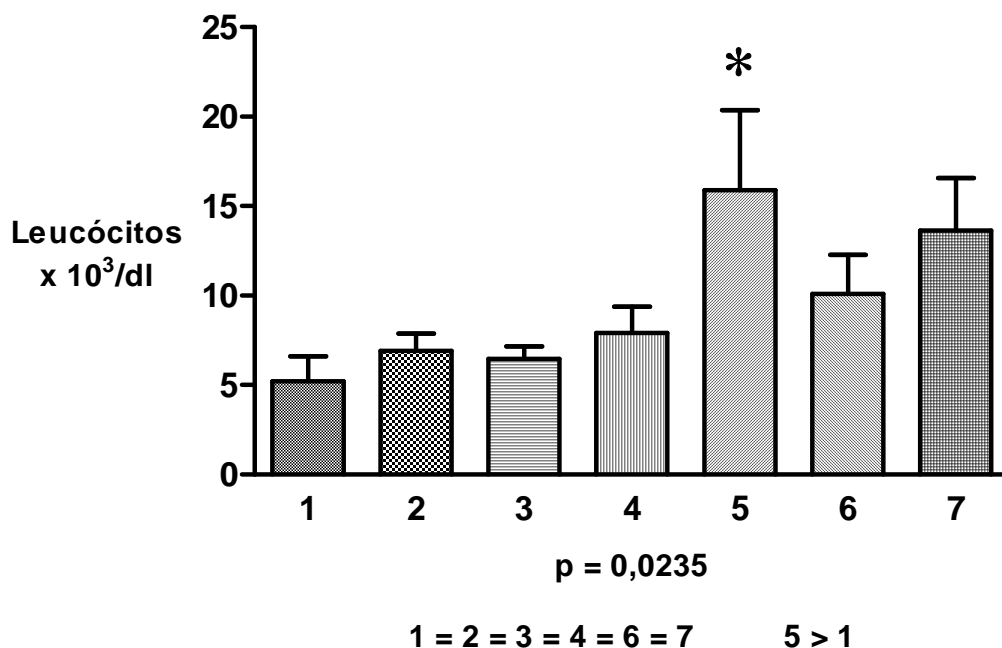


FIGURA 15: Média ± EPM da contagem de leucócitos por grupos, após 90 dias (ANOVA e comparação múltipla de Tukey-Kramer)

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas. ANOVA = Análise de variância.

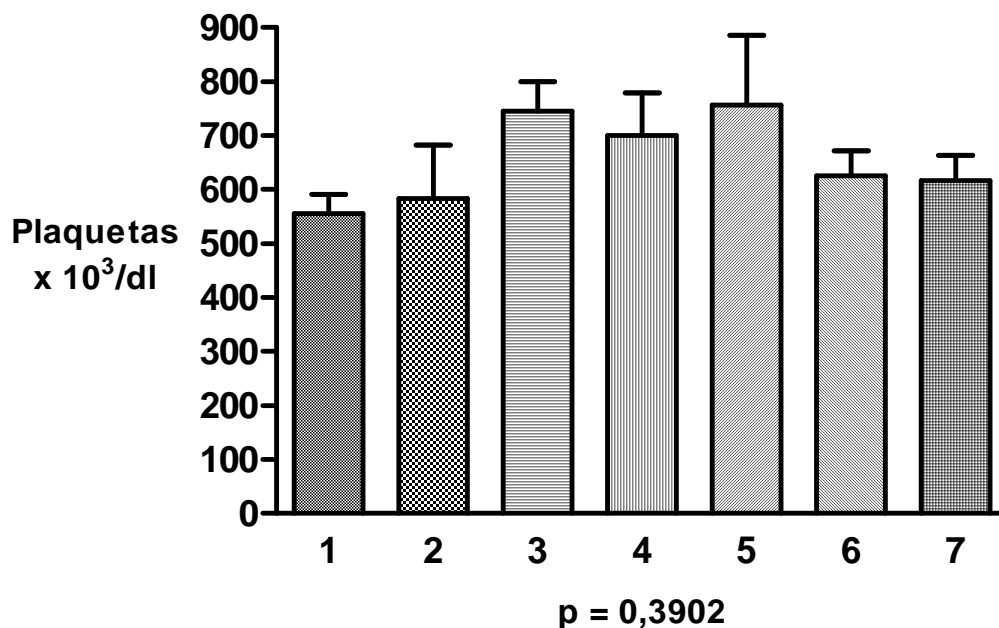


FIGURA 16: Média \pm EPM da contagem de plaquetas por grupos, após 90 dias (ANOVA)

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas. ANOVA = Análise de variância.

Não houve diferença nos valores da albumina ($p = 0,2844$) entre os sete grupos (FIGURA 17). Já os valores da fração gama, mesmo não tendo mostrado

diferença entre os grupos ($p = 0,0716$), mostrou tendência de ser menor no grupo de animais esplenectomizados (Grupo 2) em relação a todos os grupos operados (FIGURA 18).

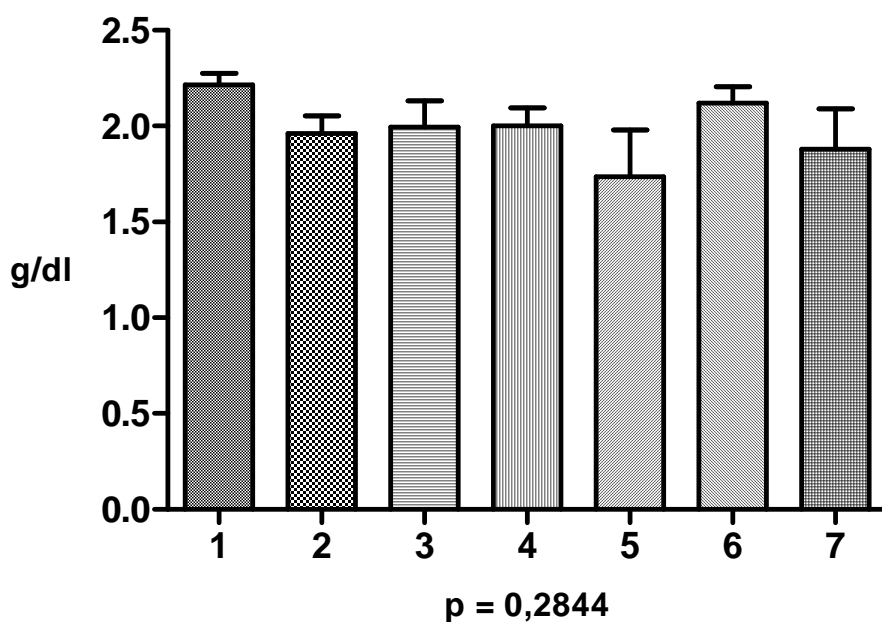


FIGURA 17: Média \pm EPM da albumina (g/dl) na Eletroforese de proteínas, por grupos, após 90 dias (ANOVA)

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas. ANOVA = Análise de variância.

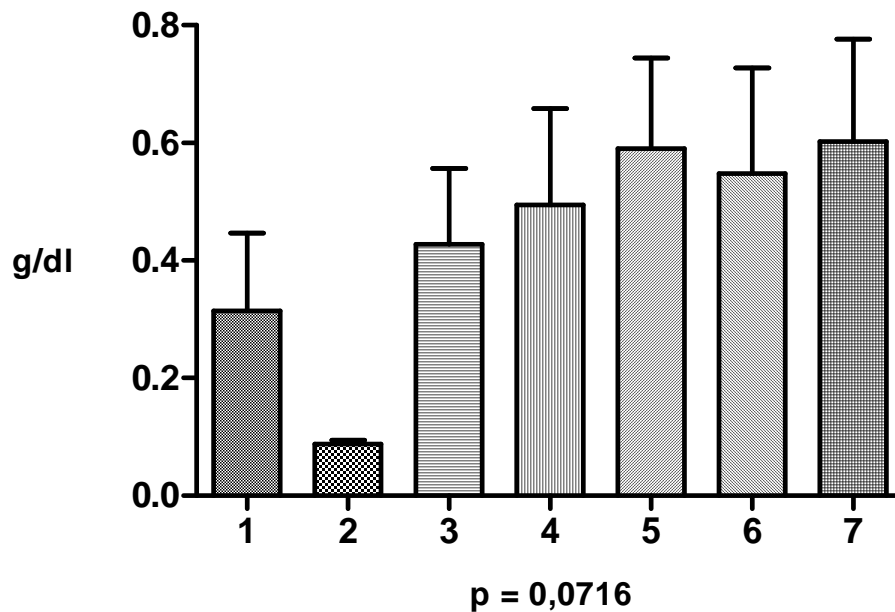


FIGURA 18: Média \pm EPM da Eletroforese de proteínas, fração gama (g/dl), por grupos, após 90 dias (Kruskal-Wallis)

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas.

7.3 Avaliação histológica

A avaliação histológica do baço no Grupo sem esplenectomia (Grupo 1) mostrou a arquitetura esplênica com presença de polpa branca com arteríola central e polpa vermelha (FIGURA 19).

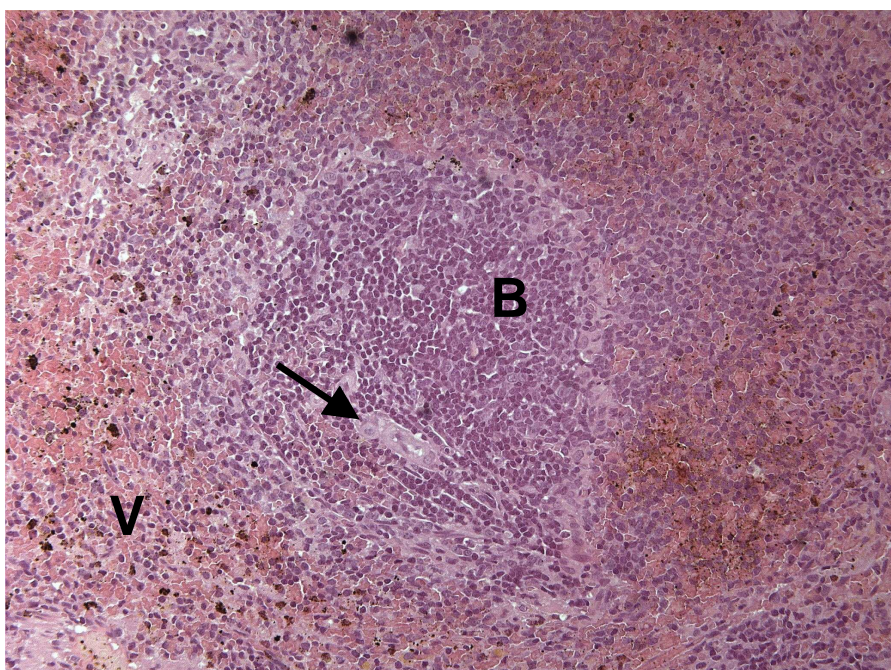


FIGURA 19 - Aspecto histológico do baço no Grupo sem esplenectomia (hematoxilina e eosina, 200x). Observar a arquitetura esplênica com presença de polpa branca (B) com artéria central (seta) e polpa vermelha (V).

A avaliação histológica do baço conservado em solução Ringer-lactato por 24 horas inteiro e fatiado, em temperatura ambiente e a 4°C, em experimento piloto, antes de implante, não mostrou alteração na arquitetura esplênica, com presença de polpa branca com arteríola central e polpa vermelha (FIGURA 20 e 21).

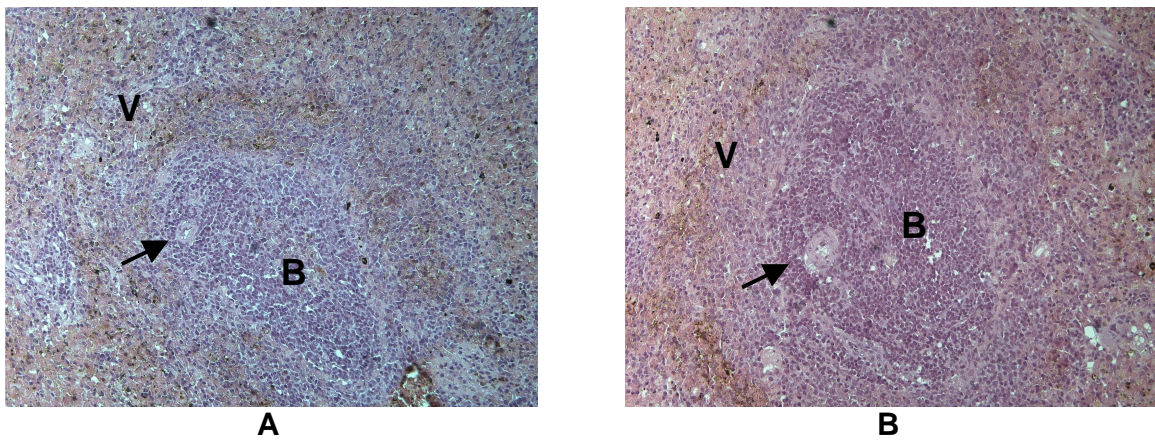


FIGURA 20 - Aspecto histológico do baço inteiro conservado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente (A) e a 4°C (B) após 24 horas (hematoxilina e eosina, 200x). Observar a arquitetura preservada com presença de polpa branca (B) com artéria central (seta) e polpa vermelha (V).

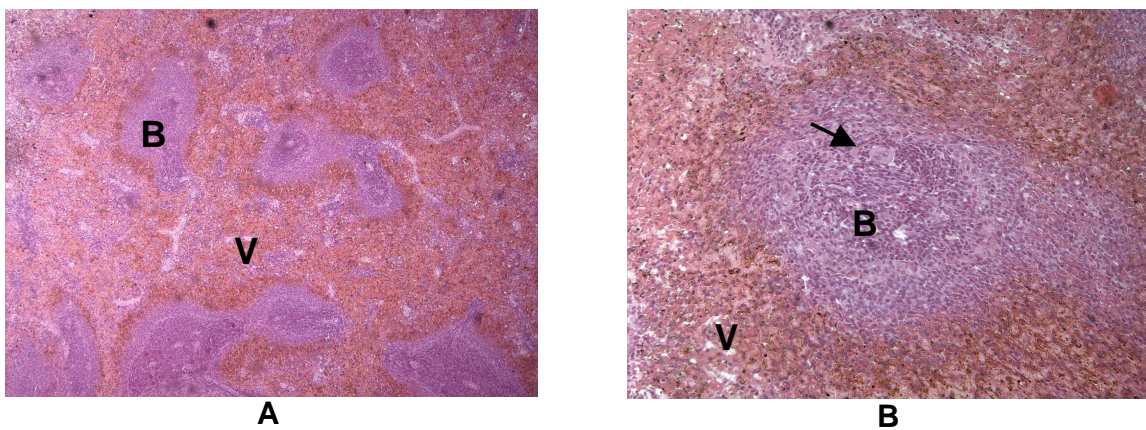


FIGURA 21- Aspecto histológico do baço fatiado conservado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C após 24 horas (hematoxilina e eosina, 100x (A) e 200x (B)). Observar a arquitetura preservada com presença de polpa branca (B) com artéria central (seta) e polpa vermelha (V).

Os implantes no grupo com implante autólogo no mesmo ato operatório (Grupo 3) e no grupo com baço fatiado conservado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e, após 24 horas, implantadas no omento maior (Grupo 7) observou-se o mesmo padrão histológico (FIGURA 22 e 23). No grupo com conservação do baço em solução de Ringer-lactato a 4°C durante 24 horas e, em seguida, seu implante segmentado no omento maior (Grupo 6) não se observou a presença de arteríola central (FIGURA 24).

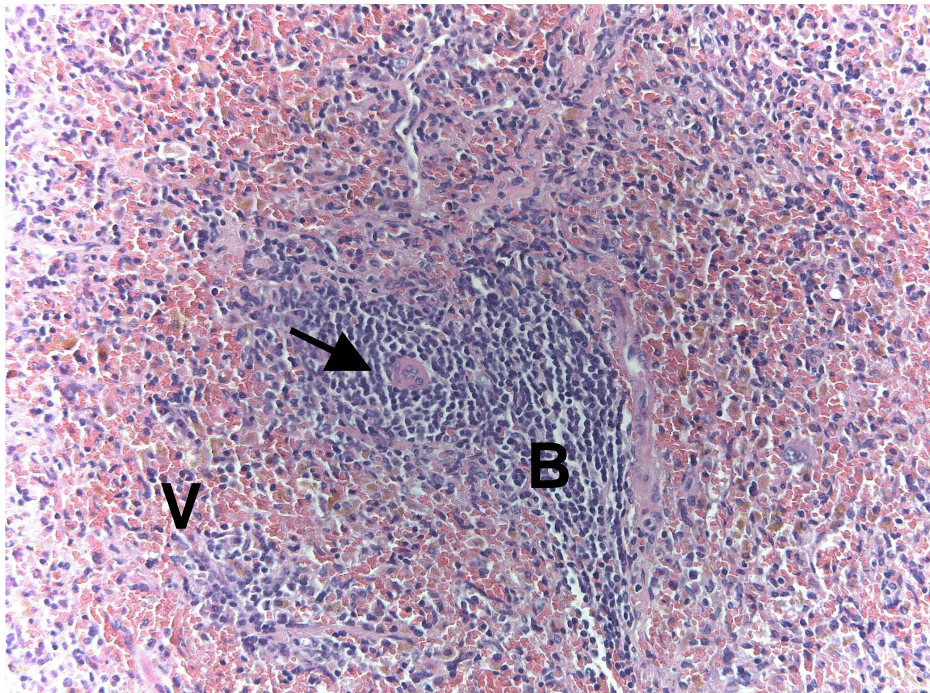


FIGURA 22 - Aspecto histológico de implante no grupo em que o implante autólogo foi realizado imediatamente após a esplenectomia (Rato 3-3) após 90 dias (hematoxilina e eosina, 200x). Observar a presença de polpa branca (B) com artéria central (seta) e polpa vermelha (V).

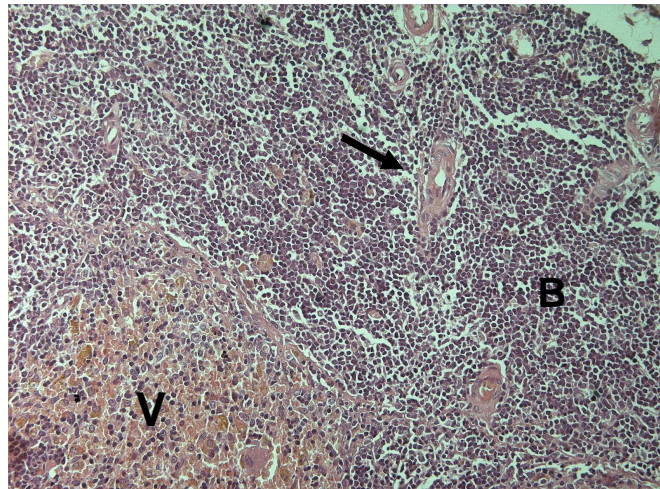


FIGURA 23 - Aspecto histológico de implante após 90 dias, no grupo em que o baço foi seccionado e suas fatias foram preservadas em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C por 24 horas (Rato 7-5). Observar arquitetura com presença de polpa branca (B) com artéria central (seta) e polpa vermelha (V) (hematoxilina e eosina, 200x).

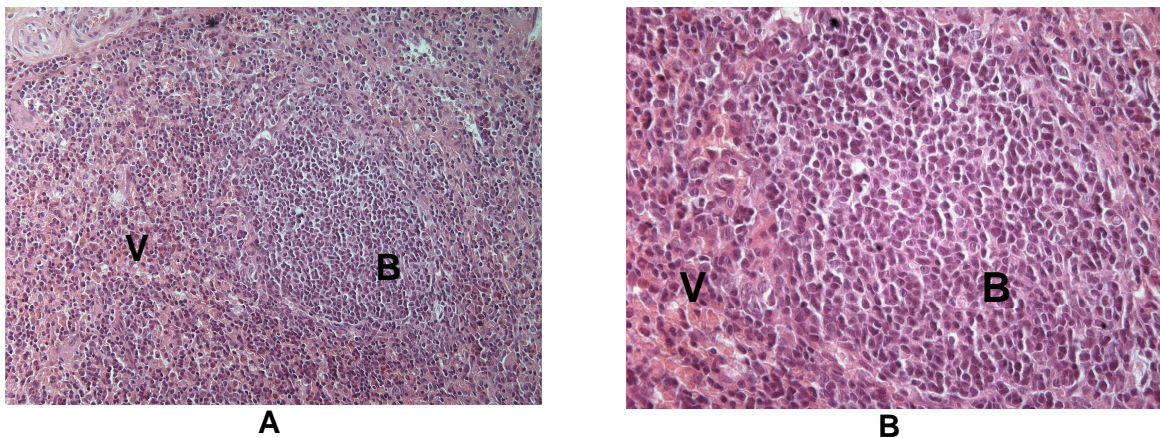


FIGURA 24 - Aspecto histológico de implantes após 90 dias, no grupo em que o baço foi conservado inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C por 24 horas (Rato 6-4). Observar a presença de polpa branca (B) e polpa vermelha (V) (hematoxilina e eosina, 200x (A) e 400x (B)).

8. DISCUSSÃO

Este trabalho pertence a uma linha de pesquisa que vem sendo realizada na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais sobre as operações conservadoras do baço^{18, 25-56}. As bases anatômicas vasculares e de segmentação esplênica descritas pelo professor Zappalá^{19, 20} sob orientação do professor DiDio, permitiram as primeiras esplenectomias regradas em pacientes vítimas de trauma esplênico²¹.

Petroianu iniciou as pesquisas sobre operações conservadoras do baço, por meio de esplenectomia subtotal, em 1979. Esse autor observou que o pólo superior do baço apresentava vitalidade após a ligadura do pedículo esplênico principal, devido à existência de uma segunda vascularização, independente do pedículo, constituída pelos vasos esplenogástricos, contidos no ligamento esplenogástrico^{25, 61}. Essa ressecção foi denominada esplenectomia subtotal, em contraposição à esplenectomia parcial, na qual são preservados os vasos do pedículo.

Após diversos estudos experimentais, essa técnica foi utilizada em doentes com hipertensão porta por esquistossomose mansoni, no tratamento de afecções corpocaudais do pâncreas, na mielofibrose acompanhada de hepatoesplenomegalia mieloide, na doença de Gaucher, na leucemia linfocítica crônica, em linfoma de Hodgkin, em hemangioma esplênico, para tratar abscesso esplênico, para reverter o hipodesenvolvimento somático e sexual de adolescentes, para controlar dor esplênica intensa e nas lesões esplênicas graves, todos com sucesso²⁶⁻⁴⁴.

Nos casos em que não foi possível preservar pelo menos parte do órgão em posição ortotópica, PETROIANU, a partir de 1990, passou a realizar implantes esplênicos autógenos. Os estudos sobre implante esplênico autógeno iniciaram nesta linha de pesquisa em 1985⁴⁵⁻⁵⁰. Após cinco anos de experimentos em animais, a esplenectomia total complementada com implante de tecido esplênico autógeno no omento maior passou a ser utilizada em pacientes com diversas afecções, como hipertensão porta, hepatoesplenomegalia mieloide, doença de Gaucher, leucemia, dor esplênica intensa e trauma⁵¹⁻⁵⁶. Os resultados desse procedimento comprovaram a eficácia dos implantes em preservar as funções do baço.

Os primeiros implantes esplênicos autógenos são atribuídos a Griffini e Tizzioni (1883), que os realizaram em cão. No homem, em operação para tratar trauma esplênico começou a ser utilizado em 1896. Grande número de pesquisas comprovaram que os implantes não necessitam de anastomose vascular para manter a sua vitalidade quando realizados no mesmo ato operatório. Após um período de necrose que culmina no primeiro mês pós-operatório, a partir de todos os implantes há vasculogênese, que se anastomosa naturalmente com vasos do tecido receptor dos implantes^{45, 46, 50, 52-54, 62, 63}.

O tecido esplênico é capaz de manter sua vitalidade em qualquer local do organismo em que for implantado. Entretanto, sua função adequada é obtida quando a drenagem se faz para a circulação porta⁶⁴. Nesse sentido, opta-se por implantar os fragmentos esplênicos no omento maior, no mesentério ou no mesocólon, cujas drenagens sanguíneas se fazem para a veia porta^{62, 63, 65-70}. Por esse motivo, o tecido esplênico foi implantado no omento maior.

Outro aspecto relevante é a quantidade de tecido esplênico que deve ser implantada^{62, 71}. Estudos prévios mostraram a necessidade de pelo menos 25% da quantidade de tecido existente em um baço normal para preservar todas as funções desse órgão^{69, 72-75}. Neste trabalho, o baço foi seccionado em cinco fatias das quais três foram implantadas no omento maior, correspondendo a aproximadamente 60% do tecido esplênico de cada animal.

A escolha do rato como modelo experimental se fez devido ao seu tamanho, fácil manuseio e disponibilidade. Não há diferença anatômica geral entre o seu abdome e o de outros mamíferos, inclusive o homem. Todos os animais foram machos, para evitar influência de alterações hormonais na coagulação sanguínea. Camundongos, cobaias, coelhos, cães, gatos e porcos também poderiam ter sido utilizados. Contudo, em camundongos haveria dificuldade na coleta de sangue suficiente, enquanto os outros animais acompanham-se de maior dificuldade para sua aprovação por comitê de ética e requerem cuidados mais trabalhosos.

O tipo de anestesia utilizado nos animais baseou-se em estudos prévios e recomendações da literatura⁶⁰. A dose utilizada foi suficiente para o ato operatório em todos os animais, sem a necessidade de doses adicionais.

A escolha da solução de Ringer-lactato para conservação do baço foi devido ao fato de ser uma solução fisiológica de baixo custo e fácil disponibilidade na maioria dos blocos cirúrgicos. Este estudo mostrou que essa solução foi suficiente para preservar a vitalidade do tecido esplênico em temperaturas baixas. Outras soluções fisiológicas e nutritivas também podem ser capazes de preservar o baço, porém seu custo é mais elevado e não são disponíveis habitualmente em

todos os blocos cirúrgicos, tornando-se pouco práticas. Cabe, entretanto avaliar soluções salinas e glicosadas. Resta ainda a dúvida sobre a melhor temperatura para conservar tecido esplênico.

O momento de reabordagem dos animais para os implantes levou em consideração o fato de o tempo de 24 a 48 horas ser suficiente para estabilização hemodinâmica de pacientes submetidos a controle de dano. Na rotina, esse é o período aguardado para reoperar pacientes.

Nos grupos em que os implantes foram realizados no mesmo ato operatório e 24 horas após conservação do baço em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C, suas dimensões foram reduzidas em relação ao seu tamanho inicial, porém, após 90 dias constatou-se a arquitetura normal do baço, com polpa branca, arteríola central e polpa vermelha. TAVASSOLI *et al* (1973)⁷⁶, PETROIANU *et al* (2002)⁴⁶ e IINUMA *et al* (1992)⁶⁹ mostraram regeneração completa da polpa branca após 16 semanas, seis semanas e cinco semanas, respectivamente. Essas divergências podem ser explicadas, em parte, pela espécie animal, técnica cirúrgica e critérios de avaliação.

A conservação em solução de Ringer-lactato a 4°C, ao contrário do que ocorreu nos grupos com conservação em temperatura ambiente, não mostrou diferenças macroscópicas e histológicas dos implantes com relação aos implantes realizados no mesmo ato operatório. Embora a divisão entre polpa branca e vermelha tivesse sido nítida, a presença de arteríola central não foi observada em todos os casos. A polpa branca, em comparação com a polpa vermelha, demora mais a regenerar-se, em decorrência de a vascularização do implante ocorrer da periferia para o centro^{46, 52-54, 77}.

Fígado, pulmão e baço inteiro ou implantes esplênicos contêm mais de 95% do total de macrófagos do sistema mononuclear fagocitário. Por esse motivo, avaliou-se a captação do estanho coloidal apenas nesses órgãos. Considerou-se a presença do radiofármaco na circulação sanguínea (coágulo) como insuficiência na função fagocitária de todo o sistema de defesa orgânico^{47, 78}.

Acredita-se que a depuração sanguínea pelo baço decorra da arquitetura vascular desse órgão. O baço remove partículas mediante mecanismo de captura pelos macrófagos e outras células do sistema mononuclear fagocitário, como os linfócitos^{71, 72, 79}.

Nos animais em que o implante foi realizado após sua conservação em Ringer-lactato à temperatura de 4 °C (grupos 6 e 7), a captação de estanho coloidal marcado com tecnécio não foi diferente à dos implantes realizados imediatamente após a retirada do baço (Grupo 2). Esse fato confirma a boa função de depuração presente nesses implantes, embora o implante tenha ocorrido no dia seguinte à retirada do baço.

A captação hepática de radiofármaco foi maior nos animais esplenectomizados e naqueles em que o baço foi conservado à temperatura ambiente, portanto inviáveis. Esse resultado pode representar uma tentativa de compensação do sistema mononuclear fagocitário em estado de asplenia.

A ausência de alterações hematológicas detectáveis pode ser explicada pela adaptação do organismo no pós-operatório dos procedimentos realizados. Ainda não foi estabelecido completamente o papel do baço no controle dos elementos sanguíneos, apenas de suas funções hematopoiética, hemocaterítica.

A eletroforese de proteínas séricas é um método simples e de baixo custo, para separar as proteínas presentes no plasma em frações, de acordo com suas cargas elétricas e peso molecular. Sua desvantagem é não permitir a quantificação das imunoglobulinas, sendo necessário a imunofixação. A banda da fração de gamaglobulinas é composta principalmente de imunoglobulinas do tipo IgG. As imunoglobulinas IgM e IgA sobrepõem-se à junção com a fração de betaglobulinas. Diminuição da banda de gamaglobulinas ocorre na hipogamaglobulinemia, que pode ser primária ou secundária⁸⁰. Neste trabalho ocorreu redução da banda de gamaglobulinas no grupo de animais esplenectomizados em relação aos demais. Não foram encontrados dados na literatura consultada que subsidiassem uma discussão desses achados.

O baço possui muitas outras funções, que não foram avaliadas neste trabalho e que serão estudadas futuramente.

A sepse pós-esplenectomia pode ocorrer desde poucos dias após a remoção do baço, até vários anos, sendo mais frequente no pós-operatório recente. Diversos modelos experimentais mostraram que a remoção do baço aumenta a mortalidade decorrente de exposição a bactérias, por inoculação intranasal ou intravenosa. Esse fato está relacionado à diminuição da depuração dessas bactérias da corrente sanguínea. O implante esplênico autógeno passou a ser considerado adequado na preservação da função esplênica quando é inevitável a esplenectomia total^{81, 82}.

Pacientes politraumatizados com lesão grave do baço não toleram uma operação prolongada. Nessa situação está indicada esplenectomia total no menor tempo possível e descartam o baço retirado, tornando o paciente asplênico e

sujeito a todos os riscos desse estado. A conservação do tecido esplênico em solução de Ringer-lactato esfriado é capaz de manter a vitalidade e funções esplênicas para o implante esplênico autógeno eficaz.

Com base neste trabalho e em conhecimentos a serem adquiridos com novos estudos é possível que, em futuro próximo esse procedimento seja inserido na aplicação clínica prevenindo o estado asplênico decorrente da esplenectomia realizada em condições adversas.

9. CONCLUSÃO

O tecido esplênico conservado em solução de Ringer-lactado à temperatura de 4°C por 24 horas mantém sua vitalidade e permite sua recuperação funcional após ser implantado sobre o omento maior.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ROTONDO MF, SCHWAB W, MCGONICAL MD, PHILLIPS GR, FRUCHTERMAN TM, KAUDER DR. Damage control: an approach for improved survival in exanguinating abdominal injury. *J Trauma* 1993;35:375-83.
2. WAIBEL BH, ROTONDO MM. Damage control surgery: it's evolution over the last 20 years. *Rev Col Bras Cir* 2012;39:314-21.
3. CHOVANES J, CANNON JW, NUNEZ TC. The evolution of damage control surgery. *Surg Clin North Am* 2012;92:859-75.
4. NORMANDO GR JR. Damage control surgery and Latin America's contributions to it. *Rev Col Bras Cir* 2011;38:1-2.
5. DUCHESNE JC, McSWAIN NE Jr, COTTON BA, HUNT JP, DELLAVOLPE J, LAFARO K, MARR AB, GONZALEZ EA, PHELAN HA, BILSKI T, GREIFFENSTEIN P, BARBEAU JM, RENNIE KV, BAKER CC, BROHI K, JENKINS DH, ROTONDO M. Damage control resuscitation: the new face of damage control. *J Trauma* 2010;69:976-90.
6. LEEMANS R, MANSON W, SNIJDER JAM. Immune response capacity after human splenic autotransplantation. *Ann Surg* 1999;229:279-85.
7. BEURAN M, GHEJU I, VENTER MD, MARIAN RC, SMARANDACHE R. Non-operative management of splenic trauma. *J Med Life* 2012; 22:47-58.
8. LIU PP, LIU HT, HSIEH TM, HUANG CY, KO SF. Nonsurgical management of delayed splenic rupture after blunt trauma. *J Trauma Acute Care Surg* 2012; 72:1019-23.
9. SKATTUM J, NAESS PA, GAARDER C. Non-operative management and immune function after splenic injury. *Br J Surg* 2012;Suppl 1:59-65.
10. DEMETRIADES D, SCALEA TM, DEGIANNIS E, BARMPPARAS G, KONSTANTINIDIS A, MASSAHIS J, INABA K. Blunt splenic trauma: splenectomy increases early infectious complications: a prospective multicenter study. *J Trauma Acute Care Surg* 2012;72:229-34.
11. GOMEZ D, HAAS B, AL-ALI K, MONNEUSE O, NATHENS AB, AHMED N. Controversies in the management of splenic trauma. *Injury* 2012;43:55-61.
12. RENZULLI P, GROSS T, SCHNÜRIGER B, SCHOEPFER AM, INDERBITZIN D, EXADAKTYLOS AK, HOPPE H, CANDINAS D. Management of blunt injuries to the spleen. *Br J Surg* 2010;97:1696-703.

13. TOLGA MA, MÜFTÜOĞLU TMA, KÖKSAL N. Evaluation of phagocytic function of macrophages in rats after partial splenectomy. *J Am Coll Surg* 2000;191:668-71.
14. SABA TM. Physiology and physiopathology of the reticuloendothelial system. *Arch Intern Med* 1970;126:1031-52.
15. LYNCH AM, KAPILA R. Overwhelming postsplenectomy infection. *Infect Dis North Am* 1986;10:693-707.
16. LLENDE M, SANTIAGO-DELPÍN EA, LAVERGNE J. Immunobiological consequences of splenectomy. *J Surg Res* 1986;40:85-94.
17. SCHWARTZ SI. The spleen. In: Zinner MJ, Schwartz SI, Ellis H. *Maingot's Abdominal Operations* 1997. 10th ed. Stamford; Appleton & Lange:2036-7.
18. RESENDE V, PETROIANU A, JUNIOR WCT. Autotransplantation for treatment of severe splenic lesions. *Emergency Radiology* 2002;9:208-12.
19. ZAPPALÁ A. Estudo anatômico da divisão terminal da a. lienal. Tese de livre-docência de Anatomia. Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais; Belo Horizonte, 1958.
20. ZAPPALÁ A. Contribuição para o estudo da anatomia dos vasos e das zonas vasculares lienais. Tese de Professor Catedrático de Anatomia, Faculdade de Medicina da Universidade de Recife; Recife, 1959.
21. CAMPOS CHRISTO MB. Esplenectomias parciais regradas. *Hospital* 1959;56:93-8.
22. FELICIANO DV, BITONDO CG, MATTOX KL. A four-year experience with splenectomy versus splenorrhaphy. *Ann Surg* 1985;201:568-75.
23. MORREL DG, CHANG FC, HELMER SD. Changing trends in the management of splenic injury. *Am J Surg* 1995;170:686-90.
24. BRASEL KJ, DELISLE CM, OLSON CJ, BORGSTROM DC. Splenic injury: trends in evaluation and management. *J Trauma* 1998;44:283-6.
25. PETROIANU A, PETROIANU S. Anatomy of splenogastric vessels in patients with schistosomal portal hypertension. *Clin Anat* 1994;7:80-3.
26. PETROIANU A. Esplenectomia subtotal e anastomose esplenorenal proximal para o tratamento da hipertensão portal. *Rev Bras Cir* 1983;73:101-4.
27. PETROIANU A. Treatment of portal hypertension by subtotal splenectomy and central splenorenal shunt. *Postgrad Med J* 1988;64:38-41.

28. PETROIANU A, BARBOSA AJA. Quantitative studies on macrophage phagocytosis in whole spleen and in the remnant of subtotal splenectomy. *Med Sci Res* 1991;19:373-5.
29. PETROIANU A. Subtotal splenectomy and portal variceal disconnection in the treatment of portal hypertension. *Can J Surg* 1993;36:251-4.
30. PETROIANU A. Treatment of cystadenoma of the pancreatic tail by distal pancreatectomy and subtotal splenectomy. *Dig Surg* 1995;12:259-61.
31. PETROIANU A. Subtotal splenectomy for treatment of patients with myelofibrosis and myeloid metaplasia. *Int Surg* 1996;81:177-9.
32. PETROIANU A. Subtotal splenectomy in Gaucher's disease. *Eur J Surg* 1996; 162:511-3.
33. PETROIANU A, SILVA RG, SIMAL CJ, CARVALHO DG, SILVA RA. Late postoperative follow-up of patients submitted to subtotal esplenectomy. *Am Surg* 1997;63:735-40.
34. RESENDE V, PETROIANU A. Subtotal splenectomy for treatment of severe splenic injuries. *J Trauma* 1998;44:933-5.
35. PETROIANU A, SILVA KDA. Esplenectomia subtotal para tratamento do hipodesenvolvimento somático e sexual secundário a esplenomegalia. *Rev Col Bras Cir* 2002;29:209-12.
36. PETROIANU A. Subtotal splenectomy for treatment of retarded growth and sexual development associated with splenomegaly. *Minerva Chir* 2003;57:413-4.
37. PETROIANU A. Tratamento cirúrgico da hipertensão porta na esquistossomose mansoni. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003;36:253-65.
38. PETROIANU A. Subtotal splenectomy for the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Ann Hematol* 2003;82:708-9.
39. RESENDE V, PETROIANU A. Functions of the splenic remnant after subtotal splenectomy for treatment of severe splenic injuries. *Am J Surg* 2003;185:311-5.
40. PETROIANU A, DE OLIVEIRA AE, ALBERTI LR. Hypersplenism in schistosomatic portal hypertension. *Arch Med Res* 2005;36:496-501.
41. PETROIANU A, RESENDE V, SILVA RG. Late follow-up of patients submitted to subtotal esplenectomy. *Int J Surg* 2006;4:152-8.


42. PETROIANU A, CABEZAS ANDRADE, MA, BERINDOAGUE NETO, R. Operações laparoscópicas conservadoras do baço para tratar dor esplênica por isquemia. *Arq BrasCir Dig* 2007;20:17-22.
43. PETROIANU A, BRANDT CT, ALENCAR LF. Esplenectomia parcial para tratar hemangioma esplênico. *Rev Col Bras Cir* 2008;35:132-5.
44. NAGEM RG, PETROIANU A. Subtotal splenectomy for splenic abscess. *Can J Surg* 2009;52:E91-2.
45. PETROIANU A, SIMAL CJR, BARBOSA AJA. Assessment of phagocytic function in remnants of subtotal splenectomy and in autologous spleen implantation. *Med Sci Res* 1993;21:715-7.
46. MARQUES RG, PETROIANU A. Auto-implante esplênico em rato: regeneração morfológica e função fagocitária. *Rev Hosp Univ Pedro Ernesto* 2002;1:11-9.
47. MARQUES RG, PETROIANU A, OLIVEIRA MBN, BERNARDO-FILHO M, BOASQUEVISQUE EM, PORTELA MC. Bacterial clearance after total splenectomy and splenic autotransplantation in rats. *Applied Radiation and Isotopes* 2002; 57:767-71.
48. PETROIANU A. Avaliação da função fagocitária em remanescentes de esplenectomia subtotal e auto-implante esplênico autógeno *Rev Bras Hematol Hemoter* 2003;25:25-31.
49. MARQUES RG, PETROIANU A. Distribuição de *Escherichia coli* nos órgãos do sistema mononuclear fagocitário após esplenectomia total isolada ou combinada auto-implante esplênico em rato. *Rev Col Bras Cir* 2003;30:330-6.
50. MARQUES RG, PETROIANU A, COELHO JMCO, PORTELA MC. Morfologia e função fagocitária de implante esplênico autógeno regenerado em ratos. *Acta Cir Bras* 2004; 19:642-8.
51. RESENDE V, PETROIANU A. Funções do remanescente esplênico após esplenectomia subtotal ou auto-implantes esplênicos para tratamento de lesões graves do baço humano. *Rev Med Minas Gerais* 2001;11:59.
52. MARQUES RG, PETROIANU A. Auto-implante esplênico. *ARS CVRANDI* 2002:10-8.
53. MARQUES RG, PETROIANU A, COELHO JMCO, PORTELA MC. Regeneration of splenic autotransplants. *Ann Hematol* 2002;81:622-6.
54. MARQUES RG, PETROIANU A, COELHO JMCO. Regeneration of phagocytic function after splenic autotransplantation. *Biomed Res* 2002;13:15-8.

55. PETROIANU A, PETROIANU LPG. Splenic autotransplantation for treatment of portal hypertension. *J Can Chir* 2005;48:382-6.
56. PETROIANU A, PETROIANU LPG. Splenic autotransplantation combined with splenectomy and portal-variceal disconnection in the treatment of portal hypertension. *Can J Surg* 2005;48:382-6.
57. PETROIANU A. Pesquisa experimental. In: Petroianu A. *Ética, moral e deontologia médica*. Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan, 2000, pg 185-90.
58. ROLLIN BE. The regulation of animal research and the emergence of animal ethics. *Theor Med Bioeth* 2006; 27:285-304.
59. KOHN DF, BARTHOLD SW. Biology and diseases of rats. In: FOX JG, COHEN BJ, LOEW FM, editors. *Laboratory Animal Medicine*. London: Academic Press. 1984;91-9.
60. FLECKNELL PA. Anaesthesia of animals for biomedical research. *Br J Anaesth* 1993; 71:885-94.
61. LIU DL, XIA S, XU W. Anatomy of vasculature of 850 spleen specimens and its application in partial splenectomy. *Surgery* 1996;119:27-33.
62. ALVAREZ FE, GRECO RS. Regeneration of the spleen after ectopic implantation and partial splenectomy. *Arch Surg* 1980;115:772-5.
63. COONEY DR, DEARTH JC, SWANSON SE, DEWAJEE MK. Relative merits of partial splenectomy, splenic reimplantation and immunization in preventing postsplenectomy infection. *Surgery* 1979;86:561-9.
64. LIVINGSTON CD, LEVINE BA, SIRINEK, KR. Site of splenic autotransplantation effects protection from sepsis. *Am J Surg* 1983;146:734-7.
65. GRECO RS, ALVAREZ FE. Protection against pneumococcal bacteremia by partial splenectomy. *Surg Gynecol Obstet* 1981;152:67-9.
66. MALANGONI MA, EVERS BM, PEYTON JC. Reticuloendothelial clearance and splenic mononuclear cell populations after resection and autotransplantation. *Am J Surg* 1988;155:298-302.
67. CLAYER MTR, DREW P, LEONG A. The vascular supply of splenic autotransplants. *J Surg Res* 1992;53:475-84.
68. CLAYER MTR, DREW P, LEONG A. IgG-mediated phagocytosis in regenerated splenic tissue. *Clin Exp Immunol* 1994;97:242-7.
69. IINUMA H, OKINAGA K, SATO S. Optimal site and amount of splenic tissue for autotransplantation. *J Surg Res* 1992;53:109-16.

70. WEBER T, HANISCH E, BAUM. Late results of heterotopic autotransplantation of splenic tissue into the greater omentum. *World J Surg* 1998;22:883-9.
71. YIONG G, HAN G, XIAN-TAO K, Immunoglobulins and complement in splenectomized and autotransplanted subjects. *Ann Med* 1989;21:265-7.
72. PATEL JM, WILLIAMS JS, NAIM JO. The effect of site and technique of splenic tissue reimplantation on pneumococcal clearance from the blood. *J Pediatr Surg* 1986;21:877-80.
73. DREW PA, CLAYERS MTR, JAMIESON GG. The value of splenic autotransplantation. *Arch Surg* 1990;125:1.224.
74. WITTE CL, WITTE MH. Enlargement of splenic implants. *Surgery* 1995;117:357.
75. ZOLI G, CORAZZA GR, D'AMATO G. Splenic autotransplantation after splenectomy. *Br J Surg* 1994;81: 716-8.
76. TAVASSOLI M, RATZAN RJ, CROSBY WH. Studies on regeneration of heterotopic splenic autotransplants. *Blood* 1973; 41:701-9.
77. MARQUES RG, PETROIANU A, COELHO JMCO, PORTELA MC. Morfologia e função fagocitária de implante esplênico autógeno regenerado em ratos. *Acta Cir Bras* 2004; 19: 642-8.
78. PETROIANU A, SIMAL CJR. Shifts in the reticuloendothelial system uptake pattern induced by carbon colloid in the rat. *Med Sci Res* 1993; 21:311-2.
79. ALVAREZ SR, ESCALANTE CF, RITURETO DC, ESPADAS FL, FERNANDEZ JM. Assessment of post-splenectomy residual splenic funcion. *Int Surg* 1987; 72:149-53.
80. PAULA E SILVA RO, LOPES AF, FARIA RMD. Eletroforese de proteínas séricas: interpretação e correlação clínica. *Rev Med Min Ger* 2008; 18:116-22.
81. MARQUES RG, PETROIANU A. Infecção fulminante pós-esplenectomia. *Arq Gastroenterol* 2003; 40:47-53.
82. MARQUES RG, PETROIANU A. O papel do baço na resistência à infecção. *Rev Bras Med* 2003; 60:271-3.

11. APÊNDICES

11.1 Parecer Ético do Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Minas Gerais



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- C E T E A -**

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 265/2008**, relativo ao projeto intitulado "**Aspecto morfológicos e funcionais do implante de tecido esplênico autógeno previamente conservado em solução fisiológica**", que tem como responsável(is) **Andy Petroianu**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **4/ 03/2009**.

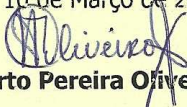
Este certificado expira-se em **4/ 03/ 2014**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 265/2008**, related to the project entitled "**Morphologic and funcional aspects of the autogenous splenic implant previously conserved in physiologic solution**", under the supervisors of **Andy Petroianu**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **March 4, 2009**.

This certificate expires in **March 4, 2014**.



Belo Horizonte, 10 de Março de 2009.


Prof. Humberto Pereira Oliveira
Coordenador do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 - Campus Pampulha
Unidade Administrativa II - 2º Andar, Sala 2005
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil
Telefone: (31) 3499-4516 - Fax: (31) 3499-4592
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br

(Mod.Cert. v1.0)

11.2 Parecer Ético da Câmara Departamental do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de Minas Gerais

	<p align="center">FACULDADE DE MEDICINA DA UFMG DEPARTAMENTO DE CIRURGIA</p> <p align="center">Av. Prof. Alfredo Balena 190 - 4º andar Caixa postal 340 - cep 30130-100 31-3248-9759 e 3248-9760(telefax)</p>	
---	---	---

Belo Horizonte, 03 de dezembro de 2008.

PARECER

1. TÍTULO

Aspectos morfológicos e funcionais do implante de tecido esplênico autógeno previamente conservado em solução fisiológica.

2. ORIENTADOR

Prof. Dr. Andy Petroianu
Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG.

3. Relevância e Perspectivas Futuras

O presente estudo corresponde a uma etapa da linha de pesquisa que avalia a morfologia e a função do baço íntegro e após diversas operações na maior seqüência de trabalhos realizados sobre o baço na literatura mundial.

Este trabalho propõe uma pesquisa com vista à preservação de tecido esplênico na cirurgia do trauma em que haja a necessidade de retirar totalmente o baço e não se deva realizar os auto-implantes no mesmo tempo operatório.

Na eventualidade de se encontrarem resultados favoráveis serão propostas novas pesquisas experimentais visando a uma futura aplicação em seres humanos das técnicas de auto-implante esplênico nas operações definitivas após o procedimento inicial de controle de danos.

4. Objetivos

- Avaliar, experimentalmente, a exequibilidade do implante esplênico autógeno em omento maior de rato, 24 horas após o baço ser retirado e fragmentos esplênicos mantidos em solução fisiológica.

- Avaliar alterações morfológicas macroscópicas e histológicas dos fragmentos esplênicos implantados.

- Verificar alterações hematológicas, imunitárias e de depuração sanguínea nos

5. Grupos de Animais

Os 35 ratos submetidos a esplenectomia total serão distribuídos aleatoriamente em sete grupos (n=5):

1. Grupo 1: Controle sem esplenectomia
2. Grupo 2: Controle com esplenectomia total
3. Grupo 3: Controle com esplenectomia total complementado por implante de tecido esplênico autógeno no omento maior, imediatamente após retirada do baço.
4. Grupo 4: Esplenectomia total com preservação do baço em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente durante 24 horas e, em seguida, implante de seu tecido no omento maior.
5. Grupo 5: Esplenectomia total com preservação do baço em solução de Ringer-lactato à 4°C durante 24 horas e, em seguida, implante de seu tecido no omento maior.
6. Grupo 6: Esplenectomia total com secção do baço em cinco fragmentos e preservação em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente durante 24 horas e, em seguida, implante de seu tecido no omento maior.
7. Grupo 7: Esplenectomia total com secção do baço em cinco fragmentos e preservação em solução de Ringer-lactato à 4°C durante 24 horas e, em seguida, implante de seu tecido no omento maior.

Serão realizados estudos cintilográficos, hematológicos e histológicos.

6. Mérito da pesquisa:

Este trabalho encontra-se inserido em uma linha de pesquisa sobre o baço. O projeto está bem escrito, não existem impedimentos éticos para que seja realizado. É de relevância no assunto e contribuirá para elucidar questões de importância em relação ao órgão em questão.

7. **Conclusão:** Favorável à sua aprovação.

Parecer aprovado pela Câmara Departamental em 03/12/2008


Prof. Marcelo Eller Miranda
Inscrição 094587
Chefe do Departamento de Cirurgia
Faculdade de Medicina - UFMG

11.3 Exames laboratoriais

TABELA A1 - Contagem de hemácias (Hem x 10⁶/dl) por grupos, após 90 dias

Grupo RATO	1	2	3	4	5	6	7
1	9,20	10,65	-	9,92	8,35	8,55	9,73
2	8,44	10,48	9,25	9,38	9,50	8,40	7,39
3	9,48	9,07	9,26	9,80	9,04	9,35	9,80
4	9,18	8,70	9,64	9,28	9,76	9,25	7,19
5	9,06	9,88	9,80	8,95	-	8,73	7,99
Média	9,07	9,76	9,49	9,47	9,16	8,86	8,42
EPM	0,17	0,38	0,14	0,18	0,31	0,19	0,56

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas. EPM = Erro padrão das médias.

TABELA A2 - Concentração da hemoglobina (g/dl) por grupos, após 90 dias

Grupo RATO	1	2	3	4	5	6	7
1	15,20	17,20	-	15,20	11,90	15,00	16,40
2	15,20	17,70	15,30	15,20	15,30	14,30	11,00
3	16,30	15,10	15,60	16,10	14,50	14,80	16,20
4	15,60	14,20	16,40	15,20	16,40	15,70	12,00
5	15,40	15,10	16,30	15,20	-	14,50	13,70
Média	15,54	15,86	15,90	15,38	14,53	14,86	13,86
EPM	0,20	0,67	0,27	0,18	0,96	0,24	1,09

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas. EPM = Erro padrão das médias.

TABELA A3 - Hematócrito (%) por grupos, após 90 dias

RATO \ Grupo	1	2	3	4	5	6	7
1	48,60	56,80	-	48,00	37,00	47,40	52,20
2	48,00	55,90	49,20	47,30	51,00	44,30	35,00
3	53,30	49,40	48,80	50,70	43,70	47,10	48,00
4	49,60	46,20	52,10	45,30	48,50	48,60	34,90
5	48,30	47,60	48,10	48,20	-	43,30	43,70
Média	49,56	51,18	49,55	47,90	45,05	46,14	42,76
EPM	0,97	2,18	0,88	0,87	3,08	1,00	3,46

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas. EPM = Erro padrão das médias.

TABELA A4 - Contagem de leucócitos (Leuc x 10³/dl) por grupos, após 90 dias

RATO \ Grupo	1	2	3	4	5	6	7
1	10,17	6,85	-	11,75	28,24	7,68	7,07
2	6,48	5,71	8,31	9,15	16,71	5,37	17,30
3	3,23	5,63	5,47	8,93	9,93	18,26	10,30
4	3,03	5,63	5,28	6,75	8,68	9,79	23,28
5	3,16	10,70	6,78	2,99	-	9,36	10,18
Média	5,21	6,90	6,46	7,91	15,89	10,09	13,63
EPM	1,40	0,98	0,70	1,46	4,48	2,19	2,94

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas. EPM = Erro padrão das médias.

TABELA A5 - Contagem de plaquetas (Pla_q x 10³/dl) por grupos, após 90 dias

RATO	Grupo						
	1	2	3	4	5	6	7
1	694,00	257,00	-	953,00	996,00	507,00	624,00
2	505,00	468,00	595,00	705,00	926,00	537,00	613,00
3	518,00	809,00	771,00	621,00	428,00	707,00	641,00
4	522,00	715,00	862,00	750,00	674,00	745,00	453,00
5	537,00	667,00	751,00	472,00	-	629,00	748,00
Média	555,20	583,20	744,75	700,20	756,00	625,00	615,80
EPM	35,07	98,76	55,45	78,98	129,40	46,26	47,27

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas. EPM = Erro padrão das médias.

TABELA A6 - Eletroforese de proteínas, albumina (g/dl), após 90 dias

RATO	Grupo						
	1	2	3	4	5	6	7
1	2,39	2,16	2,00	2,18	1,13	2,26	2,23
2	2,24	2,01	2,38	2,21	2,09	2,14	1,27
3	2,26	2,12	1,76	1,95	2,17	2,16	2,05
4	2,17	1,66	1,84	1,69	1,56	2,25	-
5	2,02	1,86	-	1,97	-	1,79	1,97
Média	2,22	1,96	2,00	2,00	1,74	2,12	1,88
EPM	0,06	0,09	0,14	0,09	0,24	0,09	0,21

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas. EPM = Erro padrão das médias.

TABELA A7 - Eletroforese de proteínas, fração gama (g/dl), após 90 dias

Grupo RATO	1	2	3	4	5	6	7
1	0,72	0,08	0,65	0,84	0,85	0,87	0,65
2	0,54	0,07	0,65	0,57	0,62	0,80	0,78
3	0,14	0,09	0,19	0,84	0,74	0,85	0,88
4	0,08	0,09	0,22	0,13	0,15	0,08	-
5	0,09	0,11	-	0,09	-	0,14	0,10
Média	0,31	0,09	0,43	0,49	0,59	0,55	0,60
EPM	0,30	0,01	0,26	0,37	0,31	0,40	0,35

1 = Sem esplenectomia; 2 = Esplenectomia; 3 = Esplenectomia total com implante autógeno no mesmo ato operatório; 4 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 5 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura ambiente e implante autógeno após 24 horas; 6 = Esplenectomia total com conservação do baço inteiro em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas; 7 = Esplenectomia total com conservação do baço fatiado em solução de Ringer-lactato à temperatura de 4°C e implante autógeno após 24 horas. EPM = Erro padrão das médias.



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte – MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640



ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO DE **ARGOS SOARES DE MATOS FILHO**, nº de registro 2009662487.

Às quatorze horas do dia 04 de fevereiro de dois mil e treze, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG, a Comissão Examinadora de tese indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: **“ASPECTOS MORFOLÓGICOS E FUNCIONAIS DO IMPLANTE DE TECIDO ESPLÊNICO AUTÓGENO PREVIAMENTE CONSERVADO EM SOLUÇÃO DE RINGER-LACTADO”**, requisito final para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e a Oftalmologia. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Andy Petroianu, após dar a conhecer aos presentes o teor das normas regulamentares do trabalho final passou a palavra ao candidato para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença do candidato e do público para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Andy Petroianu/Orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovado</u>
Prof. Paulo Roberto Savassi Rocha	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovado</u>
Prof. Tarcizo Afonso Nunes	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovado</u>
Prof. Hamilton Petry de Souza	Instituição: PUC/RS	Indicação: <u>APROVADO</u>
Prof. Paulo Roberto Corsi	Instituição: FCMSCSP	Indicação: <u>APROVADO</u>

Pelas indicações, o candidato foi considerado Aprovado.

O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 04 de Fevereiro de 2013.

Prof. Andy Petroianu/ Orientador [Assinatura]
 Prof. Paulo Roberto Savassi [Assinatura]
 Prof. Tarcizo Afonso Nunes [Assinatura]
 Prof. Hamilton Petry de Souza [Assinatura]
 Prof. Paulo Roberto Corsi [Assinatura]
 Prof. Marcelo Dias Sanches/Coordenador [Assinatura]

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador.

Prof. Marcelo Dias Sanches
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia
Faculdade de Medicina/UFMG