

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE MEDICINA**

**ANDRÉA SAADE DAHER BORJAILI**

**FUNÇÃO FAGOCITÁRIA DO POLO INFERIOR E DE  
IMPLANTES ESPLÊNICOS AUTÓGENOS EM RATOS**

**Belo Horizonte  
2014**

**ANDRÉA SAADE DAHER BORJAILI**

**FUNÇÃO FAGOCITÁRIA DO POLO INFERIOR E DE  
IMPLANTES ESPLÊNICOS AUTÓGENOS EM RATOS**

Dissertação 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 obtenção do grau de Mestre em Medicina.

Área de concentração:  
Anatomofisiopatogenia Cirúrgica.

Linha de Pesquisa: Resposta Imunológica na Esplenectomia Parcial.

Orientador: Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes.

Coorientador: Prof. Dr. Danilo Nagib Salomão Paulo.

**Belo Horizonte**  
**Faculdade de Medicina - UFMG**  
**2014**

Borjaili, Andréa Saade Daher.

B734f Função fagocitária do polo inferior e de implantes esplênicos autógenos em ratos [manuscrito]. / Andréa Saade Daher Borjaili. -- Belo Horizonte: 2014.

58f.: il.

Orientador: Tarcizo Afonso Nunes. Co-

Orientador: Danilo Nagib Salomão Paulo.

Área de concentração: Anatomofisiopatogenia Cirúrgica.

Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Baço. 2. Esplenectomia. 3. Transplante Autólogo. 4. Macrófagos. 5. Dissertações Acadêmicas. I. Nunes, Tarcizo Afonso. II. Paulo, Danilo Nagib Salomão. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título

NLM: WH 600

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Reitor:** Prof. Dr. Jaime Arturo Ramirez

**Vice-Reitora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. . Sandra Regina Goulart Almeida

**Pró-Reitor de Pós-Graduação:** Prof. Dr. Rodrigo Antônio de Paiva Duarte

**Pró-Reitor de Pesquisa:** Prof. Dr<sup>a</sup>. Adelina Martha dos Reis

**Diretor da Faculdade de Medicina:** Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

**Vice-Diretor da Faculdade de Medicina:** Prof. Dr. Humberto José Alves

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

**Subcoordenadora do Centro de Pós-Graduação:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

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

**Subchefe do Departamento de Cirurgia:** Prof. Dr. Renato Santiago Gomez

**Chefe do Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Rosa Pimentel de Figueiredo

**Subchefe do Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Helenice Gonçalves Becker

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

**Subcoordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ivana Duval de Araújo

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

Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches

Prof<sup>a</sup>. Dra. Ivana Duval de Araújo

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva

Prof. Dr. Renato Santiago Gomes

Prof. Dr. Márcio Bittar Nehemy

Aos meus queridos pais, Marly e Camel,  
pelo amor incondicional.

A Eduardo, meu amado esposo,  
que esteve ao meu lado em todas as etapas deste trabalho,  
me incentivando com o seu amor e carinho.

Aos meus amados filhos, Matheus e Eduarda,  
que são a razão da minha vida  
e que com sua alegria de viver  
tornaram mais fácil a realização deste trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, minha força e segurança para a realização de todos os meus anseios. Sem Ele, nada disso teria sido possível.

Ao Professor Tarcizo Afonso Nunes, meu orientador, que em todos os momentos de precisão não poupou esforços em me ajudar, com sua dedicada atenção, presteza e sabedoria.

Ao Professor Danilo Nagib Salomão Paulo, pela oportunidade da realização deste trabalho e pela contribuição com suas sugestões para a finalização desta dissertação, sempre com muito interesse e dedicação.

Ao Professor Andy Petroianu, que sempre esteve disponível em todas as vezes que foi solicitado, contribuindo muito com seu conhecimento para a realização deste trabalho.

Ao Dr. Alfredo Silverman, por colocar à disposição deste trabalho, sem qualquer restrição, a sua clínica de Medicina Nuclear com todo o suporte necessário.

À Dr<sup>a</sup>. Jane Santana Castello, médica patologista do Laboratório de Patologia do Hospital Infantil Nossa Senhora de Glória de Vitória-ES, pela disposição e colaboração na análise histológica.

Ao Dr. José Carlos Novaes, professor da disciplina de Histologia da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória - Emescam, pela sua orientação na parte histológica.

Aos acadêmicos de Medicina Julior Silverman, Brunela Silva Cerqueira e Caroline Ferraz Resende, pela disponibilidade e boa vontade em ajudar na confecção deste trabalho.

A David Domingos Freire Júnior, aluno do curso de Farmácia da EMESCAM, pela valiosa colaboração para o desenvolvimento desta pesquisa, disponível todas as vezes em que foi solicitado.

Aos colegas veterinários Roberta Miranda de Araújo Mendes e Marcos Vinícius Gumiero, pela dedicação e contribuição para o bom andamento desta pesquisa, sempre prestativos nos momentos de necessidade.

A Isabela Binotti e Dominik Lenz, do Departamento de Morfologia da Universidade Federal do Espírito Santo, pela imprescindível orientação no manejo do programa de *software* apresentado nesta pesquisa, indispensável na finalização deste trabalho.

A Lorryne Barbosa Simões, aluna do curso de Fisioterapia da Universidade Federal do Espírito Santo, pela ajuda precisa e por sua dedicação na parte histológica deste trabalho.

Ao corpo clínico e técnico do Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins, do Departamento de Morfologia da Universidade Federal do Espírito Santo, por proporcionar o acesso a todo o seu aparato técnico, permitindo, assim, a realização deste trabalho com mais presteza.

Aos funcionários da EMESCAM, Magno Pinheiro Gomes, Luiz Antônio de Oliveira e Rosi de Oliveira, pela colaboração indispensável neste trabalho.

Ao Instituto Solidário do Espírito Santo, por meio do seu Departamento de Apoio à Pesquisa Clínica e Experimental.

## **HOMENAGEM**

A minha família, que sempre esteve ao meu lado, em todos os momentos, com seu apoio fundamental, palavras de incentivo e de carinho que me encorajam a seguir em frente na conquista de meus ideais.

## ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

### Figuras

FIGURA 1 - Estômago e baço fora da cavidade abdominal.....	23
FIGURA 2 - Segmento do baço dividido em cinco fragmentos.....	24
FIGURA 3 - Implantes esplênicos autógenos suturados ao omento maior.....	25
FIGURA 4 - Cateter introduzido na veia jugular direita do rato para injeção das soluções de carbono coloidal e fitato de sódio.....	27
FIGURA 5 - Remanescente esplênico (polo inferior) no grupo 150 dias de pós-operatório.....	28
FIGURA 6 - Polo inferior esplênico e implantes esplênicos autógenos do G1 (01 dia).....	29
FIGURA 7 - Estudo microscópico de cortes de implante esplênico autógeno de rato do G1 .....	41
FIGURA 8 - Estudo microscópico de implante esplênico autógeno de animal do grupo G7 .....	42
FIGURA 9 - Estudo microscópico de implante esplênico autógeno com morfologia normal (G60).....	43
FIGURA 10 - Estudo microscópico de implante esplênico autógeno regenerado (G 60).....	43

### Gráficos

GRÁFICO 1 - a) <i>Original image</i> ; b) <i>Grayscale image</i> .....	32
GRÁFICO 2 - a) <i>Grayscale image</i> ; b) <i>Image math</i> .....	33
GRÁFICO 3 – a) <i>Image math</i> ; b) <i>Nuclei outlines</i> ; c) <i>Final image</i> ; d) 3d.....	34

## ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 - Peso dos implantes esplênicos autógenos e dos polos inferiores esplênicos com os grupos separados (mg).....	37
TABELA 2 - Captação do radioisótopo pelos implantes esplênicos autógenos e polos inferiores esplênicos com os grupos separados (em mCi).....	39
TABELA 3 - Número de macrófagos dos implantes esplênicos autógenos e dos polos inferiores esplênicos com os grupos separados (unidade).....	40

## LISTA DE ABRE

Tc .....	99meta-tecnício
.....	
A .....	Comitê de Ética em Experimentação Animal
EMESCAM ....	Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia
IBM .....	<i>International Business Machines</i>
LEA .....	Laboratório de Experimentação Animal
mCi .....	
Mbq .....	Megabecquerímetro
PO .....	Pós-operatório
SBCAL .....	Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório
SPSS .....	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
UFMG .....	Universidade Federal de Minas Gerais

## ÍNDICE<sup>1</sup>

RESUMO .....	15
ABSTRACT .....	19
1 INTRODUÇÃO .....	20
2 OBJETIVO .....	21
3 RELEVÂNCIA .....	21
4 MÉTODO. ....	21
4.1 Estudo-piloto .....	22
4.2 Características da amostra e cuidados com os animais	22
4.3 Constituição dos grupos de animais .....	26
4.4 Procedimento anestésico .....	26
4.5 Pós-operatório .....	26
4.6 Pesquisa da função fagocitária dos remanescentes esplênicos .....	27
4.6.1 Preparação das soluções que foram administradas nos ratos .....	28
4.6.2 Preparação dos animais para a administração das soluções .....	29
4.7 Eutanásia dos animais e coleta do polo inferior do baço e dos implantes de tecidos esplênicos .....	30
4.8 Análise da captação de radioisótopos pelos tecidos esplênicos .....	35
4.9 Exame histológico e contagem de macrófago .....	36
4.10 Estatística .....	36

<sup>1</sup> Este trabalho foi revisado de acordo com as novas regras ortográficas aprovadas pelo Acordo Ortográfico assinado entre os países que integram a Comunidade de Países de Língua Portuguesa (CPLP), em vigor no Brasil desde 2009. E foi formatado de acordo com a ABNT NBR 14724 de 17.04.2001

5 RESULTADOS	
5.1 Comparação da viabilidade e do peso entre os implantes esplênicos autógenos e polos inferiores do baço .....	36
5.2 Captação do radioisótopo .....	38
5.3 Contagem do número de macrófagos .....	39
5.4 Análise morfológica .....	41
6 DISCUSSÃO .....	44
7 CONCLUSÃO .....	49
8 REFERÊNCIAS .....	50
APÊNDICE 1 .....	56
APÊNDICE 2 .....	57

## RESUMO

O baço é um órgão de grande importância, sobretudo no mecanismo de defesa do organismo, e a sua ausência poderá culminar com sepsis fulminante. A esplenectomia total, portanto, deve ser evitada e pesquisas devem ser realizadas para aumentar as opções na manutenção de tecido esplênico. **Objetivo:** Verificar se existe diferença entre a função fagocitária do polo esplênico inferior remanescente de esplenectomia subtotal e os implantes esplênicos autógenos. **Método:** Foram utilizados 36 ratos *Wistar*, machos, peso  $364 \pm 60$  gramas, submetidos à esplenectomia subtotal com preservação do polo inferior e a implante esplênico autógeno no omento maior. Esses animais foram distribuídos em sete grupos de acordo com a época da eutanásia: G1- eutanásia com um dia pós-operatório(PO) (n=5), G7 - com sete dias PO (n=6), G30 - com 30 dias PO (n=5), G60 - com 60 dias PO (n=5), G90 - com 90 dias PO (n=5), G120 - com 120 dias PO (n=5), G150 - com 150 dias PO (n=5). Na época da eutanásia foram pesados os implantes esplênicos autógenos e o polo inferior. A viabilidade foi avaliada microscopicamente. A função fagocitária foi avaliada por meio da captação esplênica de coloide marcado com radioisótopo e de contagem de macrófagos pelo programa de software Cellprofiler. **Resultados:** A viabilidade do implante esplênico autógeno e do polo inferior do baço foi encontrada em 33 (94,3%) animais, sem diferença entre eles. O peso dos implantes foi maior que o do polo inferior nos animais dos grupos G1, G7, G30, G60 e G120. A função fagocitária dos implantes pela captação do radioisótopo foi maior que a do polo inferior nos grupos G7 e G120 e não diferiu nos demais grupos. O número de macrófagos foi maior no G1, G60, G90 e G120 e não diferiu nos demais grupos. **Conclusão:** Até a 16ª semana a função fagocitária foi mais acentuada nos implantes esplênicos autógenos em comparação com o polo esplênico inferior, mas se tornou semelhante após esse período.

**Palavras-chave:** Baço. Polo inferior. Autoimplantes esplênicos. Função fagocitária. Macrófago.

## ABSTRACT

The spleen is an organ of great importance, especially in the defense mechanism of the body, and its absence may lead to fulminant sepsis. Total splenectomy therefore should be avoided and research should be conducted to increase the options in the maintenance of splenic tissue. **Objective:** Verify if there is difference between the phagocytic function of the lower splenic pole remaining of subtotal splenectomy and autogenous splenic implants. **Methods:** 36 male Wistar rats , weight  $364 \pm 60$  g , underwent subtotal splenectomy preserving the lower pole and autogenous splenic implant into the greater omentum . These animals were divided into seven groups according to the time of euthanasia : euthanasia with a G1 - day postoperative period ( n = 5 ) , G7 - seven days postoperatively ( n = 6 ) , G30 - 30 days PO ( n = 5 ) , G60 - 60 days postoperatively ( n = 5 ) , G90 - with 90 days postoperatively ( n = 5 ) , G120 - 120 days postoperatively ( n = 5 ) , G150 - 150 postoperative days ( n = 5 ) . At the time of euthanasia the autogenous splenic implants and the lower pole were weighed. The feasibility was assessed macroscopically. The phagocytic function was assessed by splenic uptake of radioisotope -labeled colloid and macrophages counted by the Cellprofile software program. **Results:** The viability of the autogenous splenic implants and inferior pole of the spleen was found in 33 ( 94.3 % ) animals , with no difference between them . The weight of the implants was higher than the lower pole in animals in groups G1 , G7 , G30 , G60 and G120 . The phagocytic function of the implants by radioisotope uptake was higher than the lower pole in G7 and G120 groups and did not differ in the other groups . The number of macrophages was higher in G1 , G60 , G90 and G120 and did not differ in the other groups . **Conclusion :** Until the 16th week the phagocytic activity was more pronounced in autogenous splenic implants compared with the lower splenic pole, but became similar thereafter.

**Key words:** Spleen. Lower pole. Splenic autoimplants. Phagocytic function. Macrophage.

# 1 INTRODUÇÃO

Durante muitos anos considerou-se que o baço era um órgão sem importância e que a sua retirada não causaria repercussões maiores. Em decorrência disso, a esplenectomia total era realizada independentemente da gravidade do trauma ou da doença<sup>1</sup>. A ideia de que a retirada do baço era isenta de complicações passou a ser contestada quando se verificou que esse órgão era indispensável ao desempenho de vários mecanismos de defesa do organismo. Em 1952, constatou-se sepse fulminante em cinco crianças submetidas à esplenectomia total por esferocitose.<sup>2</sup> A partir desse trabalho, o risco de infecção pós-esplenectomia tem sido considerado tanto em crianças quanto em adultos. A possibilidade de evento favorável de sepse fulminante após esplenectomia total é de 4% e mortalidade de 1,5%, principalmente nos dois primeiros anos após a operação.<sup>3,4</sup> Esse fato foi constatado, também, em animais de experimentação.<sup>5,6</sup>

O baço atua como filtro imunitário capaz de limpar, a cada minuto, aproximadamente 4% do volume sanguíneo corporal. Ele interfere no metabolismo lipídico, o que foi detectado em seres humanos<sup>7</sup> e em animais de laboratório<sup>8-10</sup>, uma vez que a sua ausência pode associar-se a aterosclerose.<sup>8</sup> O baço atua na produção de linfócitos e monócitos, na fagocitose de partículas estranhas, bactérias, vírus e leucócitos, além de processar fatores séricos, como as opsoninas, que têm a função de estimular a fagocitose.<sup>11,12</sup> Percebe-se, portanto, a importância do baço, principalmente em casos de agressão aguda, como nas infecções.

Após esplenectomia total, as principais modificações na resposta imune do hospedeiro são a diminuição da atividade fagocitária com menos depuração sanguínea de partículas,<sup>13</sup> aumento do número dos leucócitos no sangue periférico,<sup>14</sup> redução da IgM sérica,<sup>15</sup> menor atividade da via alternativa do complemento,<sup>16</sup> e diminuição da formação de substâncias ligadas à ativação dos macrófagos, como a tuftsina e properdina.<sup>16</sup>

Para reduzirem-se as complicações, a esplenectomia total tem sido progressivamente substituída por procedimentos que preservam o tecido esplênico. Atribui-se a Hipócrates a primeira tentativa de tratar um baço gigante,

com a colocação de fungos sobre o abdome. Todavia, quando se menciona tratamento conservador desse órgão, na maioria das vezes significa o acompanhamento sem operação de um traumatismo esplênico. Essa conduta constitui-se em acentuado avanço terapêutico das lesões esplênicas em abdome fechado.<sup>17</sup> A opção pelo tratamento não operatório do trauma esplênico, no entanto, depende do grau da lesão e, principalmente, do equilíbrio hemodinâmico do paciente. Inicialmente, esse tipo de tratamento restringiu-se às crianças, sendo pioneira a experiência de Upadhyaya e Simpson,<sup>18</sup> de Toronto, em 1968. O alto índice de sucesso desse tratamento em crianças incentivou a indicação também para adultos.<sup>19</sup>

Entre as opções do tratamento cirúrgico sem esplenectomia total, a esplenorrafia é a mais empregada. De acordo com Petroianu,<sup>20</sup> essa técnica foi proposta por Zikoff em 1895, sendo divulgada por Dretzka<sup>21</sup> em 1930. A partir daí, as lesões esplênicas que não comprometiam a viabilidade do baço passaram a ser suturadas.<sup>22-26</sup> Outras opções são as oclusões vasculares, tais como clipagem, ligadura e embolização da artéria esplênica.<sup>1,3,27</sup> Esses procedimentos contribuem para estancar o sangramento do baço no trauma de qualquer natureza, além de reduzir a pressão do sistema porta em torno de 25% nos pacientes com hipertensão porta.<sup>28</sup>

Outras opções para preservação do tecido esplênico são as esplenectomias parciais, referidas inicialmente pelos antigos gregos que consideravam o baço como obstáculo ao desempenho dos maratonistas. A primeira operação bem-sucedida de que se tem notícia foi realizada em 1549 por Zaccarelli. Em 1590, Viard teria realizado, com sucesso, a ressecção de parte de um baço exteriorizado através de uma ferida no lado esquerdo do abdome.<sup>29</sup> Em 1910, William Mayo<sup>30</sup> relatou três casos de esplenectomias parciais para tratar lesão traumática, abscesso esplênico e torção do pedículo esplênico. Os três pacientes evoluíram satisfatoriamente e esse autor preconizou que o baço deveria ser preservado quando possível, pois ele deveria ter funções importantes. Em 1959, Campos Christo<sup>31</sup> publicou artigo relevante sobre as ressecções parciais do baço, sem a ligadura dos vasos do pedículo desse órgão. Esse autor se baseou nos estudos de Zapalá<sup>32</sup> e Neder<sup>33</sup> relativos à anatomia segmentar do baço. Depois desses trabalhos, as ressecções parciais do baço receberam grande impulso e suas indicações vêm sendo ampliadas.

Em 1983, Petroianu<sup>34</sup> realizou a esplenectomia subtotal com preservação do polo superior do baço, mantendo-se a irrigação sanguínea exclusivamente pelos vasos esplenogástricos, uma vez que os vasos do pedículo esplênico são ligados. Essa operação tem sido realizada desde 1984, cuja vantagem é a preservação de parte funcional do baço quando for necessário ligar ou remover o pedículo esplênico. Os vasos polares inferiores e o hilo esplênico são laqueados e seccionados, enquanto os vasos esplenogástricos mantêm a vitalidade do polo superior.<sup>35-42</sup>

O baço exerce importantes funções, muitas e ainda desconhecidas, porém, a mais importante é a proteção do organismo contra infecções. O melhor conhecimento do baço e de suas funções tem influenciado o emprego de condutas menos invasivas, com o intuito de preservar o tecido esplênico.<sup>43,44</sup> A esplenectomia subtotal com preservação do polo inferior e os implantes esplênicos autógenos são boas opções para esse propósito. A ideia de implantar segmentos de baço em diferentes locais do abdome não é nova. Seus fundamentos estão na esplenose, que é a implantação natural de tecido esplênico após traumatismo. O termo esplenose foi introduzido na literatura por Buchbinder e Lipkoff (1939).<sup>45,46</sup> Em 1978, Pearson *et al*,<sup>47</sup> detectaram função esplênica em crianças com esplenose após esplenectomia por trauma. Mediante avaliação por cintilografia, esses autores constataram que havia tecido esplênico residual regenerado em 26% a 64% dos pacientes e, nesses casos, não foram encontrados corpúsculos de Howell-Jolly ou hemácias senescentes no sangue periférico, como usualmente ocorre em condições de asplenia.

Existem situações nas quais não se consegue preservar o baço e a esplenectomia total se torna inevitável. Nessas circunstâncias, o implante esplênico autógeno é capaz de manter, pelo menos em parte, as funções esplênicas e com risco mínimo de complicações. Segundo Holdsworth, em 1883, Griffini e Tizzoni realizaram os primeiros implantes esplênicos em cães. Em 1896, Albrech iniciou essa operação em pacientes com traumatismo esplênico, seguido por Schilling em 1907. De acordo com Alves *et al*.<sup>48</sup> Stubenrauch verificou, em 1912, a viabilidade dos implantes em cães após três meses da implantação. Em 1950, Williams<sup>49</sup> observou que os implantes esplênicos autógenos apresentavam a capacidade de fagocitar. No Brasil, no mesmo ano, Sampaio<sup>50</sup> descreveu nódulos vermelhos escuros, de consistência mole, espalhados pelo mesentério,

.ceco, íleo terminal e peritônio durante apendicectomia em paciente esplenectomizado há 10 anos, cuja microscopia diagnosticou tecido esplênico.

Os implantes esplênicos autógenos foram testados em vários locais, mas o omento maior é considerado o local mais apropriado para o implante dos fragmentos de baço, não apenas por sua extensão e riqueza vascular, mas, principalmente, por sua drenagem venosa pertencer ao sistema porta.<sup>45,51-52</sup>

Os dados da literatura são controversos no que se refere ao tempo necessário para que ocorra a regeneração anatômica do implante esplênico autógeno em ratos. Esse tempo varia em torno de oito semanas.<sup>53-54</sup> Após 16 semanas, o tecido esplênico torna-se viável, com características estruturais, imunoarquiteturais e cintilográficas semelhante às de um baço normal.<sup>55</sup> É fundamental que o restabelecimento da função esplênica ocorra precocemente, para proporcionar proteção contra as alterações decorrentes da esplenectomia total. A preocupação com a conservação da imunidade esplênica transformou o implante esplênico autógeno de tecido esplênico de curiosidade experimental em rotina.<sup>56</sup>

Deve ser considerado que, sobretudo no trauma esplênico, o polo superior do baço pode estar inviável e a necessidade de outra opção terapêutica. Preocupados com essa possibilidade, Paulo *et al.*<sup>57</sup> realizaram esplenectomia subtotal em cães com preservação do polo inferior do baço, que se manteve macroscopicamente viável em 86,6% dos casos, mesmo com a ligadura dos vasos esplênicos principais.<sup>9, 57-61</sup>

Na literatura não foram encontrados estudos sobre a função fagocitária do polo inferior remanescente da esplenectomia subtotal, que é a operação conservadora mais recentemente descrita,<sup>57</sup> nem estudos que comparassem esta técnica com os implantes esplênicos autógenos. Essa lacuna motivou a realização do presente estudo.

## **2 OBJETIVO**

Verificar se existe diferença entre a função fagocitária do polo inferior esplênico remanescente de esplenectomia subtotal com os implantes esplênicos autógenos.

### **3 RELEVÂNCIA**

Essa pesquisa poderá mostrar, de acordo com os seus resultados, se a função esplênica é mantida com a esplenectomia subtotal com preservação do polo inferior e com os implantes esplênicos autógenos em caso de precisão, como o trauma esplênico e em algumas afecções do baço, melhorando assim a sobrevida para pacientes que, por algum motivo, ficaram sem esse órgão.

## 4 MÉTODO

Pesquisa experimental, prospectiva, realizada em ratos no laboratório de Experimentação Animal (LEA) do Centro de Pesquisa da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória - ES (EMESCAM). A manipulação dos animais seguiu os “Princípios Éticos da Experimentação Animal” descritos pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL/COBEA). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (nº 205/2012 - CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Brasil (APÊNDICE 1).

### 4.1 Estudo piloto

Foram utilizados dois animais para treinamento da técnica anestésica e dos procedimentos cirúrgicos. O estudo-piloto foi bem-sucedido, o que permitiu o início do estudo definitivo.

### 4.2 Características da amostra e cuidados com os animais

Foram utilizados 36 ratos machos, jovens, da linhagem *Wistar*, provenientes do Biotério de Produção Animal (BPA) do Centro de Pesquisa da EMESCAM, com peso médio de  $364 \pm 60$  gramas e idade entre dois e três meses. Os animais foram alocados em gaiolas apropriadas, devidamente identificados e mantidos em gabinetes Biotério STD 5 (Grupo Vidy - São Paulo, Brasil) em condições adequadas à espécie em estudo. Receberam ração apropriada (Nuvilab CR-1 autoclavável - Nuvital®) e água *ad libitum* em todas as fases do experimento.

### 4.3 Constituição dos grupos de animais

Os animais foram distribuídos em sete grupos de cinco ratos cada, com exceção do G7 que foi constituído por seis animais, de acordo com o número de dias de acompanhamento pós-operatório:

- a) Grupo 1 (G1) - avaliação no primeiro dia pós-operatório;
- b) Grupo 7 (G7) – avaliação no sétimo dia pós-operatório;
- c) Grupo 30 (G30) – avaliação no 30<sup>o</sup> dia pós-operatório;
- d) Grupo 60 (G60) – avaliação no 60<sup>o</sup> dia pós-operatório;
- e) Grupo 90 (G90) - avaliação no 90<sup>o</sup> dia pós-operatório;
- f) Grupo 120 (G120) - avaliação no 120<sup>o</sup> dia pós-operatório;
- g) Grupo 150 (G150) - avaliação no 150<sup>o</sup> dia pós-operatório.

Cada animal foi submetido à esplenectomia subtotal com preservação do polo inferior e implantes do tecido esplênico das porções superior e média do baço (autógenos) pela pesquisadora e no mesmo tempo operatório.

### 4.4 Procedimento anestésico e cirúrgico

Os animais foram pesados (balança eletrônica Filizola ® modelo MF-6 – sensibilidade de 1 g) e anestesiados com cloridrato de cetamina (Vetaset ®, Fort Dodge – Iowa, USA) na dose de 50 mg/kg de peso do animal, associado a cloridrato de xilazina (Kensol ®, König – Avellaneda, Argentina) na dose de 5 mg/kg de peso aplicados via intraperitoneal. Em seguida, os ratos foram imobilizados em mesa cirúrgica sendo realizada tricotomia da parede abdominal e torácica e antissepsia com solução alcoólica de polivinilpirrolidona-iodo a 10%. Os animais foram submetidos aos seguintes procedimentos:

- a) Colocação dos campos operatórios
- b) incisão mediana da pele e tela subcutânea com aproximadamente 2,5 cm de comprimento, que se iniciou 0,5 cm abaixo do processo xifoide;
- c) abertura da linha alba e peritônio;
- d) exploração da cavidade abdominal;

e) mobilização do baço para fora da cavidade abdominal (FIG. 1);

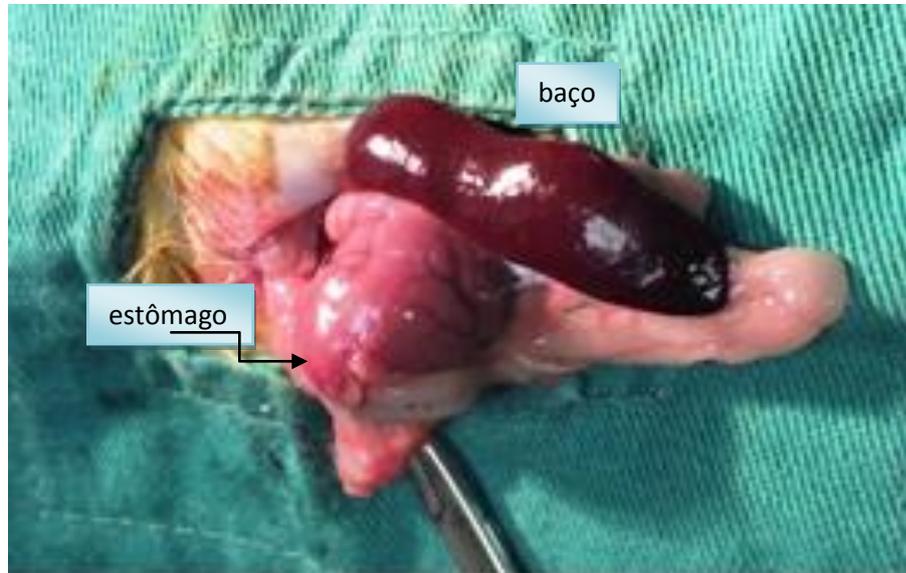


FIGURA 1 - Estômago e baço fora da cavidade abdominal

- e) ligadura e secção dos vasos que irrigavam a porção superior e médio do baço, junto a sua borda, com mononailon 5,0 (Shalon®), Shalon Fios Cirúrgicos Ltda. - Goiás, Brasil);
- f) secção do baço abaixo dos vasos ligados. O polo inferior foi mantido irrigado por vasos do ligamento gastroesplênico, sem sutura ou colocação de omento na borda cruenta, de acordo com a técnica descrita por Paulo *et al.* (1999) (FIG. 2).

Os segmentos esplênicos extirpados foram utilizados para realizar os implantes esplênicos autógenos de acordo com a seguinte técnica:

- a) As porções superior e média do baço foram fatiadas em cinco segmentos medindo 6 mm cada um (FIG. 2);

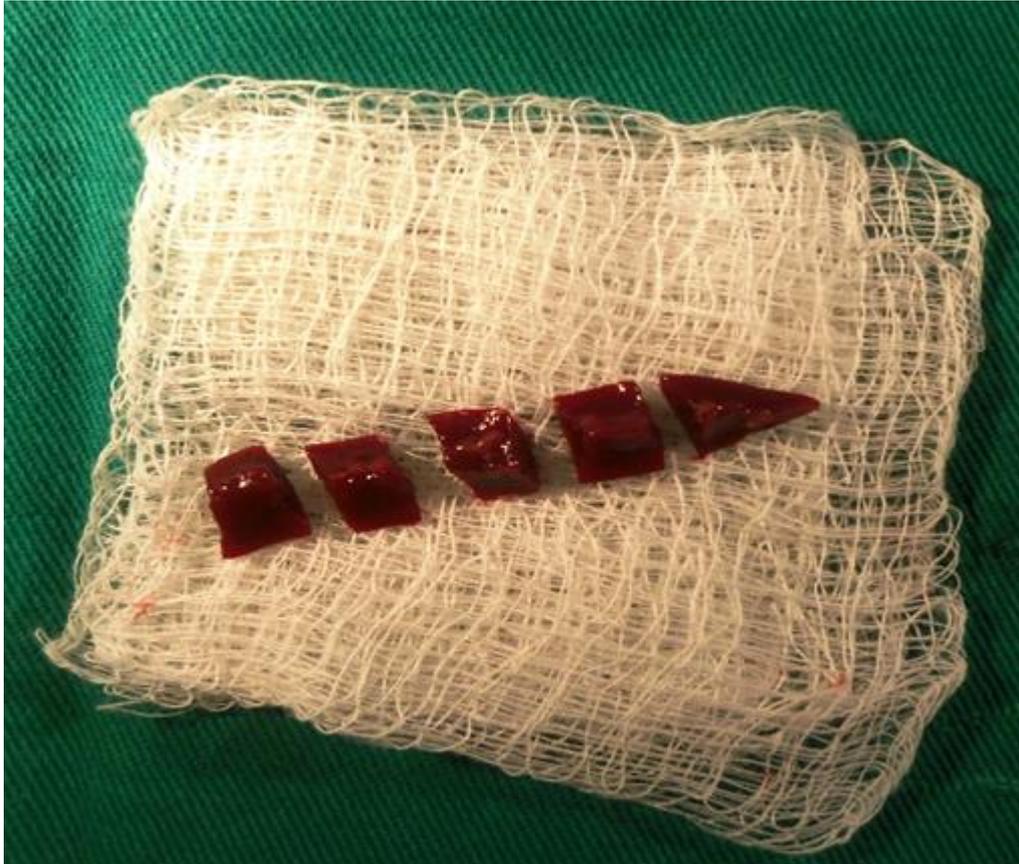


FIGURA 2 - Segmento do baço dividido em cinco fragmentos

- b) o primeiro segmento superior foi enviado para estudo histológico (controle);
- c) os quatro outros segmentos foram suturados ao omento maior com fio de mononilon 5.0 (FIG. 4);

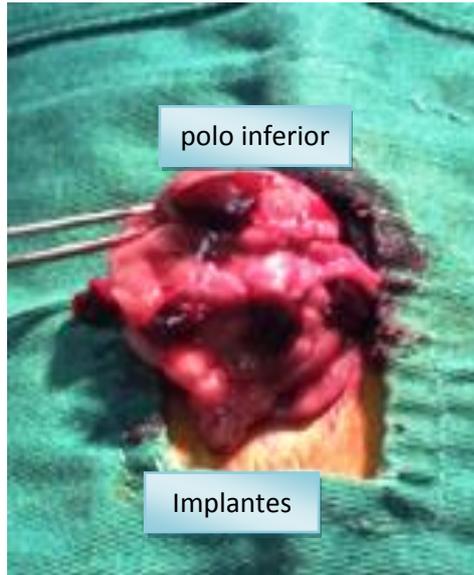


FIGURA 3 - Implantes esplênicos autógenos suturados ao omento maior

- e) laparorráfia por meio de chuleio simples do peritônio e o plano musculoaponeurótico em conjunto e da pele empregando-se mononailon 5.0 (Shalon®, Shalon Fios Cirúrgicos Ltda.).

Ao final da operação foram administrados 5 ml de solução salina 0,9% via subcutânea a cada 24 horas por dois dias, com a finalidade de hidratar os animais.

#### **4.5 Pós-operatório**

Após os procedimentos cirúrgicos, ainda anestesiados os animais foram devolvidos às suas gaiolas de origem. Receberam paracetamol (Tylenol®, Janssen-Cilag - São Paulo, Brasil) dissolvido na água do bebedouro (72 horas) na dose de 200 mg/kg/peso, dieta livre e água à vontade. A evolução dos animais foi registrada em todo o período do pós-operatório.

#### **4.6 Pesquisa da função fagocitária dos remanescentes esplênicos**

As funções fagocitárias do polo inferior remanescente e do implante esplênico autógeno foram verificadas por meio da captação esplênica de fitato de sódio e pela contagem de macrófagos, realizadas após os animais terem sido mortos.

##### **4.6.1 Preparação das soluções que foram administradas nos ratos**

Seguiram-se os passos:

- a) Obtenção do carbono coloidal a partir da tinta nanquim, marca Pelikan, que é constituída por fuligem misturada com goma arábica e perfume;
- b) colocação dessa tinta em um frasco de Becker e posteriormente em estufa a 100°C para secagem, até a completa evaporação da água e até a tinta se tornar uma pasta, o que durou aproximadamente seis horas;
- c) diluição da pasta remanescente na proporção de 50 g/100 mL de água;
- d) o fitato de sódio (produto radioativo) cuja preparação foi realizada no laboratório da clínica de Medicina Nuclear Dr. Alfredo Silverman, permaneceu armazenado dentro da blindagem de chumbo até ser injetado nos animais.

#### 4.6.2 Preparação dos animais para a administração das soluções

A preparação dos animais obedeceu aos seguintes itens:

- a) Imobilização dos animais na mesa cirúrgica após antissepsia com solução alcoólica de polivinilpirrolidona iodo à 10% e colocação dos campos operatórios;
- b) anestesia com cloridrato de cetamina na dose de 50 mg/kg/peso do animal associado a cloridrato de xilazina na dose de 5 mg/kg de peso aplicados via intraperitoneal;
- c) incisão cervical oblíqua à direita com dissecação e cateterismo da veia jugular direita para injeção das soluções dos coloides;
- d) inicialmente, com o auxílio de seringa de 1 mL, foi injetada a solução de carbono coloidal na quantidade de 1 mL/kg de peso (para a contagem dos macrófagos);
- e) após duas horas, realizou-se a injeção de solução de fitato de sódio marcada com 110/MBq/(3mCi) de 99m-tecnécio (99mTc) (para captação esplênica).



FIGURA 4 -Cateter introduzido na veia jugular direita do rato para injeção das soluções de carbono coloidal e fitato de sódio

#### 4.7 Eutanásia dos animais e coleta do polo inferior do baço e dos implantes de tecidos esplênicos

Após o período de uma hora da injeção da solução de fitato de sódio em cada animal, injetou-se pentobarbital (hipnol a 3%) intraperitoneal na dose de 120 m/kg/peso. Quando constatada ausência de respostas aos estímulos, foi injetado cloreto de potássio a 10% na dose de 0,5 mL intracardiaco. Em seguida, foi realizada relaparotomia na mesma incisão e retirados o polo inferior e os implantes esplênicos autógenos para avaliação da função fagocitária por meio da captação esplênica e contagem de macrófagos. Essas estruturas foram fotografadas e pesadas (FIG. 5 e 6).

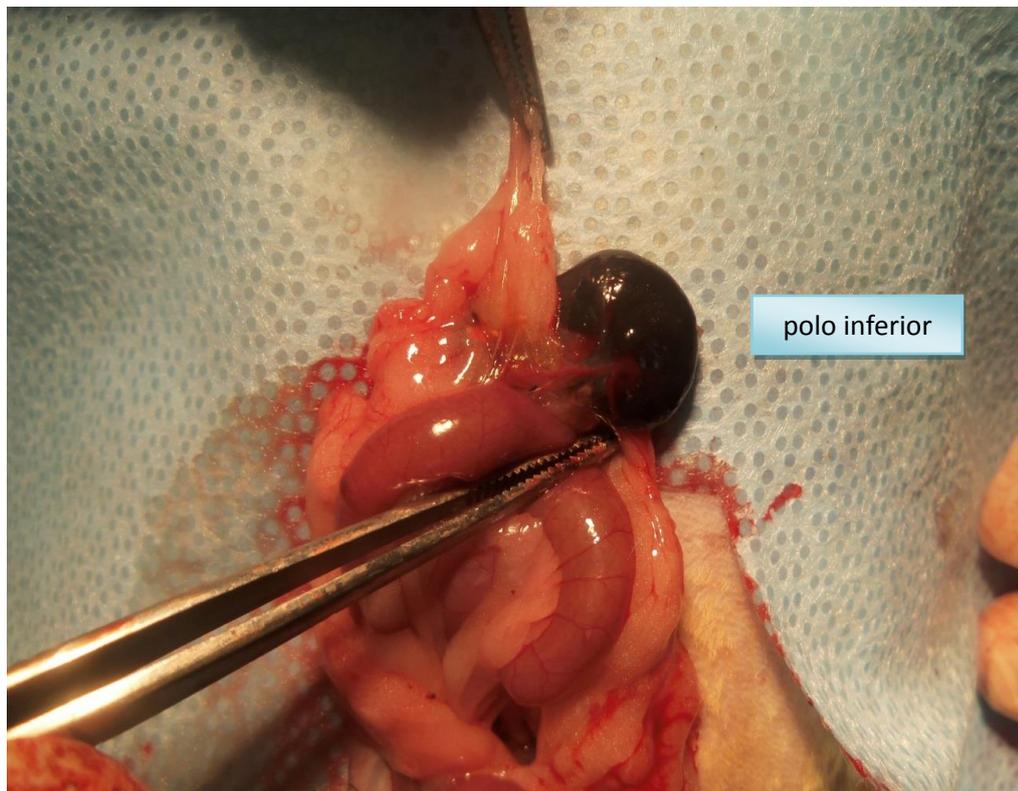


FIGURA 5 - Remanescente esplênico (polo inferior) no grupo 150 dias de pós-operatório



FIGURA 6 - Polo inferior esplênico e implantes esplênicos autógenos do G1 (01 dia)

#### 4.8 Análise da captação de radioisótopos pelos tecidos esplênicos

A captação dos implantes esplênicos autógenos e do polo inferior foi obtida por contador de dose (curiômetro/becquerímetro) modelo CRC 7 (*Radioisotope Calibrator* marca Carpintec). O cálculo de captação foi realizado por meio da contagem da atividade radioisotópica na leitura das amostras. A captação dos implantes esplênicos autógenos de cada animal foi feita dos quatro fragmentos juntos. A captação do polo inferior foi feita isoladamente. Após a contagem da captação de cada animal separadamente, foi comparada a função fagocitária entre os implantes esplênicos autógenos e o polo inferior do mesmo animal.

#### 4.9 Exame histológico e contagem de macrófago

Empregou-se microscópio óptico marca Olympus - sistema de captura de imagens *AxionVision* 4.8 (Zeiss). Os tecidos esplênicos foram processados para exame histológico na sequência: inclusão dos fragmentos esplênicos em parafina; realização de cortes em micrótomo rotativo com 3  $\mu\text{m}$  de espessura, que foram processados e fixados em lâmina de microscópio; coloração das lâminas com hematoxilina e eosina para estudo morfológico e verde-luz para contagem dos macrófagos que continham os pigmentos de carbono coloidal.

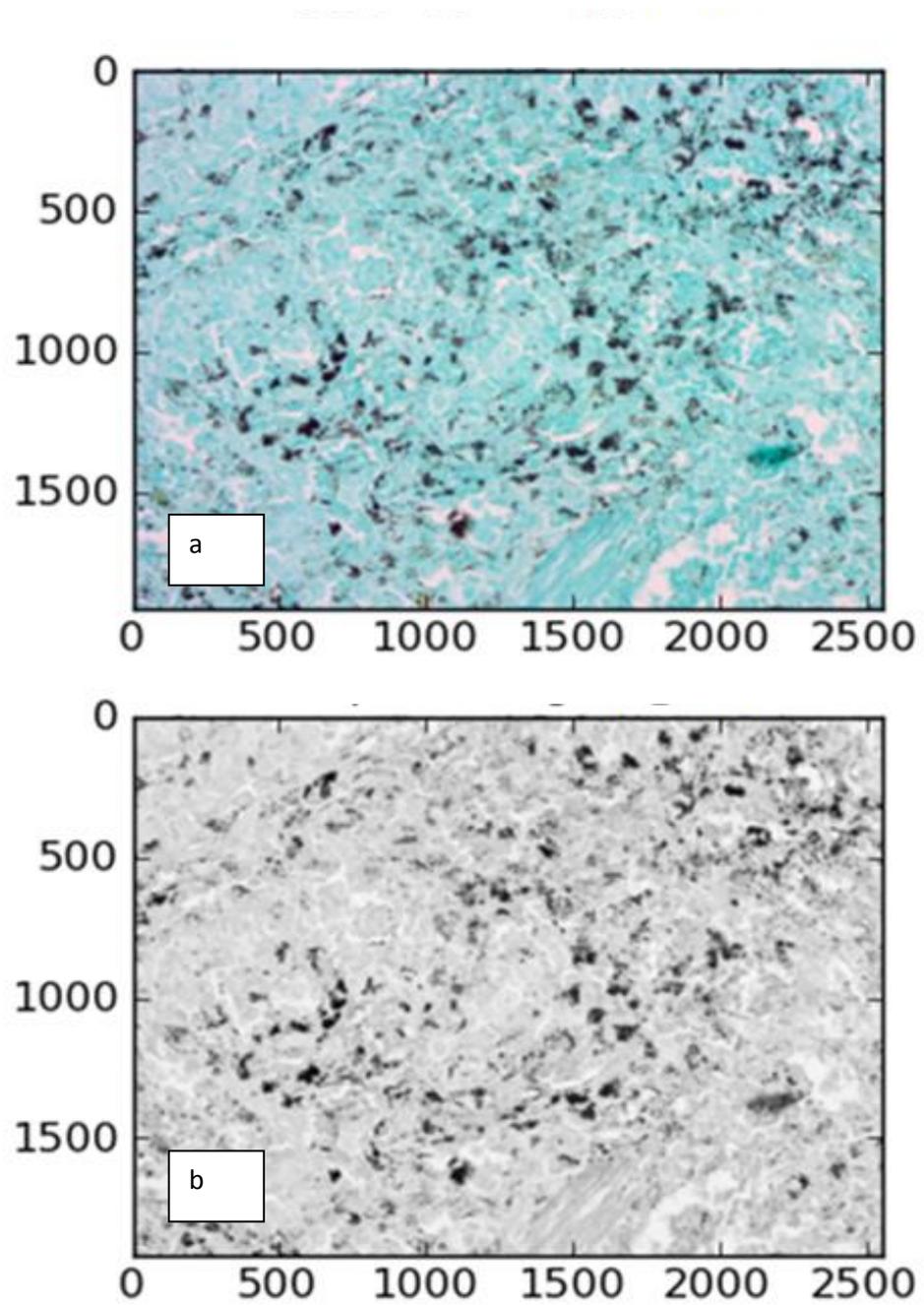
Após selecionados e fotografados 10 campos microscópicos de cada lâmina de cada animal com aumento de 400 vezes, as imagens foram processadas e analisadas pelo programa de software denominado *Cellprofiler*, pelo qual foi identificado o número de macrófagos. O resultado final da contagem dessas células de cada lâmina foi dado pela média da contagem entre as 10 imagens analisadas.

O processo pelo qual a imagem passa até chegar ao produto final é dado pela seguinte sequência:

- **Original image** - é a imagem original obtida de uma fotomicrografia tirada de uma lâmina de histologia esplênica de um rato do grupo 1 (uma das 10 imagens tiradas dos 10 campos microscópicos). Todas as outras imagens foram processadas da mesma maneira (GRÁF. 1a).

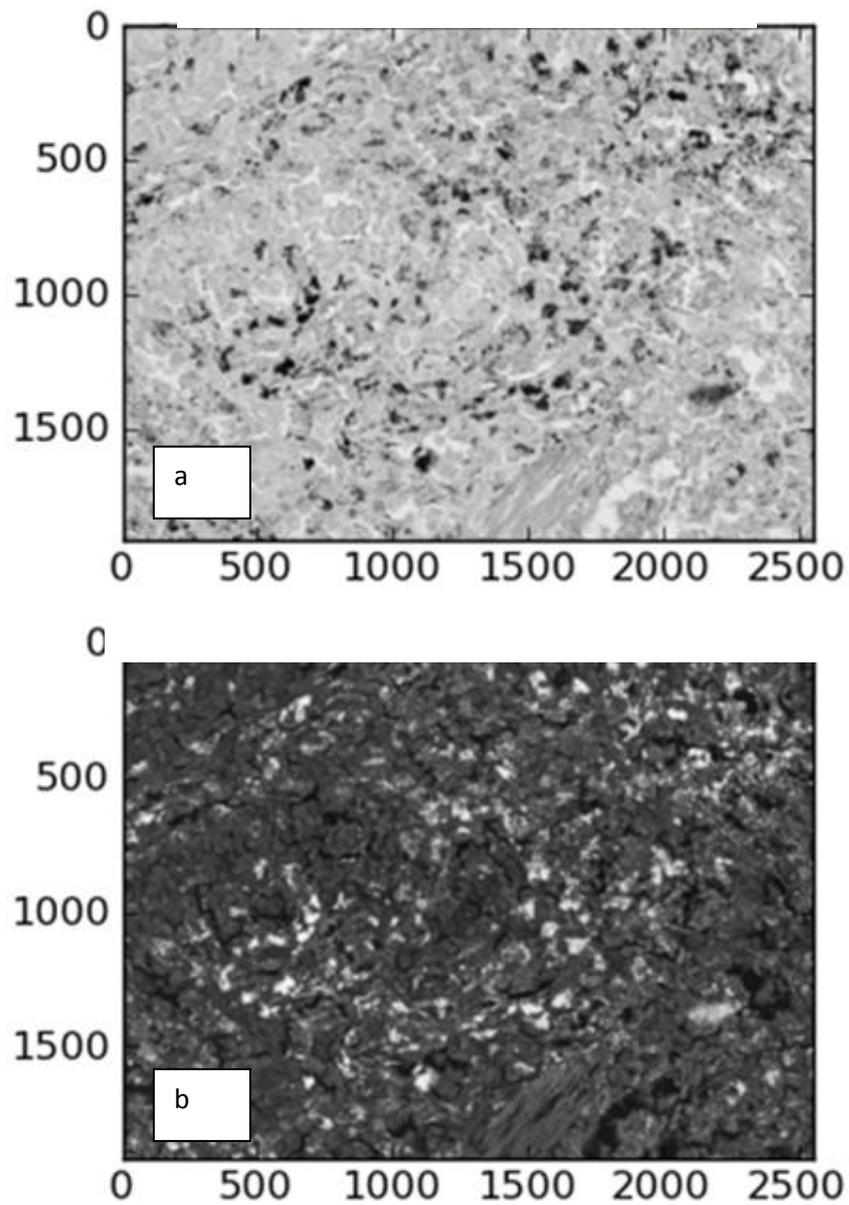
- **Grayscale image** - a mesma imagem transformada em escala de cores no cinza (mudança apenas do fundo da imagem) (GRÁF. 1b).

GRÁFICO 1 – a) *Original image*; b) *Grayscale image*



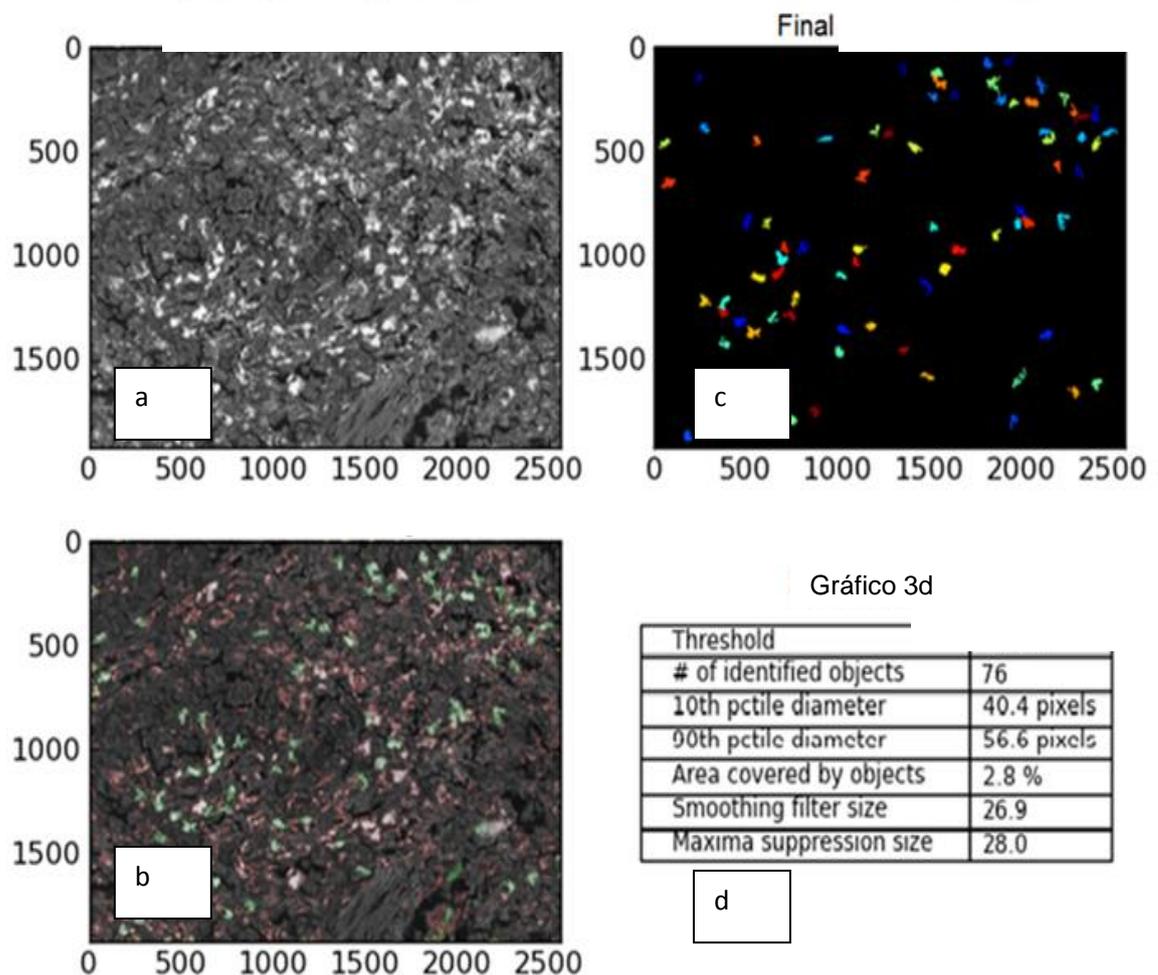
- **Image math** - é a *grayscale image* com inversão de cores (inversão da imagem anterior). Os elementos que antes eram identificáveis na cor preta tornaram-se agora identificáveis na cor branca (GRÁF. 2a; 2b).

GRÁFICO 2 – a) *Grayscale image*; b) *Image math*



- **Final Image** - após a *image math*, a imagem é transformada em escala de cores no verde e rosa, em que os elementos na cor verde são aqueles desejáveis (GRÁF. 3a). A imagem final é vista pelos elementos identificados em colorido, tendo sido contabilizados somente aqueles de interesse na pesquisa proposta, ou seja, os macrófagos (GRÁF. 3b). De acordo com o GRÁF. 3d foram identificados 76 elementos (GRÁF. 3c).

GRÁFICO 3 – a) *Image math*; b) Nuclei outlines; c) Final image; d) 3d



#### 4.10 Estatística

A avaliação estatística iniciou-se pela análise descritiva dos dados, para descrever ou sumarizar os dados do estudo.

A comparação entre os pesos dos implantes esplênicos autógenos e polos inferiores, a captação do radioisótopo tecnésio e contagem do número de macrófagos nos diferentes períodos pré e pós-operatórios foi realizada pelo teste de Mann-Whitney.<sup>62</sup>

Esse teste foi utilizado em dois momentos. No primeiro, foram realizados com todos os grupos em conjunto com o intuito de verificar a existência de diferenças entre as populações sem levar em conta o período. No segundo momento, os testes foram refeitos com os grupos separados, porém levando-se em conta os períodos utilizados na pesquisa.

Em todos os testes foi utilizado o nível alfa de 5% de significância. Assim, foi considerado significativo o valor de  $p \leq 0,05$ . O programa estatístico para realização das análises foi o *International Business Machines (IBM) Statistical Package for Social Sciences (SPSS) Statistics version 19*.

## **5 RESULTADOS**

### **5.1 Comparação da viabilidade e do peso entre os implantes esplênicos autógenos e polos inferiores do baço**

A realização da esplenectomia subtotal com preservação do polo inferior do baço, associado ao implante esplênico autógeno foi exequível em todos os 36 animais, sem complicações. Ocorreu um óbito no pós-operatório de um animal do G60 logo após a injeção do carbono coloidal. O polo inferior do baço e os implantes esplênicos autógenos não foram encontrados durante a segunda laparotomia em um animal do G90 e outro do G30. Dessa forma, em 33 (94,3%) animais, essas estruturas encontravam-se viáveis.

A mediana do peso dos implantes esplênicos autógenos foi maior que a mediana do peso dos polos inferiores na época da retirada desses remanescentes na análise dos grupos em conjunto ( $p=0,003$ ).

Na análise de cada grupo, observa-se que o peso dos implantes esplênicos autógenos foi maior que o dos polos inferiores nos grupos G1, G7, G30, G60 e G120 ( $p < 0,05$ ). Porém, não houve diferença nos grupos G90 e G150 ( $p > 0,05$ ) (TAB. 1).

TABELA 1 - Peso dos implantes esplênicos autógenos e dos polos inferiores esplênicos com os grupos separados (mg)

	N	Peso dos implantes	Pesos dos polos	Valor p*
		esplênicos autógenos:	inferiores	
		Mediana	Mediana	
G1	5	534,0	218	<b>0,009</b>
G7	6	828,0	199	<b>0,009</b>
G30	4	263,0	52	<b>0,009</b>
G60	4	321,5	135	<b>0,029</b>
G90	4	308,5	117,5	0,083
G120	5	355,0	101	<b>0,020</b>
G150	5	292,0	357	0,340

(\*) Teste de Mann-Whitney.

## 5.2 Captação do radioisótopo

Na análise dos grupos em conjunto, a captação do radioisótopo pelos implantes esplênicos autógenos não diferiu da captação dos polos inferiores do baço ( $p=0,350$ ).

Na análise em separado, observa-se que a captação dos radioisótopos pelos implantes esplênicos autógenos foi maior que a captação dos radioisótopos pelos polos inferiores do baço nos grupos G7 e G120 ( $p<0,05$ ). Nos demais grupos não houve diferença na captação ( $p>0,05$ ) (TAB. 2).

TABELA 2 - Captação do radioisótopo pelos implantes esplênicos autógenos e polos inferiores esplênicos com os grupos separados (em mCi)

	N	Captação dos implantes esplênicos autógenos	Captação dos polos inferiores	Valor p*
		Mediana	Mediana	
G1	5	0,40	13,40	0,090
G7	6	5,18	0,68	<b>0,026</b>
G30	4	15,10	1,68	0,080
G60	4	26,05	6,72	0,080
G90	4	15,25	6,16	0,240
G120	5	11,40	6,50	<b>0,010</b>
G150	5	21,00	34,0	0,170

(\*) Teste de Mann-Whitney.

### 5.3 Contagem do número de macrófagos

Na análise dos grupos em conjunto verificou-se que a contagem de macrófagos foi maior nos implantes esplênicos autógenos que no polo inferior do baço ( $p < 0,05$ ).

Na análise por grupo individual observou-se que a contagem do número de macrófagos foi maior nos implantes esplênicos autógenos que no polo inferior do baço nos grupos G1, G60, G90 e G120 ( $p < 0,05$ ). Nos demais grupos a diferença não foi significativa ( $p > 0,05$ ) (TAB.3).

TABELA 3 - Número de macrófagos dos implantes esplênicos autógenos e dos polos inferiores esplênicos com os grupos separados (unidade)

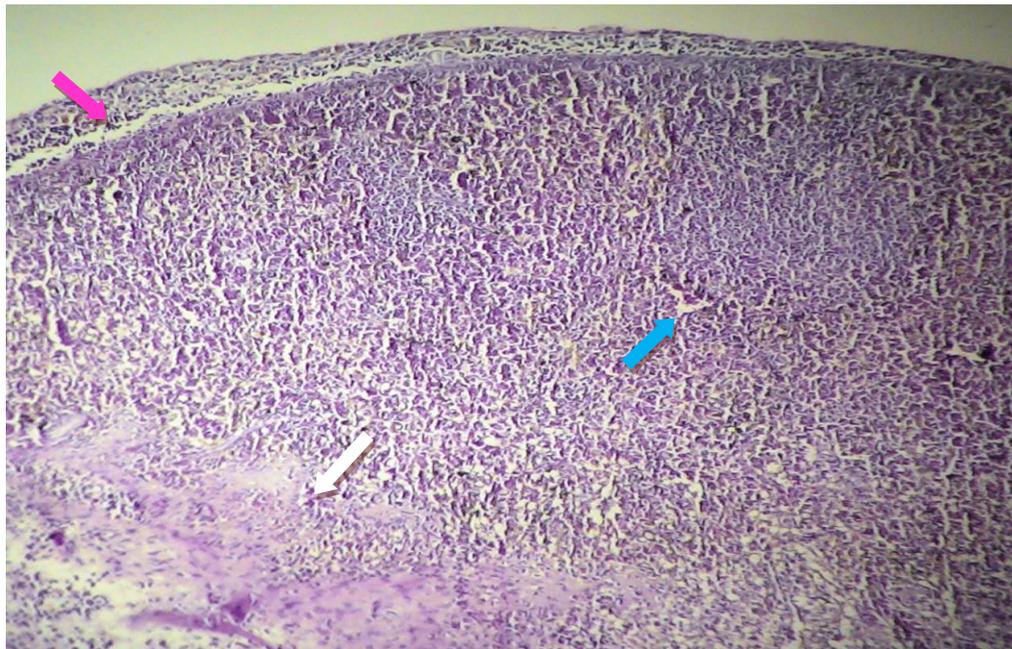
	N	Nº de macrófagos		Valor p*
		Implantes esplênicos autógenos	polos inferiores	
		Mediana	Mediana	
G1	5	803,80	6,70	<b>0,0009</b>
G7	6	74,65	37,60	0,3367
G30	4	29,95	13,05	0,2482
G60	4	122,35	36,10	<b>0,0209</b>
G90	4	186,00	26,25	<b>0,0209</b>
G120	5	111,70	9,90	<b>0,0090</b>
G150	5	130,50	35,20	0,070

(\*) Teste de Mann-Whitney.

#### 5.4 Análise morfológica

A análise morfológica mostrou pequenos focos de necrose, polpas branca e vermelha mantidas e arquitetura preservada (FIG. 7).

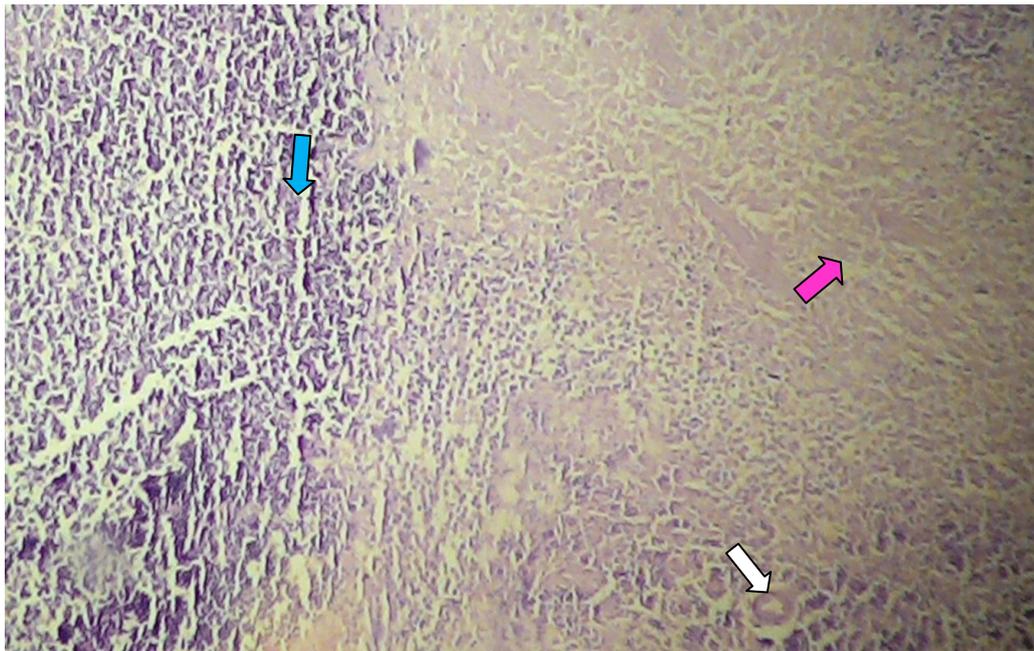
FIGURA 7 - Estudo microscópico de cortes de implante esplênico autólogo de rato do G1



Aumento de 10x. Coloração HE. Presença de áreas de necrose (seta branca) e áreas de morfologia normais (seta azul). Cápsula esplênica preservada (seta rosa).

Os animais dos grupos G7 e G30 apresentaram praticamente as mesmas características. Podem-se observar focos de necrose com intensa fibrose e neoformação vascular (FIG. 8).

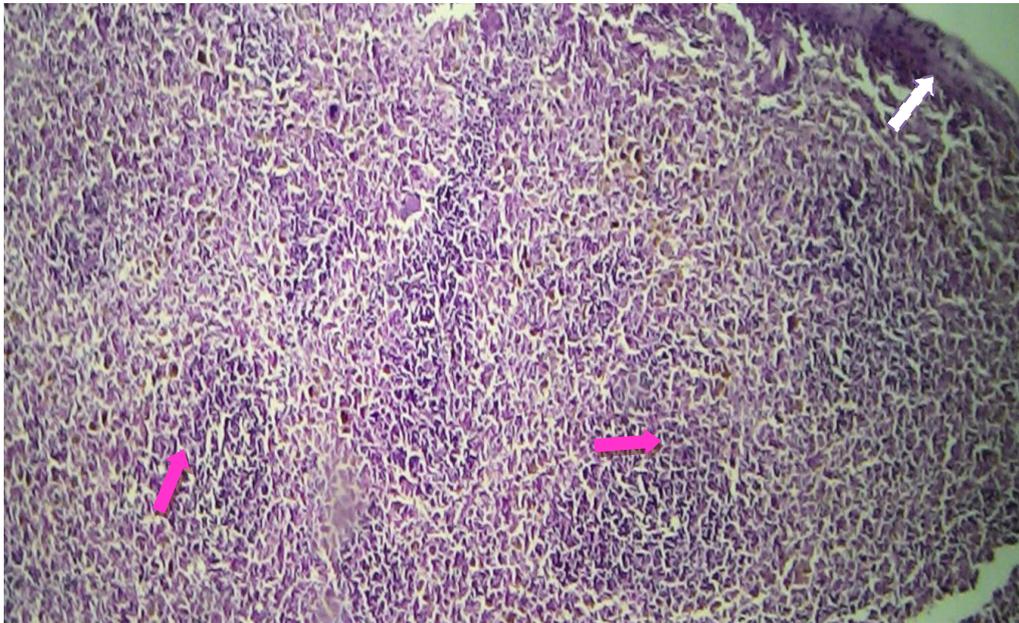
FIGURA 8 - Estudo microscópico de implante esplênico autógeno de animal do grupo G7



Aumento de 20x. Coloração HE. Fibrose (seta azul), necrose (seta rosa) e neoformação vascular (seta branca)

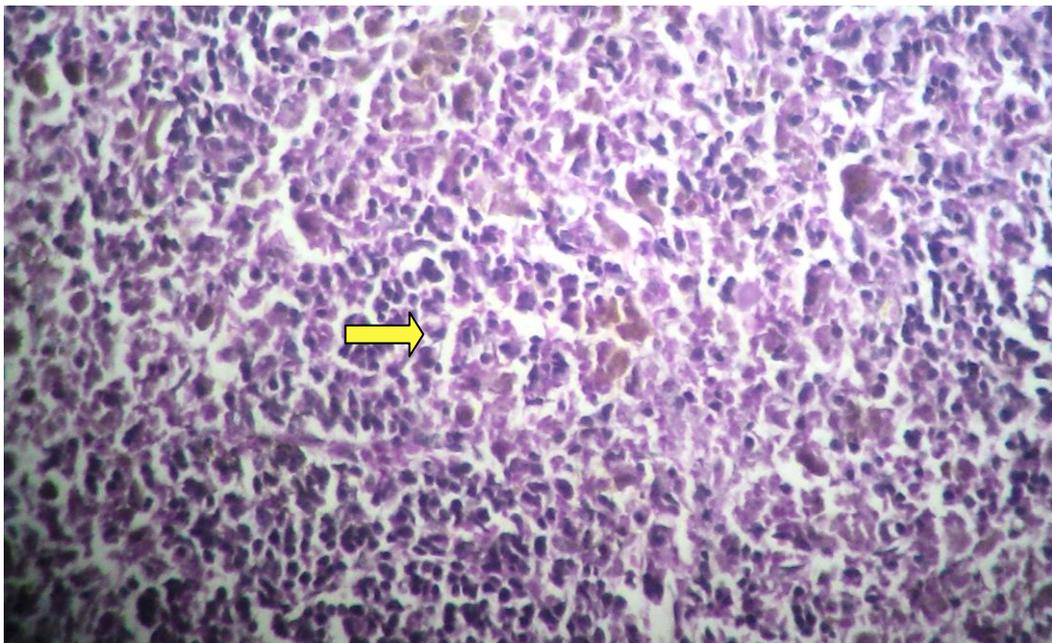
Nos grupos G60, G90, G120 e G150, a morfologia microscópica do implante esplênico autógeno foi considerada normal, pois estão presentes tecido esplênico, com cápsula esplênica (seta branca) e folículos linfóides (seta rosa). (FIG. 9 e 10).

FIGURA 9 - Estudo microscópico de implante esplênico autólogo com morfologia normal (G60)



Aumento de 10x. Coloração HE. Folículos linfóides (seta rosa). Cápsula esplênica (seta branca).

FIGURA 10 - Estudo microscópico de implante esplênico autólogo regenerado (G 60)



Aumento de 40x. Coloração HE. Pigmentos de hemossiderina (seta amarela)

## 6 DISCUSSÃO

Neste trabalho ocorreu um óbito num animal do G60 logo após a injeção do carbono coloidal cuja necropsia não definiu a causa da morte. Provavelmente ela tenha ocorrido pela administração do carbono coloidal, o que deve ter causado embolia, já que o animal apresentou insuficiência respiratória seguida de óbito logo após a administração da substância radioativa. Não foram encontrados o polo inferior do baço e os implantes esplênicos autógenos em um animal do G30 e outro do G90. Em um desses animais foi encontrada massa medindo cerca de 4 cm, íntegra, com cápsula fibrótica contendo restos de material com aspecto infeccioso no local onde se encontravam os implantes esplênicos autógenos e o polo inferior. É provável que essas estruturas tenham sofrido necrose e formado abscesso. No outro animal não foi encontrado a causa provável da ausência das estruturas.

Nesta pesquisa, houve dificuldade moderada para retirada do polo inferior e dos implantes esplênicos autógenos. Em algumas circunstâncias foi difícil encontrá-los, provavelmente devido à redução do tamanho (dependendo do tempo pós-operatório) e com aderências firmes, envolvendo várias vísceras abdominais. Na maioria das vezes, principalmente nos grupos mais tardios, essa dificuldade foi superada.

No fragmento retirado do baço que serviu como controle não foram encontradas anormalidades. Em todos, a arquitetura histológica foi considerada normal.

O G7 contou com um animal a mais por considerarmos o grupo de maior controvérsia em relação ao tempo de recuperação da função fagocitária nos implantes esplênicos autógenos e no polo inferior. Os resultados encontrados neste animal, no entanto, não diferiu dos demais, apenas confirmou o resultado obtido nos outros animais.

O peso dos animais aumentou gradativamente no decorrer do experimento, principalmente nos grupos com o tempo de pós-operatório mais longo. O ganho de peso, provavelmente, ocorreu devido ao crescimento dos animais, uma vez

eram jovens no início do experimento, e o suprimento livre de alimentos e água. Esse dado sugere que a operação não causou malefício à saúde dos animais, sendo portanto, considerado um procedimento com baixo risco de complicações.

Os principais coloides utilizados em Medicina Nuclear são o enxofre coloidal e o fitato de sódio na presença de cloreto estanoso, marcados com  $^{99m}\text{Tc}$ . Optou-se pelo fitato de sódio porque, embora seja mais intensamente captado pelo fígado, possibilita imagens esplênicas de muito boa qualidade, com baixo custo, fácil disponibilidade, além da facilidade na preparação.

Os implantes esplênicos autógenos desempenham papel de grande importância em relação ao sistema de defesa do organismo. Eles produzem imunoglobulinas, fatores de crescimento e outras opsoninas, como a tuftisina e a properdina. Entretanto, o papel que sobressaem no sistema mononuclear fagocitário é o da produção de IgM e de linfócitos B. Os valores das imunoglobulinas e dos fatores de complemento são reduzidos após esplenectomia total. Todavia, ao se realizarem os implantes esplênicos autógenos, constata-se a normalização dos níveis séricos de imunoglobulinas e fatores de complemento.

Sabe-se que o tecido esplênico exerce a sua função em vários locais do organismo em que for implantado. Neste trabalho optou-se por implantá-los no omento maior, cuja vascularização é abundante e a drenagem venosa se faz para a veia porta. O sangue esplênico segue diretamente para o fígado, assim como acontece em condições normais com a drenagem venosa do baço eutópico, o que, de acordo com a literatura, apresenta melhores resultados. Mesmo assim, na ausência do omento pode-se optar pelo mesentério ou mesocólon, cujas drenagens também pertencem ao sistema porta.<sup>63,51</sup>

Outro aspecto de grande relevância para o sucesso dos implantes esplênicos autógenos é a quantidade de tecido esplênico necessária para manter a função esplênica. Estudos revelaram a necessidade de pelo menos 25% do tecido esplênico normal para obter-se a função adequada do baço.<sup>51-52</sup> No presente estudo, os implantes continham massa esplênica superior a 30% da massa esplênica normal de rato.

Apesar da regeneração iniciar-se algumas horas após o implante e a neovascularização poucos dias após o procedimento, parecem ser necessárias oito a 12 semanas para a sua regeneração morfológica e funcional.<sup>53-54</sup>

Neste estudo, a função fagocitária do implante esplênico autógeno se fez mais precocemente que no período relatado por Petroianu (2003)<sup>35</sup>. Esse autor realizou cintilografia e contagem de macrófagos do polo superior do baço e dos implantes esplênicos autógenos de ratos e constatou a capacidade dessas estruturas de remover do organismo as substâncias estranhas, bactérias, principalmente as capsuladas e hemácias senescentes. Observou que no início do experimento houve melhor função fagocitária do polo esplênico superior em comparação aos implantes esplênicos autógenos e, ao final de três meses, não houve diferença entre esses dois tipos de operações.

Nessa pesquisa, o polo inferior apresentou função fagocitária similar aos implantes esplênicos autógenos a partir da décima sexta semana. Na primeira semana de pós-operatório não houve captação do radioisótopo pelos implantes esplênicos autógenos (a captação do radioisótopo com média igual a 0,4 é considerada insignificante), mas no sétimo dia de pós-operatório foram registrados indícios de função fagocitária do implante esplênico autógeno caracterizada tanto pela captação do radioisótopo quanto pela presença de carbono coloidal no interior de seus macrófagos. A captação do radioisótopo nas duas estruturas foi aumentando gradativamente até a data do último grupo (G150).

Esse fato mostra que a função fagocitária requer um período de tempo para se restabelecer totalmente. É importante lembrar que nesse trabalho a massa de tecido esplênico dos implantes esplênicos autógenos foi significativo, maior que a massa do polo inferior do baço. Isso pode explicar, em parte, a melhor função fagocitária desses implantes que a do polo inferior, pois a regeneração da função do baço parece ter relação direta com a massa esplênica implantada.<sup>51</sup> Além disso, os implantes esplênicos autógenos após terem sido suturados no omento foram envolvidos por este, à maneira de um sanduíche. Tal detalhe técnico pode ter contribuído para facilitar a aderência desses fragmentos e, conseqüentemente, a sua melhor função. Porém, quando se analisou a função fagocitária por meio da captação do radioisótopo dos grupos em conjunto não houve diferença significativa entre eles.

A análise da função fagocitária por meio da contagem dos macrófagos, no entanto, mostrou que os implantes esplênicos autógenos apresentaram melhor desempenho. Na análise da captação do radioisótopo nos grupos em separado, nos grupos G1, G30, G60, G90 e G150 a diferença entre os implantes esplênicos

autógenos e o polo inferior não ocorreu. Essa diferença foi observada no G7 e G120, em que a captação pelo implante esplênico autógeno foi significativa. É importante lembrar que nesses dois grupos o peso dos implantes foi maior que o peso do polo inferior.

A análise da função fagocitária por meio da contagem de macrófagos nos sete grupos mostrou elevado número de macrófagos nos implantes esplênicos autógenos. Quando se analisaram os grupos separados, apurou-se que a contagem de macrófagos foi maior nos G1, G60, G90 e G120, nos quais também houve diferença significativa dos pesos dos implantes esplênicos autógenos em relação ao peso do polo inferior do baço. Talvez esse feito possa justificar o resultado anteriormente referido. No grupo de 150 dias não houve diferença na captação do radioisótopo assim como no número de macrófagos entre os implantes esplênicos autógenos e o polo inferior do baço. Deve ser salientado, que nesse grupo também não houve diferença entre o peso dos implantes esplênicos autógenos e do polo inferior, sendo que o polo inferior parece crescer com o passar do tempo e, assim, melhorar a sua função. Em outro estudo foi constatado crescimento do polo inferior.<sup>58</sup>

A contagem do número de macrófagos foi realizada em programa avançado de *software* denominado *Cellprofiler*, lançado em dezembro de 2005 por cientistas do Instituto *Whitehead* e do Instituto de Tecnologia de Massachusetts para pesquisa biomédica.<sup>64</sup> Esse *software* é de uso livre e projetado para que os biólogos sem formação computacional ou de programação pudessem medir quantitativamente os fenótipos de milhares de imagens automaticamente. Ele pode ler e analisar os formatos mais comuns de microscopia. Os biólogos usam o *CellProfiler* tipicamente para identificar objetos (por ex: células, colônias) e, em seguida, medir suas propriedades. Grande variedade de medições pode ser gerada para cada célula ou compartimento subcelular identificados, incluindo a morfologia, intensidade e textura, entre outras. Cada uma dessas etapas é personalizável pelo utilizador para o seu ensaio de imagem única. Este programa foi utilizado nesta pesquisa porque, além de suas propriedades, produz resultados confiáveis a partir de um experimento de grande escala em horas, contra meses de inspeção visual exaustiva.

Após período inicial de necrose, o implante esplênico autógeno é capaz de regenerar-se. A neovascularização origina-se de ramos de artérias circunvizinhas ao local da implantação, no caso de implante omental, provém das artérias gastrointestinais, com drenagem venosa para a veia porta, à semelhança do baço *in situ*, com orientação centrípeta em relação ao implante, iniciando poucos dias após esse procedimento.<sup>53,65</sup>

Ressalta-se que os resultados deste trabalho mostraram que os animais do G1, G7 e G30 apresentaram áreas de necrose e nos animais do G60, G90, G120 e G150 o aspecto morfológico dos implantes esplênicos autógenos foi praticamente normal. Esse fato reforça o conceito de regeneração dos implantes esplênicos autógenos, o que está de acordo com os resultados de outro estudo,<sup>53</sup> no qual a análise histopatológica mostrou arquitetura característica de um baço normal, havendo regeneração morfológica em todos os animais submetidos ao implante esplênico autógeno. Desse modo, não só o polo inferior como também os implantes esplênicos autógenos apresentaram, com o passar do tempo, crescimento com melhora de suas funções.

Os aspectos técnicos relativos ao implante esplênico autógeno têm sido divulgados e a maioria dos autores consideram que este procedimento não se associa a grandes complicações.<sup>66-68</sup> O grau de imunocompetência que esse implante esplênico autógeno pode proporcionar ao hospedeiro, em resposta às bactérias, tem sido alvo de várias pesquisas.<sup>68,65</sup> Esse procedimento tem sido realizado em humanos e os exames laboratoriais e cintilográficos mostraram a recuperação de algumas funções do baço. Em rato, mostrou-se capaz de remover da circulação substâncias coloidais e bacterianas.<sup>35,69</sup>

O implante esplênico autógeno, entretanto, não tem sido amplamente realizado no tratamento das lesões esplênicas traumáticas. Essa conduta deve ser estimulada e novas pesquisas deverão ser realizadas com o intuito de aprimoramento de técnicas menos invasivas para tratamento de afecções do baço, pois quando se conserva parte desse órgão, a função esplênica é mantida e as adversidades da asplenia são prevenidas.

## **7 CONCLUSÃO**

Nesta pesquisa, pôde-se constatar que até a 16ª semana a função fagocitária foi mais acentuada nos implantes esplênicos autógenos em comparação com o polo esplênico inferior, mas se tornou semelhante após esse período.

## 8 REFERÊNCIAS

1. Crosby WH. An historical sketch of splenic function and splenectomy. *Lymphology*. 1983; 16(2):52-5.
2. King H, Shumacker Jr HB. Splenic studies. *Ann Surg*. 1952; 136(2):239-42.
3. Morgenstern L, Shapiro SJ. Techniques of splenic conservation. *Arch Surg*. 1979; 114(4):449-54.
4. Resende V, Petroianu A. Subtotal splenectomy for treatment of severe splenic injuries. *J Trauma*. 1998; 44(5):933-5.
5. Andersson R, Alwmark A, Bengmark S. Outcome of pneumococcal challenge in rats after splenic artery ligation or splenectomy. *Acta Chir Scand*. 1986; 152(1):15-7.
6. Morris DH, Bullock FD. The importance of the spleen in resistance to infection. *Ann Surg*. 1919; 70(5):513-21.
7. Aviram M, Brook JG, Tatarsky J, Levy Y, Carte A. Increased low-density lipoprotein levels after splenectomy: a role for the spleen in cholesterol metabolism in myeloproliferative disorders. *Am J Med Sci*. 1986; 291(1):25-8.
8. Asai K, Kuzuya M, Naito M, Funaki C, Kuzuya F. Effects of splenectomy on serum lipids and experimental atherosclerosis. *Angiology*. 1988; 39(6):497-504.
9. Paulo ICAL, Paulo DNS, Lázaro da Silva A, Foletto RM, Colnago GL, Vargas PM. Níveis de lipídeos plasmáticos em ratos submetidos à esplenectomia total, ligadura simultânea dos vasos esplênicos e a esplenectomia subtotal com preservação do polo inferior. *Rev Col Bras Cir*. 2005; 32(5):229-36.
10. Petroianu A, Veloso DFM, Costa GR, Alberti LR. Efeitos de operações sobre o baço no lipidograma de ratas. *Rev Assoc Med Bras*. 2006; 52(1):56-9.
11. Saba TM. Physiology and physiopathology of the reticuloendotelial system. *Arch Intern Med*. 1970; 126(6):1031-52.
12. Hosea SW, Brown EJ, Hamburger MI, Frank MM. Opsonic requirements for intracellular clearance after splenectomy. *N Engl J Med*. 1981; 304:245-50.
13. Shennib H, Chiu RC, Mulder DS. The effects of splenectomy and splenic implantation on alveolar macrophage function. *J Trauma*. 1983; 23(1):7-12.
14. Balsalobre B, Carbonell-Tatay F. Cellular immunity in splenectomized patients. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 1991; 1(4):235-8.

15. Drew PA, Kiroff GK, Ferrante A, Cohen RC. Alterations in immunoglobulin synthesis by peripheral blood mononuclear cells from splenectomized patients with and without splenic regrowth. *J Immunol.* 1984; 132(1):191-6.
16. Spirer Z, Zakuth V, Diamant S, Mondorf W, Stefanescu T, Stabinsky Y, *et al.* Decreased tuftsin concentrations in patients who have undergone splenectomy. *Br Med J.* 1977; 2(6102):1574-6.
17. Chappell JS. Splenic preservation. *South Afr Med J.* 1984; 65(1):12-4.
18. Upadhyaya P, Simpson JS. Splenic trauma in children. *Surg Gynecol Obstet.* 1968; 126:781-92.
- 19 - Barret J, Sheaff C, Abuabara S, Jonasson O. Splenic preservation in adults after blunt and penetrating trauma. *Am J Surg.* 1983; 145(3):313-7.
20. Petroianu A. Estudo quantitativo da função fagocitária de macrófagos em baços íntegros e em remanescentes de esplenectomia subtotal, em mamíferos. [dissertação]. Ribeirão Preto (SP): Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 1993.
21. Dretzka L. Rupture of the spleen. *Surg Gynec Obst.* 1930; 51:258-61.
22. Feliciano DV, Bitondo CG, Mattox KL, Rumisek JD, Burch JM, Jordan GL Jr. A four-year experience with splenectomy versus splenorrhaphy. *Ann Surg.* 1985; 201(5):568-75.
23. Molin M, Shackford SR. The management of splenic trauma in a trauma system. *Arch Surg.* 1990; 125(7):840-3.
24. Andrade JI, Marson F, Santos SR, Hsien CT, Ceneviva R. Trauma esplênico associado ou não a lesões concomitantes de outros órgãos. *Rev Col Bras Cir.* 1991; 18(1):11-4.
25. Aidonopoulos AP, Papavramidis ST, Goutzamanis GD, Filos GG, Deligiannidis NP, Hanos GM. A simple and safe method for preservation of the injured spleen. *Injury.* 1993; 24(5):300-2.
26. Abrantes WL, Lucena MM, Schlobach MC. Cirurgia conservadora do trauma esplênico na criança. *Rev Ass Med Bras.* 1994; 40(2):113-7.
27. Sclafani SJ, Shaftan GW, Scalea TM, Patterson LA, Kohl L, Kantor A, *et al.* Nonoperative salvage of computed tomography-diagnosed splenic injuries. *J Trauma.* 1995; 39(5):818-27.

28. Nunes TA, Silva AL. Estudo radiológico da anastomose espleno-renal proximal, através da veia gastro-omental direita, em pacientes portadores de hipertensão porta esquistossomótica. GED. Gastroenterologia e Endoscopia Digestiva. 1995; 14:257-258.
29. Sherman R. Perspectives in management of trauma to the spleen. J Trauma. 1980; 20(1):1-13.
30. Mayo WJ. Principles underlying surgery of the spleen. JAMA. 1910; 54:14-8.
31. Campos-Christo M. Esplenectomias parciais regradas. O Hospital. 1959; 56 (4):93-8.
32. Zappalá A. Estudo anatômico da divisão terminal da artéria lienal: zonas arteriais do baço [tese de livre-docência]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina; 1958.
33. Neder AM. Estudo anatômico sobre as zonas venosas lienais e sua drenagem no homem [tese de doutoramento]. Belo Horizonte (MG): Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais; 1958.
34. Petroianu A. Esplenectomia subtotal e anastomose esplenorrenal proximal para o tratamento da hipertensão portal. Rev Bras Cir. 1983; 73(2):101-4.
35. Petroianu A. Avaliação da função fagocitária em remanescentes de esplenectomia subtotal e autoimplant autógeno. Rev Bras Hematol Hemoter. 2003; 25(1):25-30.
36. Petroianu A. Cirurgias conservadoras do baço para tratamento da doença de Gaucher. Rev Bras Hematol Hemoter. 2004; 26(1):13-8.
37. Petroianu A. Cirurgias conservadoras do baço para tratamento da esplenomegalia por mielofibrose. Rev Bras Hematol Hemoter. 2002; 24(4):262-9.
38. Silva RG, Petroianu A, Silva MG, Diniz SOF, Cardoso VN. Influência das operações sobre o baço na distribuição da escherichia coli no sistema mononuclear fagocitário. Rev Col Bras Cir. 2003; 30(1):65-71.
39. Petroianu A. Esplenectomia subtotal preservando o polo superior suprido pelos vasos esplenogástricos. Rev Col Bras Cir. 1994; 21(1):21-6.
40. Petroianu A, Silva KDA. Esplenectomia subtotal para tratamento do hipodesenvolvimento somático e sexual secundário a esplenomegalia. Rev Col Bras Cir. 2002; (29)4:209-12.
41. Petroianu A, Veloso DFM, Costa GR, Alberti LR. Efeitos de operações sobre o baço no lipidograma de ratas. Rev Assoc Med Bras. 2006; 52(1):56-9.

42. Petroianu A, Resende V, Silva RG, Alberti LR. Avaliação tardia de pacientes submetidos à esplenectomia subtotal: avaliação clínica, laboratorial, imaginológica e funcional com preservação do polo superior esplênico. *Einstein* (São Paulo). 2008; 6(3):247-52.
43. Marques RG, Petroianu A, Oliveira MBN, Bernardo Filho M. Importância da preservação de tecido esplênico para a fagocitose bacteriana. *Acta Cir Bras*. 2002; 17(6):388-93.
44. Sumaraju V, Smith SM. Infectious complications in asplenic hosts. *Infect Dis Clin North Am*. 2001; 15(2):551-65.
45. Holdsworth RJ. Regeneration of the spleen and splenic autotransplantation. *Br J Surg*. 1991; 78(3):270-8.
46. Leker JG, Yonehino LR, Davis C. Traumatic rupture of splenosis. *J Trauma*. 1985; 25(6):260-2.
47. Pearson HA, Johnston D, Smith KA, Touloukian RJ. The born-again spleen: return of splenic function after splenectomy of trauma. *N Engl J Med*. 1978; 298(25):1389-92.
48. Alves HJ, Viana G, Magalhães MM, Arantes RM, Coelho PM, Cunha Melo JR. Kinetics of neovascularization of splenic autotransplants in mice. *J Anat*. 1999; 195(3):387-92.
49. Willians RG. The microscopic structure and behavior of spleen autografts in rabbits. *Am J Anat*. 1950; 87 (3):459-503.
50. Sampaio P. Autotransplante de tecido esplênico na cavidade peritoneal. *Rev Col Bras Cir*. 1950; 20:59-62.
51. Linuma H, Okinaga K, Sato S, Tomioka M, Matsumoto K. Optimal site and amount of splenic tissue for autotransplantation. *J Surg Res*. 1992; 53(2):109-116.
52. Marques RG, Petroianu A, Coelho JMCO, Portela MC. Regeneration of splenic autotransplants. *Ann Hematol*. 2002; 81(11):622-6.
53. Tavassoli M, Ratzan RJ, Crosby WH. Studies on regeneration of heterotopic splenic autotransplants. *Blood*. 1973; 41(5):701-9.
54. Van Wyck DB, Witte MH, Witte CL, Thies AC Jr. Critical splenic mass for survival from experimental pneumococemia. *J Surg Res*. 1980; 28(1):14-7.
55. Pister PWT, Patcher HL. Autologous transplantation for splenic trauma. *Ann Surg*. 1994; 219(3):225-35.

56. Resende V, Petroianu A. Funções do remanescente esplênico após esplenectomia subtotal ou autoimplantes esplênicos para tratamento de lesões complexas do baço humano. *Rev Assoc Med Bras.* 2002; 48(1):26-31.
57. Paulo DNS, Lázaro da Silva A, Cintra LC, Bof AM, Santiago DC, Ribeiro GB. Esplenectomia subtotal, em cães, com preservação do polo inferior suprido por vasos do ligamento gastroesplênico. *Rev Col Bras Cir.* 1999; 26(3):147-52.
58. Paulo MSL, Paulo ICAL, Nunes TA, Silva AL da, Cintra LC, Paulo DNS. Effect of hyperbaric oxygen therapy in rats with subtotal splenectomy preserving the inferior pole. *Acta Cir Bras.* 2010; 26(3):156-8.
59. Paulo DNS, Paulo ICAL, Loureiro ER, Fausto EL, Grillo Júnior LSP, Silva AL. Viabilidade do baço de ratos após a ligadura simultânea da artéria e veia esplênica. *Rev Col Bras Cir.* 2005; 32(1):32-5.
60. Paulo DNS, Paulo ICAL, Kalil M, Vargas PM, Lázaro da Silva A, Baptista JFA, *et al.* Subtotal splenectomy preserving the lower pole in rats: technical, morphological and functional aspects. *Acta Cir Bras.* 2006; 21(5):321-7.
61. Paulo ICAL, Paulo DNS, Ferrari TA, Azeredo TCV, Silva AL. O polo inferior do baço de ratos e a oxigenoterapia hiperbárica. *Rev Assoc Med Bras.* 2008, 54(1):77-81.
62. Mann HB, Whitney DR. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *Annals of Mathematical Statistics.* 1947; 18(1):1-164.
63. Weber T, Hanisch E, Baum RP. Late results of heterotopic autotransplantation of splenic tissue into the greater omentum. *World J Surg.* 1998; 22(8):883-9.
64. Disponível em: [www.cellprofiler.org](http://www.cellprofiler.org)
65. Marques RG, Petroianu A. Autoimplante esplênico em rato: Regeneração morfológica e função fagocitária. *Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto, UERJ.* 2002; 1:11-19.
66. Malangoni MA, Evers BM, Peyton JC, Wellhausen SR. Reticuloendothelial clearance and splenic mononuclear cell populations after resection and autotransplantation. *Am J Surg.* 1988; 155(2):298-302.
67. Resende V, Petroianu A. Estudo funcional tardio do auto-implante esplênico após trauma complexo do baço humano. *Rev Col Bras Cir.* 2001; 28(3): 165-70.
68. Moore FA, Moore EE, Moore GE, Millikan JS. Risk of splenic salvage after trauma. Analysis of 200 adults. *Am J Surg.* 1984; 148(6):800-5.

69. Marques RG, Petroianu A, Coelho JMCO, Portela MC. Morfologia e função fagocitária de implante esplênico autógeno regenerado em ratos. *Acta Cir Bras.* 2004; 19(6):642-8.

## APÊNDICE

### APÊNDICE 1 – Parecer ético



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

#### CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo CEUA nº 205/2012**, relativo ao projeto intitulado "**Função fagocitária do pólo esplênico inferior e de implantes esplênicos autógenos em ratos**", que tem como responsável(is) **Tarcizo Afonso Nunes**, 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 **10/10/2012**.

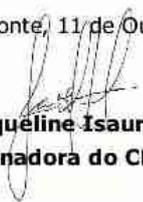
Este certificado expira-se em **10/10/ 2017**.

#### CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol CEUA nº 205/2012**, related to the project entitled "**Phagocytic function of the lower splenic pole and autogenous splenic implants in rats**", under the supervisors of **Tarcizo Afonso Nunes**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **October 10 2012**.

This certificate expires in **October 10, 2017**.

Belo Horizonte, 11 de Outubro de 2012.

  
**Profª. Jacqueline Isaura Alvarez-Leite**  
Coordenadora 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  
[www.ufmg.br/bioetica/cetea](http://www.ufmg.br/bioetica/cetea) - [cetea@prpq.ufmg.br](mailto:cetea@prpq.ufmg.br)

## APÊNDICE 2 - Ficha de anotação dos dados da pesquisa

**Título do Projeto:** Viabilidade e Função Fagocitária do Polo Inferior e de Implantes Esplênicos Autógenos em Ratos.

**Autora:** Andréa Saade Daher Borjaili.

**Orientadores:** Tarcizo Afonso Nunes, Danilo Nagib Salomão Paulo.

**Colaboradores:** Julior Silverman, Brunella Silva Cerqueira e Caroline Ferraz Resende.

### RATO nº1

Identificação: Rato Wistar (macho)

Peso do rato (g):

Data da operação:

Horário da operação:

### Polo superior

	Porção superior do baço (retirada)	Porção superior implantada
Peso (mg)		
Comprimento (mm)		
Largura (mm)		
Espessura (mm)		

### Polo inferior remanescente

Comprimento (mm): \_\_\_\_\_

Largura (mm): \_\_\_\_\_

Espessura (mm): \_\_\_\_\_

### Implante esplênico autógeno

Comprimento (mm): \_\_\_\_\_

Largura (mm): \_\_\_\_\_

Espessura (mm): \_\_\_\_\_

Peso (mg): \_\_\_\_\_

**Polo superior controle**

Comprimento (mm): \_\_\_\_\_

Largura (mm): \_\_\_\_\_

Espessura (mm): \_\_\_\_\_

Peso (mg): \_\_\_\_\_

**Evolução pós-operatória:** Óbito ( ) Sobrevivência ( )

Em caso de óbito, qual foi a causa provável? \_\_\_\_\_ .

**Data da cirurgia do óbito:** \_\_\_\_\_

Peso do rato (mg): \_\_\_\_\_

Horário da operação: \_\_\_\_\_

**Polo inferior remanescente**

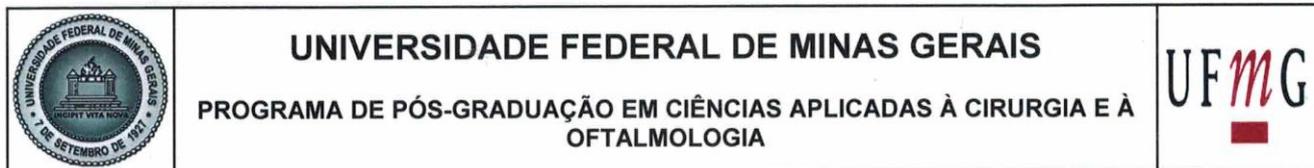
	<b>Polo inferior remanescente</b>
Peso (mg)	
Comprimento (mm)	
Largura (mm)	
Espessura (mm)	

**Implante esplênico autógeno**

	<b>implante</b>
Peso (mg)	
Comprimento (mm)	
Largura (mm)	
Espessura (mm)	

**Resultados**

	Captação radioisótopo	Contagem do número de macrófagos
Polo inferior		
Implante		



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**FUNÇÃO FAGOCITÁRIA DO POLO INFERIOR E DE IMPLANTES ESPLÊNICOS  
AUTÓGENOS EM RATOS.**

**ANDREA SAADE DAHER BORJAILI**

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA, área de concentração RESPOSTA INFLAMATÓRIA À AGRESSÃO

Aprovada em 16 de maio de 2014, pela banca constituída pelos membros:

  
Prof(a). Tarcizo Afonso Nunes - Orientador  
UFMG

  
Prof(a). Danilo Nagib Salomão Paulo  
EMESCAM

  
Prof(a). Andy Petroianu  
UFMG

  
Prof(a). Mitre Kallil  
EMESCAM

Belo Horizonte, 16 de maio de 2014.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À**  
**OFTALMOLOGIA**

**UFMG**  


## ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA **ANDREA SAADE DAHER BORJAILI**

Realizou-se, no dia 16 de maio de 2014, às 13:00 horas, faculdade de medicina - sala 333, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada *Função Fagocitária do Polo Inferior e de Implantes Esplênicos Autógenos em Ratos*, apresentada por ANDREA SAADE DAHER BORJAILI, número de registro 2012658983, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Tarcizo Afonso Nunes - Orientador (UFMG), Prof(a). Danilo Nagib Salomão Paulo (EMESCAM), Prof(a). Andy Petroianu (UFMG), Prof(a). Mitre Kalil (EMESCAM).

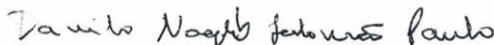
A Comissão considerou a dissertação:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.  
 Belo Horizonte, 16 de maio de 2014.

  
 Prof(a). Tarcizo Afonso Nunes ( Doutor )

  
 Prof(a). Danilo Nagib Salomão Paulo ( Doutor )

  
 Prof(a). Andy Petroianu ( Doutor )

  
 Prof(a). Mitre Kalil ( Doutor )