

Resistência de ratos à peritonite fecal quando submetidos a esplenectomia e auto-implante do baço no retroperitônio¹

Darlan de Medeiros Kerstering²

Armando José d'Acampora³

1. Trabalho realizado no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da UNISUL.

2. Professor da Disciplina de Bases da Clínica Cirúrgica e Cirurgia Experimental da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL)

Mestre em Ciências Médicas pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

3. Professor de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da UFSC. Doutor em Medicina pela UNIFESP-EPM

1 INTRODUÇÃO

A arquitetura esplênica é ideal para o desempenho das duas principais funções do baço: a fagocitose e a produção de anticorpos. O intenso fluxo sanguíneo que circula pelo baço permite aos macrófagos esplênicos filtrarem materiais considerados como estranhos, solúveis ou particulados, da corrente sanguínea e em função da extrema proximidade com grande número de linfócitos desencadeia e amplia a resposta imune a este material filtrado.¹

A polpa esplênica é, convencionalmente, dividida em três áreas: polpa vermelha, polpa branca e uma zona marginal de interface.² A polpa vermelha, é constituída quase totalmente por grandes vasos sanguíneos ramificados e de parede delgada (sinusóides ou seios esplênicos), e por delicadas lâminas ou cordões de tecido celular localizadas entre os seios (cordões esplênicos).³

Nesta rede de cordões residem eritrócitos, plaquetas, alguns granulócitos, além de plasmócitos e macrófagos, estes últimos quase sempre predominantes.

Dentro da polpa vermelha e, circundada por esta, estão pequenas zonas branco-acinzentadas de tecido linfático, constituídas por linfócitos, plasmócitos e macrófagos (polpa branca).

A polpa branca forma nódulos linfáticos e bainhas linfáticas periarteriais. Os nódulos linfáticos esplênicos, da mesma forma que os gânglios linfáticos, contêm centros germinativos. A zona marginal constitui a interface entre as polpas branca e vermelha e trata-se de um espaço vascular mal definido onde terminam muitos vasos arteriais.²

O arranjo anatômico próprio do baço e a falta de uma base fisiológica consistente, torna este órgão um desafio para os pesquisadores sendo considerado por muito tempo um órgão misterioso e sem função e que, sua remoção cirúrgica devido a trauma ou outras doenças, não provocaria dano maior ao paciente^{4,5}, incertezas que foram incrementadas pelas primeiras publicações sobre o assunto, como os estudos de Morris e Bullock, em 1919, quando sugeriram que a ausência do baço poderia estar associada com o aumento da susceptibilidade a infecção.⁶

Alguns anos após, o primeiro relato de infecção pós esplenectomia foi realizado por O'Donnell em 1929(citado por Sumaraju et al.,2001)⁷ o que não levou à diminuição da retirada do órgão, e a esplenectomia total continuou sendo amplamente utilizada como tratamento de escolha para o trauma abdominal com lesão de baço e para os distúrbios hematológicos.

A partir da publicação de King e Shumacker (1952) na qual foram relatados 5 casos de infecção grave (sepsis) em crianças submetidas à esplenectomia por esferocitose sendo que duas delas evoluíram para óbito⁸, é que o baço passou a ter despertada sua importância quanto a conservação do órgão.

A incidência de infecção grave após a esplenectomia por trauma (0,5 a 1,0%) é 58 vezes maior que na população normal e apresenta um índice de mortalidade de 50 a 80 %.^{6,8,9}

O comprometimento da função fagocitária, depressão dos níveis de imunoglobulinas séricas (classe IgM), properdina e linfócitos T, alterações na atividade do complemento e deficiência de tuftsin têm sido observados nestes pacientes.^{10,11} A infecção grave após esplenectomia se caracteriza por ser de início súbito, crescimento bacteriano incomum e exuberante, alta incidência de coagulação intravascular disseminada e morte, ocorrendo dentro de horas do início dos sintomas com uma taxa de mortalidade que atinge 80%.¹¹

O *Streptococcus pneumoniae* é o microorganismo mais freqüentemente isolado nestes processos infecciosos, entretanto, outros germes encapsulados como o *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* e a *Escherichia coli* têm sido observados.^{10,12}

Além do aumento do risco às infecções bacterianas, alterações hematológicas são conseqüentes à falta do baço, como o aparecimento de corpúsculos de Howell-Jolly (hemácias com restos nucleares que antes eram removidos pelo baço). Também costuma ocorrer importante aumento do número de leucócitos e plaquetas, porém sem modificação no tempo médio de vida destes elementos. Isto sugere que o aumento destas cifras seja decorrente de um aumento da produção pois este evento é precedido por uma intensa megacariocitose.¹³

A maneira rápida, com que estes eventos ocorrem no esplenectomizado, sugere um controle distante pelo tecido esplênico.¹⁴

Um grande número de alternativas, principalmente em pacientes politraumatizados, foram propostas para prevenir as complicações relacionadas à ausência total do baço. Em crianças, o tratamento não operatório com controles feitos com exames seriados e tomografia computadorizada, realizando a cirurgia apenas em casos selecionados tem mostrado resultados animadores.¹⁵

Os métodos operatórios de preservação esplênica são os preferidos em traumatismos esplênicos tais como a esplenorrafia, aplicação de agentes hemostáticos, ligadura da artéria esplênica e esplenectomias parciais.^{16,17,18}

Porém quando a esplenectomia é inevitável no manuseio de lesões traumáticas o autotransplante de tecido esplênico tem sido advogado por alguns autores.^{19,20,21}

O autotransplante de tecido esplênico ganhou interesse clínico e as pesquisas foram estimuladas depois que Person et al (1978) documentaram certo grau de função esplênica em crianças com esplenose após esplenectomia por trauma.²⁰

Numerosos estudos versando sobre o autotransplante de fragmentos esplênicos já foram descritos na literatura como alternativa em trauma esplênico quando a preservação é impossível. Entretanto, nem a estrutura nem a função destes fragmentos transplantados foram estudadas satisfatoriamente, principalmente devido ao fato que biópsias ou outras técnicas invasivas em humanos não se justificam para este fim, por questões éticas. Por isso dados de modelos animais se tornam importantes para o entendimento dos mecanismos da regeneração esplênica.²⁰

Manley e Marine em 1917(citados por Petroianu et al.,2002) foram pioneiros no estudo da regeneração de tecido esplênico auto-implantado. Estes autores mostraram que autotransplantes esplênicos no tecido subcutâneo da parede abdominal, em coelhos, resultaram em neobaços com as características morfológicas esplênicas mantidas.²²

Von Stubenrauch (1919) realizou auto-implante de fragmentos esplênicos na cavidade abdominal de cães e verificou viabilidade deste tecido, um a três meses após a implantação.²²

Têm sido amplamente divulgado na literatura os aspectos técnicos relativos ao implante esplênico autólogo heterotópico. De acordo com a maioria dos autores, este procedimento é simples, e não se associa a complicações maiores.²³⁻⁷ Os fragmentos esplênicos têm a capacidade de regeneração, sem a necessidade de anastomose vascular, após um período inicial de necrose.²⁷

Diversos métodos de preparação dos fragmentos esplênicos a serem transplantados já foram descritos, bem como uma grande variedade de regiões topográficas para realizar o autotransplante. No entanto, a maioria dos autores concorda que a massa de tecido a ser implantada, deva ser de aproximadamente 30% do volume original do baço.^{25,26}

Embora tenham sido efetuados diversos estudos com auto-implante esplênico os resultados têm se mostrado bastante controversos tanto em relação a proteção oferecida por estes implantes como em relação ao sítio de implantação.^{21,29,30,31}

Devido a esta contradição de resultados e a escassez de trabalhos avaliando o autotransplante no retroperitônio se idealizou este estudo.

2 OBJETIVO

Avaliar os efeitos do autotransplante esplênico na evolução da sepse abdominal em ratos Wistar jovens e adultos.

3 MÉTODOS

3.1 Amostra

O projeto foi submetido à apreciação e recebeu a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – da comunidade, em extensão com a Universidade Federal de Santa Catarina.

Trata-se de um experimento comparativo, randomizado e controlado.

Foram utilizados um total de 54 ratos Wistar jovens e adultos com idade aproximada de 90 e 180 dias respectivamente, da linhagem WISTAR (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), provenientes do Biotério Central da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL).

Foram submetidos ao experimento após um período de 5 dias para adaptação no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia experimental (TOCE) da Disciplina de Bases da Clínica Cirúrgica e Cirurgia Experimental do Centro de Ciências da Saúde da UNISUL.

Durante toda a investigação os animais foram acondicionados em gaiolas de polietileno de 16 x 40 x 60 centímetros (cm), receberam água e alimentação própria para a espécie, permanecendo acomodados à luz natural e em condições de ruído próprias do ambiente, mantido o ciclo dia/noite controlado.

Os ratos receberam nas 12 horas que antecederam o experimento somente água.

Os animais foram distribuídos em 3 grupos, com 12 a 22 animais por grupo. Para cada animal criou-se uma ficha protocolar (Ver Apêndice 1).

3.1.1 Grupos de animais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos, como está a seguir:

Grupo Sham: (n=12)

Os animais foram submetidos a laparotomia, sem esplenectomia e com manipulação das vísceras. Após 12 semanas os animais foram submetidos a ligadura e perfuração do ceco.

Estes animais foram distribuídos em 2 subgrupos:

Subgrupo 01: (n=6) ratos jovens

Subgrupo 02: (n=6) ratos adultos

Grupo Esplenectomia total: (n=20)

Os animais foram submetidos a laparotomia, com esplenectomia total. Após 12 semanas procedeu-se a perfuração e ligadura do ceco. Estes animais foram distribuídos em 2 subgrupos:

Subgrupo 03: (n=10) ratos jovens

Subgrupo 04: (n=10) ratos adultos

Grupo Autotransplante: (n=22)

Os animais foram submetidos a laparotomia com esplenectomia e o baço foi dividido em 3 fragmentos, sendo utilizado o fragmento medial que foi implantado no retroperitônio. Após 12 semanas procedeu-se a perfuração e ligadura do ceco. Estes animais foram distribuídos em 2 subgrupos:

Subgrupo 05: (n=10) ratos jovens

Subgrupo 06: (n=12) ratos adultos

3.2 PROCEDIMENTOS

3.2.1 Anestésico

Para a realização do ato cirúrgico, os animais foram submetidos a anestesia geral com solução de Cloridrato de Ketamina e Cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4h-1,3-tiazina, nas doses de 90 mg/Kg e 10 mg/Kg, respectivamente, administrada por via intramuscular na face interna da coxa esquerda.

3.2.2 Ato Cirúrgico

Após atingir o plano anestésico, com resposta nula ao estímulo doloroso quando da pressão do coxim adiposo das patas do animal, o mesmo foi posicionado em decúbito dorsal horizontal sobre uma prancha de madeira de 30x35 cm, fixado pelas patas com fita adesiva. A seguir foi realizada a depilação por arrancamento dos pelos da parede anterior do abdômen e antissepsia com álcool iodado a 2%. Colocou-se, então, um pano fenestrado que delimitou o campo operatório.

Utilizando uma tesoura de Metzenbaum, fez-se uma incisão mediana de aproximadamente 4 cm.

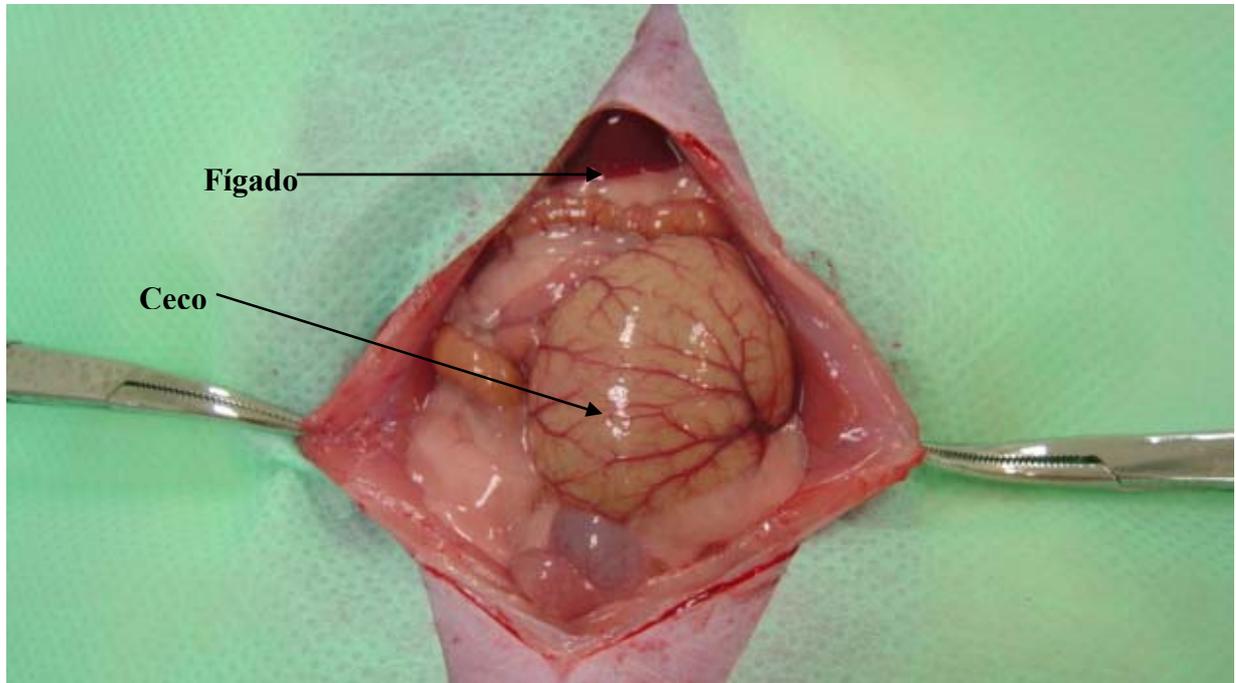


Figura 1. Laparotomia mediana com exposição do conteúdo abdominal

Após inspeção da cavidade, no Grupo Sham, subgrupos 01 e 02 foi procedido a manipulação das alças intestinais e do baço, sendo em seguida fechada a cavidade abdominal em dois planos com fio de nylon monofilamentar 3.0.

No Grupo Esplenectomia, subgrupos 03 e 04, foi realizado esplenectomia total utilizando fio de seda 3.0. para ligadura dos vasos do pedículo. Após revisão da hemostasia a cavidade foi fechada como nos subgrupos anteriores.

No Grupo Autotransplante, subgrupos 05 e 06 foi realizada a esplenectomia total da mesma forma que nos subgrupos 03 e 04 sendo o baço seccionado em 3 partes proporcionais.

A parte medial foi implantada em um bolsa no retroperitônio suturando-se a mesma com polyglactina 910 4.0. A parede abdominal foi fechada como nos subgrupos anteriores.



Figura 2. Aspecto do baço após sua retirada para preparo para o autoimplante.

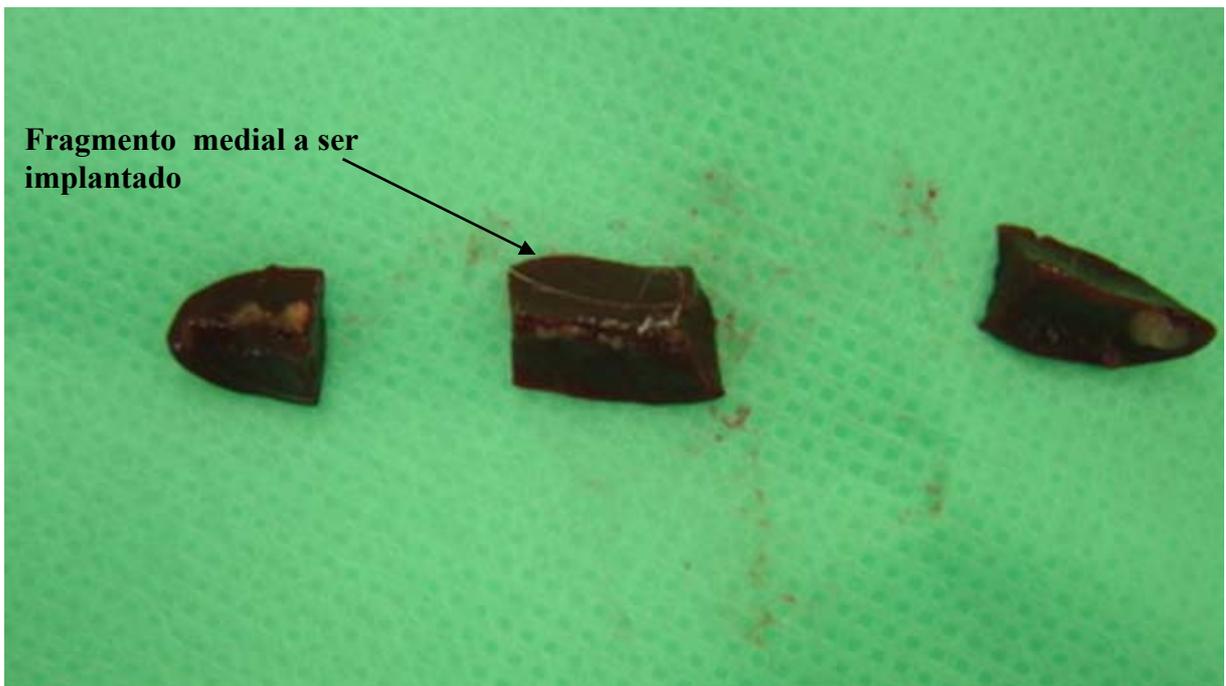


Figura 3. Secção transversal do baço em 3 fragmentos proporcionais para implante do fragmento medial

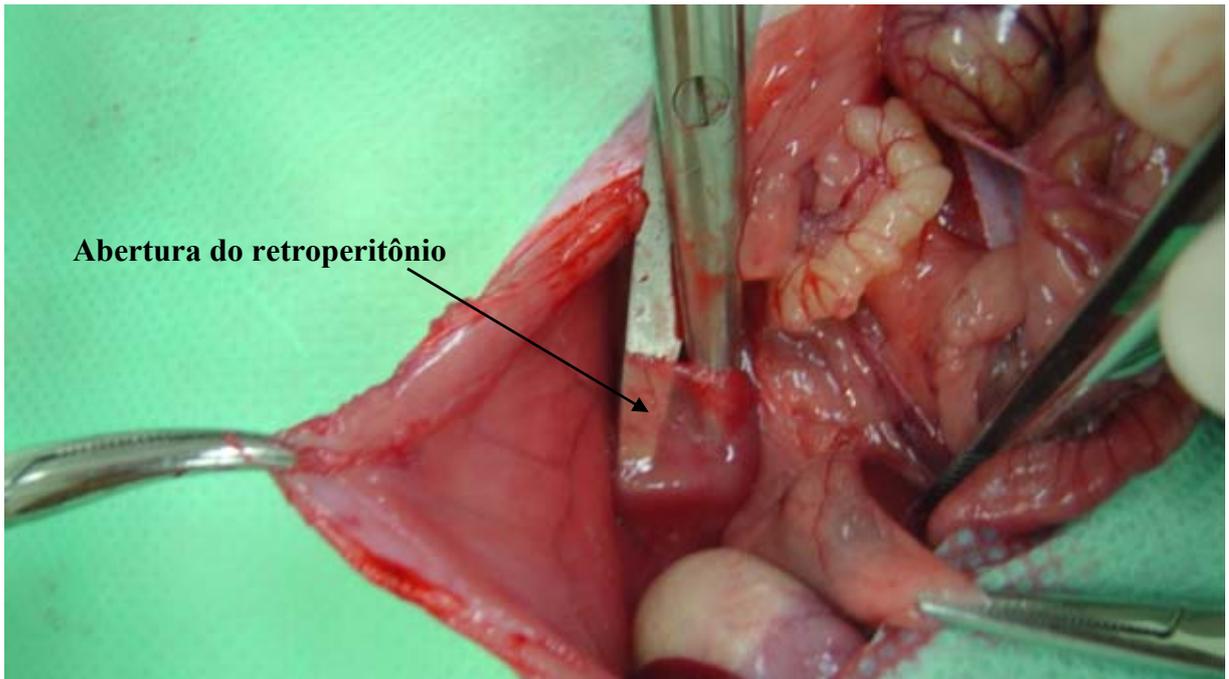


Figura 4. Abertura do retroperitônio para confecção de uma loja onde será implantado o fragmento médio do baço

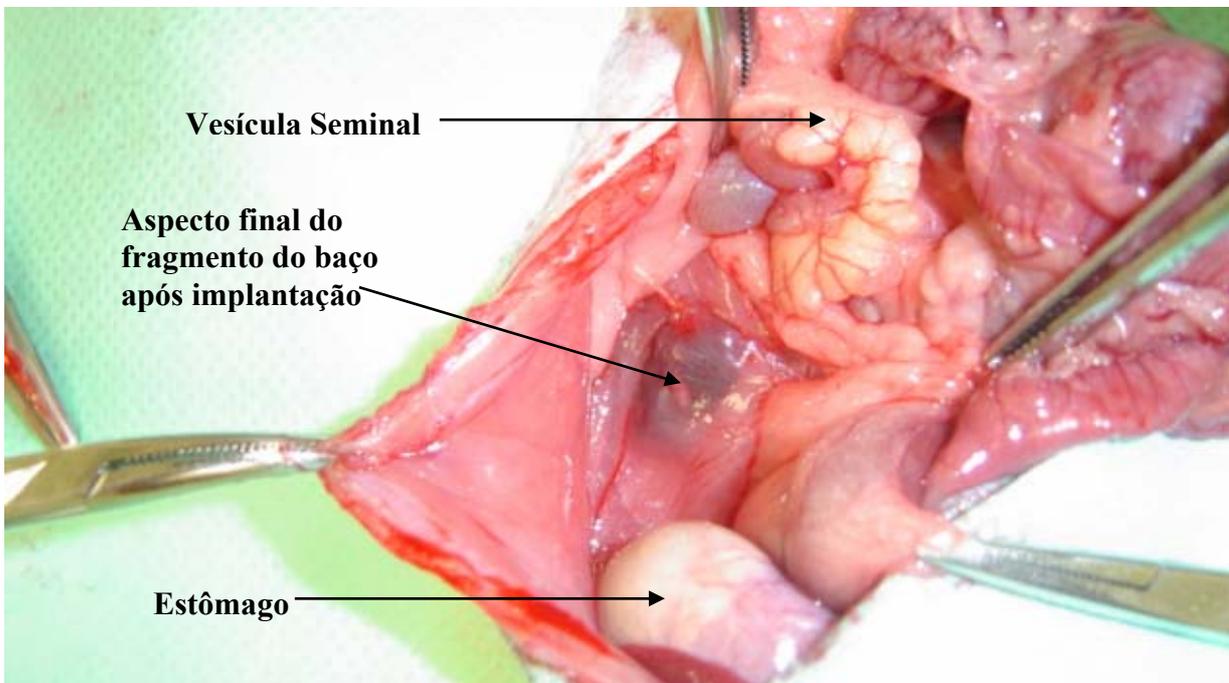


Figura 5. Aspecto final da implantação do fragmento esplênico no retroperitônio.

3.2.3 Indução da peritonite

Decorridas 12 semanas do procedimento inicial os animais eram novamente anestesiados, realizada nova laparotomia procedendo-se então a ligadura e posterior perfuração do ceco para induzir a peritonite, modelo este que foi modificado por d'Acampora(citação verbal) diferindo do originalmente apresentado por Wichterman et al.³², cuja ligadura era ajusante e a perfuração do ceco era realizada com agulha 18G. A cavidade abdominal era novamente fechada com a mesma técnica descrita anteriormente.

Em todos os animais contou-se o tempo decorrido entre a perfuração do ceco e a morte do animal por sepse.

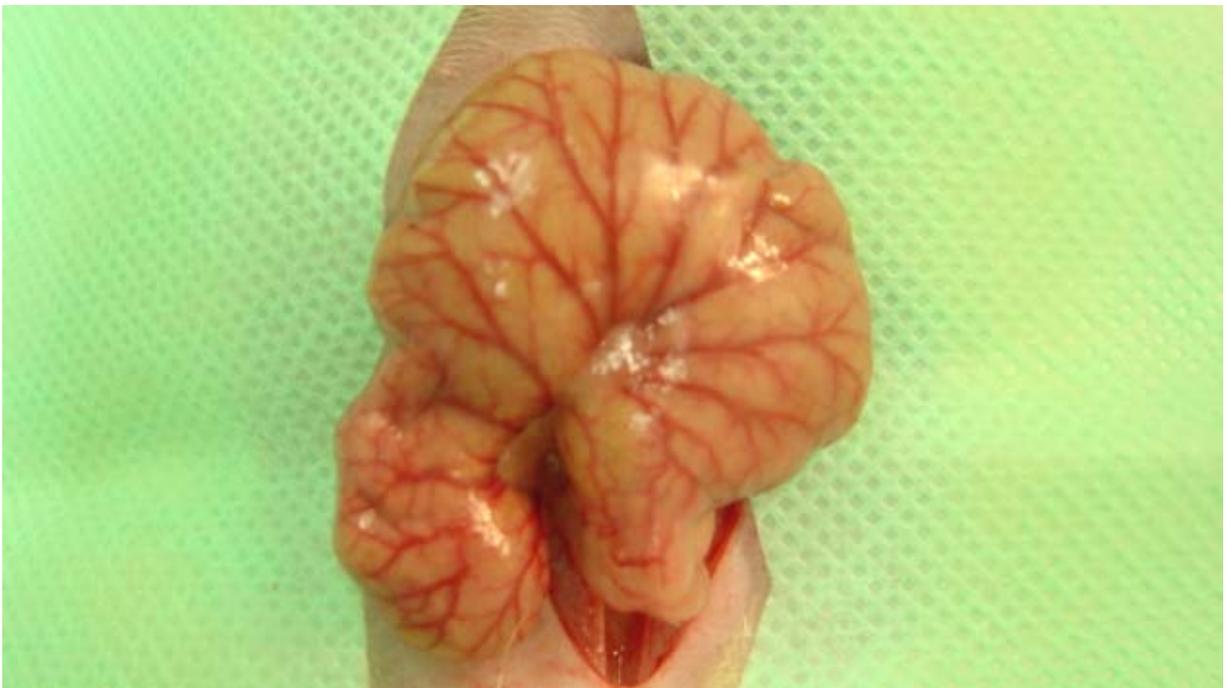


Figura 6. Exposição do ceco após a relaparotomia.

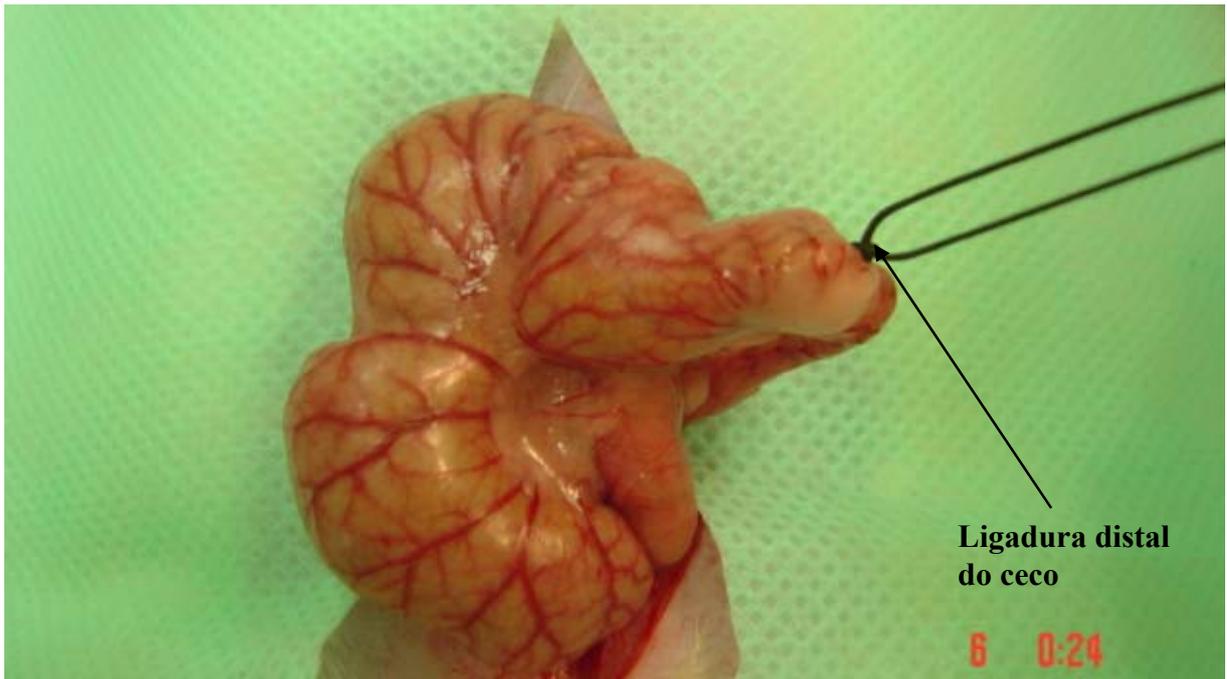


Figura 7. Ligadura distal do ceco com fio de seda 00 para obstrução do trânsito fecal

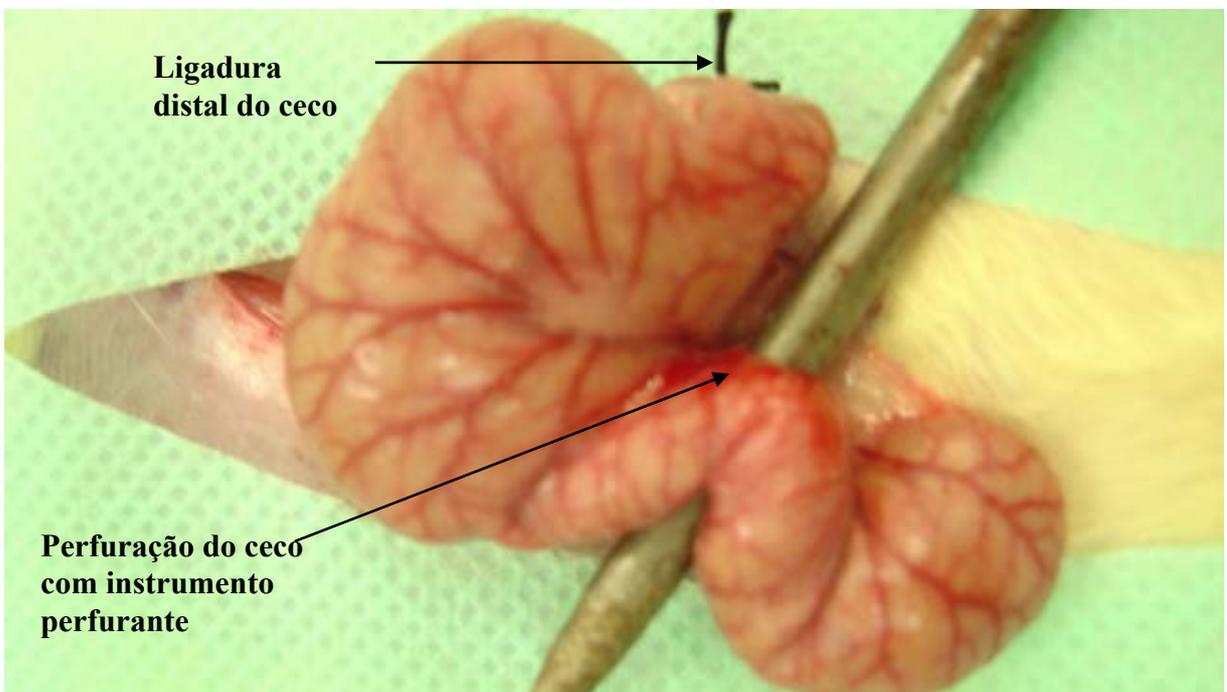


Figura 8 Perfuração do ceco com instrumento perfurante de 3 mm de diâmetro.

3.3 Análise Estatística

Os dados foram analisados com auxílio do programa SPSS-WINDOWS versão 8.0, 1997. Statistical Package for Social Sciences.

Foram calculadas proporções para variáveis categóricas e médias para variáveis contínuas, segundo tipo de cirurgia. Diferenças entre proporções foram testadas através do teste qui-quadrado de Pearson e as diferenças entre médias, através do teste t de Student e da análise de variância.

Os valores de p foram considerados como significantes quando iguais ou menores que 0,05 ou 5%.

4 RESULTADOS

Dos 54 ratos do início do experimento foram analisados um total de 50 animais. Ocorreram 2 óbitos no subgrupo 02, 1 óbito no subgrupo 05 e 1 óbito no subgrupo 03. Estes óbitos ocorreram no pós-operatório imediato do primeiro procedimento cirúrgico antes de completas as 12 semanas onde seria realizada a perfuração e ligadura do ceco e foram descartados.

Tabela 1. Esplenectomia e autotransplante esplênico.

Distribuição dos animais em relação ao procedimento cirúrgico

Procedimento cirúrgico	Número de animais	%
Autoimplante	21	42
Esplenectomia	19	38
Sham	10	20
Total	50	100

Tabela 2. Esplenectomia e autotransplante esplênico.

Distribuição dos animais em relação a idade e procedimento cirúrgico

Procedimento cirúrgico	Idade	Número de animais	%
Autoimplante	Jovem	9	18
	Adulto	12	24
Esplenectomia	Jovem	9	18
	Adulto	10	20
Sham	Jovem	6	12
	Adulto	4	8
Total		50	100

Tabela 3. Estatística descritiva das medidas de tendência central em relação ao tempo de óbito (em horas) de cada grupo após a perfuração e ligadura do ceco

Procedimento cirúrgico	Idade	Número de animais	%	Média	Mediana	Moda
Autoimplante	Jovem	9	18	47,00	30,00	19
	Adulto	12	24	39,83	32,50	21
Esplenectomia	Jovem	9	18	46,67	44,00	44
	Adulto	10	20	48,10	44,00	44
Sham	Jovem	6	12	24,50	19,00	19
	Adulto	4	8	41,00	44,50	19
Total		50	100			

Tabela 4. Esplenectomia e autotransplante esplênico.

Análise estatística comparativa do tempo(em horas) decorrido para o óbito entre os grupos autotransplante e esplenectomia.

Procedimento cirúrgico	Número de animais	%	Média
Autotransplante	21	42	42,90
Esplenectomia	19	38	47,42
Shan	10	20	31,90
Total	50	100	

$p= 0,653$

Tabela 5. Esplenectomia e autotransplante esplênico.

Análise estatística comparativa do tempo decorrido para o óbito nos ratos submetidos ao auto-implante em relação a idade

Idade	Número de animais	%	Média
Jovem	9	42,86	47,00
Adulto	12	57,14	39,83
Total	21	100	

$p=0,925$

5 DISCUSSÃO

O papel do baço no sistema imunológico tem sido objeto de muitos estudos, sabendo-se da sua importância quando é referida a defesa orgânica relacionada à invasão de microorganismos.

O baço tem a capacidade de capturar partículas reconhecidas como estranhas ao organismo e disponibilizar células, como os macrófagos, para que possam fagocitá-las^{33,34}, liberando a economia, por filtração específica, destas partículas.

Para que esta função seja adequadamente exercida, a manutenção da arquitetura esplênica é considerada como essencialmente importante quando da realização dos auto-implantes, no mínimo para que conservem esta função, quiçá a mais nobre do órgão.

Em algumas ocasiões, a função esplênica foi reconhecida como ocorrendo em nódulos de tecido esplênico ectópicos, localizados na cavidade peritoneal (esplenose) podendo este fenômeno ser também induzido por implante esplênico durante cirurgias quando a esplenectomia não pode ser evitada.^{38, 39, 40}

A maior parte dos estudos experimentais realizados com autotransplante esplênico, analisou a resistência dos animais à infecção específica por pneumococos^{23,26,35,41} ou procurou demonstrar a capacidade de captura de partículas anormais marcadas sob radioatividade^{42,43} não tendo sido encontrado estudo que analisasse a resistência à sepse abdominal utilizando-se do mesmo método executado no estudo em tela.

Diversos autores têm demonstrado que os fragmentos de baço podem ser transplantados, e conseguem manter a mesma estrutura do baço original com uma zona marginal funcionante.^{22,24,35,36,37}

A grande e contínua discussão continua sendo em torno do polêmico local privilegiado e definitivo para o implante destes segmentos esplênicos.

Inúmeras tentativas de determinação de uma localização definitiva para o implante do baço foram aventadas, e ainda hoje alguns autores têm tentado fixar uma localização ideal para o auto-implante esplênico, demonstrando que o melhor lugar seria em situação onde o implante permanecesse dentro da cavidade peritoneal, com preferência para o grande omento, de maneira a manter o fragmento envolvido, de alguma forma, com a circulação portal.^{26,27,28,41,43,44,45,46}

Acredita-se, no entanto, que nesta localização, ou seja, no grande omento, ocorram alguns problemas do ponto de vista de investigação, não só anatômico (haja vista a textura do baço ser semelhante à textura do grande omento), quanto fisiológico, onde um implante de um tecido de densidade semelhante, é colocado dentro de uma grande massa de tecido adiposo cuja consistência é de difícil caracterização aos exames de imagem, o que certamente interferirá com estes exames que envolvam imagens ou seguimento de células marcadas.

Macroscopicamente, torna-se difícil a identificação do segmento implantado em uma quantidade apreciável de tecido adiposo frouxo.

Esta constatação demonstra o que é notado em praticamente todos os estudos, onde o seguimento do implante é realizado de maneira clínica, pela melhor ou pior sobrevivência dos animais ou pela intensidade e gravidade da infecção provocada, tendo em vista unicamente a evolução clínica dos animais até a ocorrência do óbito.

Em estudo com tal objetivo, Livingston et al. comparam o autotransplante realizado entre os folhetos do intestino delgado e na tela subcutânea de ratos em relação aos animais esplenectomizados. Após 12 semanas da implantação os animais foram submetidos a inoculação traqueal de *Streptococcus pneumoniae*. Houve melhora significativa da sobrevivência dos animais onde havia sido realizado implante esplênico no mesentério do intestino delgado em relação aos ratos simplesmente esplenectomizados. Entretanto, tal melhora não foi observada quando do implante esplênico foi realizado na tela subcutânea cujos animais apresentaram uma curva de mortalidade muito semelhante ao grupo esplenectomizado.⁴¹

Por outro lado, Likhite conseguiu demonstrar proteção contra sepse, que foi provocada por *Diplococcus pneumoniae*, em ratos submetidos ao autotransplante de baço na tela subcutânea. Em seu experimento os animais esplenectomizados obtiveram uma taxa de mortalidade 4 vezes maior em relação ao grupo em que foi realizado o auto-implante.³¹

Church et al não conseguiram demonstrar melhora da resposta antigênica provocada pelo desafio com injeção intravenosa de hemácias de carneiro em ratos submetidos ao mesmo tipo de auto-implante esplênico (intraperitônioal ou na tela subcutânea).⁴²

Da mesma forma Tang et al., em estudo realizado com autotransplante em coelhos e posteriormente inoculados com 3 espécies diferentes de pneumococos, não demonstraram superioridade na sobrevivência do grupo submetido a auto-implante em relação aos coelhos esplenectomizados.⁴⁷

Recentemente Smith, testando a capacidade fagocítica de baços autotransplantados no mesentério de ratos mostrou que houve falha no restabelecimento desta função intrínseca do órgão em comparação ao grupo controle.⁴⁸

O presente estudo foi iniciado após a observação desta polêmica na literatura consultada quanto à efetividade ou não de ação do tecido esplênico auto-implantado, preferindo-se a utilização de um modelo de sepse já testado no meio, para comparar grupos e tentar viabilizar uma resposta positiva ou não em relação à sobrevivência dos animais com e sem esplenectomia e autotransplante.

A angústia partiu de um evento cuja frequência é considerada absurda e sem qualquer controle, tanto da parte do médico quanto da parte do acidentado: o trauma.

O trauma abdominal leva frequentemente a esplenectomia total, muitas vezes com baço totalmente fragmentado, em indivíduos jovens e saudáveis, até então considerados hígidos, numa época da vida onde é verificado seu maior potencial produtivo, onde a perda completa do órgão poderia trazer algum prejuízo à homeostase, e quem sabe a sua própria sobrevivência quando exposto a determinados tipos de agentes microbianos, resposta ainda sem qualquer solução definitiva na literatura consultada

Procurou-se verificar qual a curva de mortalidade em ratos submetidos a esplenectomia e auto-implante do baço no retroperitônio, assim como se a quantidade de tecido recomendada para o autotransplante – massa crítica – de aproximadamente 25-50% do baço normal^{23,49,50,51}, era factível, utilizando-se como parâmetro para auto-implante após a esplenectomia um segmento do órgão em torno de 40% do volume esplênico total avaliado macroscopicamente.

O retroperitônio foi o local escolhido para o implante, em decorrência de várias situações observadas no projeto piloto e nas controvérsias da literatura.

Primeiramente, em função da facilidade técnica e a possibilidade de fácil acesso ao tecido após sua implantação, devido à sua imobilidade após fixado. Segundo, porque, a fixação do órgão sobre uma superfície muscular, que possibilitaria fácil identificação do mesmo após sua implantação, tanto do ponto de vista macroscópico como quando da necessidade de exame de imagem, onde a textura do baço seria facilmente identificada pelo exuberante contraste com a arquitetura de alta organização do músculo sobre o qual passou a repousar; e por último, a vantagem de ser mantido viável por mecanismo de embebição, sem a necessidade de qualquer anastomose (microanastomose) vascular.

A razão para testar o autotransplante com a peritonite de origem abdominal com modelo de ligadura e perfuração do ceco, foi por sua natureza polimicrobiana, que quando confrontadas com as diversas situações clínicas apresentadas na prática diária que podem levar a possibilidade do implante, e portanto, os ratos esplenectomizados e reimplantados deixariam de estar sujeitos aquelas situações onde poderiam ser mais susceptíveis da ocorrência de infecções numa situação clínica potencialmente real para pacientes humanos, embora, em nenhuma das hipóteses, foi esquecido que não se poderia extrapolar os dados de um experimento em ratos para pacientes humanos.

O trauma ainda é uma das principais causas de esplenectomia e o baço é o órgão mais comumente atingido após trauma contuso, ocorrendo principalmente em adultos jovens.^{45,52}

Embora existam alternativas a esplenectomia, em alguns casos como avulsão total, associação com lesões ameaçadoras da vida e falha da esplenorrafia, a esplenectomia total se faz necessária, cuja decisão e ação sejam executadas de forma muito rápida.⁵³

Como estes pacientes têm uma longa expectativa de vida estariam sujeitos ao desenvolvimento de sepse pós esplenectomia que embora estatisticamente baixa (2-3%) o risco da ocorrência da doença permanece por toda a vida.^{36,54,55,63}

O experimento aqui relatado, não demonstrou superioridade na sobrevivência dos ratos submetidos ao auto-implante no retroperitônio em comparação aos ratos esplenectomizados quando expostos a peritonite.

Deve-se frisar que todos animais do grupo utilizado como sham (sem esplenectomia total sem autotransplante e peritonite) foram aqueles onde o óbito ocorreu mais rapidamente (tabela 3), sugerindo que o baço realmente faça diferença quanto a uma mais intensa resposta inflamatória da sepse, sem que o objetivo fosse esclarecer qual a função responsável por esta diferença. É claro que em virtude do pequeno tamanho da amostra nada de concreto se pode afirmar.

Como nos animais esplenectomizados o óbito ocorreu em um tempo mais longo, embora estatisticamente não significativo, pode-se inferir novamente que a presença do baço realmente tenha função ativa na resposta inflamatória sistêmica.

Alguns autores referem que a possível superioridade dos implantes esplênicos realizados no omento residiria no fato de ocorrer uma rápida neovascularização (em virtude do rico suprimento vascular do omento) e ocorrer drenagem venosa para a circulação portal.^{22,26,56}

Outra vantagem seria a pouca reação fibrosa ocorrida no omento em comparação a tela subcutânea.^{25,57}

É interessante apontar que houve a percepção da viabilidade de todos os segmentos esplênicos implantados no retroperitônio durante este experimento, não havendo quaisquer sinais macroscópicos da presença de necrose detectadas como alteração da coloração habitual, presença de infecção local ou mesmo a ocorrência de processos abscedidos.

O processo de nutrição destes fragmentos implantados no retroperitônio, certamente ocorreu por embebição, o que poderia explicar os resultados dentro da expectativa encontrados com o autotransplante, pois o mesmo se comportaria como um enxerto, com posterior neovascularização possibilitando a viabilidade do mesmo por embebição até a formação dos novos vasos.

De qualquer maneira, houve a verificação histológica durante a execução do projeto piloto da ocorrência de neovascularização precoce na peça que foi recuperada do rato, comprovando a viabilidade do implante por embebição até o aparecimento da neovascularização efetiva.

Quando o baço foi implantado no omento e em outros locais dentro da cavidade peritoneal, os resultados encontrados na literatura mostram-se totalmente controversos, para não dizer contraditórios.

Encontrou-se resultados, em alguns estudos que, aparentemente, têm demonstrado falha do enxerto na pretensa proteção contra sepse pós esplenectomia quando implantados nesta localização.^{42,48,58,59,60,61}

Smith et al. em seu estudo demonstram que o tecido do autotransplante tem uma capacidade fagocítica significativamente menor se comparada ao tecido normal⁴⁸, o que não tentou-se comprovar por estar totalmente fora do objetivo proposto.

Com relação a idade dos animais alguns estudos têm demonstrado um melhor comportamento dos enxertos em animais jovens.

Kovacs et al. em seu estudo demonstrou que o autotransplante em ratos jovens aparecia na cintografia em aproximadamente 50% dos casos, enquanto que nos adultos nenhum foi visto.⁶¹

Willfuhr et al. testaram o autotransplante em ratos recém nascidos (2 dias), jovens e adultos confeccionados no grande omento e submetidos a infecção com pneumococos e observaram que houve proteção apenas nos ratos recém nascidos.³⁵

Pabst et al., concluíram em seus estudos que quanto mais jovem o receptor melhor era a regeneração e perfusão do tecido esplênico.²⁰

Comparativamente aos dados da literatura quanto a este estudo, observou-se uma aparente melhor resposta nos animais jovens, embora não estatisticamente significativa, o que talvez possa ser demonstrado com uma amostra maior.

O que não está claro é o por que os hospedeiros jovens teriam uma melhor resposta, pois do ponto de vista estrutural e de quantidade de tecido os auto-implantes se comportam praticamente da mesma forma em ambos os grupos (jovens e adultos).⁶²

Assim sendo, esta pesquisa abre um leque de perguntas as quais deve-se perseguir soluções a curto e médio prazo, impedindo uma parada em tal linha de conhecimento.

Procuram-se respostas para as perguntas que foram realizadas no início desta pesquisa e todas as outras que surgiram ao longo da mesma, como se fossem estudados alguns dos marcadores de sepse, haveria alguma conclusão que se considerasse como definitiva?

A histologia do implante seria de ajuda imprescindível para a compreensão do fenômeno?

E se fosse estudada a função do implante com radioisótopo?

O fato deste estudo não ter demonstrado melhora da sobrevivência dos ratos submetidos ao auto-implante no retroperitônio, não invalida o estudo, muito pelo contrário, define este local como adequado para a colocação de um implante de baço, deixando em dúvida uma resposta para uma etapa posterior, que seria o estudo por imagem de um órgão parenquimatoso sobre uma estrutura totalmente muscular e que, talvez a aplicação de testes clínicos possam realmente avaliar a função do implante de forma mais objetiva e concretamente mensurável.

Além do local ser, aparentemente adequado, pois mostrou-se totalmente viável, tanto do ponto de vista operatório na inclusão e na retirada, quanto ao acesso, não havendo o desenvolvimento de qualquer complicação visível ou perceptível em qualquer dos animais estudados, esta observação possibilitaria o estudo funcional do implante, pois torna-o de fácil acesso na cavidade abdominal.

Além destas dúvidas, surgem outras, diretamente relacionadas com o estudo, como com uma amostra maior os resultados poderiam ser diferentes? Esta pergunta continua a causar interesse pois na literatura consultada há relatos de que este local é inadequado, porém, não se encontrou nenhum estudo completo sobre este tema com auto-implante no retroperitônio.

Vê-se com isto que este assunto é atual, continua a despertar interesse e ainda carece de muitas respostas para que uma conclusão definitiva seja emitida e possa ser recomendada a utilização do autotransplante em seres humanos independente da localização do mesmo.

6 CONCLUSÕES

O autotransplante de baço no retroperitônio não demonstrou proteção efetiva contra sepse abdominal em comparação aos ratos esplenectomizados neste estudo.

7 REFERÊNCIAS

1. Bohnsack JF, Brown EJ. The role of the spleen in resistance to infection. *Annu Rev Med* 1986; 37: 49-59.
2. Sheldon GF, Croom III RD, Meyer AA. The spleen. In : Sabiston DC, *Textbook of Surgery*. 14 th ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, 1991. cap 36 p. 1108-1133.
3. Petroianu A. *Anatomia Cirúrgica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. cap 67:Baço. P. 470-8.
4. Feliciano DV, Bitondo CG, Mattox KL, et al. A four-year experience with splenectomy versus splenorrhafy. *Ann Surg* 1985; 201: 568-75.
5. Shandling B. Splenectomy for trauma a second look. *Arch Surg* 1976; 111(12):1325-6.
6. Morris DH, Bullock FD. The importance of the spleen in resistance to infection. *Ann Surg* 1919; 70: 513-21.
7. Sumaraju V, Smith LG, Smith SM. Infectious complications in asplenic hosts. *Infect Dis Clin North Am* 2001; 15(2): 551-564.
8. King H, Shumacker HB. Splenic studies susceptibility to infection after splenectomy performed in infancy. *Ann Surg* 1952; 85: 530-3.
9. Torres OJM, Malafaia O, Salazar Rm. Esplenectomia e autotransplante esplênico. *Rev Bras Med* 1993; 50: 1459-63.
10. Balfanz JR, Nesbit ME, Javir C, Krivit W. Overwhelming sepsis following splenectomy for trauma. *J Pediatr* 1976; 88: 458-60.
11. Krivit W. Overhelming postsplenectomy infection. *Am J Hematol* 1977; 2: 193.
12. Torres OJM, Macedo EL, Picciani ERG, Nunes PMS, Costa JVG, Carvalho AB, Lobato PR Jr. Estudo histológico da regeneração esplênica de ratos submetidos a esplenectomia subtotal. *Acta Cir Brás* 2000; 15(2): 1-11.
13. Laufer N, Freund H, Charuzi I, Grover NB. The influence of traumatic esplenectomy on the volume of human platelets. *Surg Gynecol Obstet* 1978;146: 889.
14. Galvão L, Azevedo N. Enxerto autólogo do baço. *Revista do colégio Brasileiro de Cirurgiões* 1980; 7(3): 143-146.
15. Traub AC, Perry JF. Splenic preservation following splenic trauma. *J Trauma*.1982; 22:496-501.
16. Morgenstern L, Shapiro SJ. Techniques of splenic conservation *Arch Surg* 1979; 114: 449-54.
17. Timens W, Leemans R. Splenic autotransplantation and the immune system. *Ann Surg* 1992; 215(3): 256-260.
18. Torres OJM, Malafaia O, Salazar RM. Autotransplante esplênico. *J Bras Med* 1994;67: 176-8.

19. Lannig Nielsen J, Sakso P, Sorensen FH, Hansen HH. Demonstration of splenic functions following splenectomy and autologous spleen implantation. *Acta Chir Scand* 1984;150: 469-73.
20. Pabst R, Westermann J, Rothkotter HJ. Immunoarchitecture of regenerated splenic and lymphonode transplants. *Int Rev Cytol* 1991; 128: 215-260.
21. Holdsworth RJ, Neill GD, Irving AD, Cuschieri A. Blood clearance and tissue distribution of ⁹⁹Tc-labelled pneumococci following splenectomy in rabbits. *Br J Exp Path* 1989; 70: 669-77.
22. Marques RG, Petroianu A. Auto-implante esplênico. *ARS CVRANDI* 2002; 10-18.
23. Iinuma H, Okinaga K, Sato S, Tomioka M, Matsumoto K. Optimal site and amount of splenic tissue for autotransplantation. *J Surg Res* 1992; 53: 109-116.
24. Lemans R, Harms G, Rijkers GT, Timens W. Spleen autotransplantation provides restoration of functional splenic lymphoid compartments and improves the humoral immune response to pneumococcal polysaccharide vaccine. *Clin Exp Immunol* 1999; 117: 596-604.
25. Pabst R, Kamran D. Autotransplantation of splenic tissue. *J Pediatr Surg* 1986; 21: 120-4.
26. Patel JM, Williams JS, Nain JO, Hinshaw JR. The effect of site and technique of splenic tissue reimplantation on pneumococcal clearance from the blood. *J Pediatr Surg* 1986;21: 877-80.
27. Torres OJM, Dietz AV, Lima JB, Loddo G, Salazar RM, Malafaia O. Histological evaluation of the regeneration of splenic autotransplants. Experimental study in rats. *Act Cir Bras* 1994; 9(2): 81-87.
28. Vega A, Howell C, Krasna I, Campos J, Heyman S, Ziegler M. Splenic autotransplantation: optimal functional factors. *J Pediatr Surg* 1981; 16:898-904.
29. Goldthorn JF, Schwartz AD, Swift AJ, Winkelstein JA. Protective effect of residual splenic tissue after subtotal splenectomy. *J Pediatr Surg* 1978; 13: 587-590.
30. Touloukian RJ, Dang CV, Caride VJ. Splenic function following splenic arterialization injury in suckling rat. *J Pediatr Surg* 1978; 13: 131-135.
31. Likhite VV. Protection against fulminant sepsis in splenectomized mice by implantation of autochthonous splenic tissue. *Exp Hematol* 1978; 6: 433-439.
32. Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock – a review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res* 1980; 29: 189 – 201.
33. Drew PA, Clayer MT, Jamieson GG. The value of splenic autotransplantation. *Arch Surg* 1990. 125(9): 1224.
34. Patel J, Williams JJ, Shmigel B, Hinshaw JR. Preservation of splenic function by autotransplantation of traumatized spleen in man. *Surgery* 1981. 90(4): 683-8.
35. Willfuhr KU, Westermann J, Pabst R. Splenic autotransplantation provides protection against fatal sepsis in young but not in old rats. *J Pediatr Surg*, 1992. 27(9): 1207-12.

36. Moore FA, Moore EE, Moore GE, Erdoes L. Five fold enlargement of implants in a splenic autotransplant recipient. *Surgery* 1993; 113: 462-465.
37. Marques RG, Petroianu A, Coelho JM. Bacterial phagocytosis by macrophage of autogenous splenic implant. *Barz J Biol* 2003; 63(3): 491-495.
38. Alvarez, FE, Greco RS. Regeneration of the spleen after ectopic implantation and partial splenectomy. *Arch Surg*, 1980 115(6): 772-5.
39. Greco RS, Alvarez FE. Protection against pneumococcal bacteremia by partial splenectomy. *Surg Gynecol Obstet*, 1981. 152(1): 67-9.
40. 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.
41. Livingston CD, Levine BA, Sirinek KR. Site of splenic autotransplantation affects protection from sepsis. *Am J Surg*, 1983. 146(6): 734-7.
42. Church JA, Mahour GH, Lipsey AI Antibody responses after splenectomy and splenic autoimplantation in rats. *J Surg Res*, 1981. 31(4): 343-6.
43. 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: 715-717.
44. Marques, RG, Petroianu A, Coelho JM, Portela MC. Regeneration of splenic autotransplants. *Ann Hematol*, 2002;81(11): 622-6.
45. Resende V, Petroianu A, Junior WCT. Autotransplantation for treatment of severe splenic lesions. *Em Radiol* 2002; 9: 208-212.
46. Marques RG, Petroianu A, Coelho JMC. Regeneration of phagocytic function after splenic autotransplantation. *Biom Res* 2003; 13(1): 15-18.
47. Tang WH, Wu FL, Huang MK, Friess H. Splenic tissue autotransplantation in rabbits: no restoration of host defense. *Langenbecks Arch Surg* 2003; 387: 379-85.
48. Smith E, De Young NJ, Drew PA. Decreased phagocytic capacity of autotransplanted splenic tissue. *ANZ J Surg* 2003; 73(11): 894-896.
49. Livingston CD, Levine BA, Sirinek KR. Preservation of splenic tissue prevents postsplenectomy pulmonary sepsis following bacterial challenge. *J Surg Res*, 1982. 33(4): 356-61.
50. Van Wyck DB, Witte MH, Wite CL, Thies AC Jr. Critical splenic mass for survival from experimental pneumococemia. *J Surg Res*, 1980. 28(1): 14-7.
51. Corazza GR, Tarozzi C, Vaira D, Frisoni M, Gasbarrini G. Return of splenic function after splenectomy: how much tissue is needed? *Br Med J (Clin Res Ed)*, 1984. 289(6449): 861-4.
52. Powell M, Courcoulas A, Gardner M, Lynch J, Harbrecht BG, Udekwu AO, Billiar TR, Federle M, Ferris J, Meza MP, Peitzman AB. Management of blunt splenic trauma: Significant differences between adults and children. *J Trauma* 1997; 122(4): 654-660.

53. Hunt JP, Lentz CW, Cairns BA, Ramadan FM, Smith DL, Rutlege R, Meyer AA, Fakhry SM. Management and outcome of splenic injury: The results of a five-year statewide population-based study. *Am Surg* 1996; 62: 911-917.
54. Dickerman JD. Traumatic asplenia in adults: a defined hazard. *Arch Surg* 1981; 116:361-363.
55. Downey EC, Shackford SR, Fridlund PH, Ninnemann JL. Long-term depressed immune function in patients splenectomized for trauma. *J trauma* 1987; 27: 661-663.
56. Torres OJM, Salazar RM, Malafaia O. Autotransplante esplênico. *Técnica cirúrgica. JBM* 67(3): 176-178.
57. Thalhamer J, Leitner W, Kurz ME, Liaunigg A, Seifriedsberger M, Bergmann EJ, Kaindl H, Pimpl VVI. Immunoarchitecture and specific functions of splenic autotransplants at different implantation sites. *Eur Surg Res* 1992; 24: 22-36.
58. Rice HM, James PD. Ectopic splenic tissue failed to prevent fatal pneumococcal septicemia after splenectomy for trauma. *Lancet* 1980; 1: 565-566.
59. Moore GE, Stevens RE, Moore EE, Aragon GE. Failure of splenic implants to protect against fatal postsplenectomy infection. *Am J Surg* 1983; 146: 413-414.
60. Westermann J, Pabst R. Autotransplantation of splenic fragments: lymphocyte subsets in blood, lymph nodes and splenic tissue. *Clin Exp Immunol* 1986; 132: 191-196.
61. Kovacs K, Caride V, Touloukian RJ. Regeneration of splenic autotransplants in suckling and adult rats. *Arch Surg* 1981; 116: 335-336.
62. Westermann J, Willfuhr KU, Pabst R. Influence of donor and host age on the regeneration and blood flow of splenic transplants. *J Pediatr Surg* 1988; 43: 394-397.
63. O'Neal BJ, McDonald JC. The risk of sepsis in the asplenic adult. *Ann Surg* 1981; 194: 755-762.

FONTES ADOTADAS

1. Normas para elaboração de Dissertação do Curso de Mestrado em Ciências Médicas Universidade Federal de Santa Catarina. Centro de Ciências da Saúde. Mestrado em Ciências Médicas.
2. Normas do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (Vancouver)
3. d'Acampora AJ. Investigação experimental. Do planejamento a redação final. 1^a. ed. Florianópolis, Papa Livros, 2001. 81p.
4. Caldas Aulete. Dicionário contemporâneo da Língua Portuguesa. 5 ed. Rio de Janeiro: Delta; 1964.
5. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 01/88: normas de pesquisa em saúde. Bioética; 1995; 3:137-54.
6. DeCS - Descritores em Ciências da Saúde. 3.ed. São Paulo: Bireme; 1996. 1146p.
7. Ferreira LM, Goldenberg S, Nahas FX, Ely PB. Orientação normativa para elaboração e apresentação de teses. São Paulo: CEDCP; 2003. 53p.
8. Houaiss A, Villar MS. Dicionário Houaiss da Língua Portuguesa. Rio de Janeiro: Objetiva; 2001. 2925p.
9. International Committee of Medical Journal Editors - Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Sample References [online]. Bethesda: National Library of Medicine; 2003 [updated 2003 Jul 9; cited 2004 Oct 13]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html
10. International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature - Nomina anatomica veterinaria. 3.ed. New York: Ithaca, 1983. 216p.
11. International Index of Laboratory Animals. Festing MFW(comp.). 6.ed. England, 1993.
12. International Serials Data System and International Organization for Standardization - Liste d' abreviations de mots des titres de publications en série: conforme a ISO 4-1984/ List of serial title word abbreviation in accordance with ISO 4-1984. Paris: ISDS/ISSO; 1985. 215p.
13. Laudelino Freire. Grande e novíssimo dicionário da Língua Portuguesa. Rio de Janeiro, São Paulo, Belo Horizonte, Recife e Porto Alegre: Livraria José Olympio; 1954.

14. Luft C. Novo guia ortográfico: sistematização prática e didática das normas ortográficas vigentes, com riqueza de exemplificação e copioso vocabulário. 28. ed. São Paulo: Globo; 1998. 156p.
15. Oliveira E, Bernd ME. Escreva certo. Porto Alegre: L&PM; 2002. 141p.

ANEXO

CERTIFICADO DE CREDENCIAMENTO JUNTO A COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAL(CEUA)/UFSC.

APÊNDICE

APÊNDICE 1**ESPLENECTOMIA E AUTO-IPLANTE****FICHA PROTOCOLAR**

Data:

Número animal:

Idade:

Procedimento cirúrgico:

Ligadura e perfuração do ceco(Data e hora):

Óbito(data e hora):

Total de horas até o óbito:

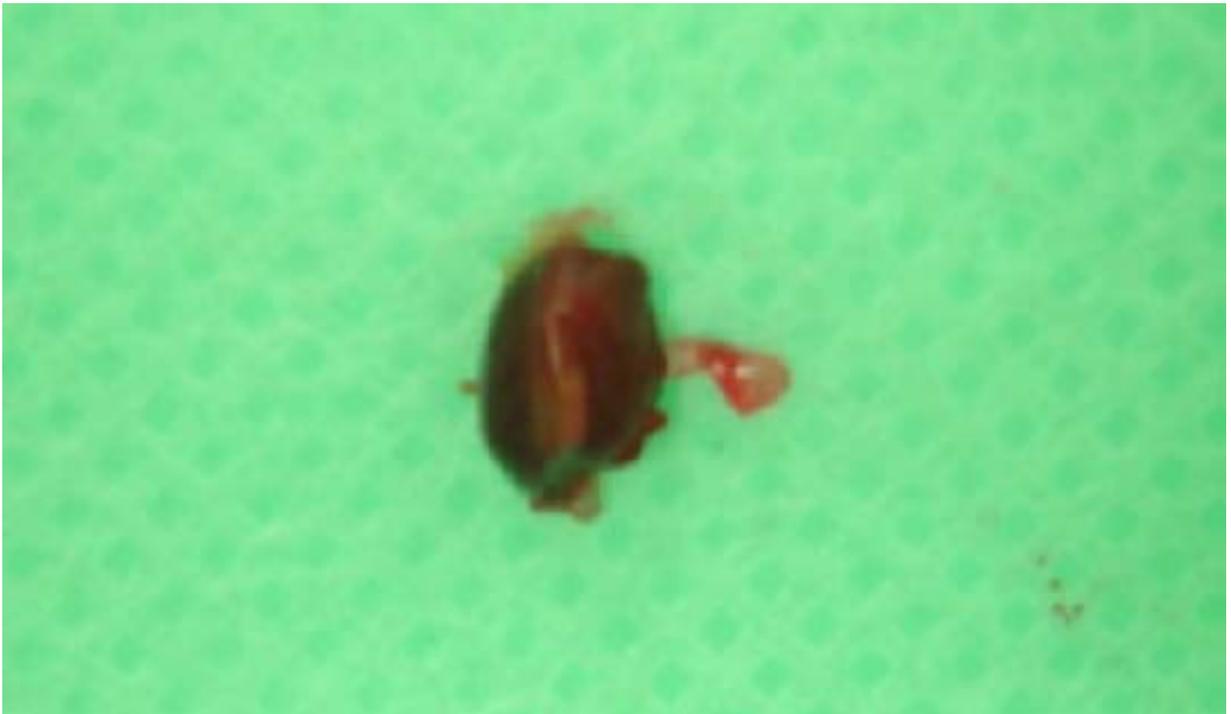


Figura 9. Aspecto do baço recuperado após a morte do animal por sepse

APÊNDICE 2

ESPLENECTOMIA E AUTO-IMPLANTE

PROJETO PILOTO E RESULTADOS

Para o projeto piloto utilizaram-se 5 ratos que foram submetidos ao auto-implante no retroperitônio e sacrificados após 30, 60 e 90 dias após a implantação para uma avaliação macroscópica e microscópica do tecido implantado.

O que se encontrou foi uma viabilidade macroscópica de todos os implantes, mesmo os mais precoces, confirmada pelo estudo histológico que demonstrou um tecido esplênico preservado com sua estrutura compartimental preservada e neovascularização precoce.

Não incluiu-se a histologia na análise do trabalho por não tratar-se do objetivo do estudo.