

**ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SANTA CASA DE
MISERICÓRDIA DE VITÓRIA - EMESCAM**

GRADUAÇÃO EM MEDICINA

AMANDA LESSA MARTINS

ANNA BÁRBARA SCARDUA PARREIRA

MARIA LUIZA FONT JULIÁ GROSSI

**ESTUDO DO POLO SUPERIOR DO BAÇO APÓS ESPLENECTOMIA
SUBTOTAL, EM RATOS**

VITÓRIA

2022

AMANDA LESSA MARTINS

ANNA BÁRBARA SCÁRDUA PARREIRA

MARIA LUIZA FONT JULIÁ GROSSI

**ESTUDO DO POLO SUPERIOR DO BAÇO APÓS ESPLENECTOMIA
SUBTOTAL, EM RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em Medicina da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória - EMESCAM como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Medicina.

Orientadora: Profa. Dra. Marcela Souza Lima Paulo

Co-orientador: Prof. Dr. Danilo Nagib Salomão Paulo

VITÓRIA

2022

AMANDA LESSA MARTINS

ANNA BÁRBARA SCÁRDUA PARREIRA

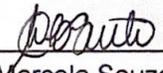
MARIA LUIZA FONT JULIÁ GROSSI

**ESTUDO DO POLO SUPERIOR DO BAÇO APÓS ESPLENECTOMIA
SUBTOTAL, EM RATOS**

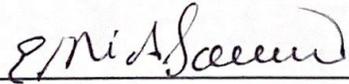
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em Medicina da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, EMESCAM, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Medicina.

Aprovada em 11 de Novembro de 2022

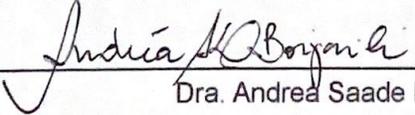
BANCA EXAMINADORA



Doutora Marcela Souza Lima Paulo
Coordenação de Medicina - EMESCAM
(Orientadora)



Prof. Edson Ricardo Loureiro
Professor assistente de Técnica Operatória - EMESCAM
(Banca Interna)



Dra. Andrea Saade Daher Borjaili
Cirurgiã Pediátrica do Hospital Infantil Nossa Senhora da Glória
(Banca Externa)

Dedicamos este projeto a todos aqueles que estiveram do nosso lado durante sua execução. Aos nossos familiares, mestres, funcionários, amigos e colegas de profissão. Em especial, gostaríamos de enfatizar a importância da orientação e do apoio da professora Dra. Marcela e do professor Dr. Danilo.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer primeiramente à Deus, por guiar e iluminar nossos caminhos, enchendo nossa vida de bênçãos e realizações. Nada disso seria possível sem Ele.

Aos nossos pais e familiares, pelo apoio incondicional durante esta caminhada dentro da Medicina, sempre na primeira fileira para nos aplaudir em nossas conquistas.

À nossa orientadora, Professora Marcela Souza Lima Paulo, por ter nos apoiado e incentivado em todas as etapas deste projeto, com todo carinho e zelo. Suas contribuições foram essenciais para o nosso crescimento acadêmico e pessoal.

Ao Doutor Danilo Nagib Salomão Paulo, por nos confiar a realização deste projeto e por ter nos permitido aprender tanto sobre o tema.

Ao funcionário Luiz Antônio de Oliveira, por sua dedicação ao realizar tarefas cruciais para o desenvolvimento da pesquisa, garantindo a qualidade do estudo.

À professora Lúcia e Luciene, pelo auxílio na realização da análise estatística e histopatológica, respectivamente.

À Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, que proporcionou um ambiente propício para o desenvolvimento do estudo.

Ao PIBIC-CNPq por possibilitar financeiramente a execução deste trabalho científico.

A todos os outros queridos mestres, que foram essenciais em nossa formação acadêmica. Levaremos um pouco de cada um em nossa vida profissional.

Aos nossos amigos e colegas de graduação, que deixaram a caminhada mais leve e agradável.

Aos que já não se encontram no plano terreno, mas que participaram e deixaram marcas especiais em nossas vidas.

Agradecemos, por fim, a todos que contribuíram, de alguma forma, para a realização desta pesquisa.

A verdadeira motivação vem da realização,
desenvolvimento pessoal, satisfação no
trabalho e reconhecimento.

Frederick Herzberg

RESUMO

Objetivo: Avaliar a viabilidade, macro e microscópica, do polo superior (PS) do baço de ratos após 80 dias de Esplenectomia Subtotal com Preservação do Polo Superior (ESTPS). **Método:** Vinte e cinco ratos machos Wistar, com dois meses de idade, pesando em média $314,07g \pm 25,62$, foram submetidos à ESTPS. Após 80 dias, os ratos foram eutanasiados, os PS remanescentes dos baços íntegros foram avaliados macroscopicamente quanto ao aspecto, cor, consistência, comprimento, largura, espessura e presença de fibrose e necrose; e microscopicamente quanto à presença de polpa branca e vermelha, fibrose e necrose. **Resultados:** Dois ratos foram a óbito no transoperatório, sendo excluídos da análise estatística. Houve crescimento estatisticamente significativo em comprimento e largura entre o pré e pós-operatório no grupo experimento, sem diferença significativa da espessura. No grupo manipulação, o aspecto macroscópico do baço encontrava-se normal em todos os casos no pré e pós-operatório, estando a viabilidade preservada. No grupo experimento, dois PS do baço foram considerados inviáveis no pós-operatório, uma vez que não foram encontrados durante a segunda cirurgia. Na macroscopia foi observada ausência de fibrose e necrose na totalidade dos casos. Na microscopia a polpa branca e a polpa vermelha estavam íntegras em ambos os grupos. Dois baços de ratos do grupo manipulação apresentaram zonas de fibrose e focos de necrose, sendo não suficiente para considerá-los inviáveis. **Conclusão:** Pode-se afirmar que o PS do baço manteve-se viável em 91,3% dos casos.

Palavras-chave: Baço. Esplenectomia. Cirurgia Geral. Rato.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the macro and microscopic viability of the upper pole (PS) of the spleen of rats after 80 days of Subtotal Splenectomy with Upper Pole Preservation (ESTPS).

Method: Twenty-five male Wistar rats, two months old, weighing on average $314.07g \pm 25.62$, were submitted to ESTPS. After 80 days, the rats were euthanized, the remaining SP of the intact spleens were macroscopically evaluated for appearance, color, consistency, length, width, thickness and presence of fibrosis and necrosis; and microscopically for the presence of white and red pulp, fibrosis and necrosis. **Results:** Of the 25 operated rats, 2 died during the operation, being excluded from the statistical analysis. There was a statistically significant increase in length and width between the pre and postoperative periods in the experimental group, with no significant difference in thickness. In the manipulation group, the macroscopic appearance of the spleen was normal in all cases before and after the operation, with viability being preserved. In the experimental group, two splenic SPs were considered unfeasible in the postoperative period, since they were not found during the second surgery. Macroscopically, absence of fibrosis and necrosis was observed in all cases. Under microscopy, white pulp and red pulp were intact in both groups. Only two spleens from rats in the manipulation group showed areas of fibrosis and foci of necrosis, which was not enough to consider them unviable.

Conclusion: It can be said that the spleen PS remained viable in 91.3% of the cases.

Keyword: Spleen. Splenectomy. General surgery. Rats

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Páginas
Figura 1: Laparotomia mediana para exame da cavidade abdominal.....	17
Figura 2: Desenho esquemático da cirurgia utilizada neste estudo. PS: polo superior mantido, PI: polo inferior retirado, PM: porção média.....	18
Figura 3: Resultado imediato com a retirada da porção média e inferior do baço em ratos, com preservação do PS.....	24
Figura 4: Resultado tardio, 80 dias após a retirada da porção média e inferior do baço, com preservação do PS.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabelas	Página
Tabela 1: Comparação do comprimento, largura e espessura do PS do baço no pré-operatório e no pós-operatório no grupo experimento.....	21
Tabela 2: Comparação do aspecto, cor e consistência do PS do baço no pré e pós operatório do grupo experimento.....	22
Tabela 3: Comparação do aspecto, cor e consistência do PS do baço no pós operatório entre os grupos experimento e manipulação.....	23
Tabela 4: Associação da fibrose no pós-operatório entre os grupos experimento e manipulação.....	25
Tabela 5: Associação da necrose no pós-operatório entre os grupos experimento e manipulação.....	26

LISTA DE SIGLAS

ESTPS: Esplenectomia Subtotal com preservação do Polo Superior.

ESTPI: Esplenectomia Subtotal com preservação do Polo Inferior.

PS: Polo Superior.

PM: Porção Média.

PI: Polo Inferior.

CONCEA: Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal.

CEUA: Comitê de Ética no Uso de Animais.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 MÉTODO	16
2.1. Características da amostra e cuidados com animais	16
2.2 Procedimento Cirúrgico	16
2.3 Coleta do PS do baço e eutanásia dos animais	18
2.4 Avaliação macroscópica	19
2.5 Avaliação microscópica do baço e de seus polos	19
2.6 Variáveis estudadas e testes estatísticos	19
3 RESULTADOS	21
3.1 Medidas do PS do baço	21
3.2 Avaliação macroscópica do PS do baço	22
3.3 Avaliação microscópica do PS do baço	25
4 DISCUSSÃO	27
5 CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

Durante muito tempo, as funções do baço eram desconhecidas e a importância desse órgão pouco esclarecida. Dessa forma, sua ausência era considerada compatível com a vida.¹ Acreditava-se que sua extirpação devido a traumas ou outras doenças não provocaria maiores danos ao paciente.¹ Com isso, a esplenectomia total era indicada sempre, sem critérios científicos.^{1,2}

A esplenectomia acompanha mortes pós-operatórias em ambos os sexos. Dados recolhidos do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS) indicam 36 óbitos por ocorrência, sendo 24 homens e 12 mulheres, no estado do Espírito Santo nos períodos de 2005 a 2019 na categoria CID 10: A40 Septicemia estreptocócica, D73 Doença do baço. No período de Janeiro de 2015 a Dezembro de 2020 a taxa de mortalidade referente a indivíduos que realizaram esplenectomia total, no Brasil, foi igual a 5,36, sendo o número de óbitos deste mesmo período igual a 906. ³

O baço é o maior órgão linfóide secundário e possui um papel fundamental na defesa do organismo por meio de mecanismos de filtração e fagocitose, além da produção de fatores do complemento e imunoglobulinas. Ademais, este órgão é capaz de filtrar patógenos e células anormais do sangue e, ainda, tem participação importante na hematopoiese e na depuração de glóbulos vermelhos. ^{2,4}

Em 1919, com os estudos de Morris e Bullock ⁵, foi reconhecida a relação entre esplenectomia total e o aumento da susceptibilidade a infecções, já que estes indivíduos estariam menos aptos a controlar o quadro de sepse. King e Schumacker JR⁶, em 1952, ao descreverem a sepse fulminante pós-esplenectomia, despertaram a atenção da comunidade científica para a importância do tecido esplênico na prevenção de infecções graves.⁶ Os riscos de infecção pós-esplenectomia, principalmente nos dois primeiros anos após a cirurgia, têm sido observados em crianças e adultos.^{7, 8} Outrossim, complicações infecciosas após esplenectomia já foram observadas em animais de experimentação.^{5, 8} Alterações no metabolismo lipídico já foram observados em seres humanos^{9, 10} e animais de laboratório,¹¹ as quais podem causar aterosclerose.¹¹ Em 1962, Campos Christo¹² apresentou a

esplenectomia parcial na prática cirúrgica com a proposta de preservar tecido esplênico suficiente para o organismo manter ativa sua função de defesa.¹²

O baço é um órgão que acumula grande importância, tendo em vista isto, sua preservação total ou parcial passou a ser realizada de forma mais frequente por meio de esplenorrafias,¹ oclusões vasculares,^{13, 14} esplenectomias parciais^{15, 16} e dos autoimplantes esplênicos.^{17, 18} Desde 1984, na tentativa de manter pelo menos parte da função esplênica quando a remoção do baço é recomendada, foram realizadas esplenectomias subtotais, com preservação do polo superior (ESTPS) nutrido pelos vasos esplenogástricos.¹⁹ O aprofundamento nessa área revelou a possibilidade da realização desse procedimento cirúrgico, por via laparoscópica.² Estudos do pesquisador Petroianu ² revelam esse procedimento como uma nova maneira de tratar dor severa causada pela isquemia do baço,² trauma esplênico,² mielofibrose e metaplasia mielóide,² cistoadenoma da cauda do pâncreas, doença de Gaucher, ² e, por fim, para a terapêutica de hemorragia proveniente de varizes intestinais, decorrentes de hipertensão porta.²⁰

O estudo mais recente de Paulo ²¹, realizado em 2020, comparou a viabilidade do polo superior (PS) e inferior do baço após 80 dias da realização de esplenectomia parcial, os quais não apresentaram diferença estatística significativa, estando ambos viáveis. Apesar deste estudo ter feito um acompanhamento dos animais por tempo prolongado, não houveram estudos que acompanharam os animais após cirurgia de ESTPS por um tempo semelhante.²¹

Acredita-se que com a realização da ESTPS, a função imunológica do baço não cessaria, diminuindo a ocorrência de imunodeficiências e consequentemente infecções generalizadas. Como já foi dito, não há até então estudos de acompanhamento dos animais por tempo prolongado, que seria necessário para avaliar de modo eficaz a viabilidade do PS do baço após a ESTPS. Dessa forma, o objetivo deste estudo é verificar se o PS do baço é capaz de se manter viável após a remoção da porção média e inferior do tecido esplênico, bem como comparar o tamanho do PS do baço do grupo experimento no primeiro dia e 80 dias após a ESTPS; comparar os aspectos macroscópicos do PS do baço do grupo experimento no primeiro dia e 80 dias após o procedimento cirúrgico; comparar os aspectos

macroscópicos do baço do grupo experimento com o grupo manipulação 80 dias após o primeiro procedimento cirúrgico; e avaliar os aspectos microscópicos do PS do baço do grupo experimento após 80 dias do procedimento cirúrgico e comparar com o grupo manipulação.

2 MÉTODO

Este trabalho foi realizado no Biotério de Experimentação Animal do Centro de Pesquisa da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (EMESCAM), após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais (CEUA-EMESCAM) sob n° 004/2018 (ANEXO A). A manipulação animal seguiu as recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

2.1. Características da amostra e cuidados com animais

Foram utilizados 25 ratos (*Rattus norvegicus*) Wistar, machos, com dois meses de idade e pesando $314,07\text{g} \pm 25,62$, provenientes do Biotério da Universidade Vila Velha (UVV), devidamente identificados e mantidos em ambiente climatizado dentro de gaiolas apropriadas no Gabinete Biotério STD 5 (Grupo Vidy - São Paulo, Brasil), com controle de temperatura (20 a 22 °C), ventilação e luminosidade (12 horas de luz e 12 horas de escuro). Receberam ração própria para ratos e água *ad libitum* em todos os estágios do experimento. Os animais foram distribuídos aleatoriamente, por meio de sorteio, em dois grupos: Grupo Manipulação (n=8) - Manipulação do baço; Grupo Experimento (n=17) - ESTPS. Os ratos foram alojados em grupos de dois a três em cada gaiola, identificados e monitorados individualmente durante todo o experimento.

2.2 Procedimento Cirúrgico

Os animais foram pesados (balança eletrônica Filizola® modelo MF-6) e anestesiados com cloridrato de cetamina 75 mg/kg (Vetaset®, Fort Dodge-Iowa, EUA) associado a cloridrato de xilazina 5mg/kg (Kensol®, König-Avellaneda, Argentina) via intraperitoneal. Em seguida, foram imobilizados na mesa cirúrgica, onde foi realizada tricotomia e antissepsia da parede abdominal com solução de álcool iodado a 2% e colocação de um campo operatório fenestrado.

Na sequência, foi feita uma laparotomia mediana, com cerca de 2,5 cm de comprimento, iniciada 0,5 cm abaixo do processo xifóide e exame da cavidade abdominal (Figura 1).



Figura 1: Laparotomia mediana para exame da cavidade abdominal.

No grupo manipulação, foi realizada apenas a manipulação do baço. No grupo experimento, foi retirada a porção média e inferior do baço com os seus vasos supridores, mantendo-se o PS do órgão de acordo com as técnicas preconizadas por Petroianu (1983)²² (Figura 2).

Descrição da ESTPS: a) Após mobilização do baço na superfície da cavidade abdominal, os vasos esplênicos que irrigam a porção média e inferior do baço foram ligados e seccionados, enquanto os possíveis vasos que são destinados ao PS foram mantidos. b) O baço foi seccionado com retirada de sua porção média e inferior, as quais foram colocadas em um frasco com formol a 10%. c) Foi mantido o PS do baço, o qual foi medido (comprimento, largura e espessura), em sua parte central, com paquímetro manual²³ d) Após a realização da ESTPS, foi realizada a laparorráfia por meio de sutura contínua do peritônio e o plano músculo aponeurótico em conjunto e da pele empregando-se mononylon 6.0 (Shalon® , Shalon Fios Cirúrgicos LTDA - Goiás, Brasil).

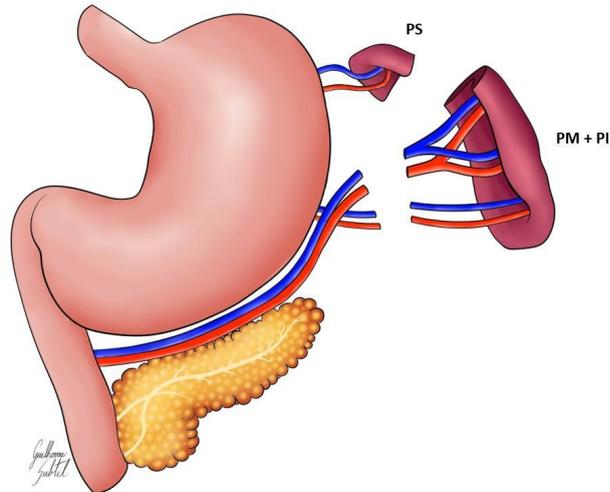


Figura 2 - Desenho esquemático da cirurgia utilizada neste estudo. PS: polo superior mantido, PI: polo inferior retirado, PM: porção média retirada.

No pós-operatório imediato, os animais receberam dipirona sódica (Medley - São Paulo, Brasil) na dose de 52,5mg/dia, via oral, dissolvida na água do bebedouro (72 horas), dieta livre e água à vontade. Foi utilizado, também, Cloridrato de Nalbufina (Nubain®, Cristália – São Paulo, Brasil) na dose de 0,1mg/kg de peso aplicados no subcutâneo, a cada 12 horas por três dias. A evolução dos animais foi registrada em ficha individual.

2.3 Coleta do PS do baço e eutanásia dos animais

No 80º dia do pós-operatório, os animais foram submetidos a uma segunda cirurgia, na qual eles foram novamente anestesiados e submetidos à nova laparotomia. O PS do baço foi medido (comprimento, largura e espessura), do mesmo modo que se fez durante a ESTPS, e avaliado macroscopicamente. Em seguida, o tecido remanescente foi colocado em um frasco com formol a 10% para posterior análise microscópica. Por fim, a eutanásia foi realizada com pentobarbital sódico 120 mg/kg via intraperitoneal e cloreto de potássio 10% (dose-efeito), via injeção intracardíaca.

2.4 Avaliação macroscópica

Durante a exploração da cavidade abdominal dos ratos, foi verificado o aspecto, a cor, a consistência, o tamanho e a presença ou não de fibrose e necrose do PS do baço.

2.5 Avaliação microscópica do baço e de seus polos

Na avaliação microscópica, a porção média e inferior do baço do grupo experimento foram colocadas em solução de formol a 10% no dia da primeira cirurgia, enquanto que o PS do grupo experimento e o baço do grupo manipulação, retirados no 80º dia pós-operatório, foram incluídos em blocos de parafina e cortados em micrótomo rotativo com três micrômetros de espessura. Os cortes histológicos foram colocados sobre lâminas de vidro e em estufa a 58º C por 24 horas. Aderidos às lâminas, estes cortes foram desparafinados em xilol e corados pelos métodos hematoxilina-eosina e tricrômico de Masson. A microscopia foi realizada por um patologista em microscópio binocular. Os cortes foram analisados quanto aos seguintes parâmetros: presença de polpa vermelha, presença de polpa branca, fibrose, necrose e inferir sobre a viabilidade.

2.6 Variáveis estudadas e testes estatísticos

As variáveis de natureza categórica, ou seja, aspecto, cor, consistência, fibrose, necrose e viabilidade, foram organizadas por meio de frequências e percentuais, enquanto as quantitativas, isto é, comprimento, largura e espessura, foram resumidas por meio de medidas como média, mediana, desvio padrão, mínimo e máximo.

As associações entre variáveis qualitativas foram realizadas pelo teste qui-quadrado, já as comparações foram realizadas utilizando o teste não paramétrico de Wilcoxon,

uma vez que as variáveis não apresentaram distribuição normal pelo teste de Kolmogorov-Smirnov ($p > 0,05$).

Para a comparação do aspecto, cor e consistência do PS do baço no pré e pós operatório do grupo experimento foi utilizado o teste binomial.

Associações e comparações foram consideradas significativas no caso de valor- $p < 0,05$.

Os dados foram tabulados em planilha EXCEL e analisados no programa IBM SPSS *Statistics* (Statistical Package for the Social Sciences) versão 27 e Bioestat 5.3.

3 RESULTADOS

Dentre todos os 25 ratos utilizados na pesquisa, houve uma sobrevivência de 92%. Dois animais do grupo experimento foram a óbito no transoperatório da primeira cirurgia e foram excluídos do estudo.

3.1 Medidas do PS do baço

Na Tabela 1, tem-se a comparação do comprimento, largura e espessura do PS do baço no pré-operatório e pós-operatório no grupo experimento. O PS do baço cresceu em comprimento, largura e espessura do início para o final do experimento. No entanto, o resultado indicou diferença significativa entre pré e pós (no grupo experimento) para as variáveis comprimento e largura ($p < 0,05$).

Tabela 1 - Comparação do comprimento, largura e espessura do PS do baço no pré-operatório e no pós-operatório no grupo experimento

Característica	Média	Desvio padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	p
Comprimento						
Pré operatório (mm)	7,9	1,8	8,0	5,0	11,5	0,002*
Pós operatório (mm)	11,8	1,7	11,0	10,0	16,0	
Largura						
Pré operatório (mm)	6,3	1,5	6,0	4,0	10,0	0,022*
Pós operatório (mm)	7,8	1,1	8,0	6,0	10,0	
Espessura						
Pré operatório (mm)	4,1	0,9	4,0	2,5	6,0	0,057
Pós operatório (mm)	5,1	1,4	5,0	3,0	8,0	

Teste de Wilcoxon * $p < 0,05$ *significante*

3.2 Avaliação macroscópica do PS do baço

No grupo manipulação, o aspecto macroscópico do baço encontrava-se normal, com coloração marrom, consistência elástica e ausência de fibrose e necrose, tanto no pré como no pós-operatório, estando a viabilidade preservada. No grupo experimento, por sua vez, observou-se que a maioria dos PS do baço estavam macroscopicamente viáveis, com apenas dois (13,33%) sendo considerados inviáveis no pós-operatório, uma vez que não foram encontrados durante a segunda cirurgia. Foi observado, portanto, que não houve significância estatística na comparação entre a macroscopia do pré e pós operatório no grupo experimento. Isso demonstra que a proporção de aspecto normal, cor marrom e consistência elástica no pré-operatório foi semelhante ao pós-operatório. (Tabela 2).

Tabela 2 - Comparação do aspecto, cor e consistência do PS do baço no pré e pós operatório do grupo experimento.

Experimento			p
Aspecto	Normal	PS ausente	
Pré operatório	15	0	0,1432
Pós operatório	13	2	
Cor	Marrom	PS ausente	
Pré operatório	15	0	0,1432
Pós operatório	13	2	
Consistência	Elástica	PS ausente	
Pré operatório	15	0	0,1432
Pós operatório	13	2	

Teste binomial para comparar duas proporções.

p<0,05 *significante*

Na comparação dos resultados macroscópicos entre os grupos experimento e manipulação, foi verificado que também não houve associação de aspecto, cor e consistência com os grupos (experimento e manipulação) (Tabela 3).

Tabela 3 - Comparação do aspecto, cor e consistência do PS do baço no pós operatório entre os grupos experimento e manipulação.

Grupo			
	Experimento	Manipulação	p
Aspecto			0,761
Normal	13	8	
Ausente	2	0	
Cor			0,761
Marrom	13	8	
Ausente	2	0	
Consistência			0,761
Elástica	13	8	
Ausente	2	0	

Teste Qui-quadrado

p<0,05 *significante*

As figuras 3 e 4 ilustram e exemplificam, respectivamente, os resultados imediato e tardio, 80 dias após a retirada da porção média e inferior do baço, do procedimento cirúrgico no grupo experimento.

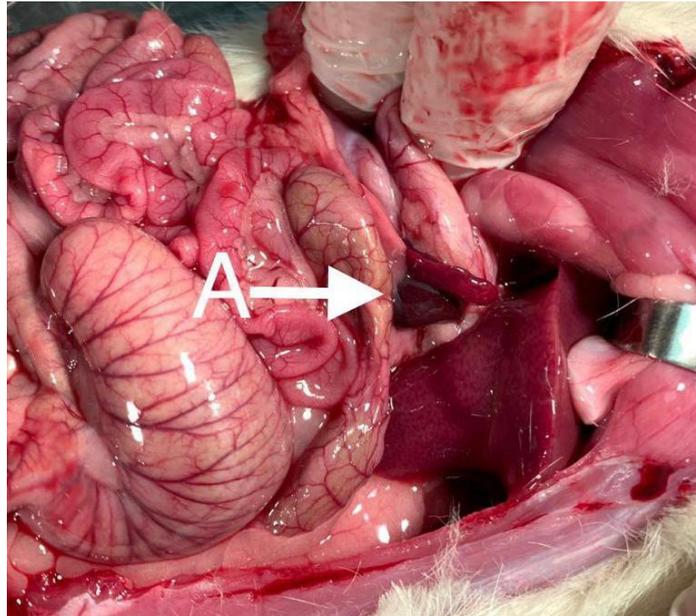


Figura 3 - Resultado imediato com a retirada da porção média e inferior do baço em ratos, com preservação do PS. A- PS do baço.

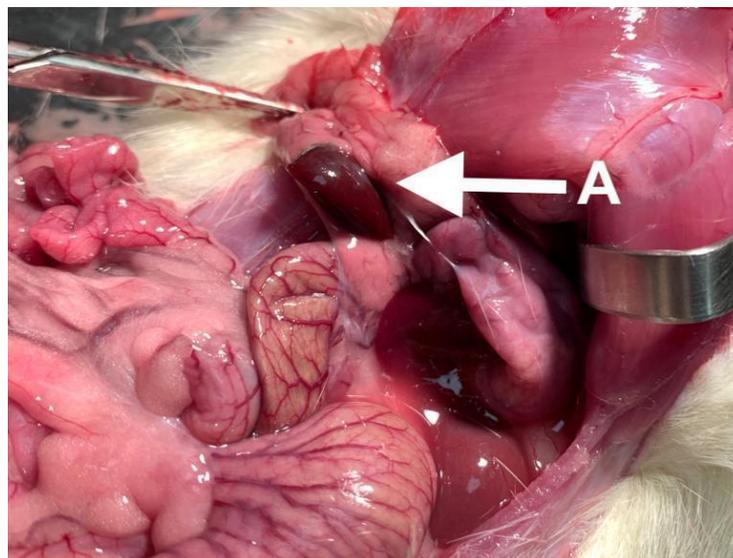


Figura 4- Resultado tardio, 80 dias após a retirada da porção média e inferior do baço, com preservação do PS. A- PS do baço.

Ao analisar a presença de fibrose e necrose nos PS dos baços do grupo experimento, foi observado no pré-operatório a ausência de ambos os processos na totalidade dos casos. No pós-operatório, por sua vez, dentre os PS dos baços encontrados (86,7%), observou-se ausência de fibrose e necrose. Quanto ao grupo

manipulação, o resultado foi semelhante ao encontrado no pré-operatório do grupo experimento, ou seja, 100% dos baços não apresentavam zonas de fibrose e necrose.

3.3 Avaliação microscópica do PS do baço

A maioria dos PS do baço dos animais do grupo manipulação e experimento estava viável. A polpa branca e a polpa vermelha estavam íntegras nos ratos do grupo manipulação e do grupo experimento. No grupo manipulação, apenas dois baços de ratos (13,33%) apresentaram zonas de fibrose e apenas dois PS do baço de ratos do grupo experimento (13,33%) apresentaram focos de necrose, sendo não suficiente para considerá-los inviáveis. Observou-se que apenas dois (13,33%) dos PS do baço estavam inviáveis, uma vez que não foram encontrados durante a segunda cirurgia. Na associação dos achados entre os grupos, os PS ausentes não entraram na análise estatística, pois não foi possível avaliá-los. Não houve associação significativa entre a presença ou não de fibrose ou necrose entre os grupos experimento e manipulação (Tabela 4 e 5).

Tabela 4 - Associação da fibrose no pós-operatório entre os grupos experimento e manipulação.

		Grupo			
		Experimento		Manipulação	
		Contagem	%	Contagem	%
Fibrose	Negativo	13	86,7	7	87,5
	Positivo	0	0,0	1	12,5
	PS ausente	2	13,3	0	0,0

Qui-quadrado $p = 0,8017$

Tabela 5 - Associação da necrose no pós-operatório entre os grupos experimento e manipulação.

		Grupo			
		Experimento		Manipulação	
		Contagem	%	Contagem	%
Necrose	Negativo	12	80	8	100
	Positivo	1	6,7	0	0,0
	PS ausente	2	13,3	0	0,0

Qui-quadrado $p = 0,8017$

4 DISCUSSÃO

Com o avanço da tecnologia e a melhor compreensão da vasculatura esplênica, foi observado que a esplenectomia total poderia ser evitada e novas formas de intervenção poderiam ser estabelecidas, com o objetivo de garantir, concomitantemente, o tratamento da intercorrência esplênica e a permanência do funcionamento do órgão no organismo.^{24, 25} Este estudo tem como objetivo comprovar a viabilidade do PS do baço de ratos após a realização da ESTPS. O resultado esperado era que a maioria dos PS dos baços dos ratos que passariam pela cirurgia não sofressem alterações estruturais e funcionais, bem como o estado de saúde do rato, que deveria evoluir sem anormalidades.

Dentre todos os 25 ratos, houve uma sobrevida de 92%. Dois animais do grupo experimento foram a óbito no transoperatório da primeira cirurgia e foram excluídos do estudo. Acredita-se que o motivo de tal acontecimento tenha sido uma sobredose anestésica durante a indução. Apesar disso, todos os animais submetidos à ESTPS sobreviveram ao procedimento cirúrgico após os 80 dias, o que sugere sucesso da operação. O tempo de 80 dias foi estimado levando em consideração o estudo de Paulo sobre crescimento do PI do baço após Esplenectomia Subtotal com preservação do Polo Inferior (ESTPI) em ratos, onde as variáveis foram comparadas no 80 ° dia de pós-operatório e houve resultados promissores, no qual o remanescente do baço apresentou crescimento significativo e sinais compatíveis com hiperplasia celular à microscopia óptica de luz.²⁶

Um estudo realizado em 2020, no qual foram realizadas as técnicas cirúrgicas de Petroianu²² e Paulo¹⁶ para a retirada da porção média do baço com os seus vasos supridores, mantendo-se o PS e o PI do órgão, não evidenciou alteração significativa do PI, com relação aos parâmetros comprimento, largura e espessura, enquanto houve crescimento significativo apenas no comprimento do PS. Uma hipótese sugerida por Paulo e colaboradores foi que a manutenção dos dois polos juntos poderia ter inibido o crescimento de ambos.²¹ Em outro estudo de Paulo, o comprimento, largura e espessura do PI do baço de ratos aumentou entre o primeiro e 80º dia de pós-operatório em 68,4% dos animais submetidos à Esplenectomia

Subtotal com Preservação do Polo Inferior (ESTPI).²⁶ No presente estudo, ao comparar o comprimento, largura e espessura no grupo experimento, foi observado que houve um crescimento significativo entre o pré e pós-operatório nos parâmetros de comprimento e largura, o que diz a favor da viabilidade do órgão após a ESTPS. Na espessura, por sua vez, houve crescimento, porém não foi considerado significativo. Isso sugere que a presença de ambos os polos pode ter impedido o crescimento de um e do outro.

No entanto, deve-se considerar que o crescimento do baço remanescente pode ser decorrente do crescimento do rato, de um processo inflamatório traumático, da função compensatória do baço comprometida pela remoção de uma de suas partes ou da combinação desses fatores.²⁶ Quanto à inflamação, no presente estudo não houve sinais de inflamação que fossem suficientes para explicar o fenômeno.

Na análise macroscópica, 91,3% dos ratos apresentaram o PS do baço com aspecto normal, cor marrom, consistência elástica e ausência de fibrose e necrose, o que propõe que todos estavam viáveis. Entretanto, em dois ratos do grupo experimento o PS do baço não foi encontrado, indicando uma autólise desse segmento, que pode estar associada a uma irrigação insuficiente fornecida pelos vasos esplenogástricos, incapaz de nutrir o PS do baço. Outra hipótese seria a secção da membrana peritoneal gastroesplênica, a qual é responsável pela fixação do baço ao estômago impedindo a rotação do pedículo esplênico. Essa secção pode ter provocado a torção dos vasos esplenogástricos, resultando em isquemia da parte remanescente do órgão e consequente reabsorção do mesmo, no entanto, não se pode afirmar a ocorrência ou não de tal fato. Mendonça e colaboradores relataram que a secção da membrana peritoneal gastroesplênica em ratos submetidos à ESTPI não alterou a viabilidade do PI.²⁷ Um estudo futuro com um grupo de ratos seccionando e outro não seccionando a membrana gastroesplênica esclareceria melhor o efeito da preservação da membrana na viabilidade do PS do baço. A verificação da influência da secção dessa membrana associada a viabilidade do PS remanescente seria interessante para analisar as possíveis causas das autóliques presentes em nosso estudo.

Diante do crescimento do órgão em grande parte dos casos (comprimento cresceu em 100% dos casos; largura em 66,7% e espessura em 40%) e dos resultados macroscópicos obtidos, foi possível concluir que é viável realizar a ESTPS com a intenção de preservar a função imunológica do baço, evitando a ocorrência de imunodeficiências e infecções generalizadas. Os achados deste estudo reforçam a credibilidade e segurança da realização da cirurgia no campo medicinal, substituindo a forma primitiva de intervenção cirúrgica. Deste modo, pode-se evitar os diversos distúrbios existentes no pós-operatório da esplenectomia total.^{24, 25} Entretanto, deve-se considerar que o presente estudo foi realizado em ratos e sua aplicabilidade em seres humanos deve ser realizada com prudência.

Borjaili e colaboradores compararam as taxas de sobrevivência de ratos submetidos a ESTPI, esplenectomia total e manipulação do baço após a indução de peritonite fecal, e os resultados apresentados foram que a manutenção do tecido esplênico através da ESTPI ajudou a prolongar o tempo de sobrevivência dos ratos.²⁸ Tal estudo reforça a funcionalidade da cirurgia conservadora com preservação do PI, entretanto, se faz necessário novos estudos com o objetivo de comprovar que a ESTPS também é capaz de garantir maior sobrevivência aos ratos após indução de peritonite fecal.

A viabilidade microscópica do baço foi comprovada por meio da presença da polpa branca e da polpa vermelha, próprias do órgão. Apenas um baço do rato do grupo manipulação apresentou zonas de fibrose e um baço do rato do grupo experimento apresentou focos de necrose, o que pode estar relacionado a um possível déficit de irrigação do PS do baço. No entanto, a presença destes focos foram considerados sem representatividade e não suficientes para considerar o PS do baço inviável. Estes resultados corroboram com o estudo de Paulo e colaboradores, onde os achados de microscopia confirmaram a viabilidade de ambos os polos, com a presença da polpa branca (folicúlos linfóides e seus componentes), polpa vermelha, vascularização e celularidade próprias do órgão, além de eventuais processos inflamatórios.²⁷

Diante dos resultados apresentados, pode-se considerar que a manutenção do PS do baço através da realização da ESTPS possibilitaria a continuidade da função imunológica do baço, diminuindo a ocorrência de imunodeficiências e

consequentemente infecções generalizadas e taxa de mortalidade referente a indivíduos que são submetidos à esplenectomia total.²⁴

5 CONCLUSÃO

Considerando o fato do PS do baço ter crescido significativamente em um prazo de 80 dias e do seu aspecto macro e microscópico similar ao grupo manipulação, pode-se afirmar que o referido polo manteve-se viável, o que ocorreu em 91,3% dos casos.

REFERÊNCIAS

1. 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. doi: 10.1097/00000658-198505000-00005.
2. Petroianu A. Estudos Experimentais Sobre o Baço. Petroianu A. O Baço. São Paulo: CLR Balieiro 2003;414-26.
3. DATASUS. Brasil, Ministério da Saúde. Banco de dados do Sistema Único de Saúde - DATASUS. Disponível em <https://datasus.saude.gov.br/> (Acessado em 11 de fevereiro de 2021).
4. Lewis SM, Williams A, Eisenbarth SC. Structure and Function of the Immune System in the Spleen. *Sci Immunol.* 2019 Mar;4(33):eaau6085. doi: 10.1126/sciimmunol.aau6085.
5. Morris DH, Bullock FD. The Importance of the Spleen in Resistance to Infection. *Ann Surg.* 1919 Nov;70:513-21. doi: 10.1097/00000658-191911000-00001.
6. King H, Shumacker HB Jr. Splenic studies. Susceptibility to infection after splenectomy performed in infancy. *Ann Surg.* 1952 Aug;136(2):239-42. doi: 10.1097/00000658-195208000-00006.
7. Resende V, Petroianu A. Subtotal Splenectomy for Treatment of Severe Splenic Injuries. *J Trauma.* 1998 May;44:933-5. doi: 10.1097/00005373-199805000-00037.
8. Grosfeld JL, Ranochak JE. Are Hemisplenectomy and/or Primary Splenic Repair Feasible? *J Pediatr Surg.* 1976 Jun;11(3):419-24. doi: 10.1016/s0022-3468(76)80198-4.
9. Robinette CD, Fraumeni JF Jr. Splenectomy and Subsequent Mortality in Veterans of the 1939-45 war. *Lancet.* 1977 Jul;2(8029):127-9. doi: 10.1016/s0140-6736(77)90132-5
10. Aviram M, Brook JG, Tatarsky J, Levy Y, Carter A. Increased Low-density Lipoprotein levels after Splenectomy: A Role for the Spleen in Cholesterol Metabolism in Myeloproliferative Disorders. *Am J Med Sci.* 1986 Jan;291(1):25-8. doi: 10.1097/00000441-198601000-00006

11. Petroianu A, Veloso DFM, Costa GR, Alberti LR. Efeitos de Operações sobre o Baço no Lipidograma de Ratas. *Assoc Med Bras.* 2006; 52(1):56-9. doi: 10.1590/S0104-42302006000100024
12. Campos CM. Segmental Resection of the Spleen: Report of the First Eight Cases Operated on. *Hospital.* 1962 Sep;62:575-90.
13. Warshaw AL. Conservation of the Spleen with Distal Pancreatectomy. *Arch Surg.* 1988;123(5):550-3. doi: 10.1001/archsurg.1988.01400290032004
14. Mignon F, Brouzes S, Breitel DL, Bastie JN, Poirier H, Legendre C, . Preoperative Selective Embolization Allowing a Partial Splenectomy for Splenic Hamartome. *Ann Chir.* 2003 Mar;128(2):112-6. doi: 10.1016/s0003-3944(02)00033-0.
15. Campos CM. Esplenectomias Parciais Regradas. *Hospital.* 1959; 56(4):93-8.
16. Paulo DNS, Lázaro SA, Cintra LC, Bof AM, Santiago DC, Ribeiro GB. Esplenectomia Subtotal, em cães, com Preservação do Pólo Inferior Suprido por Vasos do Ligamento Gastroesplênico. *Col Bras Cir.* 1999;26(3):147-52. doi: 10.1590/S0100-69911999000300005
17. Holdsworth RJ. Regeneration of the spleen and splenic autotransplantation. *Br J Surg.* 1991 Mar;78(3):270-8. doi: 10.1002/bjs.1800780305.
18. Resende V, Petroianu A, Junior WC. Autotransplantation for Treatment of Severe Splenic Lesions. *E Radiology.* 2002;9(4):208-12. doi: 10.1007/s10140-002-0222-y
19. Resende V e Petroianu A. Funções do remanescente esplênico após esplenectomia subtotal para o tratamento de lesões complexas do baço humano. *Revista da Associação Médica Brasileira.* 2002, v. 48, n. 1, pp. 26-31. doi:10.1590/S0104-42302002000100028
20. Petroianu A; Rezende Neto JB. Tratamento de Hemorragia Intestinal Grave Decorrente de Hipertensão Porta, por meio de Esplenectomia Subtotal e Anastomose Esplenorenal Proximal. *Col Bras Cir.* 2008;35 ed. 264-8.
21. Paulo LNL, Alexander DR, Vallandro EID, Benevides RA, Motta LL, Paulo MSL, Paulo DNS. Macro and microscopic comparison of the upper pole of the spleen with the lower pole in partial splenectomy. *Acta Cir. Bras.* 2020; 35(9) 10.1590/s0102-865020200090000002 .
22. Petroianu A. Esplenectomia subtotal e anastomose esplenorenal proximal para o tratamento da hipertensão portal. *Rev Bras Cir.* 1983;73(2):101-4.

23. Paulo DNS, Paulo MSL. Esplenectomia Subtotal com Preservação do Polo Inferior do Baço (ESTPI). *Salus J Health Sci.* 2015;1(1):76-85. doi: <https://dx.doi.org/10.5935/2447-7826.20150009>
24. Liu G, Fan Y. Feasibility and Safety of Laparoscopic Partial Splenectomy: A Systematic Review. *World J Surg.* 2019 Jun; 43(6):1505-1518. doi: [10.1007/s00268-019-04946-8](https://doi.org/10.1007/s00268-019-04946-8)
25. Costi R, Castro Ruiz C, Romboli A, Wind P, Violi V, Zarzavadjian Le Bian A. Partial splenectomy: Who, when and how. A systematic review of the 2130 published cases. *J Pediatr Surg.* 2019 Aug; 54(8):1527-1538. doi: [10.1016/j.jpedsurg.2018.11.010](https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2018.11.010)
26. Paulo DN, Ramos BF, Zanetti FR, Marques T, Cintra LC, Lemos Paulo IC, Silva AL. Growth of the lower spleen pole remaining after subtotal splenectomy in rats. *Acta Cir Bras.* 2008 Mar-Apr ; 23(2):125-9. doi: [10.1590/S0102-86502008000200003](https://doi.org/10.1590/S0102-86502008000200003)
27. Mendonça FA, Carmo FP, Paris LG, Pagotte MD, Pereira FL, Vidigal PV, Paulo DNS, Nunes TA. Effects of inferior splenic lobe pole fixation and gastrosplenic peritoneal membrane section on the vitality of the remanent of subtotal splenectomy in rats. *Acta Cir Bras.* 2015 Jul; 30(7):461-9. doi: [10.1590/S0102-865020150070000003](https://doi.org/10.1590/S0102-865020150070000003)
28. Borjaili ASD, Nunes GC, Silveira JB, Dall'Orto FH, Lorenzoni GS, Borjaili MED, Campagnaro BP, Lima MCM, Paulo MSL, Paulo DNS, Nunes TA. The influence of splenic tissue on the survival and TCD4 and TCD8 lymphocyte rates in rats subjected to fecal peritonitis induction. *Acta Cir Bras.* 2020 Nov 23; 35(10):e202001003. doi: [10.1590/s0102-865020200100000003](https://doi.org/10.1590/s0102-865020200100000003)

ANEXO A - CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-EMESCAM)



EMESCAM
Tradição e Conhecimento em Saúde

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 004/2018, relativo ao projeto intitulado "Viabilidade do Polo Superior do Baço em Ratos", que tem como responsável Danilo Nagib Salomão Paulo está de acordo com os princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA-EMESCAM), tendo sido aprovado na reunião ordinária de 24/05/2018. Este certificado expira-se em 24/05/2023.

We hereby certify that Protocol No. 004/2018, concerning the project entitled: "Viability of the Upper Pole of the Spleen in Rats", which is in charge of Danilo Nagib Salomão Paulo, is in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation, adopted by the Committee on Ethics in Use (CEUA-EMESCAM), and was approved at the ordinary meeting of 05/24/2018. This certificate expires on 05/24/2023.

Milvânia (ES), 28 de maio de 2018


Marcela Souza Lima Paulo
Coordenadora do CEUA-EMESCAM



**ANEXO B - DECLARAÇÃO DE PUBLICAÇÃO DE ARTIGO NA REVISTA ACTA
CIRÚRGICA BRASILEIRA, DA PLATAFORMA SCIELLO.**



ACTA CIRÚRGICA BRASILEIRA

DECLARAÇÃO

Declaro que o artigo intitulado **“Study of the upper pole after subtotal splenectomy in rats”** de autoria de Amanda Lessa Martins, Anna Bárbara Scárdua Parreira, Maria Luiza Font Juliá Grossi, Raquel de Azevedo Benevides, Luciene Lage da Motta, Lucia Helena Sagrillo Pimassoni, Andrea Saade Daher Borjaili, Marcela Souza Lima Paulo e Danilo Nagib Salomão Paulo foi aceito para publicação na revista Acta Cirúrgica Brasileira, volume 37, fascículo 11, 2022.

São Paulo, 01 de novembro de 2022.

Prof. Dr. Alberto Goldenberg
Editor Responsável
Acta Cir Bras