

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

BIANCA LACERDA DEMUNER
GOTARDO ZINI PINHO
JOÃO CUNHA THOMAZ

**EFEITO DA ESPLENECTOMIA TOTAL NO PERFIL LIPÍDICO DE
CAMUNDONGOS BALB/C**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória - EMESCAM, em cumprimento parcial dos requisitos do grau de Mestre em Farmácia, orientador: Prof. Dr. Celso Antônio de Almeida Paulino.

VITÓRIA
2011

BIANCA LACERDA DEMUNER
GOTARDO ZINI PINHO
JOÃO CUNHA THOMAZ

**EFEITO DA ESPLENECTOMIA TOTAL NO PERFIL LIPÍDICO DE
CAMUNDONGOS BALB/C**

Trabalho de Conclusão de
Curso apresentado a Escola
Superior de Ciências da Santa
Casa de Misericórdia de
Vitória – EMESCAM, como
requisito parcial para obtenção
do grau de médico.

Orientador: Prof^o. Danilo Nagib
Salomão Paulo.

VITÓRIA
2011

BIANCA LACERDA DEMUNER

GOTARDO ZINI PINHO

JOÃO CUNHA THOMAZ

**EFEITO DA ESPLENECTOMIA TOTAL NO PERFIL LIPÍDICO DE
CAMUNDONGOS BALB/C.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória – EMESCAM, como requisito parcial para obtenção do grau de médico.

Aprovada em 30 de junho de 2011.

COMISSÃO EXAMINADORA



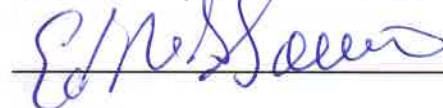
Prof^o. Danilo Nagib Salomão Paulo

Escola Superior de Ciências da Santa Casa de
Misericórdia de Vitória – EMESCAM

Orientador



Paulo Henrique Nicoli Mansur



Prof^o. Edson Ricardo Loureiro

Escola Superior de Ciências da Santa Casa de
Misericórdia de Vitória – EMESCAM

AGRADECIMENTOS

A realização desse projeto está sendo possível pelo concurso de inúmeras pessoas. Àqueles que transmitiram seus conhecimentos e experiências profissionais, com muita dedicação, expresso o meu agradecimento. Em especial agradeço à Roberta e à Marcela do Centro de Pesquisa da Emescam que colaboraram ativamente com o projeto, ao Laboratório São Marcos onde estão sendo realizados os exames do experimento sempre com muita confiabilidade. Em particular agradeço ao financiamento do Instituto Solidário e da FAPES.

RESUMO

A importância do baço no sistema imune é evidente e bem documentada. Um assunto ainda controverso é a influência do baço no metabolismo lipídico, tema que vem sendo relatado em estudos clínicos e experimentais. Com intuito de analisar o efeito da esplenectomia total nos níveis plasmáticos de colesterol total, triglicerídeos, LDL, VLDL e HDL, em um modelo experimental, deu-se início o presente estudo. Foram utilizados 30 camundongos isogênicos da linhagem BALB/c, machos, com aproximadamente quatro semanas de idade, peso entre 20 e 30 gramas e distribuídos em 3 grupos: Grupo 1 – 10 animais, controle (não operados); Grupo 2 – 10 animais, simulado (manipulação esplênica); Grupo 3 – 10 animais, esplenectomia total. Os animais foram submetidos à coleta de sangue, para dosagem de lipídeos plasmáticos, em três momentos diferentes: início do estudo, 30º dia do experimento e 75º do experimento. Foram comparados os valores dos lipídeos entres os referidos momentos. No grupo controle houve aumento do colesterol total ($p= 0,003$) e do LDL ($p= 0,001$), no 75º dia do estudo. No grupo simulação houve aumento de VLDL no 30º dia ($p= 0,04$), no 75º dia ($p= 0,03$) e do triglicerídeo no 30º dia ($p= 0,04$) e no 75º dia ($p= 0,03$). No grupo esplenectomia não houve alteração significativa em nenhuma fração estudada. Concluiu-se então, que diferente do observado por outros autores em experimentos com cães, ratos e coelhos, a esplenectomia total não provoca alterações dos níveis de lipídeos em camundongos Balb/c. Tal fato pode ser justificado por uma diferença no metabolismo lipídico desses animais.

Palavras-chave: Metabolismo lipídico; colesterol total; triglicerídeos; LDL; VLDL; HDL; esplenectomia; manipulação esplênica.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1: Sequência cronológica dos procedimentos realizados nos três grupos (controle, simulado e esplenectomia total) de camundongos Balb/c analisados quanto ao perfil lipídico Página 11
- Gráfico 1 – Colesterol total nos três grupos (controle, simulado e esplenectomia total) de camundongos Balb/c no início do estudo, no 30º dia e no 75º dia do experimento. As colunas representam a média aritmética e desvio- padrão, * $p < 0,05$ (Teste t de Student para amostras relacionadas) Página 14
- Gráfico 2 – VLDL-c nos três grupos (controle, simulado e esplenectomia total) de camundongos Balb/c no início do estudo, no 30º dia e no 75º dia do experimento. As colunas representam a média aritmética e desvio- padrão, * $p < 0,05$ (Teste t de Student para amostras relacionadas) Página 15
- Gráfico 3 – Triglicerídeos nos três grupos (controle, simulado e esplenectomia total) de camundongos Balb/c no início do estudo, no 30º dia e no 75º dia do experimento. As colunas representam a média aritmética e desvio- padrão, * $p < 0,05$ (Teste t de Student para amostras relacionadas) Página 16

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 MÉTODO	9
3 RESULTADOS	12
4 DISCUSSÃO	17
5 CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS	20
APÊNDICES	22
APÊNDICE A. Relação das tabelas Número 1 ao Número 6, referente à Média Aritmética, Desvio Padrão, e p-valor do peso, colesterol total, HDL, LDL, VLDL e triglicerídeos.	23
APÊNDICE B – Relação dos quadros referentes ao resultados laboratoriais e pesos dos camundongos Balb/c do grupo controle	26
APÊNDICE C – Relação dos quadros referentes ao resultados laboratoriais e pesos dos camundongos Balb/c do grupo simulação	28
APÊNDICE D – Relação dos quadros referentes ao resultados laboratoriais e pesos dos camundongos Balb/c do grupo esplenectomia total	30
APÊNDICE E. Dimensões e pesos dos baços retirados dos camundongos Balb/c do grupo esplenectomia total	32

1. INTRODUÇÃO

O baço exerce inúmeras funções no organismo: depuração do sangue através de hemocaterese e remoção de bactérias, produção de anticorpos e linfócitos, regulação do número de leucócitos e plaquetas e metabolismo de todos os metais, dos albuminóides e da bilirrubina indireta.

A influência do baço no metabolismo lipídico vem sendo relatada em estudos com seres humanos e animais de experimentação. King (1914) encontrou o aumento do colesterol em cães após a remoção esplênica. Já, Ham e Furneaux (1969), não constataram alterações na lipase lipoprotéica nem nos lipídios plasmáticos duas semanas após a esplenectomia em cães. Asai et al. (1988) observaram que coelhos que se alimentavam de produtos com altos níveis de colesterol apresentaram aumento significativo de colesterol, triglicérides, fosfolipídios e redução dos níveis de HDL após a retirada do baço em comparação com o grupo simulado. Fatouros et al. (1995) observaram aumento de triglicérides e redução do HDL em ratos esplenectomizados que se alimentaram com dieta normal e com dieta rica em colesterol. Petroianu et al. (2006) também obtiveram esses mesmos resultados em estudo com ratas esplenectomizadas, submetidas a uma dieta com ração balanceada padrão para ratos

Aviram et al. (1986) observaram, após esplenectomia, o aumento de colesterol plasmático e do LDL-colesterol em humanos com desordens mieloproliferativas e baços aumentados. Os autores sugerem um importante papel do baço no metabolismo do colesterol nesses pacientes, uma vez que o baço parece ser um local importante do catabolismo do LDL-colesterol.

Ainda que haja inúmeras evidências da participação do baço no metabolismo lipídico, o assunto ainda é controverso.

Rezende et al. (2007) não constataram aumento de colesterol total nem de triglicérides após a esplenectomia total em camundongos Balb/c. Estes autores sugeriram que o baço não participa da regulação dos níveis de lipídeos plasmáticos nessa espécie de camundongo. O trabalho, no entanto, não apresenta medida dos

níveis de colesterol antes da esplenectomia, apenas comparam os resultados obtidos nos grupos controles e no grupo esplenectomizado no pós-operatório. Os autores alegaram que o metabolismo do camundongo seria diferente do metabolismo de cães e ratos, o que poderia justificar a não alteração lipídica após a esplenectomia.

Diante dessas dúvidas, foi realizado o presente trabalho com o objetivo de verificar o efeito da esplenectomia total nos lipídios plasmáticos de camundongos Balb/c.

2. MÉTODO

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com animais da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória/ES – EMESCAM (Protocolo nº 005/2008).

Inicialmente, foi realizado um estudo piloto, utilizando-se 3 camundongos isogênicos da linhagem BALB/c com peso entre 20 gramas e 30 gramas. O objetivo desse estudo foi o treinamento da técnica anestésica, da técnica cirúrgica e da técnica de coleta de sangue.

No estudo definitivo, foram utilizados 30 camundongos isogênicos da linhagem BALB/c, machos, com aproximadamente quatro semanas de idade e peso entre 20 e 30 gramas. Os animais ficaram alojados no Biotério do Centro de Pesquisa da Emescam, em gaiolas coletivas padrão com capacidade para até 10 camundongos, em gabinetes climatizados Vidy. Nestes locais, foram mantidas a temperatura e umidade ambientes de 21-22° C e 50-55%, respectivamente, de acordo com as recomendações de Chorilli (2007).

A alimentação foi constituída por ração padrão para animais de laboratório – Nuvilab CR-1 autoclavável. Observando-se que camundongos da linhagem BALB/c consomem em média 5g de ração/dia/adulto e 6 mL de água/dia/adulto, esses valores foram utilizados como referência na administração dos suprimentos. Os animais foram pesados no início, durante e no final do experimento.

Os camundongos foram distribuídos em 3 grupos: Grupo 1 – 10 animais, controle (não operados); Grupo 2 – 10 animais, simulado (manipulação esplênica); Grupo 3 – 10 animais, esplenectomia total. A distribuição foi realizada por uma bioterista que desconhecia a que grupo pertencia cada animal. Cada camundongo foi identificado com uma marca na cauda e colocado em uma caixa distinta, com o nome do grupo a que pertencia. Em cada caixa foram colocados de um a quatro animais com ração e água à vontade.

Iniciado o experimento, os animais foram pesados (balança eletrônica Filizola – sensibilidade de 1g), identificados com marcas na cauda e submetidos à coleta de sangue após um jejum de 6 horas, com retirada de até 10 % de sua volemia. Considerando que cada animal possui em média 80 ml de sangue por quilograma de massa corpórea e que o peso de cada camundongo era, em média, de 20 a 30 gramas, foram retirados pela veia caudal cerca de 0,16 a 0,24 ml de sangue. A técnica de sangria caudal foi realizada após a antissepsia da cauda do animal com álcool a 70%. O animal foi colocado dentro de um funil de boca larga e imobilizado em um suporte. A cauda do camundongo ficou inclinada para a posição vertical e foi aquecida com água morna entre 30 e 60 segundos. Após, fez-se uma secção transversal na cauda do animal com retirada dos 5 mm distais. Foi colocado um tubo na posição de sangria e o sangue foi colhido em quantidade já referida. Por fim, cada camundongo foi devolvido à gaiola e mantido sob observação.

Para a dosagem dos lípides plasmáticos (concentrações de triglicérides, colesterol total e HDL), foi utilizado o método laboratorial enzimático colorimétrico semi-automatizado, enquanto as concentrações das frações do colesterol VLDL e LDL foram calculadas pela fórmula de Friedewald ($CT = LDL-c + HDL-c + TG/5$). A dosagem dos lípides foi feita no aparelho “Siemens Dimension RxLMax”.

Quinze dias após a coleta de sangue, enquanto os animais do grupo 1 foram mantidos em suas gaiolas e continuaram a receber dieta padrão e água, os animais dos grupos 2 e 3 foram submetidos às cirurgias propostas na seguinte seqüência:

- Anestesia com uma mistura de cloridrato de xilazina (10mg/kg lab. König. S.A Argentina) e KETAMIN-S(+)[®] (cloridrato de S(+) cetamina 100mg/kg) (CRISTALIA Rod. Itapira-Lindóia km14-Ponte Preta cep 13970-000, Itapira, São Paulo, Brasil) ; depilação das paredes abdominal e torácica ventral; antissepsia das paredes abdominal e torácica ventral com PVPI tópico, e colocação de um campo operatório para delimitar o local da laparotomia; incisão longitudinal, mediana, da pele e subcutâneo, iniciada abaixo do processo xifóide em direção ao púbis; abertura da linha alba e peritônio; e exame da cavidade abdominal. No grupo 2, foi realizada apenas a manipulação do baço. No grupo 3, foi realizada esplenectomia total na seguinte seqüência: o estômago foi tracionado para fora da cavidade abdominal e, assim, o baço ficou exposto; três ligaduras rentes ao baço permitiram a secção dos

vasos e a retirada desse órgão que foi pesado e fixado em formol. A parede abdominal foi suturada em dois planos, com mononáilon 6.0, chuleio simples: no primeiro, o peritônio e o plano músculo aponeurótico e, no segundo, a pele. Após recuperação anestésica, os animais foram devolvidos às suas gaiolas, onde receberam dieta padrão, água e analgésico. A nova coleta de sangue para dosagem dos lípides plasmáticos foi realizada no 30º dia após o início do estudo em todos os animais, o que correspondeu ao 15º dia de pós operatório dos grupos 2 e 3. No 75º dia do experimento, o que correspondeu ao 60º dia de pós operatório, foram realizadas novas coletas nos animais dos três grupos. A sequência dos eventos do estudo pode ser observada na figura 1.

Foram utilizadas as seguintes análises estatísticas: a- Estatística descritiva para calcular a média aritmética e desvio padrão das variáveis: peso dos camundongos, níveis de lípides plasmáticos. b- O teste t de Student para amostras relacionadas a fim de comparar os valores do colesterol e frações do pré-operatório com os do pós-operatório. Esse teste também foi utilizado para comparar o peso do pré-operatório com o do pós-operatório num mesmo grupo. Os valores de "p" foram considerados significantes quando menores que 0,05.

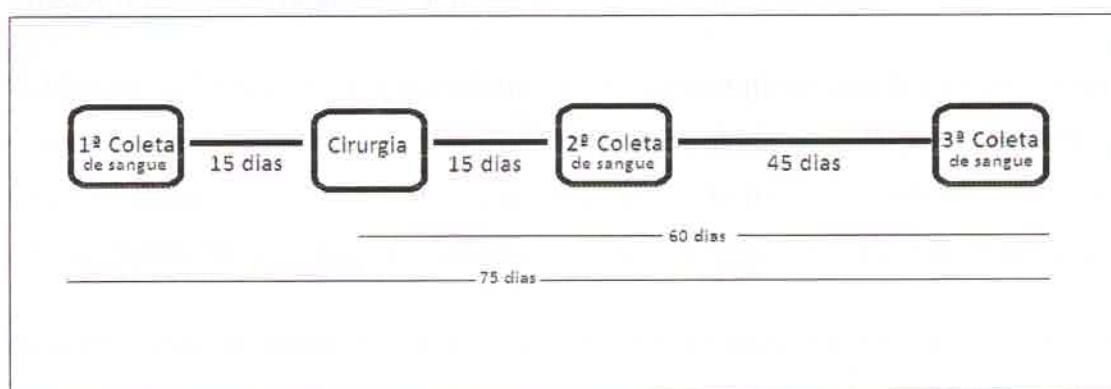


Figura 1 – Sequência cronológica dos procedimentos realizados nos três grupos (controle, simulado e esplenectomia total) de camundongos Balb/c analisados quanto ao perfil lipídico

3. RESULTADOS

Não houve alteração significativa dos pesos do início do experimento para o 30º dia do estudo nos três grupos, como pode ser observado na tabela 1 (localizada no Apêndice A). Porém, o grupo controle apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) de peso quando comparado o peso inicial com o 75º dia do experimento e quando comparado o peso no 30º dia com o 75º dia do estudo. Nos grupos simulação e esplenectomia total, as alterações de peso observadas no 60º dia de pós operatório não foram significativas quando comparados os pesos no início e no 30º dia do estudo.

Houve dois óbitos no grupo esplenectomia total e um óbito no grupo simulação. A causa do óbito do primeiro animal submetido a esplenectomia não ficou definida. Ocorreu no primeiro dia de pós operatório e a necropsia evidenciou alças intestinais de aspecto gelatinoso. Já o segundo animal faleceu no quarto dia de pós operatório, e a necropsia mostrou alças de intestino delgado distendidas, sem sinais de perfuração; não havia líquido ou sangue na cavidade, e havia restos alimentares em estômago, intestino delgado e intestino grosso. O animal do grupo simulação foi encontrado morto na gaiola, sem causa definida para o óbito.

A técnica cirúrgica de esplenectomia total foi exequível em todos os casos. Durou cerca de 40 minutos. O início da operação foi contado a partir da incisão na pele, e o término após o último ponto de sutura aplicado na pele. Não foram observadas hemorragias, deiscências de suturas ou infecções de paredes nos grupos operados.

Não foi possível realizar a dosagem dos lípides plasmáticos em três amostras de sangue do grupo simulação e uma amostra do grupo controle por apresentarem hemólise significativa.

Durante o experimento, sete amostras de sangue apresentaram frações de lípides com valores que não possibilitaram o cálculo da fração LDL-c através da fórmula de Friedewald. Os testes laboratoriais foram repetidos nestas amostras. Após confirmação dos valores dos lípides encontrados inicialmente, estes foram excluídos do cálculo da média aritmética e do desvio padrão dos lípides.

Os resultados das dosagens de colesterol total, HDL, LDL, VLDL e triglicerídeos nos camundongos operados e não operados podem ser observados nas tabelas 2 a 6 (Apêndice A).

No gráfico 1, observa-se um aumento significativo de colesterol total no grupo controle, quando a média aritmética e desvio padrão do início do experimento são comparados com o 75º dia do estudo ($p=0,003$). As demais alterações dos valores de colesterol não foram significativas.

Na tabela 3 (localizada no Apêndice A), verifica-se alterações de HDL sem significância estatística nos três grupos estudados, durante todo o experimento.

Na tabela 4, (localizada no Apêndice A) observa-se um aumento do LDL no grupo controle no 75º dia do experimento quando comparado ao valor inicial ($p_1= 0,001$) e no grupo simulação quando comparado o valor do 30º dia com o 75º dia do estudo ($p_2= 0,04$).

No gráfico 2, observa-se que o grupo simulação apresentou aumento da fração VLDL no 30º e 75º dia do estudo.

No gráfico 3, verifica-se aumento dos triglicerídeos no 30º e 75º dia do experimento nos animais submetidos à manipulação esplênica.

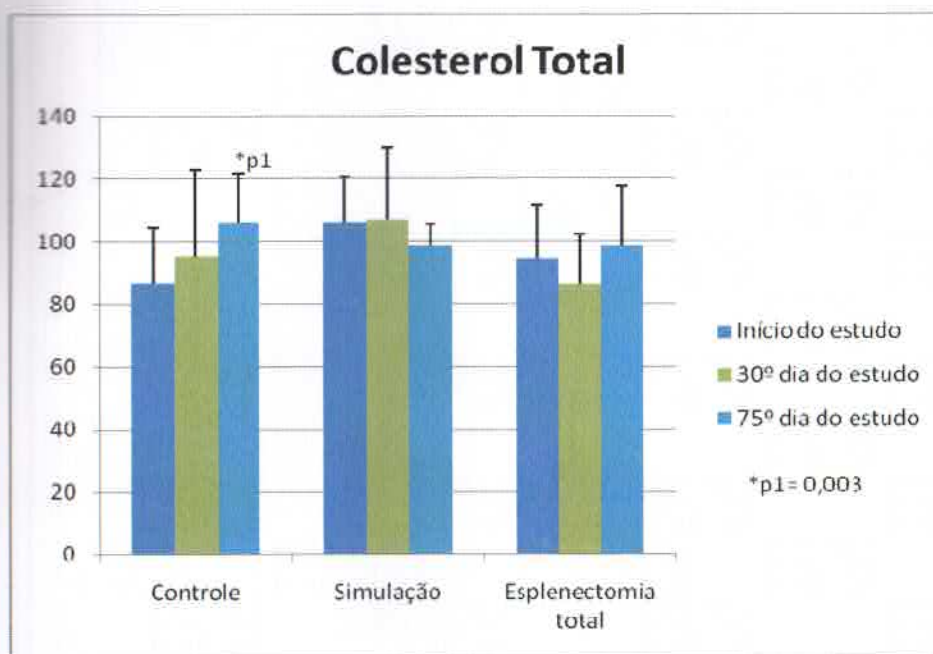


Gráfico 1 – Colesterol total nos três grupos (controle, simulado e esplenectomia total) de camundongos Balb/c no início do estudo, no 30º dia e no 75º dia do experimento. As colunas representam a média aritmética e desvio-padrão, * $p < 0,05$ (Teste t de Student para amostras relacionadas)

*p1 = Relaciona os valores do início do estudo com o 75º dia

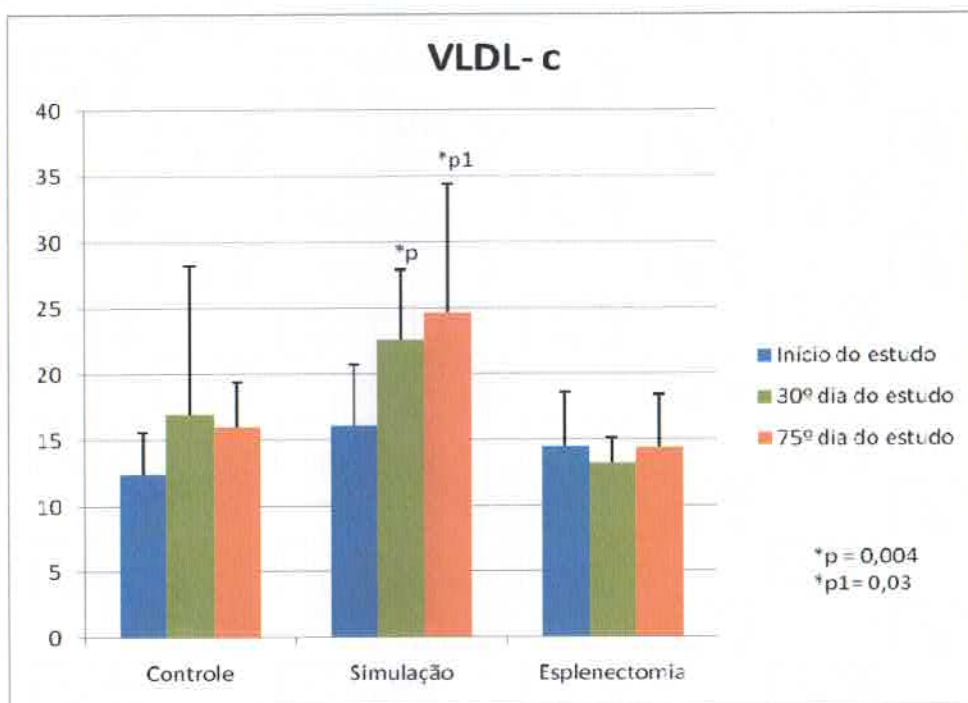


Gráfico 2 – VLDL-c nos três grupos (controle, simulado e esplenectomia total) de camundongos Balb/c no início do estudo, no 30º dia e no 75º dia do experimento. As colunas representam a média aritmética e desvio-padrão, *p < 0,05 (Teste t de Student para amostras relacionadas)

*p = Relaciona os valores do início do estudo com o 30º dia

*p1 = Relaciona os valores do início do estudo com o 75º dia

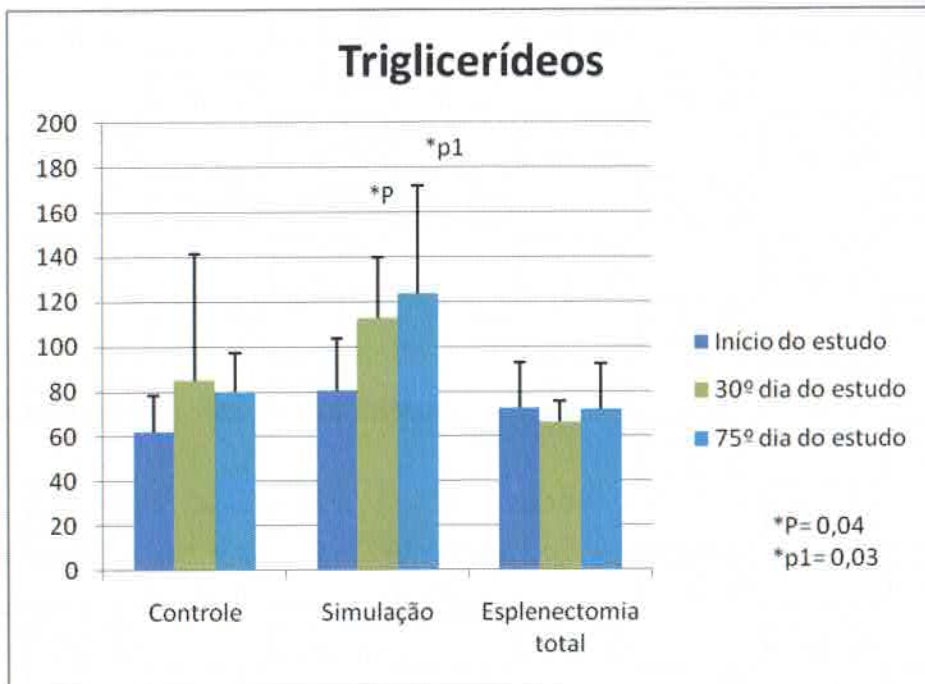


Gráfico 3 – Triglicerídeos nos três grupos (controle, simulado e esplenectomia total) de camundongos Balb/c no início do estudo, no 30º dia e no 75º dia do experimento. As colunas representam a média aritmética e desvio-padrão, $p < 0,05$ (Teste t de Student para amostras relacionadas)

*p = Relaciona os valores do início do estudo com o 30º dia

*p1 = Relaciona os valores do início do estudo com o 75º dia

4. DISCUSSÃO

Quando se compara o peso do início do experimento com o peso ao final do experimento e o peso do 30° dia com o 75° dia do estudo, observa-se que os animais que apresentaram ganho de peso significativo ($p < 0,05$) pertenciam ao grupo controle. Esse resultado pode estar associado ao fato de tais animais não terem sido submetidos ao estresse cirúrgico, o que pode ter favorecido uma alimentação regular durante todo o período do estudo. Os animais submetidos a procedimentos cirúrgicos não mostraram alterações significativas de peso.

A sobrevivência foi de 90% (27/30), sendo dois dos óbitos no pós-operatório da esplenectomia total, sem evidência de sangramento ou definição da causa na necropsia, e um óbito no grupo simulação.

O manejo dos animais durante todo o experimento foi conduzido sem dificuldades. A técnica cirúrgica de esplenectomia total e manipulação esplênica foram exequíveis em todos os casos. Não foram observadas complicações intra ou pós-operatórias. A técnica de coleta de sangue foi efetiva e o volume das amostras foi suficiente para as dosagens das frações lipídicas pretendidas. As hemólises ocorridas em duas amostras podem ser justificadas por possíveis falhas durante a coleta de sangue: 1) Contato da amostra com a água utilizada para aquecer a cauda do camundongo? 2) Lise provocada por ordenha excessiva da cauda do animal? Quanto aos resultados que não possibilitaram o cálculo da fração LDL, levantou-se duas hipóteses: erro na dosagem laboratorial e a não adequação da fórmula de Friedewald para o modelo experimental em estudo.

Quando se analisa os níveis de lípidos nos três grupos de animais, observa-se que os camundongos do grupo controle e do grupo simulado apresentaram alterações lipídicas significativas. Houve aumento de colesterol total e LDL no grupo controle e de triglicerídeos, LDL e VLDL no grupo simulação. Estes achados podem estar relacionados ao maior ganho de peso no grupo controle. Porém, não há explicações, até o momento, para as alterações referidas no grupo simulação. É importante ressaltar que, assim como nos humanos, outros fatores podem estar associados a um maior risco de dislipidemia. Dentre eles, a predisposição genética, dieta

inadequada, obesidade e sedentarismo (IV DIRETRIZ BRASILEIRA SOBRE DISLIPIDEMIAS E PREVENÇÃO DA ATEROSCLEORES, 2007).

O grupo submetido à esplenectomia total não apresentou alterações significativas das frações lipídicas em nenhum momento do estudo. Estes resultados vão ao encontro do relatado por Rezende et al. (2007). No entanto, diferem dos resultados encontrados em cães esplenectomizados, descritos por Paulo e Silva (2001), com o primeiro trabalho publicado sobre o assunto no Brasil. Os autores evidenciaram aumento significativo do colesterol total, das frações HDL e LDL, enquanto os níveis de triglicérides e a fração VLDL não sofreram alterações.

A participação do baço no metabolismo lipídico ainda é tema controverso. Asai (1988), Fatouros (1995) e Petroianu (2006) também estudaram diferentes modelos experimentais e evidenciaram significativas alterações no perfil lipídico de animais esplenectomizados.

Estudos clínicos e experimentais procuram determinar quais as reais funções do baço no metabolismo lipídico. Diante de tantas controvérsias e da elevada morbidade e mortalidade das complicações por doenças ateromatosas, torna-se necessário, novas pesquisas em modelos experimentais com perfil metabólico mais próximo dos seres humanos.

5. CONCLUSÃO

A análise dos resultados encontrados permitiu concluir que a esplenectomia total em camundongos da linhagem Balb/c não induz aumento significativo do triglicérido, colesterol total e das frações HDL, LDL, VLDL.

REFERÊNCIAS

- ALBERTI, L.R. et al. Mortalidade pós-esplenectomia em modelo animal. **Einstein**, São Paulo, v. 6, n. 2, p. 151-154, 2008.
- ALWMARK, A. et al. Increased susceptibility of hypersplenic rats to infection with pneumococci. **Eur Surg Res**, [S.I.], v. 15, p. 92-96, 1983.
- ANDERSSON, R. et al. Influence of dextran on pneumococcal septicemia in splenic artery-ligated or splenectomized rats. **Res Exp Med**, Berlim, v. 187, n. 6, p. 423-427, 1987.
- ANDERSSON, R.; ALWMARK, A.; BENGMARK, S. Outcome of pneumococcal challenge in rats after splenic artery ligation or splenectomy. **Acta Chir Scand**, [S.I.], v. 152, p. 15-17, jan. 1986.
- ARQUIVOS BRASILEIROS DE CARDIOLOGIA. IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose. [S.I.], Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia, v. 88, 2007. Suplemento I.
- ASAI, K. et al. Effects of splenectomy on serum lipids and experimental atherosclerosis. **Angiology**, New York, v. 39, n.6, p. 497-504, jun. 1988.
- AVIRAM, M. et al. Increased low-density lipoprotein levels after splenectomy: a role for the spleen in cholesterol metabolism in myeloproliferative disorders. **Am J Med Sci**, Philadelphia, v. 291, n. 1, p. 25-28, jan. 1986.
- CALIGIURI, G. et al. Protective immunity against atherosclerosis carried by B cells of hypercholesterolemic mice. **J Clin Invest**, [S.I.], v. 109, n. 6, p. 745-753, mar. 2002.
- CHORILLI, M.; MICHELIN, D.C.; SALGADO, H.R.N. Animais de laboratório: o camundongo. **Rev. Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**, [S.I.], v. 28, n.1, p. 11- 23, 2007.
- FATOUROS, M. et al. Role of the spleen in lipid metabolism. **Br J Surg**, Bristol, v. 82, n. 12, p. 1675-1677, dec. 1995.

- HAM, J.M.; FURNEAUX R.W. The effect of splenectomy on blood platelets and lipoprotein lipase activity in the dog. **Brit J Surg**, British, v. 56, n. 7, p. 527-530, jul. 1969.
- HARTMUT, H.; SIEGFRIED, W. The spleen as a storage pool in lipid metabolism. **Am J Gastroenterol**, [S.I.], v.92, n. 6, jun. 1997.
- KING, J.H. Studies in the pathology of the spleen. **Arch Intern Med**, [S.I.], v. 14, p. 145-167, 1914.
- PAULO, D.N.S.; SILVA, A.L. Lipídios plasmáticos após esplenectomia total e parcial em cães. **Rev. Col. Bras. Cir.**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 4, p. 264-270, jul./ago. 2001.
- PAULO, I. C. A. L. et al. Níveis de lípidos plasmáticos em ratos submetidos à esplenectomia total, ligadura simultânea dos vasos esplênicos e à esplenectomia subtotal. **Rev. Col. Bras. Cir.**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 1, p. 229-236, 2005.
- PETROIANU, A. et al. Efeitos de operações sobre o baço no lipidograma de ratas. **Rev Assoc Med Bras**, São Paulo, v. 52, n.1, p. 56-59, fev. 2006.
- PETROVIC, M. et al. Intraoperative and postoperative complications of splenectomy. **Acta Chir Iugosl**, [S.I.], v. 49, n. 3, p. 81-84, 2002.
- REZENDE, A.B. et al. Influência do baço, da asplenia e do implante esplênico autógeno no metabolismo lipídico de camundongos. **Rev. Col. Bras. Cir.**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 3, p. 177-182, jun. 2007.
- ROBINETTE, C.D.; FRAUMENI JUNIOR, J.F. Splenectomy and subsequent mortality in veterans of the 1939-45 war. **The Lancet**, London, v. 310, n. 8029, p. 127-129, jul. 1977.
- SILVA, M.M. et al. Papel do baço no perfil lipídico – Estudo Experimental. **Arq Bras Cir Dig**, [S.I.], v. 15, p. 121-124, 2002.
- SUGIHARA, T.; YAWATA, Y. Observations on plasma and red cell lipids in hereditary spherocytosis. **Clin Chim Acta**, [S.I.], v. 137, n. 2, p.227-232, feb. 1984.

APÊNDICE A – Relação das tabelas Número 1 ao Número 6, referente à Média Aritmética, Desvio Padrão, e p-Valor do peso, colesterol total, HDL, LDL, VLDL e triglicerídeos.

Tabela 1 - O peso (em gramas) dos animais imediatamente antes de cada coleta de sangue, durante todo o experimento

	Peso inicial		Peso no 30º dia			Peso no 75º dia			
	M.A	DP	M.A	DP	P	M.A	DP	p1	p2
Controle n=10	26,40 ± 4,11		27,40 ± 5,08		0,11	28,70 ± 5,33		0,004	0,01
Simulação n=10	27,5 ± 3,65		27,90 ± 7,72		0,30	28,00 ± 1,87		0,43	0,75
Esplenectomia Total n=10	24,60 ± 4,16		24,62 ± 5,26		0,63	26,0 ± 4,40		0,24	0,06

p = Relaciona os valores do início do estudo com o 30º dia

p1 = Relaciona os valores do início do estudo com o 75º dia

p2 = Relaciona os valores de 30º dia do estudo com o 75º dia

Tabela 2- Do colesterol total em camundongos operados (esplenectomia total e simulação) ou não operados

	Coleta inicial		Coleta do 30º dia			Coleta do 75º dia			
	M.A	DP	M.A	DP	P	M.A	DP	p1	p2
Controle n=10	86,50 ± 17,95		95,62 ± 27,37		0,61	106,10 ± 15,70		0,003	0,52
Simulação n=10	106,12 ± 14,69		106,85 ± 23,03		0,91	98,87 ± 6,51		0,17	0,51
Esplenectomia Total n=10	94,60 ± 16,94		86,37 ± 15,76		0,38	98,66 ± 19,14		0,97	0,38

p = Relaciona os valores do início do estudo com o 30º dia

p1 = Relaciona os valores do início do estudo com o 75º dia

p2 = Relaciona os valores de 30º dia do estudo com o 75º dia

Tabela 3- Do HDL-colesterol em camundongos operados (esplenectomia total e simulação) ou não operados

	Coleta inicial		Coleta do 30º dia			Coleta do 75º dia				
	M.A	DP	M.A	DP	P	M.A	DP	p1	p2	
Controle n=10	54,10 ± 16,86		60,62 ± 14,25			0,85	60,33 ± 13,75		0,40	0,93
Simulação n=10	55,0 ± 15,82		50,14 ± 9,51			0,67	56,0 ± 5,01		0,86	0,24
Esplenectomia Total n=10	59,10 ± 9,76		50,75 ± 13,33			0,23	57,16 ± 13,52		0,46	0,43

p = Relaciona os valores do início do estudo com o 30º dia

p1 = Relaciona os valores do início do estudo com o 75º dia

p2 = Relaciona os valores de 30º dia do estudo com o 75º dia

Tabela 4- Do LDL- colesterol em camundongos operados (esplenectomia total e simulação) ou não operados

	Coleta inicial		Coleta do 30º dia			Coleta do 75º dia				
	M.A	DP	M.A	DP	P	M.A	DP	p1	p2	
Controle n=10	20,00 ± 13,11		17,97 ± 10,56			0,94	29,80 ± 10,77		0,001	0,10
Simulação n=10	33,77 ± 11,52		34,14 ± 14,13			0,97	19,07 ± 11,67		0,07	0,04
Esplenectomia Total n=10	21,0 ± 7,41		22,25 ± 9,67			0,64	27,1 ± 10,04		0,27	0,61

p = Relaciona os valores do início do estudo com o 30º dia

p1 = Relaciona os valores do início do estudo com o 75º dia

p2 = Relaciona os valores de 30º dia do estudo com o 75º dia

Tabela 5- Do VLDL- colesterol em camundongos operados (esplenectomia total e simulação) ou não operados

	Coleta inicial		Coleta do 30º dia			Coleta do 75º dia				
	M.A	DP	M.A	DP	P	M.A	DP	p1	p2	
Controle n=10	12,4 ± 3,26		17,02 ± 11,24			0,41	16,0 ± 3,40		0,12	0,77
Simulação n=10	16,10 ± 4,61		22,57 ± 5,30			0,004	24,67 ± 9,69		0,03	0,29
Esplenectomia Total n=10	14,50 ± 4,05		13,27 ± 1,90			0,23	14,40 ± 3,95		0,20	0,53

p = Relaciona os valores do início do estudo com o 30º dia

p1 = Relaciona os valores do início do estudo com o 75º dia

p2 = Relaciona os valores de 30º dia do estudo com o 75º dia

Tabela 6- Do triglicerídeo em camundongos operados (esplenectomia total e simulação) ou não operados

	Coleta inicial		Coleta do 30º dia			Coleta do 75º dia				
	M.A	DP	M.A	DP	P	M.A	DP	p1	p2	
Controle n=10	62,0 ± 16,32		85,12 ± 56,22			0,41	79,88 ± 17,13		0,13	0,76
Simulação n=10	80,50 ± 23,08		112,87 ± 26,52			0,04	123,37 ± 48,47		0,03	0,29
Esplenectomia Total n=10	72,50 ± 20,29		66,25 ± 9,46			0,22	72,0 ± 19,79		0,20	0,53

p = Relaciona os valores do início do estudo com o 30º dia

p1 = Relaciona os valores do início do estudo com o 75º dia

p2 = Relaciona os valores de 30º dia do estudo com o 75º dia

Apêndice B – Relação dos quadros referentes aos resultados laboratoriais e pesos dos camundongos Balb/c do grupo controle

Grupo	Gaiola	Animal	Peso (g)	HDL-c	CT	TG	LDL	VLDL
Controle	C 09	I	30	67	94	96	7,8	19,2
		II	28	60	87	73	12,4	14,6
		III	30	66	91	76	9,8	15,2
	C25	I	28	66	107	60	29	12
		II	26	74	107	63	20,4	12,6
		III	21	33	70	51	26,8	10,2
	C26	I	27	67	100	63	20,4	12,6
	C27	I	22	43	65	42	13,6	8,4
	C28	I	20	30	90	46	50,8	9,2
C29	I	32	35	54	50	9	10	

Quadro I - Lipidograma e peso dos camundongos Balb/c do grupo controle no início do estudo

Grupo	Gaiola	Animal	Peso (g)	HDL-c	CT	TG	LDL	VLDL
Controle	C 09	I	31	70	106	45	27	9
		II	30	69	97	56	16,8	11,2
		III	31	63	88	57	13,6	11,4
	C25	I *	32	67	70	150	-	-
		II	28	70	121	200	11	40
		III *	22	48	55	35	-	-
	C26	I	29	70	117	127	21,6	25,4
	C27	I	19	47	60	30	7	6
	C28	I	20	31	52	62	8,6	12,4
	C29	I	32	65	124	104	38,2	20,8

Quadro II – Lipidograma e peso dos camundongos Balb/c do grupo controle no 30º dia no estudo

* Valores que não possibilitaram o cálculo do LDL-c

Grupo	Gaiola	Animal	Peso (g)	HDL-c	CT	TG	LDL	VLDL
Controle	C 09	I	32	72	108	58	24,4	11,6
		II	31	71	104	60	21	12
		III	33	80	112	67	18,6	13,6
	C25	I	34	60	109	92	30,6	18,4
		II	30	60	113	113	30,4	22,6
		III	22	41	85	79	28,2	15,8
	C26	I	30	59	111	86	34,8	17,2
	C27	I**	23	-	-	-	-	-
	C28	I	19	38	80	85	25	17
	C29	I	33	62	133	79	55,2	15,8

Quadro III - Lipidograma e peso dos camundongos Balb/c do grupo controle no 75º dia no estudo

** Amostra hemolisada

APÊNDICE C – Relação dos quadros referentes ao resultados laboratoriais e pesos dos camundongos Balb/c do grupo simulação

Grupo	Gaiola	Animal	Peso (g)	HDL-c	CT	TG	LDL	VLDL
Simulação	C 30	I	27	62	105	107	21,6	21,4
		II	24	34	97	72	48,6	14,4
		III *	22	47	62	93	-	-
		IV	22	37	115	124	53,2	24,8
	C31	I *	32	47	80	174	-	-
	C32	I	31	71	122	75	36	15
	C33	I	29	70	122	62	29,6	12,4
	C34	I	30	62	100	76	22,8	15,2
	C35	I	28	38	78	56	28,8	11,2
	C36	I	30	66	110	72	29,6	14,4

Quadro IV - Lipidograma e peso dos camundongos Balb/c do grupo simulação no início do estudo

* Valores que não possibilitaram o cálculo do LDL-c

Grupo	Gaiola	Animal	Peso (g)
Simulação	C 30	I	30
		II	27
		III	25
		IV	25
	C31	I	33
	C32	I	33
	C33	I	32
	C34	I	31
	C35	I	30
	C36	I	32

Quadro V – Peso dos camundongos Balb/c do grupo simulação no dia do procedimento cirúrgico

Grupo	Gaiola	Animal	Peso (g)	HDL-c	CT	TG	LDL	VLDL
Simulação	C 30	I	28	57	116	129	33,2	25,8
		II	25	50	123	115	50	23
		III	24	52	118	142	37,6	28,4
		IV	24	58	115	119	33,2	23,8
	C31	I	32	30	60	119	6,2	23,8
	C32	I	30	55	123	108	46,4	21,6
	C33	I **	30	-	-	-	-	-
	C34	I	29	49	93	58	32,4	11,6
	C35	I **	28	-	-	-	-	-
	C36	I *	29	39	50	190	-	-

Quadro VI – Lipidograma e peso dos camundongos Balb/c do grupo simulação no 30º dia do estudo

* Valores que não possibilitaram o cálculo do LDL-c

** Amostra hemolisada

Grupo	Gaiola	Animal	Peso (g)	HDL-c	CT	TG	LDL	VLDL
Simulação	C 30	I	30	60	107	80	31	16
		II	28	55	99	101	23,8	20,2
		III	26	57	100	193	4,4	38,6
		IV	25	52	94	180	6	36
	C31	I	29	66	110	163	11,4	32,6
	C32	I	31	55	94	117	15,6	23,4
	C33	I (†)	-	-	-	-	-	-
	C34	I	28	-	-	-	-	-
	C35	I	27	52	94	75	27	15
	C36	I	28	51	93	78	26,4	15,6

Quadro VII – Lipidograma e peso dos camundongos Balb/c do grupo simulação no 75º dia do estudo

(†) – Óbito

APÊNDICE D – Relação dos quadros referentes ao resultados laboratoriais e pesos dos camundongos Balb/c do grupo esplenectomia total

Grupo	Gaiola	Animal	Peso (g)	HDL-c	CT	TG	LDL	VLDL
Esplenectomia Total	C 19	I	29	73	124	104	30,2	20,8
		II	30	71	112	101	20,8	20,2
	C21	I	22	60	90	58	18,4	11,6
		II	21	63	100	86	19,8	17,2
		III	21	60	88	80	12	16
	C 20	I	20	50	80	58	18,4	11,6
		II	20	40	70	70	16	14
	C 22	I	26	52	88	57	24,6	11,4
		II	29	60	82	41	13,8	8,2
		III	28	62	112	70	36	14

Quadro VII – Lipidograma e peso dos camundongos Balb/c do grupo esplenectomia total no início do estudo

Grupo	Gaiola	Animal	Peso (g)
Esplenectomia Total	C21	I	23
		II	22
		III	21
	C19	I	30
		II	30
	C22	I	28
		II	32
		III	32
	C20	I	20
		II	20

Quadro VIII – Peso dos camundongos Balb/c do grupo esplenectomia total no dia do procedimento cirúrgico

Grupo	Gaiola	Animal	Peso (g)	HDL-c	CT	TG	LDL	VLDL
Esplenectomia Total	C 19	I (†)	-	-	-	-	-	-
		II	29	58	93	61	22,8	12,2
	C 21	I	23	61	92	69	17,2	13,8
		II	20	64	114	56	37,8	11,2
		III (†)	-	-	-	-	-	-
	C 20	I	18	38	65	56	15,8	11,2
		II	19	30	79	80	33	16
	C 22	I	27	40	80	79	24,2	15,8
		II	30	65	97	61	19,8	12,2
		III	31	50	71	68	7,4	13,8

Quadro IX – Lipidograma e peso dos camundongos Balb/c do grupo esplenectomia total no 30º dia do estudo

(†) – Óbito

Grupo	Gaiola	Animal	Peso (g)	HDL-c	CT	TG	LDL	VLDL
Esplenectomia Total	C 19	I (†)	-	-	-	-	-	-
		II	30	68	104	90	18	18
	C 21	I *	24	65	96	207	-	-
		II *	20	59	93	342	-	-
		III (†)	-	-	-	-	-	-
	C 20	I	21	46	80	96	14,8	19,2
		II	24	39	81	43	33,4	8,6
	C 22	I	27	51	87	59	24,2	11,8
		II	31	69	113	67	30,6	13,4
		III	31	70	127	77	41,6	15,4

Quadro X – Lipidograma e peso dos camundongos Balb/c do grupo esplenectomia total no 75º dia do estudo

* Valores que não possibilitaram o cálculo do LDL-c

(†) – Óbito

APÊNDICE E - Dimensões e pesos dos baços retirados dos camundongos Balb/c do grupo esplenectomia total.

Gaiola	Animal	Peso (g)	Baço			
			Peso (g)	Comprimento (mm)	Largura do pólo superior (mm)	Espessura (mm)
C21	I	23	0,105	19	5	2
	II	22	0,111	16	5,5	1,5
	III	21	0,129	16	5	2
C19	I	30	0,140	17	5,5	2
	II	30	0,156	17,5	6	2
C22	I	28	0,144	18	6	1,5
	II	32	0,149	17,5	6	2
	III	32	0,160	16,5	6	2
C20	I	20	0,203	18,5	6,5	2,5
	II	20	0,129	15	5	1,5

Quadro XI – Dimensões e pesos dos baços dos camundongos Balb/c do grupo esplenectomia