Autotransplante de baço em ratos: estudo comparativo da integração em omento maior e musculatura

Splenic autotransplantation in the great omentum or muscle in rats: a comparative study.

Alexandre Pressi[1]
Clairton de Paoli[1]
Glenize de Andrade[1]
Helen Zatti[1]
José Luis Fattore Júnior[1]
Márcio Lerch Stürmer[1]
Marislei Manente[1]
Marco Aurélio Grüdtner[2]
Amarílio Macedo Neto[3]

Resumo

O presente estudo tem como objetivo comparar a integração de fragmentos esplênicos autotransplantados em omento maior e musculatura da região cervical e da coxa de ratos, segundo parâmetros histológicos. Foram utilizadas 45 ratas Wistar, submetidas à esplenectomia e autotransplante de fragmentos esplênicos. Após 21 dias, analisou-se os fragmentos quanto ao grau de necrose, vascularização, regeneração e formação de pseudofolículos. Encontrou-se uma tendência, que não foi estatisticamente significativa, à melhor integração dos implantes em musculatura cervical do que em omento, pois aqueles apresentaram tendência a melhor vascularização e a índices menores de necrose. Os resultados sugerem que a musculatura pode ser uma alternativa para evitar as complicações associadas ao autotransplante esplênico com implante em omento maior.
Palavras-Chave: esplenectomia, autotransplante de baço, transplante de baço.

Summary

To compare the viability of the autotransplanted splenic tissue in the omentum, cervical muscle and thigh muscle is the aim of this study, and it

1. Formandos da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
2. Médico residente do Serviço de Cirurgia Geral do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).
3. Médico contratado do Serviço de Cirurgia Cárdio-Torácica do HCPA. Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Endereço para correspondência: Helen Zatti. Rua Doutor Timóteo, 604/213. Porto Alegre. RS. CEP 90570.040

was tested by histological parameters. Forty five Wistar rats went through a total splenectomy followed by autotransplantation in different sites. After twenty one days the splenic fragments were analised using four topics: necrosis degree, vascularization, regeneration and pseudofolliculos arising. We found out, in cervical muscle, less necrosis and a better vascular proliferation as a tendency of better splenic fragments viability, but without statistical significance. This suggest that muscle implant could become a real good alternative to splenic tissue implantation.

Key Words: *splenectomy, splenic auto-transplantation, splenic transplantation.*

Introdução

O baço é um órgão linfóide cujas funções mais conhecidas são: formação de linfócitos, destruição de eritrócitos (hemocaterese), defesa do organismo e armazenamento de sangue[1,2,3]. Devido a sua localização anatômica, consistência friável e cápsula muito fina, o baço é extremamente propenso a traumatismos[1,2,4].

Durante muito tempo, a esplenectomia total foi a indicação de escolha para o tratamento de lesões traumáticas do baço[5,6,7]. A primeira crítica a esta conduta partiu de Morris & Bullock (1919), que relataram altas taxas de infecção e mortalidade em ratos esplenectomizados[5]. Em 1952, King & Schumacker Jr. descreveram 5 casos de infecção pós esplenectomia total em crianças[5]. Mais recentemente evidenciou-se que pacientes esplenectomizados apresentam um risco 50-200 vezes maior de desenvolver sepse fulminante em relação a população em geral[8,9,10], sendo que nestes casos a taxa de mortalidade é superior a 50%[11].

Parece aceitável que o baço com dano traumático deva ser primeiramente preservado pela aplicação de agentes hemostáticos, esplenorrafia ou esplenectomia parcial. Quando essas técnicas não são possíveis e a esplenectomia torna-se necessária, o autotransplante é indicado para manter a função[12-17], uma vez que vacina polivalente profilática ou antibioticoterapia por longo tempo não protegem completamente contra infecções[10,15,18].

O local onde o fragmento de baço deve ser implantado varia conforme o autor: cavidade peritoneal, omento, parede abdominal ou torácica, tecido adiposo peritesticular, retroperitônio ou fígado[9].

O autotransplante em porções intra-abdominais tem sido a técnica mais amplamente utilizada, embora possa ocasionar complicações como necrose do tecido esplênico com formação de abscessos e potencial risco de peritonite em um paciente já imunodeprimido[6]. Por outro lado, sítios alternativos como a musculatura da parede abdominal, segundo alguns autores, seriam mais favoráveis. O músculo, assim como o omento, conta com intensa vascularização, fator necessário à boa integração de fragmentos de baço autotransplantados[3].

Comparar a viabilidade destes fragmentos autólogos implantados em omento maior e tecido muscular de ratos, com base em características histológicas, constitui o objetivo deste estudo, tendo em vista a escassez de publicações neste

sentido.

Material e Métodos

Foram utilizadas 45 ratas da linhagem Wistar, espécie *Rattus norvegiccus*, com 75 a 80 dias de idade e peso variando entre 170 e 200g. Inicialmente utilizou-se éter como medicação pré-anestesica. Tendo em vista a mortalidade trans ou pós-operatória imediata de 10 ratas, eliminou-se esta técnica, mantendo-se apenas o Tiopental. Apos anestesia com Tiopental (5mg/100g de peso, intraperitoneal) procedeu-se a laparotomia mediana e exploração da cavidade peritoneal para localização do baço e possíveis baços acessórios.

O baço foi retirado da cavidade, tendo seus vasos laqueados com fio inabsorvível 4-0. Realizou-se então a esplenectomia, sendo o baço colocado sobre uma gase embebida em solução salina e cortado em fatias transversais de aproximadamente 1mm de espessura. Foram implantadas fatias da região central do órgão, correspondendo a cerca de 10% do seu tamanho total. Optou-se pelo implante de aproximadamente 10% do tecido esplênico porque a literatura não refere alteração dos resultados obtidos com o uso de 10 a 90% do parênquima do baço[7], no que se refere à integração.

As ratas foram reunidas em 3 grupos conforme o sítio de implante dos fragmentos esplênicos. Em um dos grupos (14 ratas), os fragmentos foram colocados sobre o omento distendido, sendo este dobrado sobre ele mesmo, formando uma bolsa. Esta foi suturada com 2 pontos, com fio inabsorvível 4-0. No segundo grupo (6 ratas), após o fechamento da cavidade abdominal, foi realizada uma incisão na linha média da região cervical anterior com dissecção da musculatura prétraqueal e implante dos fragmentos junto a esta. No terceiro grupo (5 ratas) realizou-se uma incisão na região lateral da coxa, com dissecção dos músculos e implante dos fragmentos junto a eles. Em 9 ratas foram utilizados implantes duplos, ou seja, omento mais pescoço (5 ratas) ou omento mais coxa (4 ratas). Conforme dados da literatura, este procedimento não prejudica a integração dos fragmentos em nenhum dos sítios de implante[5].

Três semanas após a cirurgia os animais foram sacrificados, tendo sido retirados os implantes com grande margem de segurança. As peças foram analisadas por uma bióloga e uma médica patologista do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, que trabalharam em conjunto para estabelecer uma padronização da aferição. Os critérios valorizados na análise foram: grau de vascularização, grau de necrose, presença de regeneração e formação de pseudofolículos, estabelecendo-se assim a viabilidade ou não dos implantes.

Sete ratas (3 do grupo omento+coxa e 4 do grupo omento+pescoço) foram submetidas a cintilografia com tecnécio fitato três semanas após a cirurgia, com o objetivo de avaliar a vascularização e função dos fragmentos implantados.

O teste estatístico utilizado foi o teste exato de Fisher, tendo em vista o número reduzido da amostra, aceitando-se como significante um $p<0,05$.

Resultados

Oito animais morreram nas primeiras 48 horas de pós-operatório, sendo que em 4 destes encontrou-se evidência de hemorragia intraperitonial. Ressalta-se que a mortalidade não foi significativamente influenciada pela localização do implante.

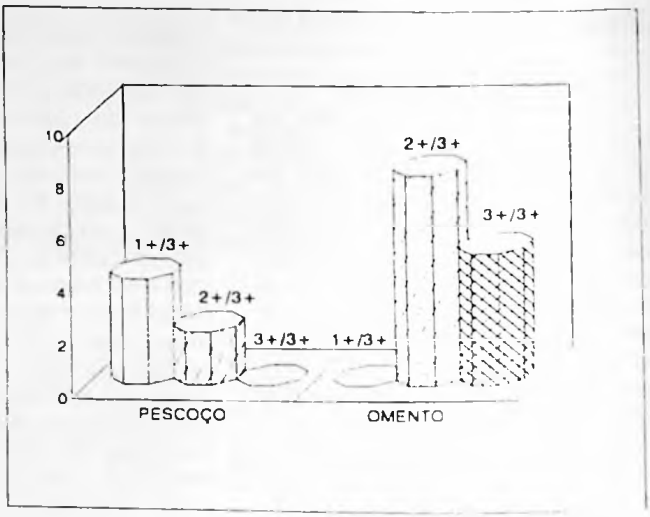


Figura 1 - Grau de necrose do fragmento esplênico em relação ao sítio de implante.

Os animais foram sacrificados 3 semanas após a cirurgia, sendo retiradas 36 peças correspondentes aos locais de implante, em 22 das quais foram localizados os fragmentos de baço à microscopia. Entre os enxertos em omento, pescoço e coxa, foram detectados os implantes em 68,5%[3], 70%[7] e 28,5%[2] das peças, respectivamente. Tendo em vista a pequena proporção de implantes encontrados na região da coxa não foi possível a análise da integração neste sítio.

Apenas um fragmento, proveniente do omento, não foi viável. O grau de neovascularização alcançado pelos enxertos é apresentado na Tabela 1, não havendo diferença estatisticamente significativa em relação ao sítio de implante.

O grau máximo de necrose (3+) ocorreu em 5 (48,4%) dos implantes em omento, não sendo verificado entre os implantes em região cervical. Já o grau mínimo de necrose (1+) ocorreu em 4 (66,6%) dos fragmentos em pescoço e em nenhum em omento. Por fim, o grau intermediário foi verificado em 8

Tabela 1 - Grau de revascularização em relação ao sítio de implante

	OMENTO		PESCOÇO	
	n	%	n	%
Nulo	2	15,4	1	14,3
Leve	3	23,0	0	-
Moderada	4	30,8	2	28,6
Intensa	4	30,8	4	57,1
Total	13	100,0	7	100,0

(61,5%) dos implantes em omento e 2 (33,3%) na região cervical. Desta forma, observou-se que houve uma tendência, porém sem significância estatística, a um menor grau de necrose na região cervical, como pode ser observado na Figura 1.

Esboços de folículos foram encontrados em 61,5% dos enxertos em omento e 42,8% dos de região cervical, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os dois sítios.

Na cintilografia não evidenciou-se resultados concretos, sendo que apenas um possível foco de hipercaptação em região cervical foi visualizado.

Discussão

Em nossa amostragem, os dados referentes aos implantes em coxa não foram levados em consideração, uma vez que apenas 2 implantes neste sítio foram localizados nos cortes histológicos. Essa grande perda possivelmente deva-se a migração dos fragmentos para outras regiões não pesquisadas da musculatura, talvez relacionada a grande movimentação muscular nesta área. A hipótese de reabsorção total do tecido implantado não é factível, uma vez que, em 21 dias, esta não poderia ter ocorrido.

A cintilografia é sabidamente um método adequado para avaliação da revascularização de fragmentos esplênicos autotransplantados[3,14,16]. No presente estudo não houve captação na cintilografia com tecnécio fitato de nenhum dos fragmentos implantados. Sugerimos que isto tenha ocorrido porque o método não é suficientemente sensível para avaliar fragmentos tão pequenos. Outra hipótese é que o tempo de 21 dias não tenha sido suficiente para a recuperação do sistema retículo-endotelial do baço.

Embora a maioria dos autores utilize o autotransplante de porções de baço no omento, muitos sugerem que outras técnicas sejam de semelhante valor. Dentre essas, inclui-se a utilização da musculatura como sede do implante. Traub e cols.[17] avaliaram o implante de tecido esplênico em uma bolsa construída na musculatura da região anterolateral da parede abdominal, após 5 anos, e concluiram que o implante é seguro e há preservação de parte da função retículo-endotelial. No presente estudo, observou-se uma tendência, sem significância estatística, a um grau de necrose em fragmentos implantados na musculatura do pescoço, assim como uma tendência a melhor vascularização neste sítio, quando comparados com implantes em omento. É sabido que a necrose é a primeira etapa no processo de regeneração do tecido esplênico autotransplantado, sendo o tecido necrótico gradualmente substituído[19]. Desta forma, o menor grau de necrose seria indicativo de regeneração mais precoce.

Ressalta-se que este estudo avalia apenas a integração do tecido esplênico, e não sua função. Patel e cols[20] estudaram a função fagocitária do baço autotransplantado em coelhos em omento, região subcutânea e cavidade peritoneal, através da injeção intravascular de pneumococo, e concluiram que o implante em omento estaria associado a melhor proteção contra infecções. Estudo semelhante, utilizando a musculatura como sede de implante, poderia ser elucidativo.

Os resultados obtidos sugerem que o implante em musculatura pode ser uma alternativa viável, como já apontado por outros autores[3,17], na tentativa de evitar as complicações associadas ao implante em omento, mas o tamanho reduzido de nossa amostra não permite que inferências mais concretas sejam aventadas. Novos estudos são necessários para determinar quais os sítios musculares mais favoráveis a este tipo de implante e as possíveis complicações da técnica, bem como comparar a restauração da função fagocitária em implantes na musculatura e em omento.

Referências Bibliográficas

1. Junqueira LC, Carneiro J. Histologia Basica. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1985:285-91.
2. Ham AW, Cormack DH. Histologia. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro,1987:201-6.
3. Haro J, Baradan JF, Ramos J, Castejon I, Berrocal JO. Estudio de la viabilidad de los implantes de pupa esplénica. Rev Clin Esp 1986; 178:327-9.
4. Mizrahi S, Bickel A, Haj M, Lunski I, Shtalmer B. Postraumatic autotransplantation of spleen tissue. Arch Surg 1989; 124:863-5.
5. Rodrigues AZ. Estudo comparativo da viabilidade de fragmentos de tecido esplênico autólogo implantado no omento maior ou na tela subcutânea de ratas. Dissertação de mestrado. Escola Paulista de Medicina. São Paulo, 1990.
6. Livingston CD, Levine BA, Sirinek KR. Site of splenic autotransplantation afeccts protection from sepsis. Am J Surg 1983; 146:734-7.
7. Shokouh-Amiri MH, Kharazmi A, Rahimi-Saber S, Hansen CP, Jensen SL. Phagocyte function after splenic autotransplantation. Arch Surg 1990; 125:595-7.
8. Nunes CA, Nunes WV. Traumatismos de baço: revisão. Revista do HPS 1991; 37:25-8.
9. Leonard AS, Giebink GS, Barsl TJ, Knvit W. The overwhelming postspenectomy sepsis problem. World J Surg 1980; 4:423-32.
10. Haque AU, Husdon P, Wood G, Lindsey NJ. Splenic autotransplant and residual partial spleen: prevention of septicemia. Jpn J Surg 1984; 14:407-12.
11. Patel J, Williams JS, Naim JO. Hinshaw JR. Protection against pneumococcal sepsis in splenectomized rats by implantation of splenic tissue into a omental pouch. Surgery 1982; 91:638-41.
12. Pabst R, Kamran D. Autotransplantation of splenic tissue. J Pediatr Surg 1986;21:120-4.
13. Patel J, Williams JS, Shmigel B, Hinshaw JR. Preservation of splenic function by autotransplantation of traumatized spleen in man. Surgery 1981; 90:638-88.
14. Nielsen JL, Sakso P, Sorensen FH, Hansen HH. Demonstration of splenic functions following splenectomy and autologous spleen implantation. Acta Chir Scand 1984; 150:469-73.
15. Shokouh-Amiri MH, Rahimi-Saber S, Hansen CP, Olsen PS, Jensen SL. Does survival depend on the amount of autotransplantated splenic tissue? Arch Surg 1990; 125:1472-4.
16. Lüdtke FE, Mack SC, Schuff-Werner P, Volth E. Splenic function after splenectomy for trauma. Acta Chir Scand 1989, 155:533-9
17. Traub A, Giebink GS, Smith C, et al. Splenic reticuloendothelial function after splenectomy, spleen repair adn spleen autotransplantation. N Engl J Med 1987; 317:1559-64.
18. Schwartz PE, Sterioff S, Mucha P, Melton III LJ, Offord KP. Postsplenectomy sepsis and mortality in adults. JAMA 1982; 248:2279-83.
19. Westermann J, Pabst R, Claassen E. Histophysiology of autotransplanted splenic tissue. Res Immunol 1991; 142:321-5.
20. Patel JM, Williams JS, Naim JO, Hinshaw JR. The effect of site and technique of splenic tissue reimplantation on pneumococcal clearence from the bloot. J Pediatr Surg 1986; 21:877-80.