Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Faculdade de Ciências Médicas

Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas

Ana Paula Gonçalves Dinis

Níveis plasmáticos de lipídios em ratos submetidos a dieta com gordura suína como fonte lipídica após esplenectomia total isolada ou combinada com implante esplênico autógeno

Rio de Janeiro

2008

Ana Paula Gonçalves Dinis

Níveis plasmáticos de lipídios em ratos submetidos a dieta com gordura suína como fonte lipídica após esplenectomia total isolada ou combinada com implante esplênico autógeno

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, como requisito final para a obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Técnica Operatória e Cirurgia Experimental.

Orientador: Prof. Dr. Ruy Garcia Marques

Rio de Janeiro

2008

Dinis, Ana Paula Gonçalves.
Níveis plasmáticos de lipídios em ratos submetidos a dieta com gordura suína como fonte lipídica após esplenectomia total isolada ou combinada com implante esplênico autógeno / Ana Paula Gonçalves Dinis – 2008.
xvi, 50 f.

Orientador: Ruy Garcia Marques.
Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Esplenectomia – Teses. 2. Implante esplênico autógeno – Teses. 3. Lipídios plasmáticos – Teses. 4. Fonte lipídica – Teses. 5. Animais – Teses. I. Marques, Ruy Garcia. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Ana Paula Gonçalves Dinis

Níveis plasmáticos de lipídios em ratos submetidos a dieta com gordura suína como fonte lipídica após esplenectomia total isolada ou combinada com implante esplênico autógeno

Dissertação de Mestrado

Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas
Faculdade de Ciências Médicas
Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro, 17 de dezembro de 2008.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Francisco José Barcellos Sampaio
Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Andy Petroianu
Universidade Federal de Minas Gerais

Profª. Dra. Maria Cristina Araújo Maya
Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Dedico esta dissertação à minha família, especialmente meus pais, **Maria Palmira Gonçalves Dinis** e **Arlindo Fernandes Dinis,** e minha irmã, **Fernanda Gonçalves Dinis,** pelo apoio e incentivo durante toda a minha formação.

Ao meu noivo, **Alexandre Gomes de Oliveira,** pelo carinho, paciência e confiança em mim depositada.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer às pessoas envolvidas na realização de todas as etapas desta jornada e que foram imprescindíveis para esta conquista.

Ao meu orientador, Professor Doutor Ruy Garcia Marques, pelos ensinamentos transmitidos e principalmente pela dedicação, incentivo e confiança, motivos pelos quais conquista a admiração de tantas pessoas.

Ao médico-veterinário Carlos Eduardo Rodrigues Caetano e aos bioteristas Domingos Henrique de Souza Peçanha, Cláudio Sérgio Correa Lau e Alessandra Demétrio do Nascimento, do Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), pelo auxílio com os procedimentos cirúrgicos e no cuidado com os animais.

À nutricionista Cristina Fajardo Diestel, doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, por ter me incentivado a realizar esta pós-graduação e por ser esta profissional competente e dedicada.

Às amigas e nutricionistas Fernanda Correia Simões e Bianca D'Elia Matzke, mestres pelo Programa de Pós Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, pelo companheirismo e por dividir comigo todas as minhas dúvidas e ansiedades.

À Professora Doutora Margareth Crisóstomo Portela, pesquisadora do Departamento de Administração e Planejamento em Saúde da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, ENSP – FIOCRUZ, pela colaboração com a análise estatística dos dados deste trabalho.

Ao Professor Doutor José Firmino Nogueira Neto, coordenador do Laboratório de Lípides (LabLip) da UERJ, pela colaboração com as análises sangüíneas dos animais.

À Professora Albanita Viana de Oliveira, da disciplina de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da UERJ, pelo auxílio com as análises histopatológicas.

Às amigas e nutricionistas Viviane Abrantes Jardim e Rafaela Cabral Moreira, pela constante ajuda no cuidado com os animais e na manipulação da ração durante o experimento.

Aos estagiários da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental – FCM – UERJ, pela grande ajuda nos procedimentos cirúrgicos com os animais.

E a todos aqueles que, de uma maneira ou de outra, contribuíram para que este trabalho fosse realizado.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xvi
1 – INTRODUÇÃO	1
2 – OBJETIVOS	7
3 – MÉTODO	8
3.1 – Animais e grupos	8
3.2 – Procedimentos operatórios	9
3.2.1 – Esplenectomia total isolada	10
3.2.2 – Esplenectomia total combinada com implante esplênico autógeno	10
3.3 – Controle pós-operatório	11
3.4 – Alimentação dos animais	11
3.5 – Estudo histopatológico	14
3.6 – Dosagem de lipídios plasmáticos	14
3.7 – Análise estatística	15
3.8 – Aspectos éticos no cuidado com os animais	16
4 – RESULTADOS	17
4.1 – Evolução dos animais	17
4.2 – Regeneração do tecido esplênico implantado	17
4.3 – Análise morfológica dos implantes esplênicos	18

4.4 – Evolução do peso corporal e do consumo de ração 19

4.5 – Análises sangüíneas 21

5 – DISCUSSÃO 25

6 – CONCLUSÃO 34

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 35

ANEXO 43

LISTA DE TABELAS

	Página
Tab. 1. Composição da ração comercial oferecida aos animais no período pré-operatório.	12
Tab. 2. Ingredientes da ração manipulada oferecida aos animais no período pós-operatório de acordo com os grupos de estudo (g/kg de ração).	13
Tab. 3. Análise comparativa da massa esplênica nos grupos de animais submetidos a esplenectomia total combinada com implante esplênico autógeno.	18
Tab. 4. Análise comparativa do peso corporal dos animais no início do experimento e após 12 semanas.	20
Tab. 5. Análise comparativa dos valores de colesterol total (mg/dL), no início e ao final do experimento (12 semanas), nos diferentes grupos de estudo.	21
Tab. 6. Análise comparativa dos valores de HDL (mg/dL), no início e ao final do experimento (12 semanas), nos diferentes grupos de estudo.	22
Tab. 7. Análise comparativa dos valores de LDL (mg/dL), no início e ao final do experimento (12 semanas), nos diferentes grupos de estudo.	22
Tab. 8. Análise comparativa dos valores de VLDL (mg/dL), no início e ao final do experimento (12 semanas), nos diferentes grupos de estudo.	23

Tab. 9. Análise comparativa dos valores de triglicerídeos (mg/dL), no início e ao final do experimento (12 semanas), nos diferentes grupos de estudo. 23

LISTA DE FIGURAS

	Página
Fig. 1. Tecido esplênico regenerado no omento maior de rato, após 12 semanas do auto-implante.	18
Fig. 2. Microfotografia de implante esplênico regenerado. (HE, 40x)	19
Fig. 3. Comparação do consumo total de ração (g) durante o experimento, entre os diferentes grupos de estudo.	20
Fig. 4. Comparação dos níveis séricos de colesterol total, das frações HDL, LDL, VLDL e de triglicerídeos entre os grupos de animais, após 12 semanas de experimento.	24

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AIN-93 – American Institute of Nutrition (1993)

TBHQ – butilhidroquinona terciária

CT – colesterol total

D0 – dia do início do experimento

D + 12 – 12 semanas após o início do experimento

ET – esplenectomia total

GS – gordura suína

HCl – ácido clorídrico

HDL – lipoproteína de alta densidade

IEA – implante esplênico autógeno

LabLip – Laboratório de Lípides

LDL – lipoproteína de baixa densidade

máx – máximo

mín – mínimo

mm – milímetro

n – número de animais

NE – nutricionalmente equilibrada

TGL – triglicerídeos

SMF – sistema mononuclear fagocitário

UERJ – Universidade do Estado do Rio de Janeiro

VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade

μm – micrômetro

RESUMO

Alguns estudos experimentais têm sugerido um importante papel do baço no metabolismo lipídico. Poucas análises, entretanto, avaliam o impacto que diferentes fontes de gordura possam exercer sobre os níveis de lipídios plasmáticos. O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito de uma dieta nutricionalmente equilibrada (NE) e de uma dieta com gordura suína (GS) como fonte lipídica nos níveis de lipídios plasmáticos em ratos submetidos a esplenectomia total (ET) isolada ou combinada com implante esplênico autógeno (IEA). Foram utilizados 60 ratos *Wistar* machos adultos, distribuídos em seis grupos, cada um com dez animais: 1 – controle – operação simulada, com oferta de ração NE; 2 – controle – operação simulada, com oferta de ração GS; 3 – submetidos a ET, com oferta de ração NE; 4 – submetidos a ET, com oferta de ração GS; 5 – submetidos a ET combinada com IEA e com oferta de ração NE; e 6 – submetidos a ET combinada com IEA e com oferta de ração GS. Foram coletadas amostras sangüíneas imediatamente antes da operação (D0), e após 12 semanas de experimento (D+12), para verificação do perfil lipídico, quando os animais foram mortos, com retirada dos implantes esplênicos nos grupos 5 e 6. Houve regeneração morfológica de todos os tecidos esplênicos implantados, não se observando diferença no percentual de regeneração entre os grupos 5 e 6. Não houve diferença no ganho de peso e no consumo de ração entre os grupos de animais, assim como no lipidograma dos animais alimentados com dieta NE quando comparados os níveis plasmáticos em D0 e em D+12, enquanto nos grupos com modificação da fonte lipídica houve elevação das concentrações de colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), triglicerídeos (TGL) e diminuição da concentração de lipoproteína de alta densidade (HDL). Quando comparados os seis grupos de animais, em D+12, apenas

os níveis plasmáticos de HDL dos animais dos grupos 2, 4 e 6 apresentaram-se significativamente menores que os do grupo 3. Nossos resultados permitem concluir que a dieta nutricionalmente equilibrada mantém os níveis de lipídios plasmáticos, enquanto a dieta à base de gordura suína provoca alterações no perfil lipídico de ratos alimentados com este tipo de ração, independentemente do procedimento cirúrgico realizado sobre o baço.

ABSTRACT

An important role of the spleen in lipid metabolism has been suggested by clinical and experimental studies. Few studies, however, have evaluated the impact of different sources of fat in plasma lipid levels. The purpose of the present investigation was to analyze the effect of a nutritionally balanced (NB) diet and a diet containing pork fat (PF) as sources of lipids on the lipid profile of rats submitted to total splenectomy (TS) alone or combined with splenic autotransplantation (SA). Sixty adult male Wistar rats were divided into six groups of 10 animals each: 1 – sham-operated, fed the NB diet; *2 – sham-operated, fed the PF diet; 3 – TS, fed the NB diet; 4 – TS, fed the PF diet; 5 – SA, fed the NB diet; and 6 – SA, fed the PF diet. Blood samples were collected immediately before the operation (D0) and 12 weeks after the beginning of the experiment (D+12) for plasma lipid determination. On D+12, the animals were killed and the splenic implants of groups 5 and 6 were removed. Morphologic regeneration of splenic tissues was observed, with no difference in percent regeneration between these two groups. Weight gain and chow intake were similar among all groups of animals. When D+12 plasma lipid levels were compared to D0, there were no differences in groups 1, 3, and 5, while in groups 2, 4, and 6 total cholesterol (TC), low density lipoprotein (LDL), very low density lipoprotein (VLDL), and triglycerides (TGL) levels had increased and high density lipoprotein (HDL) levels had decreased. At the end of the experiment, only the HDL levels of groups 2, 4, and 6 were lower than group 3 levels. Our results lead us to conclude that, regardless of the surgical spleen procedure to which the rats were submitted, a nutritionally balanced diet maintained plasma lipid levels, while a diet containing pork fat as a source of lipids led to alterations in lipid profile.*

1 – INTRODUÇÃO

Durante muitos séculos, o baço foi considerado desnecessário à vida, não se atribuindo qualquer importante função ao órgão. Com a sua remoção cirúrgica, por trauma, enfermidades intrínsecas ou hematológicas, negligenciavam-se quaisquer conseqüências dela advindas.[1,2] No entanto, desde que foi demonstrada uma associação entre a remoção do baço e a ocorrência de meningite com sepse em crianças[3], em 1952, um risco aumentado de infecções graves relacionadas à esplenectomia total (ET) vem sendo bem definido na literatura.[1,4]

Atualmente, sabe-se que o baço é responsável, primordialmente, pela produção de monócitos e linfócitos e pela fagocitose de partículas estranhas, bactérias, vírus e leucócitos, além de produzir fatores séricos, como as opsoninas, com grande capacidade de estimular a fagocitose.[5,6] Além disso, exerce um papel primário na filtração sangüínea, sendo capaz de remover e destruir bactérias, complexos imunes e substâncias coloidais, além de eritrócitos alterados e outras células sanguíneas.[7]

Já está bem documentado que a ET pode resultar em sérias complicações imunológicas, hematológicas e relativas à homeostase.[8] Infecções graves resultam primariamente de função fagocitária insuficiente após ET, notadamente por bactérias encapsuladas da corrente sangüínea, como *S. pneumoniae, H. influenzae* e *N. meningitidis*.[1] Além disso, ocorre diminuição significativa na resposta imunológica humoral devido à perda da capacidade de produção de anticorpos específicos. A ausência da função de filtro sangüíneo pode resultar em aumento no número de eritrócitos alterados na corrente sangüínea, levando, eventualmente, a distúrbios de coagulação durante processos infecciosos e aumentando o risco de complicações tromboembólicas.[9]

Inúmeras estratégias vêm sendo desenvolvidas visando maximizar a possibilidade de preservação esplênica. Assim, com a utilização de melhores métodos propedêuticos de imagem e de formas alternativas para tratamento de inúmeras enfermidades hematológicas e malignas, a atitude referente à realização de ET tem sofrido mudanças nos últimos anos.[10] Neste sentido, em muitos casos têm sido preconizadas as ressecções esplênicas parciais e subtotais.[11-13] Todavia, tem-se demonstrado que, nestes dois procedimentos, pode ocorrer crescimento do tecido esplênico residual até o seu tamanho original,[12] determinando a necessidade de reoperação em indivíduos portadores de doenças hematológicas em que se realizou a esplenectomia parcial ou subtotal.[14]

Fundamentado na correlação entre ET e sepse e em achados de implantes esplênicos espontâneos, o auto-implante esplênico heterotópico tem sido considerado a única opção na tentativa de preservar as funções do baço, nos casos em que seja inevitável a sua retirada.[15-17] Inúmeros estudos têm mostrado que, em local adequado, após um período de necrose, o implante esplênico autógeno (IEA) é capaz de regenerar-se, readquirindo aspecto macro e microscópico similar ao baço normal, contendo polpas vermelha e branca e folículos linfóides[16,18,19] e possibilitando a recuperação de inúmeras de suas funções.[8,20]

Pesquisas clínicas têm mostrado o restabelecimento de algumas funções do baço com o IEA, por técnicas cintilográficas e métodos laboratoriais indiretos, como ausência de eritrócitos alterados na corrente sangüínea e níveis de complemento e imunoglobulinas séricas dentro do limite de normalidade.[21,22] Também em experimentos com animais, inúmeros estudos vêm mostrando a recuperação da capacidade de depuração sangüínea de substâncias coloidais e bactérias, após regeneração do tecido esplênico auto-implantado.[5,20,23,24]

Em estudo recente, com o objetivo de determinar a função fagocitária bacteriana de macrófagos de tecido esplênico auto-implantado, Marques *et al.* (2003) mostraram que o auto-implante esplênico no omento de ratos readquire a arquitetura de um baço normal e confere proteção contra infecção por *Escherichia coli* inoculada na corrente sangüínea, preservando, portanto, a função fagocitária.[25]

Algumas pesquisas clínicas têm sugerido um importante papel do baço no metabolismo das gorduras. Foi demonstrado que pacientes portadores de doenças mieloproliferativas e esplenomegalia cursam com níveis plasmáticos diminuídos de lipídios quando comparados à população em geral, sendo a esplenectomia capaz de normalizar esses valores.[26-30] As alterações no metabolismo lipídico, em decorrência da ET por trauma, poderiam também, eventualmente, explicar a alta incidência de infarto agudo do miocárdio relatada em veteranos da Segunda Guerra Mundial.[31]

Gilbert *et al.* (1981) mostraram, em pacientes com doenças mieloproliferativas, que a atividade da doença foi acompanhada por um declínio dos níveis plasmáticos de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e a ET ou o controle da proliferação celular por meio da quimioterapia ou irradiação esplênica reverteu tal declínio. O tamanho do baço se configurou na variável mais significativa na tentativa de explicar a alteração nos níveis de colesterol total (CT), LDL e de lipoproteína de alta densidade (HDL).[26]

Estudos experimentais têm demonstrado que a ET é acompanhada de elevação nos níveis de CT e triglicerídeos (TGL),[2,28,32] e que procedimentos conservadores do baço, como por exemplo a esplenectomia subtotal, a ligadura simultânea dos vasos esplênicos e o auto-implante esplênico seriam capazes de prevenir alterações nos níveis de lipídios plasmáticos.[33-36] Estes resultados mostram

que a presença de tecido esplênico é capaz de manter a função do órgão no que se refere à regulação do metabolismo lipídico.

Asai *et al.* (1988) observaram que coelhos submetidos a ET e que receberam dieta rica em colesterol apresentaram, após quatro meses, placas ateroescleróticas na aorta, atribuídas à hiperlipidemia, evidenciando que esse procedimento cirúrgico poderia resultar em maior incidência de distúrbios ateroscleróticos.[29] Além disso, embora a hipercolesterolemia se constitua em um pré-requisito para a iniciação da aterogênese, a lesão aterosclerótica, uma vez iniciada, possui inúmeras características de um processo inflamatório crônico, existindo crescente evidência de que o sistema imunológico seja especificamente ativado pela aterosclerose e que a resposta imune possa modular o desenvolvimento da lesão.[7,37,38] Caligiuri *et al*. (2002) mostraram que a remoção do baço aumenta a extensão e a gravidade das lesões ateroscleróticas de ratos e que a imunidade, notadamente aquela mediada por linfócitos B, exerce um efeito protetor na progressão da doença.[39]

O consumo mundial de gordura tem aumentado substancialmente durante as últimas décadas e as suas implicações na etiologia de doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, têm sido extensivamente estudadas, situando-se no centro de estratégias para a redução do risco em indivíduos e populações. O aumento do consumo de gordura associa-se à elevação da concentração plasmática de colesterol e à maior incidência de aterosclerose coronária e aórtica.[40,41]

Estudos experimentais em animais têm demonstrado que um aumento na ingestão de colesterol resulta na elevação dos níveis plasmáticos de CT, considerando-se o aumento nos valores da razão LDL/HDL um importante fator de risco para o desenvolvimento de aterosclerose.[41,42] No entanto, evidências apontam que, mais do que a sua quantidade total, a maior relevância encontra-se no tipo de

gordura consumida.[43-45] A concentração plasmática de LDL é primariamente determinada pela taxa de produção e pela taxa de atividade dos seus receptores, por meio dos quais estas partículas entram no fígado. O acúmulo hepático de ácidos graxos dietéticos específicos é capaz de alterar estas variáveis, dependendo do perfil de ácido graxo da dieta.[46]

A ingestão dietética de gordura saturada parece apresentar um efeito hiperlipidêmico muito maior que o próprio consumo de colesterol dietético.[44] Os ácidos graxos saturados, presentes principalmente em alimentos de fonte animal, inibem a atividade dos receptores de LDL e aumentam a sua produção, elevando a sua concentração plasmática com uma magnitude quantitativamente muito maior do que aquela observada quando grandes quantidades de colesterol dietético são adicionadas à dieta.[47,48]

Existe forte evidência, portanto, da relação entre o alto consumo de gordura saturada e um perfil lipídico aterogênico, constituindo-se a redução na ingestão de gordura saturada em uma das estratégias capazes de diminuir a morbimortalidade por doenças cardiovasculares, e, conseqüentemente, o risco de aterosclerose.[45,49]

Apesar de inúmeros autores virem atribuindo ao baço uma importante função no metabolismo lipídico, com efeitos deletérios nos níveis de lipídios plasmáticos após ET e, conseqüentemente, na aterogênese, faltam estudos que levem em consideração a qualidade da dieta oferecida, no que se refere ao tipo de gordura utilizada, nos níveis lipídicos pós-esplenectomia.

Considerando o papel primordial da alimentação na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares, torna-se relevante a realização de estudo experimental com o intuito de se verificar o impacto de uma dieta com alto teor de gordura saturada, que se assemelhe às dietas consumidas atualmente pela

população, nos níveis plasmáticos de lipídios de animais submetidos a esplenectomia total isolada ou combinada com implante esplênico autógeno.

2 – OBJETIVOS

2.1 – Objetivo geral

Analisar o efeito da utilização de dieta nutricionalmente equilibrada (padrão) e à base de gordura suína como fonte lipídica nos níveis de lipídios plasmáticos em ratos submetidos a esplenectomia total isolada ou combinada com implante esplênico autógeno.

2.2 – Objetivos específicos

Avaliar se existe alteração nos níveis de lipídios plasmáticos após a realização de esplenectomia total isolada ou combinada com implante esplênico autógeno em ratos.

Comparar os níveis de lipídios plasmáticos com o uso de dieta à base de gordura saturada de origem suína em relação ao uso de dieta nutricionalmente equilibrada.

3 – MÉTODO

Utilizou-se um modelo experimental com ratos alimentados com dieta nutricionalmente equilibrada (à base de óleo de soja) ou rica em gordura saturada (à base de gordura suína) e submetidos a esplenectomia total isolada ou combinada com implante esplênico autógeno. Os animais tiveram amostras de sangue coletadas imediatamente antes da operação (DO) e 12 semanas após o início do experimento (D + 12) para dosagem dos níveis lipídicos plasmáticos.

O experimento cirúrgico e o acompanhamento de animais foram realizados no Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ); a manipulação da ração foi realizada no Laboratório de Fisiologia Clínica e Experimental do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (UERJ); as dosagens sangüíneas foram realizadas no Laboratório de Lípides (LabLip) da FCM (UERJ); e a análise histopatológica foi realizada na Disciplina de Anatomia Patológica da FCM (UERJ).

3.1 – Animais e grupos

Foram utilizados 60 ratos *Wistar* machos adultos (*Rattus norvegicus*), com peso inicial entre 240 e 270 gramas. Esses animais foram distribuídos, aleatoriamente, em seis grupos de estudo, cada um com dez animais:

- Grupo 1 – Controle – operação simulada; submetidos somente a manipulação cirúrgica do baço, com oferta de ração nutricionalmente equilibrada (padrão);
- Grupo 2 – Controle – operação simulada; submetidos somente a manipulação cirúrgica do baço, com oferta de ração à base de gordura suína;

- Grupo 3 – submetidos a esplenectomia total, com oferta de ração padrão;
- Grupo 4 – submetidos a esplenectomia total, com oferta de ração à base de gordura suína;
- Grupo 5 – submetidos a esplenectomia total combinada com implante esplênico autógeno, com oferta de ração padrão;
- Grupo 6 – submetidos a esplenectomia total combinada com implante esplênico autógeno, com oferta de ração à base de gordura suína.

Todos os animais foram provenientes do Biotério do Laboratório de Cirurgia Experimental da FCM (UERJ) e receberam ração apropriada para ratos (Focus 1722 Roedores® – Agroceres Nutrição Animal Ltda – Rio Claro, SP, Brasil) e água *ad libitum*, até atingirem o peso ideal para o início do experimento. Os ratos foram alojados em gaiolas individuais, em biotério climatizado, com foto-períodos diários de 12 horas.

3.2 – Procedimentos operatórios

O dia do procedimento operatório foi considerado como o primeiro dia de experimento (D0).

Após jejum de 12 horas, os ratos foram submetidos a anestesia geral com associação de cloridrato de cetamina a 10% (50 mg/Kg) (Ketamina Agener® – Agener União Saúde Animal) e xilazina a 2% (5 mg/kg) (Calmiun® – Agener União Saúde Animal), por via intraperitoneal, e, então, fixados à mesa operatória, seguido de tricotomia abdominal, anti-sepsia com iodopovidine (Povidet®, Tecnofarma

Indústria e Comércio Ltda. – Campinas, SP, Brasil) e colocação de campos operatórios.

A operação foi realizada por meio de laparotomia mediana supra-umbilical. Os ratos dos grupos 1 e 2 foram submetidos apenas a manipulação cirúrgica do baço em D0. Os ratos dos grupos 3 e 4 foram submetidos a esplenectomia total isolada e os ratos dos grupos 5 e 6 a esplenectomia total combinada com implante esplênico autógeno.

3.2.1 – Esplenectomia total isolada

O baço foi mobilizado para o campo operatório e realizada a ligadura dos vasos esplênicos e esplenogástricos com fio de linho 3-0 (Linho®, Ethicon – Johnson & Johnson – São José dos Campos, SP, Brasil). Após a sua retirada, o órgão foi pesado em balança de precisão (modelo BEL® – Engineering). A parede abdominal foi fechada com sutura contínua em dois planos (planos peritonioaponeurótico e pele), com fio de ácido poliglicólico 3-0 (Dexon II®, Brasmédica S/A – São Paulo, SP, Brasil).

3.2.2 – Esplenectomia total combinada com implante esplênico autógeno

Após a retirada e pesagem do baço, ele foi seccionado transversalmente, em cinco fatias, cada uma com cerca de 2 mm de espessura. As secções esplênicas foram implantadas no omento maior, com sutura contínua, utilizando fio de ácido poliglicólico 4-0 (Dexon II®, Brasmédica S/A – São Paulo, SP, Brasil). Os pontos foram dados alternadamente, no omento e no tecido esplênico, para que houvesse interposição de tecido omental entre as fatias esplênicas. A parede abdominal foi fechada com sutura contínua em dois planos (planos peritonioaponeurótico e pele),

com fio de ácido poliglicólico 3-0 (Dexon II®, Brasmédica S/A – São Paulo, SP, Brasil).

3.3 – Controle pós-operatório

Os animais foram observados no período pós-operatório imediato até a recuperação de sua atividade física, quando foram recolocados nas gaiolas, passando a ser oferecida a dieta específica a cada grupo de ratos.

A mesma quantidade de ração foi oferecida a todos os grupos de animais. Os ratos foram acompanhados durante 12 semanas, quando, então, foram submetidos a nova coleta sangüínea. Os animais dos grupos 5 e 6 foram submetidos a nova laparotomia, sob anestesia com cloridrato de cetamina e xilazina, por via intraperitoneal, para observação, retirada e pesagem do auto-implante esplênico e, posteriormente, mortos por sobredose anestésica, com o mesmo agente anestésico.

3.4 – Alimentação dos animais

Até obterem o peso ideal para o início do experimento, todos os animais receberam a ração Focus 1722 Roedores® (Agroceres Nutrição Animal Ltda – Rio Claro, SP, Brasil). (Tabela 1) Esta ração é composta por cloreto de sódio (sal comum), milho integral moído, farelo de soja, farelo de trigo, fosfato bicálcico, carbonato de cálcio, DL-metionina, L-lisina, HCL, aditivo antioxidante e premix mineral vitamínico (vitamina A, vitamina E, vitamina K, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina B12, niacina, ácido pantotênico, ácido fólico, biotina, colina, ferro, zinco, cobre, iodo, manganês, selênio e cobalto). A quantidade exata utilizada dos ingredientes não é fornecida pelo fabricante, somente os seus percentuais máximo ou mínimo.

Tab. 1. Composição da ração comercial oferecida aos animais no período pré-operatório.

Umidade (máx)	13 %
Proteína bruta (mín)	22,0 %
Extrato etéreo (mín)	4,0 %
Matéria mineral (máx)	9,0 %
Matéria fibrosa (máx)	8,0 %
Cálcio (máx)	1,4 %
Fósforo (mín)	0,8 %

* máx – máximo; mín – mínimo

A partir de D0, os ratos receberam dietas específicas, conforme distribuição nos grupos, durante as 12 semanas. O consumo da ração foi avaliado pela aferição do seu peso, diariamente na primeira semana e, após, uma vez por semana. A quantidade de ração aferida foi subtraída da previamente oferecida, resultando no valor de dieta consumida. Os animais também foram pesados com a mesma freqüência. O peso dos animais, bem como da ração, foi aferido sempre no mesmo horário, em balança de precisão (modelo AdventureTM® – Ohaus).

A ração foi manipulada segundo a fórmula estabelecida pelo *American Institute of Nutrition* (AIN-93M),[50] apropriada para estudos com Nutrição Experimental. A ração foi preparada com modificações na fonte de gordura e, então, acondicionada e mantida sob refrigeração a 4 ºC.

Os animais dos grupos 1, 3 e 5 receberam ração manipulada padrão, sendo esta uma dieta nutricionalmente equilibrada, contendo 4% de teor lipídico, pelo uso do óleo de soja como fonte, como preconizado pela AIN-93M.

As rações dos animais dos grupos 2, 4 e 6 foram manipuladas de forma que, após o uso predominante de gordura suína (82% do teor total de lipídio) como fonte lipídica no lugar do óleo de soja utilizado na ração padrão, contivesse alto teor de gordura saturada. Do total da oferta lipídica (4%), 18% eram provenientes do óleo de soja, visando garantir a oferta mínima de ácidos graxos essenciais.[51] (Tabela 2)

Tab. 2. Ingredientes da ração manipulada oferecida aos animais no período pós-operatório de acordo com os grupos de estudo (g/kg de ração).

Ingredientes	Grupos 1, 3 e 5	Grupos 2, 4 e 6
Amido de milho	621	621
Sacarose	100	100
Caseína	140	140
Óleo de soja	40	7,2
Gordura suína	- - -	32,8
Fibra (celulose)	50	50
Vitaminas	10	10
Minerais	35	35
L-Cistina	1,8	1,8
Colina	2,5	2,5

Os ingredientes amido de milho dextrinizado e o antioxidante butilhidroquinona terciária (TBHQ) não foram utilizados na manipulação das rações. A quantidade necessária de amido de milho dextrinizado foi substituída pelo amido de milho.

3.5 – Estudo histopatológico

Ao final do experimento, após morte dos animais por sobredose anestésica, os ratos dos grupos 5 e 6 foram submetidos a nova laparotomia para retirada dos implantes esplênicos. Estes foram dissecados, com remoção do omento, e pesados em balança de precisão.

Os implantes esplênicos foram colocados em frascos contendo solução de formalina tamponada a 10%. Processou-se o tecido em soluções crescentes de álcool e xilol, que, em seguida, foi incluído em blocos de parafina (Parafina para Histologia®, Isofar, Indústria e Comércio de Produtos Químicos – Rio de Janeiro, Brasil) e cortado, com o auxílio de um micrótomo (Leica RM20225®, *Leica Instruments* – China), em fatias de 4 μm de espessura.

As lâminas, preparadas a partir dessas fatias, foram submetidas a coloração de hematoxilina e eosina, que permitiu a verificação da arquitetura histológica esplênica. Após a coloração, as lâminas foram analisadas em microscópio óptico (Labophot®, Nikon – Tokyo, Japan) e fotografadas com câmera digital (Canon PowerShot A640®, Canon Inc. – Tokyo, Japan), com objetiva de 10x e ampliação de 4.0x.

3.6 – Dosagem de lipídios plasmáticos

Todos os animais tiveram amostras sangüíneas coletadas imediatamente antes do procedimento cirúrgico (D0) e ao final de 12 semanas do experimento (D+12), por punção cardíaca, sob anestesia com cloridrato de cetamina e xilazina. Os tubos com as amostras de sangue coletadas foram imediatamente levados ao laboratório para análise.

Em todas as amostras sanguíneas foram dosados os níveis séricos de colesterol total (CT), triglicerídeos (TGL), lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL).

As dosagens de CT, HDL e de TGL foram quantificadas por meio do método enzimático colorimétrico, após centrifugação, utilizando um analisador automático A15 (BioSystems®).

As frações LDL e VLDL foram determinadas pela aplicação da equação de Friedwald:

VLDL (mg/dL) = triglicerídeos / 5

LDL (mg/dL) = colesterol total – VLDL – HDL

3.7 – Análise estatística

As análises estatísticas realizadas visaram a comparação dos níveis de CT, LDL, HDL, VLDL e TGL nos diferentes momentos do experimento e entre os diferentes grupos de estudo.

Para comparação dos dados encontrados em D0 e D+12, foi utilizado o teste de Wilcoxon. A comparação dos dados entre os grupos foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis e pelo pós-teste de Dunn (usado para comparação dos grupos, dois a dois).

A comparação dos grupos, considerando a variação do peso e a ingestão de ração, também foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis e pelo pós-teste de Dunn. A comparação da massa esplênica entre os grupos 5 e 6 foi realizada por meio do teste *t de student.*

As análises foram realizadas com a utilização do programa GraphPad Prism 4® – 2003 e do pacote estatístico SAS® – 2007.

Em todas as análises, um valor de p≤0,05 foi estabelecido para a rejeição da hipótese nula de similaridade entre os grupos.

3.8 – Aspectos éticos nos cuidados com os animais

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Todos os procedimentos seguiram, rigorosamente, a regulamentação existente sobre experimentação com animais.[52,53]

4 – RESULTADOS

4.1 – Evolução dos animais

Durante o período pós-operatório imediato, todos os animais recuperaram-se rapidamente do procedimento realizado, não se observando qualquer complicação.

Apenas um rato (grupo 4) evoluiu para o óbito durante a 6ª semana de experimento, sendo excluído das análises. Embora submetido a necropsia, não foi possível a identificação da causa do óbito.

4.2 – Regeneração do tecido esplênico implantado

Ocorreu regeneração do implante esplênico autógeno em todos os animais dos grupos 5 e 6 (submetidos a ET combinada com IAE). (Figura 1)

Em dez dos 20 ratos, foram encontradas as cinco fatias esplênicas implantadas; em seis animais, foram encontradas quatro fatias esplênicas; e em quatro, três fatias. Foram encontradas, em alguns casos, fatias esplênicas unidas, aparentemente não mostrando tecido omental entre si, assemelhando-se, macroscopicamente, a um baço de aspecto normal.

Não houve diferença significativa nas médias de massa esplênica implantada e de massa esplênica regenerada entre os grupos 5 e 6, assim como o percentual de regeneração e o número de fatias esplênicas recuperadas também foram similares. (Tabela 3)

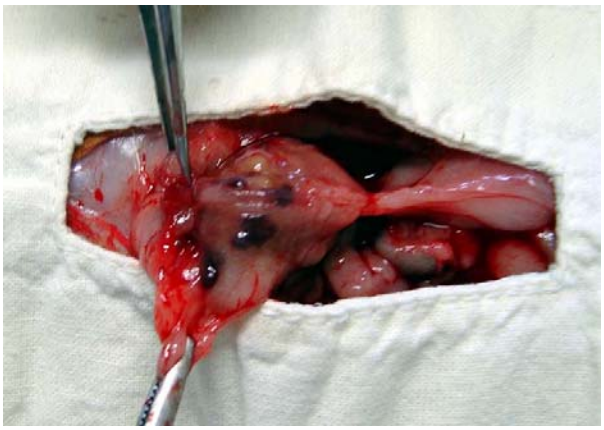

Fig. 1. Tecido esplênico regenerado no omento maior de rato, após 12 semanas do auto-implante.

Tab. 3. Análise comparativa da massa esplênica nos grupos de animais submetidos a esplenectomia total combinada com implante esplênico autógeno.

Grupos	Massa implantada (g)	Massa regenerada (g)	Número de fatias recuperadas	% recuperado / massa total
5	0,87504±0,169	0,18321±0,089	4,500±0,7071	0,21378±0,109
6	0,93088±0,136	0,22069±0,139	4,100±0,8759	0,22911±0,123
Valor de p	0,4284	0,4844	0,2758	0,7716

Valores expressos como média ± desvio-padrão

4.3 – Análise morfológica dos implantes esplênicos

À microscopia óptica, a análise das lâminas coradas com hematoxilina-eosina permitiu a observação de aspectos morfológicos similares em ambos os grupos de animais que foram submetidos a esplenectomia total combinada com implante esplênico.

Havia a presença de polpa branca, constituída por vários folículos linfóides, por vezes com limites pouco precisos, além de polpa vermelha, com sinusóides dilatados e grande quantidade de macrófagos fagocitando pigmentos de hemossiderina. A Figura 2 mostra a morfologia microscópica de um auto-implante esplênico regenerado, sob aumento de 40 x.

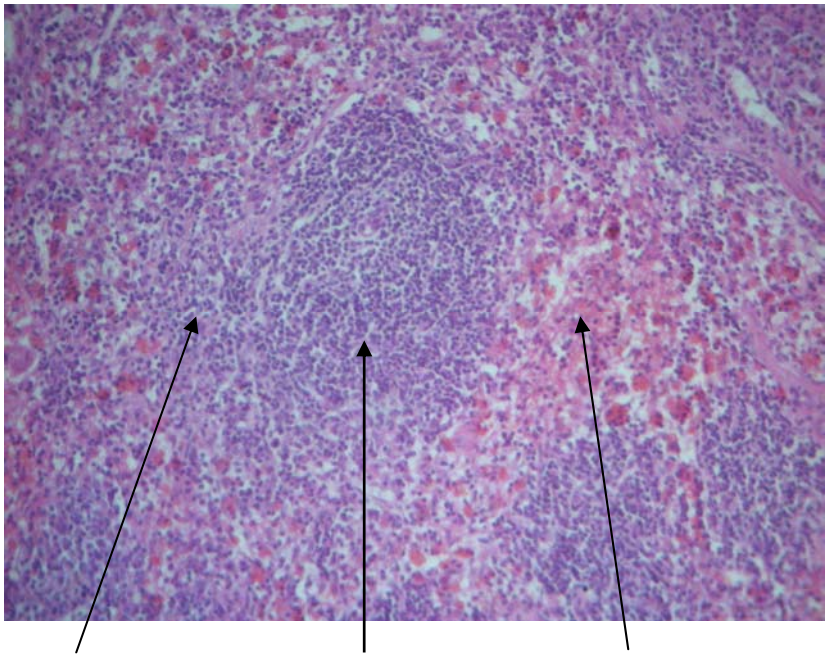

Fig. 2. Microfotografia de implante esplênico regenerado. (HE, 40x)

4. 4 – Evolução do peso corporal e do consumo de ração

Não houve diferença significativa nos pesos iniciais, finais, assim como no ganho de peso e no consumo de ração durante todo o experimento, entre os seis grupos de animais. (Tabela 4 e Figura 3)

Tab. 4. Análise comparativa do peso corporal dos animais no início do experimento e após 12 semanas.

Grupo	n	Peso inicial*	Peso final**	Ganho de peso***
1	10	255,93 ± 10,51	428,50 ± 65,28	172,58±58,41
2	10	253,58 ± 8,28	444,90 ± 46,26	191,31±47,53
3	10	250,38 ± 7,81	412,97 ± 34,34	162,58±35,24
4	09	256,06 ± 4,42	444,27 ± 73,92	188,21±71,10
5	10	252,32 ± 5,99	414,16 ± 43,61	161,84±44,33
6	10	255,64 ± 8,58	442,05 ± 61,47	186,41±57,20

n – tamanho da amostra; valores expressos como média ± desvio-padrão;
*p = 0, 3399 **p = 0, 8146 ***p = 0,8542

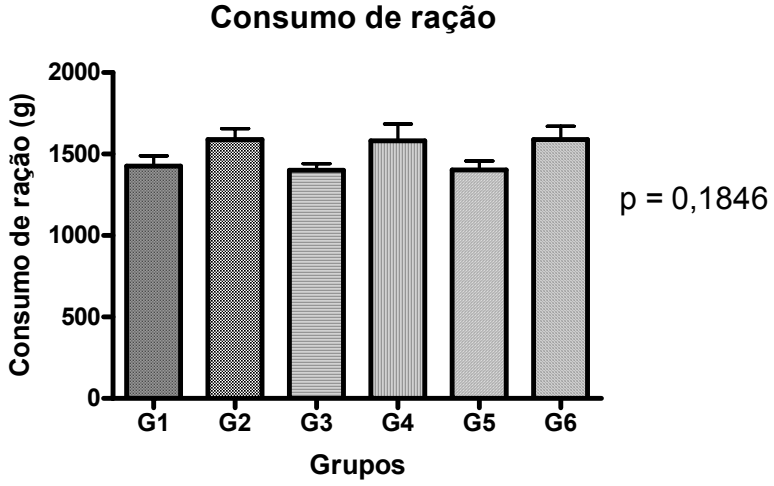

Fig. 3. Comparação do consumo total de ração (g) durante o experimento, entre os diferentes grupos de estudo.

4.5 – Análises sanguíneas

Não houve diferença significativa em nenhum dos parâmetros estudados (CT, HDL, LDL, VLDL e TGL) nos animais dos grupos 1, 3 e 5 (ratos alimentados com ração padrão) quando comparados os valores de pré e pós-operatório, dentro do mesmo grupo.

Em contraposição, houve aumento significativo nos níveis plasmáticos de CT, LDL, VLDL e TGL, além de uma diminuição nos níveis de HDL, dentro de cada um dos grupos 2, 4 e 6 (ratos alimentados com ração modificada). (Tabelas 5 a 9)

Tab. 5. Análise comparativa dos valores de colesterol total (mg/dL), no início e ao final do experimento (12 semanas), nos diferentes grupos de estudo.

Grupo	n	Início	Final	Valor de p
1	10	67,5 ± 13,664	73,1 ± 28,345	0,8457
2	10	61,8 ± 10, 942	70,5 ± 6,060	0,0273*
3	10	68,1 ± 14,372	82,8 ± 36,874	0,1934
4	09	62,111 ± 10,635	69,333 ± 11,011	0,0234*
5	10	68,2 ± 7,997	62,9 ± 9,826	0,1289
6	10	63,1 ± 8,089	74,2 ± 9,508	0,0039*

n – tamanho da amostra; valores expressos como média ± desvio-padrão;
* diferença significativa

Tab. 6. Análise comparativa dos valores de HDL (mg/dL), no início e ao final do experimento (12 semanas), nos diferentes grupos de estudo.

Grupo	n	Início	Final	Valor de p
1	10	22 ± 1,633	25,3 ± 10,350	0,6406
2	10	23,6 ± 4,835	16,8 ± 3,011	0,0039*
3	10	22,4 ± 1,350	28,4 ± 13,040	0,2031
4	09	20,778 ± 3,700	17,889 ± 4,649	0,0234*
5	10	22,1 ± 1,197	22,2 ± 4,417	0,9219
6	10	21,1 ± 4,533	17,1 ± 3,213	0,0039*

n – tamanho da amostra; valores expressos como média ± desvio-padrão; * diferença significativa

Tab. 7. Análise comparativa dos valores de LDL (mg/dL), no início e ao final do experimento (12 semanas), nos diferentes grupos de estudo.

Grupo	n	Início	Final	Valor de p
1	10	34,0 ± 13,952	32,2 ± 14,172	0,4316
2	10	30,0 ± 9,498	38,4 ± 9,823	0,0391*
3	10	36,0 ± 13,474	36,7 ± 16,282	0,8457
4	09	33,555 ± 9,825	38 ± 7,842	0,0234*
5	10	36,1 ± 9,527	31,0 ± 7,468	0,3750
6	10	33,1 ± 6,226	38,8 ± 7,510	0,0039*

n – tamanho da amostra; valores expressos como média ± desvio-padrão; * diferença significativa

Tab. 8. Análise comparativa dos valores de VLDL (mg/dL), no início e ao final do experimento (12 semanas), nos diferentes grupos de estudo.

Grupo	n	Início	Final	Valor de p
1	10	11,5 ± 2,718	15,6 ± 7,834	0,2969
2	10	8,2 ± 4,022	15,3 ± 9,238	0,0020*
3	10	9,7 ± 2,908	17,7 ± 11,898	0,0840
4	09	7,778 ± 2,224	13,444 ± 5,703	0,0156*
5	10	10,0 ± 3,887	9,8 ± 3,584	1,0
6	10	8,9 ± 2,378	18,3 ± 7,573	0,0039*

n – tamanho da amostra; valores expressos como média ± desvio-padrão; ***** diferença significativa

Tab. 9. Análise comparativa dos valores de triglicerídeos (mg/dL), no início e ao final do experimento (12 semanas), nos diferentes grupos de estudo.

Grupo	n	Início	Final	Valor de p
1	10	57,1 ± 13,127	77,8 ± 39,347	0,4961
2	10	40,7 ± 19,928	77,1 ± 45,329	0,0020*
3	10	48,9 ± 14,372	88,0 ± 59,388	0,0645
4	09	38,111 ± 11,152	67,222 ± 28,252	0,0039*
5	10	46,8 ± 21,175	49,1 ± 18,441	0,1309
6	10	44,6 ± 12,616	91,4 ± 38,021	0,0039*

n – tamanho da amostra; valores expressos como média ± desvio-padrão; ***** diferença significativa

No início do experimento, quando comparados os animais de todos os grupos de estudo, não houve diferença no que se refere aos níveis plasmáticos de CT, HDL, LDL, VLDL ou TGL ($p>0,05$ para todos os grupos). Esta situação se manteve ao final do experimento (após 12 semanas), exceto no tocante aos níveis plasmáticos de

HDL, significantemente menores nos animais do grupo 3, em comparação aos animais dos grupos 2, 4 e 6. (Figura 4)

Adicionalmente, quando se comparou, separadamente, os níveis plasmáticos de lipídios dos grupos 1 *vs* 3 *vs* 5, assim como dos grupos 2 *vs* 4 *vs* 6, em D + 12, no intuito de se determinar o efeito do procedimento cirúrgico realizado, observou-se que não houve diferença significativa em nenhum dos parâmetros analisados (p> 0,05).

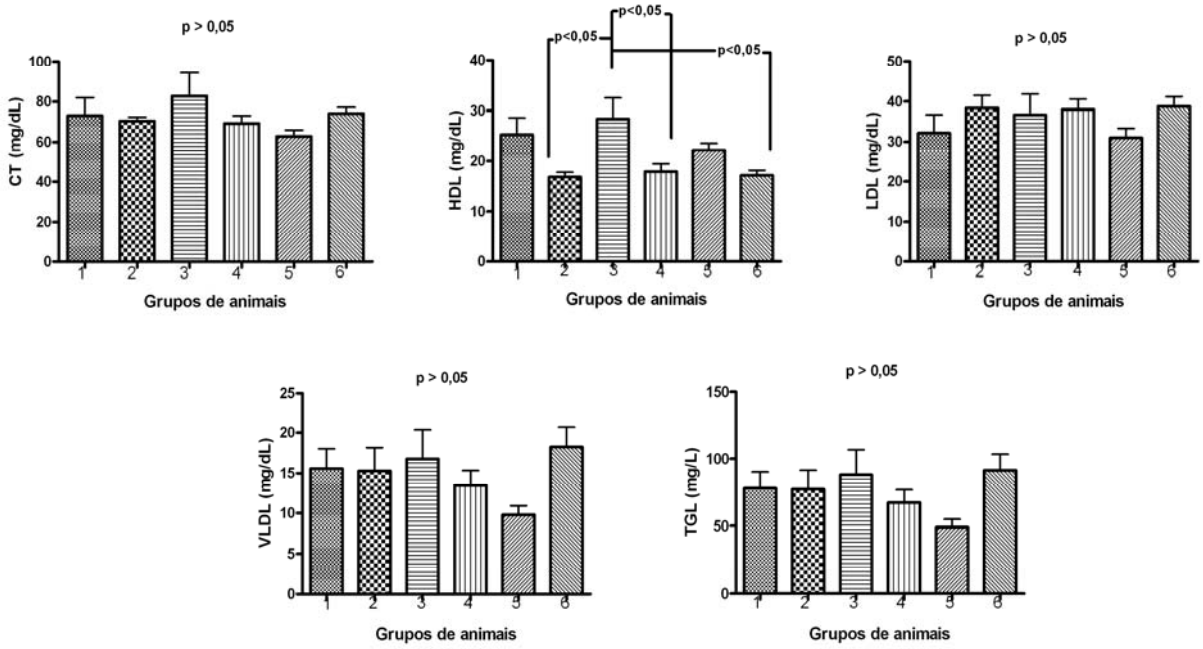

Fig. 4. Comparação dos níveis séricos de colesterol total, das frações HDL, LDL, VLDL e de triglicerídeos entre os grupos de animais, após 12 semanas de experimento.

5 – DISCUSSÃO

O conhecimento acerca das atribuições do baço na resposta imunológica do organismo e, conseqüentemente, das sérias complicações decorrentes de sua ausência, levaram ao desenvolvimento de novas abordagens para o tratamento de afecções esplênicas. A esplenectomia total, comumente realizada no passado, seja por enfermidades hematológicas e malignas ou por trauma, tem sido progressivamente substituída por procedimentos conservadores.[54,55] Adicionalmente, o progressivo conhecimento sobre as funções do baço, como um possível papel na regulação do metabolismo lipídico, tem sido demonstrado em estudos clínicos e experimentais, em duas situações antagônicas: no hiperesplenismo e na asplenia.[30,56,57]

Já está bem documentado que o implante esplênico autógeno (IEA) apresenta capacidade de regeneração, e é considerado como a única opção para a manutenção da função do órgão após a realização de esplenectomia total (ET).[16,58] O implante esplênico no omento maior, haja vista o seu abundante suprimento sangüíneo e a drenagem venosa para a veia porta, em similaridade ao baço *in situ*, parece apresentar os melhores resultados.[59,60] Apesar da seqüência da regeneração iniciar-se algumas horas após o implante e a neovascularização poucos dias após o procedimento,[18,61,62] parecem ser necessárias entre oito a 12 semanas para a sua regeneração morfológica e funcional.[63,64]

Neste estudo, optou-se por submeter o rato à condição de asplenia para verificar possíveis alterações nos níveis de lipídios plasmáticos, além de observar se o IAB seria eficaz em proteger os animais destas alterações.

A regeneração da função do baço parece ter uma relação direta com a massa esplênica implantada,[60] sendo estabelecido por diversos autores o percentual mínimo de 25% da massa esplênica total – massa crítica – para a manutenção de suas funções imunológicas.[19,65,66] Independentemente disso, no presente estudo foi realizado o implante da massa esplênica total, com o intuito de se observar a recuperação funcional do tecido esplênico implantado nos níveis de lipídios plasmáticos.

Em concordância com achados anteriores,[18,25,67,68] a análise histopatológica do tecido esplênico implantado ao final do experimento evidenciou arquitetura característica de um baço normal, observando-se regeneração morfológica em todos os animais submetidos ao implante esplênico, sem diferença entre os grupos de animais alimentados com dieta nutricionalmente equilibrada (grupo 5) ou com alto teor de gordura saturada (grupo 6).

Robinette e Fraumeni Jr (1977) foram pioneiros em apontar a participação do baço na regulação dos lipídios plasmáticos, atribuindo à asplenia possíveis distúrbios que provocariam a alta incidência de infarto agudo do miocárdio em veteranos esplenectomizados durante a Segunda Guerra Mundial.[31] Em inúmeros estudos realizados em pacientes com doenças mieloproliferativas associadas à esplenomegalia, foram encontrados níveis de lipídios plasmáticos diminuídos.[26,27,69]

Estudos experimentais têm avaliado o impacto da ET nos níveis de lipídios plasmáticos, com resultados conflitantes. Foi demonstrado aumento significativo dos níveis plasmáticos de TGL e diminuição de HDL após a realização de ET em ratos alimentados com dieta normal, e com alteração mais pronunciada com o uso de dieta com teor aumentado de gordura;[32] em contraposição, os resultados de outros estudos mostraram elevação nos níveis plasmáticos de CT e de LDL, e diminuição

dos níveis de HDL, com ausência de alterações nos níveis de TGL ou de VLDL,[35] ou elevação de todos estes parâmetros,[34] em ratos submetidos ao mesmo procedimento.

A grande maioria dos estudos existentes que avaliam os níveis de lipídios plasmáticos após procedimentos cirúrgicos sobre o baço não levam em consideração o ganho de peso dos animais durante o experimento, assim como o seu consumo de ração. Cabe ressaltar que o excesso de adiposidade corpórea pode levar a uma piora em diversos fatores de risco para doenças cardiovasculares, incluindo a dislipidemia.[70,71] Desta maneira, um maior ganho de peso ou um maior consumo de ração de determinado grupo, por exemplo, poderia resultar num aumento dos níveis de lipídios plasmáticos e, conseqüentemente, na interpretação errônea dos resultados obtidos. É incontestável, portanto, a importância do controle destas variáveis para a identificação de possível heterogeneidade entre os diversos grupos de animais e influência nos resultados. No presente estudo, o ganho de peso, assim como o consumo de ração foi acompanhado durante todo o experimento, tendo sido observado um ganho de peso similar entre todos os grupos de animais, assim como o consumo de ração durante as 12 semanas de experimento.

Além disso, grande parte dos estudos utiliza a ração comercial para alimentação dos animais durante o experimento, acrescida ou não de colesterol. Sabe-se que, neste tipo de ração, a quantidade exata utilizada dos ingredientes e, portanto, a sua composição, inclusive no que se refere à quantidade de gordura, não é fornecida pelo fabricante, somente os seus percentuais máximo ou mínimo. Não se pode assegurar, por conseguinte, a composição nutricional idêntica entre todos os lotes de ração.

O exato conhecimento da composição da dieta do modelo animal a ser utilizado é um dos fatores de maior importância, haja vista que determinado nutriente pode exercer grande influência no desfecho observado. A ração nutricionalmente equilibrada, fundamentada nas recomendações da AIN-93, utilizada em nosso estudo, é apropriada para estudos com nutrição experimental. Essa ração é adequada em micro e macro-nutrientes para roedores adultos que não estejam em fase de reprodução (fase de manutenção), visando garantir a composição da dieta oferecida.[50]

Em alguns trabalhos, dietas enriquecidas com colesterol foram utilizadas com o objetivo de induzir hiperlipidemia e enfatizar as possíveis alterações no lipidograma, observando-se aumento ainda mais significativo no perfil lipídico de ratos esplenectomizados que tiveram colesterol adicionado à sua ração, quando comparado aos animais alimentados com ração controle.[29,34,57] Já é esperado, contudo, que a adição de colesterol, por si, seja capaz de alterar os níveis plasmáticos de lipídios. Neste estudo, optou-se por modificar a fonte lipídica com o intuito de se observar o efeito do tipo de gordura nos níveis plasmáticos de lipídios, sem alterar a quantidade de gordura oferecida.

De acordo com as estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) (2003), aproximadamente 16,7 milhões de pessoas morrem anualmente por doenças cardiovasculares, sendo considerada, atualmente, como a maior causa de morbimortalidade no mundo ocidental. Dentre os principais fatores de risco contribuintes, os níveis plasmáticos elevados de CT exercem um papel primordial na iniciação e progressão da aterosclerose. Estudos experimentais, clínicos, epidemiológicos e formas genéticas de hipercolesterolemia apontam o LDL aumentado como a maior causa de doenças cardiovasculares.[72,73]

A melhora dos fatores de risco associados ao estilo de vida permanece como um dos meios mais eficazes para redução do risco de doenças coronarianas. Pesquisas realizadas em animais e em humanos mostraram associação importante de intervenções dietéticas para redução dos níveis plasmáticos de LDL e a estabilização e regressão da aterosclerose, proporcional à redução alcançada.[74-76]

Durante a década de 80, as recomendações dietéticas para a redução do risco de doenças coronarianas tinham como ênfase a redução na quantidade total de gordura ingerida, com pouca distinção em relação ao seu tipo.[77] No entanto, evidências recentes sugerem reduções consistentes no risco de doenças cardiovasculares alcançadas com alterações no perfil de lipoproteínas plasmáticas, por meio de mudanças na qualidade da gordura consumida. A substituição da gordura *saturada* e da gordura *trans* por gordura mono e poliinsaturada é capaz de trazer benefícios, alterando favoravelmente o perfil lipídico, observando-se pouco efeito quando se reduz a quantidade total de gordura ingerida.[78,79]

A escolha da gordura suína como fonte lipídica utilizada para alimentação dos animais dos grupos 2, 4 e 6 se deveu ao seu elevado teor de gordura saturada. Pelo fato das principais fontes de gordura saturada consumidas pela população, alimentos de origem animal, serem também fontes de colesterol, deve-se levar em consideração também o teor de colesterol presente na dieta nos resultados observados nestes grupos. Diversos estudos demonstraram que o colesterol dietético é um regulador do colesterol plasmático menos potente que os ácidos graxos dietéticos, mas, todavia, pode exercer um efeito importante quando ambos agem sinergicamente.[80-82]

Ao contrário do que tem sido demonstrado na literatura em estudos experimentais, não foram observadas alterações nos níveis de lipídios plasmáticos

após os procedimentos cirúrgicos realizados neste estudo, quando os animais foram alimentados com a ração controle. Deste modo, o trauma cirúrgico e a ET, associada ou não ao IEA, não interferiram no lipidograma dos animais estudados.

Similarmente, Rezende *et al.* (2007), utilizando uma ração semelhante à que foi usada neste estudo, em camundongos, encontraram níveis plasmáticos semelhantes de colesterol e de suas frações entre os grupos submetidos a intervenção cirúrgica, independentemente do procedimento realizado ter sido a operação simulada, a esplenectomia total, seguida ou não de transplante autógeno esplênico.[83] Resultados semelhantes foram obtidos por Caligiuri *et al.* (2002), que também não encontraram alterações nos níveis de CT em camundongos esplenectomizados, embora a ET tenha agravado drasticamente a aterosclerose em relação ao grupo controle (operação simulada).[39]

Quando os animais foram alimentados com ração com modificação na fonte lipídica, observou-se aumento significativo nos níveis plasmáticos de CT, LDL, VLDL e TGL, e diminuição do HDL, quando comparados o início e o final do experimento, dentro de cada grupo. Estas alterações foram observadas em todos os grupos de animais alimentados com ração à base de gordura suína, independentemente do animal ter sido submetido a operação simulada e a esplenectomia total, isolada ou combinada com implante esplênico.

É importante ressaltar que, embora na comparação entre os grupos de animais estudados ao final do experimento, tenha sido observada diferença apenas nos níveis plasmáticos de HDL (grupo 3 *vs* 2, 4 e 6), as alterações encontradas dentro de cada um dos seis grupos de estudo são de grande relevância, haja vista que ocorreu uma piora significativa nos níveis de CT e de suas frações, bem como

de TGL, na 12ª semana, em relação ao início do experimento, quando os ratos foram alimentados com a dieta modificada.

Nossos resultados corroboram achados relatados na literatura de que dietas ricas em gordura saturada e colesterol aumentam os níveis de colesterol total e de LDL, resultando em um perfil lipídico mais aterogênico.[84-86] Efeitos observados nos níveis plasmáticos de TGL, HDL e VLDL podem resultar de mudanças na quantidade de gordura ou no perfil de ácidos graxos da gordura utilizada na ração do período do pós-operatório em relação à ração utilizada no pré-operatório (comercial).

Sabe-se que, quanto maiores os níveis de LDL, maior é o risco de surgimento de doenças cardiovasculares.[87] Além disso, os níveis plasmáticos de TGL estão fortemente relacionados a uma série de fatores aterogênicos, como o predomínio de partículas de LDL pequenas e densas e diminuição de partículas grandes de HDL. As subclasses maiores de HDL são as que estão mais relacionadas ao efeito cardioprotetor desta classe de lipoproteínas e seus níveis são inversamente correlacionados aos níveis plasmáticos de TGL.[88,89]

Apesar de serem considerados hipo-responsivos ao colesterol dietético, da dificuldade em produzir hipercolesterolemia e aterosclerose em ratos e do questionamento existente acerca do melhor modelo animal para estudo do metabolismo lipídico,[90,91] a dieta utilizada, à base de gordura suína, sem aumento no teor lipídico e apenas com modificação na sua fonte, foi eficaz em provocar a hiperlipidemia nos animais.

Algumas teorias foram propostas na tentativa de explicar os mecanismos implicados na regulação dos níveis sangüíneos de lipídios pelo baço nas doenças mieloproliferativas. Schmidt *et al.* (1997) compararam o baço a um reservatório lipídico em situações de hiperesplenismo, onde macrófagos acumulariam grande

quantidade de gordura, mediante o processo de fagocitose, com conseqüente hipolipidemia.[92] Foram descritas ainda, em pacientes com beta-talassemia, anormalidades na estrutura e na composição das lipoproteínas, que seriam rapidamente removidas do plasma pela atividade de macrófagos.[93]

Alguns estudos sugerem, ainda, que a esplenomegalia presente nestes pacientes resulta em hipocolesterolemia por meio de um mecanismo de varredura, onde macrófagos ativados aumentam o catabolismo da LDL, propiciando a sua depuração plasmática.[94,95] Também foi descrito um aumento na taxa de captação de LDL, via receptor, e a sua degradação em células mononucleares (linfócitos maduros e monócitos) de pacientes com leucemia mielóide aguda (LMA), quando comparados a indivíduos saudáveis, sendo o baço um dos órgãos que apresentaram taxa aumentada de captação dessa fração lipídica, configurando-se num dos locais de sua degradação.[96,97] Vallabhajosula *et al.* (1989) estudaram a distribuição de LDL marcada em pacientes com desordens mieloproliferativas e encontraram o baço como um dos maiores sítios de catabolismo da LDL,[98] corroborando os achados anteriores.

Outro mecanismo proposto para a participação do baço no metabolismo lipídico é a produção de anticorpos anti-LDL oxidada.[39] O baço exerce um importante papel na maturação de linfócitos B e no desenvolvimento da imunidade humoral para antígenos circulantes, como lipoproteínas modificadas, podendo estar envolvido, portanto, na proteção contra a aterosclerose, e na modulação do desenvolvimento da lesão. O complexo antígeno-anticorpo seria retirado da circulação por macrófagos teciduais, incluindo os esplênicos.

A LDL é a maior lipoproteína carreadora de colesterol do plasma humano, representando aproximadamente 70% do CT. Em diversos tecidos, as partículas de

LDL entram nas células predominantemente via ligação com receptores específicos de membrana celular, com posterior degradação nos lisossomos e liberação do colesterol livre para ser utilizado na síntese de membranas ou na produção de hormônios esteróides e ácidos biliares.[99]

Alguns autores sugeriram que o baço, fígado e linfonodos podem exercer uma forte contribuição no catabolismo da LDL pela via independente de receptor, por meio da atividade do seu sistema mononuclear fagocitário (SMF).[100,101] Estudo realizado em coelhos mostrou diminuição do *clearance* plasmático de LDL após a supressão da atividade do seu SMF, concomitantemente ao bloqueio da via dependente de receptor, mediante a sua modificação química.[100] No entanto, em uma situação normal, é possível que a remoção do baço não influencie os níveis LDL, devido a uma compensação pela presença da via receptor-dependente ou ainda pela presença de outros órgãos também responsáveis pelo *clearance* de LDL, via receptor não-dependente.

Com isso, apesar do provável papel do baço nas doenças mieloproliferativas e da imunidade esplênica no desenvolvimento da aterosclerose, não foi demonstrada influência de procedimentos cirúrgicos sobre o baço nos níveis de lipídios plasmáticos de ratos, sugerindo que, na ausência de enfermidades, o baço não exerça um papel relevante na regulação dos lipídios plasmáticos. A qualidade da gordura consumida, por meio do uso de dieta rica em gordura saturada de origem suína, determinou alteração significativa do lipidograma dos animais, ao contrário da dieta nutricionalmente equilibrada. É fundamental ressaltar a necessidade de novas pesquisas, com a utilização de outros modelos animais, além de diferentes fontes e quantidades de gordura na dieta, utilizadas tanto no pré quanto no pós-operatório, para melhor elucidar o papel do baço no metabolismo lipídico.

6 – CONCLUSÃO

Nossos resultados demonstram que:

- ✓ A esplenectomia total, associada ou não ao implante esplênico autógeno, não provoca alterações nos níveis de lipídios plasmáticos de ratos.
- ✓ Ratos submetidos a uma dieta nutricionalmente equilibrada mantêm os níveis plasmáticos de lipídios, enquanto ratos submetidos a uma dieta com gordura suína como fonte lipídica apresentam uma piora no perfil desses mesmos parâmetros.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Timens W, Leemans R. Splenic autotransplantation and the immune system. Ann Surg 1992; 215:256-60.

2. Paulo DNS, Paulo ICAL, Kalil M, Vargas PM, Silva AL, Baptista JFA *et al*. Subtotal splenectomy preserving the lower pole in rats: technical, morphological and functional aspects. Acta Cir Bras 2006; 21:321-7.

3. King JH. Studies in the pathology of the spleen. Arch Intern Med 1914; 14:145-167.

4. Bisharat N, Omari H, Lavi I, Raz R. Risk of infection and death among post-splenectomy patients. J Infect 2001; 43:182-6.

5. Lynch AM, Kapila R. Overwhelming postsplenectomy infection. Infect Dis Clin North Am 1996; 10:693-707.

6. Altamura M, Caradonna L, Amati L, Pellegrino NM, Urgesi G, Miniello S. Splenectomy and sepsis: the role of the spleen in the immune-mediated bacterial clearance. Immunopharmacol Immunotoxicol 2001, 23:153-61.

7. Witztum JL. Splenic immunity and atherosclerosis; a glimpse into a novel paradigm? J Clin Invest 2002; 109:721-4.

8. Miko I, Brath E, Nemeth N, Toth FF, Sipka S, Kovacs J *et al*. Hematological, hemorheological, immunological, and morphological studies of spleen autotransplantation in mice: preliminary results. Microsurgery 2003; 23:483-8.

9. Miko I, Nemeth N, Sipka S, Brath E, Peto K, Gulyas A *et al*. Hemorheological follow up after splenectomy and spleen autotransplantation in mice. Microsurgery 2006; 26: 38-42.

10. Rose AT, Newman MI, Debelak J, Pinson CW, Morris JA Jr, Harley DD. The incidence of splenectomy is decreasing: lessons learned from trauma experience. Am Surg 2000; 66:481-6.

11. Rice HE, Oldham KT, Hillery CA, Skinner MA, O'Hara SM, Ware RE. Clinical and hematologic benefits of partial splenectomy for congenital hemolytic anemias in children. Ann Surg 2003; 237:281-8.

12. Stoehr GA, Stauffer UG, Eber SW. Near-total splenectomy: a new technique for the management of hereditary spherocytosis. Ann Surg 2005; 241:40-7.

13. Diesen DL, Zimmerman SA, Thornburg CD, Ware RE, Skinner M, Oldham KT *et al.* Partial splenectomy for children with congenital hemolytic anemia and massive splenomegaly. J Pediatr Surg 2008; 43: 466-72.

14. De Buys Roessingh AS, De Lagausie P, Rohrlich P, Berrebi D, Aigrain Y. Follow-up of partial splenectomy in children with hereditary spherocytosis. J Pediatr Surg 2002; 37:1459-63.

15. Petroianu A, Vidigal FM, Costa VC, De Oliveira SC. Splenic autotransplantation in Gaucher's disease. Dig Surg 2000; 17:181-3.

16. Marques RG, Petroianu A, Coelho JM, Portela MC. Regeneration of splenic autotransplants. Ann Hematol 2002; 81:622-6.

17. Marques RG, Petroianu A, De Oliveira MB, Bernardo-Filho M, Boasquevisque EM, Portela MC. Bacterial clearance after total splenectomy and splenic autotransplantation in rats. Appl Radiat Isot 2002 ; 57:767-71.

18. Tavassoli M, Ratzan RJ, Crosby WH. Studies on regeneration of heterotopic splenic autotransplants. Blood 1973; 41:701-9.

19. Patel JM, Williams JS, Naim JO, Hinshaw JR. The effect of site and technique of splenic tissue reimplantation on pneumococcal clearance from the blood. J Pediatr Surg 1986; 21:877-80.

20. Leemans R, Harms G, Rijkers GT, Timens W. Spleen autotransplantation provides restoration of functional splenic lymphoid compartments and improves the humoral immune response to pneumococcal polysaccharide vaccine. Clin Exp Immunol 1999; 117:596-604.

21. Patel JM, Williams JS, Shmigel B, Hinshaw JR. Preservation of splenic function by autotransplantation of traumatized spleen in man. Surgery 1981; 90:683-8.

22. Resende V, Petroianu A. Estudo funcional tardio do auto-implante esplênico após trauma complexo do baço humano. Rev Col Bras Cir 2001; 28:165-70.

23. Shennib H, Chiu RC, Mulder DS. The effects of splenectomy and splenic implantation on alveolar macrophage function. J Trauma 1983; 23:7-12.

24. Petroianu A, Simal CJR, Barbosa AJA. Assessment of phagocytic function in remnants of subtotal splenectomy and in autologous spleen implantation. Med Sci Res 1993 ; 21:175-7.

25. Marques R G, Petroianu A, Coelho JM. Bacterial phagocytosis by macrophage of autogenous splenic implant. Braz J Biol 2003; 63:491-5.

26. Gilbert HS, Ginsberg H, Fargerstrom R, Brown WV. Characterization of hypocholesterolemia in myeloproliferative disease. Relation to disease manifestations and activity. Am J Med 1981; 71:595-602.

27. Sugihara T, Yawata Y. Observations on plasma and red cell lipids in hereditary spherocytosis. Clin Chim Acta 1984; 137:227-32.

28. Aviram M, Brook JG, Tatarsky I, 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; 291:25-8.

29. Asai K, Kuzuya M, Naito M, Funaki C, Kuzuya F. Effects of splenectomy on serum lipids and experimental atherosclerosis. Angiology 1988; 39:497-504.

30. Wysocki A, Drozdz W, Dolecki M. Spleen and lipids metabolism – is there any correlation? Med Sci Monit 1999; 5:524-7.

31. Robinette CD, Fraumeni JF Jr. Splenectomy and subsequent mortality in veterans of the 1939-45 war. Lancet 1977; 16:127-9.

32. Fatouros M, Bourantas K, Bairaktari E, Elisaf M, Tsolas O, Cassioumis D. Role of the spleen in lipid metabolism. Br J Surg 1995; 82:1675-7.

33. Paulo DNS, Silva AL. Lipídios plasmáticos após esplenectomia total e parcial em cães. Rev Col Bras Cir 2001; 28:264-70.

34. Paulo ICAL, Paulo DNS, Silva AL, Foletto RM, Colnago GL, Vargas PM. Níveis de lipídios plasmáticos em ratos submetidos a esplenectomia total, ligadura simultânea dos vasos esplênicos e a esplenectomia subtotal com preservação do pólo inferior. Rev Col Bras Cir 2005; 32:229-36.

35. Petroianu A, Veloso DFM, Costa GR, Alberti LR. Efeitos de operações sobre o baço no lipidograma de ratas. Rev Assoc Med Bras 2006; 52:56-9.

36. Simões FC, Marques RG, Diestel CF, Caetano CER, Dinis APG, Horst NL *et al.* Lipidic profile among rats submitted to total splenectomy isolated or combined with splenic autotransplant. Acta Cir Bras 2007; 22:46-51.

37. Ross, R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. N Engl J Med 1999; 340:115-26.

38. Song L, Leung C, Schindler C. Lymphocytes are important in early atherosclerosis. J Clin Invest 2001; 108:251-9.

39. Caligiuri G, Nicoletti AP, Poirier B, Hansson GK. Protective immunity against atherosclerosis carried by B cells of hypercolesterolemic mice. J Clin Invest 2002; 109:745-53.

40. Hooper L, Summerbell CD, Higgins JP, Thompson RL, Capps NE, Smith GD, Riemersma RA, Ebrahim S. Dietary fat intake and prevention of cardiovascular disease: systematic review. BMJ 2001; 322:757-63.

41. Matos SL, Paula H, Pedrosa ML, Santos RC, Oliveira EL, Chianca DA Jr *et al*. Dietary models for inducing hypercholesterolemia in rats. Braz Arch Biol Technol 2005; 48:203-9.

42. Águila MB, Loureiro CC, Pinheiro AR, Mandarim-de-Lacerda CA. Lipid metabolism in rats fed diets containing different types of lipids. Arq Bras Cardiol 2002; 78:32-8.

43. Gylling H, Miettinen TA. A review of clinical trials in dietary interventions to decrease the incidence of coronary artery disease. Curr Control Trials Cardiovasc Med 2001, 2:123-8.

44. Lin J, Yang R, Tarr PT, Wu PH, Handschin C, Li S *et al*. Hyperlipidemic effects of dietary saturated fats mediated through PGC-1β coactivation of SREBP. Cell 2005; 120:261-73.

45. Lapointe A, Balk EM, Lichtenstein AH. Gender differences in plasma lipid response to dietary fat. Nutr Rev 2006; 64:234-49.

46. Dietschy DK. Experimental mechanism: regulation of plasma LDL cholesterol. Am J Clin Nutr 1995; 62:679S-88S.

47. Woolett LA, Spady DK, Dietschy JM. Saturated and unsaturated fatty acids independently regulate low density lipoprotein receptor activity and production rate. J Lipid Res 1992; 33:77-88.

48. Dietschy JM. Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentrations. J Nutr 1998; 128:444S-8S.

49. Garg A, Simha V. Update on dyslipidemia. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92:1581-9.

50. Reeves, PG. Components of the AIN-93 Diets as improvements in the AIN-76A Diet. J Nutr 1997; 127:838S-41S.

51. Soriguer F, Moreno F, Rojo-Martınez G, Garcıa-Fuentes E, Tinahones F, Gomez-Zumaquero JM *et al*. Monounsaturated n-9 fatty acids and adipocyte lipolysis in rats. Br J Nutr 2003; 90:1015-22.

52. Petroianu A. Aspectos éticos na pesquisa em animais. Acta Cir Bras 1996; 11:157-64.

53. Marques RG, Miranda ML, Caetano CER, Biondo-Simões MLP. Rumo à regulamentação da utilização de animais no ensino e na pesquisa científica no Brasil. Acta Cir Bras 2005; 20:262-7.

54. Barbuscia M, Praticò C, Pergolizzi FP, Lizio R, Ilaqua A, Minniti C *et al.* Closed trauma of the spleen. Indications to surgical treatment. G Chir 2007; 28:217-21.

55. Malagó R, Reis NS, Araújo MR, Andreollo NA. Late histological aspects of spleen autologous transplantation in rats. Acta Cir Bras 2008; 23:274-81.

56. Gilbert HS, Ginsberg H. Hypocholesterolemia as a manifestation of disease activity in chronic myelocytic leukemia. Cancer 1983; 51:1428-33.

57. Paulo ICAL, Paulo DNS, Kalil M, Guerra AJ, Guerzet EA, Silva AL. Lípides plasmáticos em ratos após cirurgia esplênica – efeito de dois tipos de dieta. Rev Assoc Med Bras 2007; 53:171-7.

58. Karagülle E, Hoşcoşkun Z, Kutlu AK, Kaya M, Baydar S. The effectiveness of splenic autotransplantation: an experimental study. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg 2007; 13:13-9.

59. Patel J, Williams JS, Naim JO, Hinshaw JR. Protection against pneumococcal sepsis in splenectomized rats by implantation of splenic tissue into an omental pouch. Surgery 1982; 91:638-41.

60. Iinuma H, Okinaga K, Sato S, Tomioka M, Matsumoto K. Optimal site and amount of splenic tissue for autotransplantation. J Surg Res 1992; 53:109-16.

61. Alves HJ, Viana G, Magalhães MM, Arantes RM, Coelho PM, Cunha-Melo JR. Kinetics of neovascularisation of splenic autotransplants in mice. J Anat 1999; 195:387-92.

62. Sasaki K. Neovascularization in the splenic autograft transplanted into rat omentum as studied by scanning electron microscopy of vascular casts. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol. 1986; 409:325-34.

63. Spika JS, Brath E, Toth FF, Aleksza M, Kulcsar A, Fabian A *et al*. Cellular and serological changes in the peripheral blood of splenectomized and spleen autotransplanted mice. Transpl Immunol 2006; 16:99-104.

64. Willführ KU, Westermann J, Pabst R. Absolute numbers of lymphocyte subsets migrating through the compartments of the normal and transplanted rat spleen. Eur J Immunol 1990; 20:903-11.

65. Van Wick DB, White MH, White CL. Critical splenic mass for survival from experimental pneumococcemia. J Surg Res 1980; 28:14-7.

66. Bradshaw PH, Thomas CG. Regeneration of splenic remnant after partial splenectomy in rats. J Surg Res 1982; 32:176-81.

67. Pabst R, Kamran D. Autotransplantation of splenic tissue. J Pediatr Surg 1986; 21:120-4.

68. Thalhamer J, Leitner W, Kurz ME, Liaunigg A, Seifriedsberger M, Bergmann ES, et al. Immunoarchitecture and specific functions of splenic autotransplants at different implantation sites. Eur Surg Res 1992; 24:22-36.

69. Pandolfino J, Hakimian D, Rademaker AW, Tallman MS. Hypocholesterolemia in hairy cell leukemia: a marker for proliferative activity. Am J Hematol 1997; 55:129-33.

70. Ezquerra EA, Vàzquez JMC, Barrero AA. Obesity, Metabolic Syndrome, and Diabetes: Cardiovascular Implications and Therapy. Rev Esp Cardiol 2008; 61:752-64.

71. Kannel WB, D'Agostino RB, Cobb JL. Effect of weight on cardiovascular disease. Am J Clin Nutr l996; 63:4l9S-22S.

72. Böhm M**,** Werner C**,** Jakobsen A**,** Heroys J**,** Ralph A**,** Rees T *et al.* Treating to protect: current cardiovascular treatment approaches and remaining needs. Medscape J Med 2008; 10:S3.

73. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001; 285:2486-97.

74. Brunzell JD, Davidson M, Furberg CD, Goldberg RB, Howard BV, Stein JH *et al.* Lipoprotein management in patients with cardiometabolic risk: consensus conference report from the American Diabetes Association and the American College of Cardiology Foundation. J Am Coll Cardiol 2008; 51:1512-24.

75. O'Keefe JH, Cordain L, Harris WH, Moe RM, Vogel R. Optimal low-density lipoprotein is 50 to 70 mg/dl: lower is better and physiologically normal. J Am Coll Cardiol 2004; 43:2142-6.

76. Waśkiewicz A, Piotrowski W, Sygnowska E, Broda G, Drygas W, Zdrojewski T *et al*. Quality of nutrition and health knowledge in subjects with diagnosed cardio-vascular diseases in the Polish population--National Multicentre Health Survey (WOBASZ). Kardiol Pol 2008; 66:507-13.

77. Willett WC. Will high-carbohydrate/low-fat diets reduce the risk of coronary heart disease? Proc Soc Exp Biol Med 2000; 225:187-90.

78. Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, Rimm E, Colditz GA, Rosner BA *et al.* Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. N Engl J Med 1997; 337:1491-9.

79. Yu-Poth S, Etherton TD, Reddy CC, Pearson TA, Reed R, Zhao G *et al*. Lowering dietary saturated fat and total fat reduces the oxidative susceptibility of LDL in healthy men and women. J Nutr 2000; 130:2228-37.

80. Schaefer EJ. Lipoproteins, nutrition, and heart disease. Am J Clin Nutr 2002; 75:191-212.

81. Lichtenstein AH, Ausman LM, Carrasco W, Jenner JL, Ordovas JM, Schaefer EJ. Hypercholesterolemic effect of dietary cholesterol in diets enriched in polyunsaturated and saturated fat. Dietary cholesterol, fat saturation, and plasma lipids. Arterioscler Thromb 1994; 14:168-75.

82. Hopkins PN. Effects of dietary cholesterol on serum cholesterol: a meta-analysis and review. Am J Clin Nutr 1992; 55:1060-70.

83. Rezende AB, Nunes SI, Farias RE, Vieira FR, Petroianu A, Teixeira HC. Influência do baço, da asplenia e do implante esplênico autógeno no metabolismo lipídico de camundongos. Rev Col Bras Cir 2007; 34:177-82.

84. Hooper L, Summerbell CD, Higgins JP, Thompson RL, Clements G, Capps N *et al*. Reduced or modified dietary fat for preventing cardiovascular disease. Cochrane Database Syst Rev. 2001; 3:CD002137.

85. Cobb MM, Teitlebaum H. Determinants of plasma cholesterol responsiveness to the diet. Br J Nutr 1994; 71:271-82.

86. Mensink RP, Zock PL, Katan MB, Hornstra G. Effect of dietary cis and trans fatty acids on serum lipoprotein[a] levels in humans. J Lipid Res 1992; 33:1493-501.

87. Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, Carnethon M, Daniels S, Franch HA, *et al*. Diet and Lifestyle Recommendations Revision 2006: A Scientific Statement From the American Heart Association Nutrition Committee. Circulation 2006; 114:82-96.

88. Grundy SM. Hypertriglyceridemia, atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. Am J Cardiol 1998; 81:18B-25B.

89. Tornvall P, Karpe F, Proudler A, Bavenholm P, Landou C, Olivecrona T, *et al*. High-density lipoprotein: relations to metabolic parameters and severity of coronary artery disease. Metabolism 1996; 45:1375-82.

90. Moghadasian MH, Frohlich JJ, McManus BM. Advanced in experimental dyslipidemia and atherosclerosis. Lab Invest 2001; 81:1173-83.

91. Gill III TJ, Smith GJ, Wissler RW, Kunz HW. The rat as an experimental model. Science 1989; 21:53-9.

92. Schmidt HH, Wagner S, Manns M. The spleen as a storage pool in lipid metabolism [letter]. Am J Gastroenterol 1997; 92:1072.

93. Goldfarb AW, Rachmilewitz EA, Eisenberg S. Abnormal low and high density lipoproteins in homozygous beta-thalassaemia. Br J Haematol 1991; 79:481-6.

94. Goldstein JL, Brown MS. The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. Annu Rev Biochem 1977; 46:897-930.

95. Le NA, Gibson JC, Rubinstein A, Grabowski GA, Ginsberg HN. Abnormalities in lipoprotein metabolism in Gaucher type 1 disease. Metabolism 1988; 37:240-5.

96. Ho YK, Smith RG, Brown MS, Goldstein JL. Low-density lipoprotein (LDL) receptor activity in human acute myelogenous leukemia cells. Blood 1978; 52:1099-114.

97. Vitols S, Angelin B, Ericsson S, Gahrton G, Juliusson G, Masquelier M *et al*. Uptake of low density lipoproteins by human leukemic cells in vivo: relation to plasma lipoprotein levels and possible relevance for selective chemotherapy. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87:1598-602.

98. Vallabhajosula S, Gilbert HS, Goldsmith SJ, Paidi M, Hanna MM, Ginsberg HN. Low-density lipoprotein (LDL) distribution shown by 99mtechnetium-LDL imaging in patients with myeloproliferative diseases. Ann Intern Med 1989; 110:208-13.

99. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. Science 1986; 232:34-47.

100. Slater HR, Packard CJ, Shepherd J. Receptor-independent catabolism of low density lipoprotein. Involvement of the reticuloendothelial system. J Biol Chem 1980; 257:307-10.

101. Pittman RC, Attie AD, Carew TE, Steinberg D. Tissue sites of degradation of low density lipoprotein: application of a method for determining the fate of plasma proteins. Proc Natl Acad Sci USA 1979; 76:5345-9.

ANEXO

Tab. A1. Peso inicial e final (g) de cada animal, por grupo.

Animal		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
1	**I**	253,17	249,39	266,32	252,85	266,25	256,33
	F	339,62	464,1	411,12	442,05	393,02	540,09
2	**I**	240,05	253,36	240,97	264,33	251,65	262,24
	F	405,55	430,03	422,58	630,02	425,14	508,11
3	**I**	269,41	266,79	255,04	óbito	246,65	263,92
	F	426,92	530,06	337,86		415,13	530,13
4	**I**	248,87	247,98	240,22	251,38	253,52	241,67
	F	383,14	447,79	390,13	435,88	442,23	398,51
5	**I**	261,61	245,27	249,92	259,4	254,19	250,55
	F	444,13	485,21	403,38	428,55	480,91	402,08
6	**I**	255,01	246,51	254,49	252,92	256,7	256,82
	F	426,25	488,01	458,4	414	412,74	392,02
7	**I**	241,86	251,36	254,48	251,29	249,39	256,21
	F	371,23	398,12	448,9	386,1	403,18	434,06
8	**I**	264,81	254,32	246,46	256,47	250,12	242,47
	F	484,2	394,01	400,7	406	397,41	368
9	**I**	254,69	269,81	244,67	259,5	249,71	258,54
	F	429,8	398,2	440,32	392,07	317,73	432,23
10	**I**	269,82	251,08	251,31	256,41	245,06	267,73
	F	574,23	414	416,34	464,09	454,2	416,10

I – peso inicial; F – peso final

Tab. A2. Ingestão total de ração de cada animal (g), por grupo, durante as 12 semanas de experimento.

Animal	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
1	1035,76	1686,6	1334,36	1697,86	1379,9	1943,68
2	1470,57	1634,46	1516,91	2282,08	1565,13	1827,29
3	1417,92	1951,98	1322,39	óbito	1501,51	2004,32
4	1332,23	1555,22	1433,61	1667,28	1502,07	1391,36
5	1520,62	1770,7	1363,96	1556,96	1538,65	1568,14
6	1358,67	1756,82	1606,46	1414,42	1343,31	1342,47
7	1397,46	1312,71	1470,05	1393,13	1283,38	1531,91
8	1542,28	1315,7	1165,28	1290,86	1314	1195,68
9	1370,14	1440,29	1331,21	1250,48	1008,86	1559,13
10	1819,84	1465,93	1467,5	1675,93	1580,08	1521,38

Tab. A3. Massa esplênica implantada e regenerada (g) de cada animal dos grupos 5 e 6.

Animal		Grupo 5	Grupo 6
1	**I**	0,76	1,0331
	R	0,0864	0,5061
2	**I**	0,9988	1,0647
	R	0,1929	0,4328
3	**I**	1,2537	1,0254
	R	0,3056	0,1803
4	**I**	0,8927	0,8854
	R	0,2876	0,1547
5	**I**	0,7465	0,9452
	R	0,281	0,2436
6	**I**	0,8445	0,871
	R	0,1376	0,1769
7	**I**	0,981	0,7184
	R	0,0659	0,1146
8	**I**	0,6508	0,9083
	R	0,2397	0,0983
9	**I**	0,8144	0,7295
	R	0,1168	0,1033
10	**I**	0,808	1,1278
	R	0,1186	0,1963

I – massa esplênica implantada; R – massa esplênica regenerada

Tab. A4. Níveis plasmáticos inicial e final de colesterol total (mg/dl) de cada animal, por grupo.

Animal		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
1	**I**	62	58	53	49	62	59
	F	67	68	68	65	61	83
2	**I**	71	67	62	58	70	66
	F	56	70	45	58	65	82
3	**I**	64	79	42	óbito	57	70
	F	61	78	39		49	90
4	**I**	59	66	77	52	79	81
	F	53	73	68	67	79	81
5	**I**	57	67	61	55	60	55
	F	61	65	63	61	69	63
6	**I**	65	57	89	66	70	67
	F	76	67	104	80	67	77
7	**I**	45	76	77	71	79	56
	F	35	74	156	77	45	68
8	**I**	83	48	82	57	72	57
	F	118	79	129	60	68	65
9	**I**	92	51	75	69	73	62
	F	79	72	84	65	65	68
10	**I**	77	49	63	82	60	58
	F	125	59	72	91	61	65

I – valor inicial; F – valor final

Tab. A5. Níveis plasmáticos inicial e final de HDL (mg/dl) de cada animal, por grupo.

Animal		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
1	**I**	21	24	20	20	24	25
	F	29	20	20		18	19
2	**I**	23	28	21	20	21	20
	F	21	14	15		20	18
3	**I**	24	29	23	óbito	22	27
	F	24	19	17		19	25
4	**I**	21	29	23	17	23	27
	F	21	15	28	17	18	15
5	**I**	25	28	22	25	21	15
	F	16	16	12	16	23	16
6	**I**	22	24	23	25	22	18
	F	14	20	40	24	25	15
7	**I**	20	20	23	16	23	25
	F	17	20	53	15	20	18
8	**I**	22	19	24	20	23	20
	F	42	16	40	17	21	15
9	**I**	22	19	21	18	22	18
	F	25	17	28	14	32	16
10	**I**	20	16	24	26	20	16
	F	44	11	31	27	26	14

I – valor inicial; F – valor final

Tab. A6. Níveis plasmáticos inicial e final de LDL (mg/dl) de cada animal, por grupo.

Animal		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
1	**I**	27	25	23	22	24	24
	F	24	33	36	34	30	38
2	**I**	38	34	31	33	40	35
	F	17	43	22	34	36	39
3	**I**	26	41	11	óbito	23	33
	F	25	41	16		24	35
4	**I**	27	20	44	28	40	43
	F	22	19	28	43	46	49
5	**I**	17	26	29	21	30	32
	F	34	29	43	25	32	35
6	**I**	30	28	52	31	41	41
	F	49	38	48	36	34	51
7	**I**	19	51	45	49	51	24
	F	12	42	63	52	19	24
8	**I**	52	22	54	31	37	33
	F	50	55	60	33	35	37
9	**I**	58	27	40	43	47	36
	F	40	46	23	43	27	40
10	**I**	46	26	31	44	28	30
	F	49	38	28	42	27	40

I – valor inicial; F – valor final

Tab. A7. Níveis plasmáticos inicial e final de VLDL (mg/dl) de cada animal, por grupo.

Animal		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
1	**I**	14	9	10	7	14	10
	F	14	15	12	13	13	26
2	**I**	10	5	10	5	9	11
	F	18	13	8	11	9	25
3	**I**	14	9	8	óbito	12	10
	F	12	18	6		6	30
4	**I**	11	17	10	7	16	11
	F	10	39	12	7	15	17
5	**I**	15	13	10	9	9	8
	F	11	20	8	20	14	12
6	**I**	13	5	14	10	7	8
	F	13	9	16	20	8	11
7	**I**	6	5	9	6	5	7
	F	6	12	20	10	6	26
8	**I**	9	7	4	6	12	4
	F	26	8	29	10	13	13
9	**I**	12	5	14	8	4	8
	F	14	9	33	8	6	12
10	**I**	11	7	8	12	12	12
	F	32	10	13	22	8	11

I – valor inicial; F – valor final

Tab. A8. Níveis plasmáticos inicial e final de triglicerídeos (mg/dl) de cada animal, por grupo.

Animal		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
1	**I**	70	47	49	34	69	52
	F	68	75	59	67	65	129
2	**I**	49	27	48	27	47	57
	F	89	65	39	54	45	126
3	**I**	69	43	41	óbito	28	50
	F	59	92	32		31	149
4	**I**	55	84	50	33	80	54
	F	52	193	61	36	77	87
5	**I**	73	65	52	46	69	39
	F	55	100	38	99	70	59
6	**I**	65	24	70	51	35	39
	F	65	44	81	102	38	54
7	**I**	31	25	43	28	25	35
	F	30	62	201	48	32	131
8	**I**	44	33	22	28	60	20
	F	130	41	142	50	66	63
9	**I**	59	25	72	38	22	38
	F	69	47	164	41	28	60
10	**I**	56	34	42	58	33	62
	F	161	52	63	108	39	56

I – valor inicial; F – valor final