

Viabilidade do transplante autógeno de baço pós-criopreservação

Sergio Ibañez Nunes*
Adriana Cristina Pinto Silva**
Amanda Henriques Pereira**
Saulo Ganem de Souza**
Thatiana Duarte Santo**
Thiago Miranda Rettore**

RESUMO

A criopreservação do baço é uma nova forma de preservação deste tecido que poderá ser aplicada em pacientes que foram submetidos à técnica de controle de dano e se tornaram asplênicos. O presente estudo tenta reproduzir essa técnica em experimentos com ratos. Utilizou-se 58 ratas alocadas em quatro grupos de animais submetidos: Grupo 1, reimplante descongelado; Grupo 2, reimplante congelado; Grupo 3, reimplante imediato e Grupo 4, controle. Decorridos 30 dias da cirurgia de reimplante, foi realizada necropsia para avaliação dos parâmetros bioquímicos, macro e microscópicos que pudessem sugerir preservação da estrutura esplênica e suas funções. Observou-se que nos Grupos 1 e 2 não foram visualizadas com frequência arteríola central, polpa vermelha e branca, sugerindo ausência de tecido esplênico no sítio de transplante, compatível com a alta incidência de Corpúsculo de Howell Jolly (CHJ). No Grupo 3 as características polpa branca e vermelha estiveram presentes em cerca de 50% dos animais, sendo a arteríola central inexpressiva, indicando alguma porcentagem de enxerto não funcional devido a presença do CHJ. No Grupo 4 todos esses caracteres foram encontrados, demonstrando que tanto o tecido como sua função se mantiveram intactos, o que é reforçado pela baixa prevalência de CHJ. Essas diferenças apresentaram $p < 0,05$. Os resultados encontrados reforçam os achados da literatura, sendo assim, torna-se necessário que novas técnicas sejam desenvolvidas. Espera-se que a técnica seja aprimorada por novas pesquisas, objetivando desta forma, em um futuro próximo, maiores benefícios para os seres humanos.

Palavras-chave: Baço. Criopreservação. Viabilidade. Transplante.

1 INTRODUÇÃO

O baço é o maior órgão linfóide, definido como um filtro discriminatório, sendo responsável pela estocagem de células sanguíneas, remoção de partículas e eritrócitos envelhecidos ou defeituosos. Além disso, participa do metabolismo do colesterol, direciona linfócitos T e B para seus respectivos domínios, facilitando a interação dessas células com antígenos, macrófagos e células apresentadoras de antígenos (MARQUES; PETROIANU, 2003).

Apesar das evidências demonstrarem que o baço desempenha funções importantes, os médicos continuam adotando a técnica de controle de dano em pacientes politraumatizados. Esta técnica visa atender vítimas de traumas graves e que se encontram com hipotermia, hemorragia e acidose metabólica. Nestas horas quando o sangramento de parênquima esplênico não é controlado, surge a in-

dicação de ressecção completa do órgão antes que o choque hemorrágico alcance a fase irreversível (PARREIRA; SOLDA; RASLAN, 2002).

Nas cirurgias que culminam com a retirada do baço, ou seja, esplenectomia total, grandes repercussões na resposta imune do hospedeiro são desencadeadas (MARQUES; PETROIANU, 2003). A pior delas é a sepse fulminante, causada provavelmente pela resposta fagocítica oxidativa diminuída decorrente da ausência deste órgão (PETROIANU, 2007; SHOKOUH-AMIRI et al., 1990).

Com intuito de reduzir a complicação descrita acima, surgiram estudos demonstrando que o auto-implante esplênico, após a esplenectomia em casos de trauma, fornece proteção contra infecções, sendo as mais temidas por Bartonella Muris, já que são usualmente fatais após a retirada do baço (PERLA; MARMORSTON-GOTTESMAN, 1930). Os fragmentos reimplantados geraram neobaços com

* Universidade Federal do Rio de Janeiro. E-mail: sibanezn@terra.com.br

** Faculdade de Medicina de Barbacena. E-mail: amandahenriquesp@yahoo.com.br

características morfológicas mantidas, capazes de desempenhar sua função de defesa. Porém, este procedimento exige que o órgão seja implantado imediatamente, o que não é possível, por exemplo, em casos de trauma abdominal com lesão de cólon associada, devido à contaminação da cavidade, ou em algumas situações onde o tempo cirúrgico reduzido influencia na sobrevivência do paciente (MANLEY; MARINE, 1917).

Alguns estudos testaram a técnica de criopreservação de alguns órgãos ou tecidos, por ser esta uma alternativa de preservação tecidual e celular que permitiria utilizá-los em outro momento, como exemplo os gametas femininos, nos quais foram testadas as duas formas de congelamento, o lento e a vitrificação (GALBINSKY, BOS-MIKICH; FERRARI, 2003).

Entretanto, a pesquisa de Massumoto e outros (1997), demonstrou que durante a criopreservação foram formados cristais de gelo intracelulares que provocariam a ruptura mecânica das estruturas celulares, o que não ocorreria no congelamento gradativo, em que a formação de gelo foi primariamente extracelular levando a um menor dano celular.

Diante dos indícios de que o congelamento foi funcional em outros órgãos e da insuficiência de dados capazes de refutar a validade do transplante com material criopreservado, realizou-se o presente trabalho para verificar se criopreservando temporariamente o baço, este teria viabilidade para transplante em paciente politraumatizado. A hipótese levantada foi testada em condições de laboratório, mediante experimento com ratas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O método de estudo aplicado neste trabalho foi experimental. Foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Presidente Antonio Carlos (UNIPAC-Barbacena) sob o protocolo nº 180 de 9 de agosto de 2007.

A população alvo constou de ratos Wistar, fêmeas, de 12-16 semanas de idade (nascidos na mesma data), com peso entre 140,0-290,0g, albinos, hípidos, obtidos do biotério da Faculdade de Medicina da UNIPAC/Barbacena e mantidas no setor de manutenção e experimentação do referido biotério. A amostra foi composta por 58 ratas albinas que foram distribuídas de forma aleatória em três grupos contendo 16 animais e um grupo de dez, utilizado como grupo controle.

No Grupo R1, chamado de reimplante descongelado, foi realizada técnica de esplenectomia total convencional e o implante no retroperitônio

de 30% do tecido esplênico previamente ressecado que foi mantido criopreservado por dois dias em freezer convencional à -20°C, sendo descongelado antes do implante. No Grupo R2, chamado reimplante congelado, foi também feita técnica de esplenectomia total convencional, e o implante no retroperitônio de 30% do tecido esplênico previamente ressecado, que foi mantido criopreservado por dois dias, sem descongelamento antes do implante. No Grupo R3, chamado de reimplante imediato, foi realizada técnica de esplenectomia total convencional e o implante no retroperitônio imediato de 30% do tecido esplênico previamente ressecado, sem criopreservação. No Grupo R4 foi realizada operação simulada com manuseio do baço e isolamento dos vasos esplênicos, sem ligadura dos mesmos para fins comparativos da estrutura macro e microscópica do órgão, chamado grupo Sham (grupo controle).

As ratas foram anestesiadas de forma intraperitoneal e o anestésico utilizado foi a Ketamina a 4% na dose aproximada de 0,3 ml (90mg/kg de peso). O plano anestésico desejado foi atingido em cinco minutos com pequenas variações. Posteriormente foi feita incisão mediana no abdômen de aproximadamente três centímetros. O tempo médio para cada operação foi de 16 minutos. Arafia da parede abdominal foi realizada com pontos simples em toda extensão da incisão, com fio nylon 4-0.

Os tecidos esplênicos ressecados foram criopreservados e envolvidos em papel laminado e colocados em freezer comum a -20°C durante dois dias. Após esse período, foi realizada uma nova laparotomia e em seguida o reimplante retroperitoneal, sendo este espaço criado por abertura do peritônio próximo ao rim esquerdo. O descongelamento dos baços dos animais do Grupo 1 foi feito em temperatura ambiente aproximada de 25°C, por cerca de 15 minutos.

Os animais foram alojados em gaiolas padrão e separados nelas por grupos, como descrito acima. Houve fornecimento de alimentação adequada (ração labina duas vezes ao dia e 1L água trocada diariamente utilizando bebedouros apropriados) e uso de serragem limpa e com higienização diária.

Os dados foram registrados através de fichas individuais dos animais, nas quais foram anotados: tempo de cirurgia (em minutos), presença ou não de intercorrências, peso pré-cirurgia e peso pós-cirurgia das ratas, dimensões e peso do fragmento de baço a ser congelado. Em todos os pós-operatórios foram observadas as variáveis de atividade, alimentação, dejetos, intercorrências clínicas e óbitos.

Após de transcorridos 30 dias da segunda cirurgia (reimplante), os animais foram sacrificados e então foi realizada coleta de uma amostra considerável de sangue e análise bioquímica do material, que avaliou a presença de fragmentos de material nuclear, chamados Corpúsculos de Howell-Jolly (CHJ), que estão aumentados na asplenia.

Na necropsia foi avaliada presença do tecido transplantado. As variáveis macroscópicas aqui utilizadas foram presença ou não de aderências, abscesso, fistulas, enxerto (tecido com características macroscópicas distinta do tecido esplênico) e suas condições (atrofia, alteração de espessura, alteração de coloração), tecido esplênico e dados antropométrico (peso, altura, comprimento) do fragmento do baço encontrado no sitio de implante (APÊNDICE C). Durante este procedimento, o tecido encontrado no local do re-implante foi ressecado e conservado em formol a 10% para ser enviado para análise histopatológica, onde foi fixado em formol, incluído em parafina, cortado, corado por hematoxilina-eosina para ser analisado em lâmina. Na análise microscópica foram avaliadas a presença ou ausência de arteríola central, células inflamatórias, polpas branca e vermelha (APÊNDICE B).

Os dados obtidos foram digitados em tabelas do Microsoft Excel® e a análise das informações do experimento foi feita através do software Epi Info 3.3.4. Os resultados foram elaborados e descritos em forma de tabelas, seu cruzamento foi feito, e então obtidos: Qui Quadrado, Valor de p ou Teste Exato de Fisher e Intervalo de confiança de cada variável, com confiança de 5%, relevante para o estudo.

3 RESULTADOS

A média de peso dos ratos foi igual a 216,2 gramas(g) com desvio padrão (DP) de 22,5, variando os pesos entre o mínimo de 145,0g e o máximo de 287,0g . Submeteu-se estes animais a três procedimentos cirúrgicos, denominadas de Cirurgias 1 (esplenectomia total), 2 (reimplante após o congelamento do fragmento do baço), e após 30 dias realizou-se a necropsia, Procedimento 3, em que foram analisados os caracteres antropométricos (peso, altura e comprimento) do fragmento do baço ressecado. O tempo cirúrgico médio foi de 16 minutos e 51 segundos. Nestes procedimentos, 14 (24,1%) animais morreram, sendo que três (5,2%) destes entre a primeira e a segunda cirurgia e 11 (19,0%) entre a segunda e a terceira cirurgia. As ratas faleceram no pré-operatório por complicações anestésicas e no pós-operatório por hemorragia e infecção. Foram encontradas aderências em nove (15,5%) animais e em nenhum deles observou-se a ocorrência de fístula ou abscesso.

Na Tabela 1 são apresentadas as frequências das características cirúrgicas e dos achados bioquímicos, macro e microscópicos dos quatro grupos de animais do experimento. Estão também expostos os resultados do teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher aplicados na comparação dos percentuais nela exibidos, bem como os respectivos valores de p.

TABELA 1

Distribuição de frequência das características demográficas, micro e macroscópicas, discriminadas pelos quatro grupos de animais

Características Comparadas	Grupo R1		Grupo R2		Grupo R3		Grupo R4		X2/F	p
	N	%	N	%	N	%	N	%		
Presença de enxerto										
Não	2	25,0	2	18,2	0	0,0	0	0,0	-	0,080
Sim	6	75,0	9	81,8	16	100,0	9	100,0		
Presença de tecido										
Não	8	100,0	11	100,0	9	56,3	0	0,0	-	0,000
Sim	0	0,0	0	0,0	7	43,7	9	100,0		
Presença de atrofia										
Não	3	37,5	3	27,3	3	18,8	2	22,2	-	0,790
Sim	5	62,5	8	72,7	13	81,2	7	77,8		
Presença de alteração na espessura										
Não	2	25,0	2	18,2	7	43,8	9	100,0	-	0,001
Sim	6	75,0	9	81,8	9	56,2	0	0,0		
Presença de alteração na coloração										
Não	2	25,0	2	18,2	6	37,5	9	100,0	-	0,001
Sim	6	75,0	9	81,8	10	62,5	0	0,0		
Presença de Polpa Branca										
Não	8	100,0	10	90,9	8	50,0	0	0,0	-	0,000
Sim	0	0,0	1	9,1	8	50,0	9	100,0		
Presença de Polpa Vermelha										
Não	8	100,0	11	100,0	8	50,0	0	0,0	-	0,000
Sim	0	0,0	0	0,0	8	50,0	9	100,0		
Presença de Arteriola Central										
Não	8	100,0	11	100,0	15	93,8	0	0,0	-	0,000
Sim	0	0,0	0	0,0	1	6,2	9	100,0		
Presença de células inflamatórias										
Não	2	25,0	2	18,2	8	50,0	9	100,0	-	0,001
Sim	6	75,0	9	81,8	8	50,0	0	0,0		
Presença de cápsula										
Não	8	100,0	11	100,0	16	100,0	0	0,0	-	0,000
Sim	0	0,0	0	0,0	0	0,0	9	100,0		
Presença de septo										
Não	8	100,0	11	100,0	16	100,0	0	0,0	-	0,000
Sim	0	0,0	0	0,0	0	0,0	9	100,0		
Presença de Corpúsculos de Howell Jolly										
Não	2	25,0	1	9,1	4	25,0	6	66,8	-	0,054
Sim	6	75,0	10	90,9	12	75,0	3	33,2		

Fonte – Os autores (2009).

Na Tabela 2 são apresentados valores médios e desvios padrões das diferenças obtidas entre as medidas do peso, altura, comprimento do fragmento de baço da primeira cirurgia comparado com os resultados antropométricos da terceira cirurgia, para os animais dos três primeiros grupos do experimento.

TABELA 2

Médias e desvios padrões da perda do peso, altura e comprimento do fragmento do baço observado entre a medida realizada na primeira cirurgia e a efetuada na terceira cirurgia, para os animais dos três primeiros grupos do experimento

Características por grupo	Grupo R1	Grupo R2	Grupo R3	p	F/H
Perda de Peso (gramas)					
Média	0,15	0,09	0,08	0,354	2,08
Desvio Padrão	0,11	0,06	0,04		
Perda de Altura (centímetros)					
Média	0,17	0,17	0,24	0,256	1,45
Desvio Padrão	0,12	0,15	0,09		
Perda de Comprimento (centímetros)					
Média	0,15	0,28	0,33	0,045	3,39
Desvio Padrão	0,14	0,15	0,14		

Fonte – Os autores (2009).

4 DISCUSSÃO

A preservação esplênica é uma realidade que torna necessário o estudo de novas formas para manutenção anatômica e funcional deste importante órgão linfóide, cuja ausência, promove diversas alterações que podem culminar com o óbito (HANSEN; SINGER, 2001; NUNES et al., 2005). Este estudo tenta buscar uma destas novas maneiras de preservação, através da criopreservação do baço, técnica que poderia ser aplicada ao controle do dano, definido como controle inicial da hemorragia e contaminação, seguido de tamponamento intraperitoneal e fechamento rápido, permitindo a reabilitação fisiológica do organismo e subsequente reoperação definitiva (STALHSCHMIDT; FORMIGHIERI; LUBACHEVSKI, 2006). Neste procedimento o tempo é escasso e a intervenção deve ser imediata, sendo a esplenectomia quase sempre adotada como única alternativa. Com a criopreservação o órgão poderia ser congelado e no segundo momento do controle do dano, reimplantado, na tentativa de preservar sua função, o que já é feito com outros tecidos como o ovário (GALBINSKI; BOS-MIKICH; FERRARI, 2003).

No presente trabalho a quantidade de tecido esplênico implantado foi de 30% do peso total, pois, segundo Saad Júnior e outros (2009), qualquer valor inferior a este não é suficiente para suprir as necessidades do organismo, mesmo que o enxerto seja funcional.

Para Petroianu (2003), o transplante autógeno de baço imediato não deixa mais dúvida quanto a sua viabilidade e eficácia funcional. Porém, no presente estudo o mesmo não foi evidenciado com o Grupo R3 (reimplante imediato), no qual menos da metade dos animais mostraram evidências de tecido esplênico no sítio de implantação. Tal fato talvez possa ser atribuído ao tempo transcorrido entre a cirurgia de reimplante e a necropsia, 30 dias, ou até mesmo ao fato de ser adotado uma amostra composta por ratas jovens. Petroianu (2003) afirma ainda que o tempo necessário para que ocorra a regeneração anatômica varia entre cinco a oito semanas, no entanto, parece que somente após 16 semanas, o auto-implante assemelha-se a um baço normal. Segundo Thalhamer, Pimpl e Pattermann (1986) em fêmeas jovens há regeneração diminuída, podendo este fato ser atribuído ao fator hormonal.

Nos Grupos R1 e R2 não se observou a presença do tecido esplênico em nenhum dos animais, e isto pode ser correlacionado ao processo de criopreservação, em que cristais de gelo intracelulares se formam e provocam a ruptura mecânica das estruturas celulares (MASSUMOTO et al, 1997).

Os resultados encontrados parecem confirmar isso, pois os sinais de viabilidade foram menos evidenciados nos Grupos R1 e R2 do que no R3.

Na análise dos dados, a alteração de espessura e coloração do fragmento encontrado no sítio de implante, foram evidenciadas em maior número nos Grupos R1 e R2. Pode-se inferir que tais alterações estejam relacionadas à isquemia devido à ligadura dos vasos do pedículo esplênico que torna o tecido azulado ou pela fibrose resultante do processo inflamatório local (PETROIANU, 1983).

Com relação à polpa branca e vermelha, sua maior prevalência se fez nos Grupos R3 e R4 quando comparados aos Grupos R1 e R2. Esse resultado já era esperado devido à lesão celular causada pela criopreservação nestes grupos.

A arteríola central teve maior expressão no Grupo R4. No Grupo R3, sua presença foi de 6,2%, o que pode ser explicado pelo curto espaço de tempo entre a cirurgia do reimplante e a necropsia (30 dias), pois, segundo Clayer e outros (1992), após de transcorridos 80 dias do implante o tecido esplênico readquire a morfologia macro e microscópica de um baço normal de pequenas proporções.

Nos Grupos R1 e R2 houve maior presença de células inflamatórias, o que foi confirmado pela macroscopia em que se encontrou formação granulomatosa. No Grupo R3 essa associação foi menos evidente e no Grupo R4 não ocorreu. Não foram encontrados dados na literatura consultada que justifiquem essas alterações.

Outra característica enfatizada foi a presença de hemácias velhas contendo CHJ, que são removidas da circulação periférica pelo baço. A presença destes corpúsculos anômalos pode indicar a diminuição ou até mesmo ausência da função esplênica. Este aumento de corpúsculos circulantes foi evidenciado com maior frequência (90,9%) no Grupo R2, em que os ratos não apresentaram tecido esplênico reimplantado. Já nos Grupos R1 e R3, a presença de CHJ foi igual a 75%, sendo que o baço estava presente com maior frequência no Grupo R3. Isso pode ser explicado pela conservação morfológica do tecido reimplantado neste último grupo, porém sem a preservação da sua capacidade funcional. Segundo Marques e Petroianu, (2003) no transplante autólogo, o período de recuperação do baço é variável, podendo ser estendido por até seis meses.

No Grupo R4 foi encontrado a menor porcentagem de CHJ (33,2%) e o baço se manteve presente em todos os animais, o que sugere a preservação da função do órgão (Tabela 1). Em estudos experimentais e clínicos, notou-se que a presença ou não de CHJ somado à análise de imagem e es-

tudos anátomo-patológicos são indicadores fiéis da viabilidade e função do tecido transplantado (MARQUES; PETROIANU; OLIVEIRA, 2002; NUNES et al., 2005).

Os fragmentos de baço dos grupos de animais R1, R2 e R3 foram comparados também segundo as diferenças das médias de peso, altura e comprimento observadas entre a primeira e a terceira cirurgia. Deve-se enfatizar que o tecido presente no sítio do transplante após a terceira cirurgia demonstrou perda de peso, altura e comprimento. Os resultados obtidos nos dois momentos cirúrgicos mostraram que os animais do Grupo R1 tiveram menor perda no comprimento do fragmento se comparados aos animais do Grupo R3 ($p=0,045$). Pode-se inferir, portanto, que os animais do Grupo R3 apresentaram maior perda de tecido esplênico que os demais grupos.

A análise das demais dimensões (peso e altura) não indica relação entre a perda de massa do material transplantado com o tipo de transplante ($p>0,05$), o que poderia apresentar alguma significância se a amostra fosse maior, porém, pode-se sugerir que o comprimento do fragmento esplênico não submetido à criopreservação (Grupo 3) perdeu mais massa se comparado aos fragmentos crioconservados (Grupos R1 e R2).

A redução do tamanho do fragmento do baço no Grupo R3, pode ser explicada pelo processo de necrose sofrido que se instala a partir do momento da cirurgia, até as primeiras 72 horas que a sucedem (MARQUES; PETROIANU, 2003). Nos Grupos R1 e R2, provavelmente essa redução pode ter ocorrido em decorrência do dano à integridade da membrana plasmática causado pelo resfriamento, assim como o grau de retração do citoplasma (GALBINSKI; BOS-MIKICH; FERRARI, 2003). Com relação a perda maior de massa no Grupo R3, quando comparado aos Grupos R1 e R2, não foram encontrados dados literários que justificassem essa diferença.

Com base nos resultados obtidos neste experimento, pode-se inferir que a técnica de congelamento do baço, nas condições testadas, não demonstrou resultados positivos, visto que os tecidos esplênicos reimplantados pós crioconservação não preservaram sua morfologia (arteríola central, polpas branca e vermelha), nem sua capacidade funcional (frequência alta de CHJ). Esse resultado poderia ser explicado pela manipulação excessiva do fragmento do baço, temperatura de resfriamento, tipo de descongelamento, tempo transcorrido entre a cirurgia de reimplante e a autópsia, sítio de reimplante e o não uso de crioprotetores.

Estas hipóteses são reforçadas por artigos consultados, que mostram que a criopreservação em tipos diferentes de células, mesmo se congeladas na mesma solução, exibe condições de descongelamento diferentes. Este fato é especialmente relevante na criopreservação do córtex ovariano, já que os tecidos são constituídos por diversos tipos de células e cada tipo tem seu tamanho, forma e propriedades de permeabilidade característica (THOMAZ et al., 2005). Galbinski, Bos-Mikich e Ferrari (2003) acrescentam que a viabilidade dos gametas fertilizados após vitrificação é influenciada pelo período de manipulação e temperatura de resfriamento dos oócitos (GALBINSKI; BOS-MIKICH; FERRARI, 2003). E Kim (2006), afirma que o congelamento de células vivas só foi possível após a utilização do crioprotetor, glicerol, que foi descoberto em 1948 em Londres.

5 CONCLUSÃO

Devido grande importância do tecido esplênico e das consequências malélicas decorrentes da asplenia, torna-se necessário o desenvolvimento de técnicas que minimizem estas morbi-mortalidades.

A criopreservação foi uma tentativa de solucionar este problema, principalmente em paciente politraumatizados, que são submetidos a técnica de controle do dano. Os resultados encontrados no presente estudo reforçam os achados da literatura pesquisada, sendo assim, torna-se necessário que novas técnicas sejam desenvolvidas baseadas nas características de cada tecido.

A preservação do baço neste experimento não foi eficaz, mas espera-se que o estudo apresentado possa ser aprimorado por novas pesquisas, objetivando desta forma, em um futuro próximo, maiores benefícios para os seres humanos.

Viability of the autogenous transplantation of post-cryopreservation spleen: mice experiments

ABSTRACT

The spleen's cryopreservation is a way of preservation of this tissue that could be used for patients that have been submitted to damage control surgery and became asplenic. There are no studies about this kind of preservation. The present study tries to reproduce this technique with experimental study in mice.

We used 58 rats allocated into four groups of animals undergoing: group 1 replantation thawed; group 2 frozen reimplantation; group 3 reimplantation immediate and group 4 control. After 30 days of replantation surgery, necropsy was performed for evaluation of biochemical parameters, gross and microscopic findings suggestive splenic preservation of the structure and functions.

Observed in groups 1 and 2 were not seen frequently central arteriole, white and red pulp, suggesting the absence of splenic tissue at the site of transplantation, consistent with the high incidence of Howell Jolly corpuscles (CHJ). In group 3 features white and red pulp were present in approximately 50% of animals, with a central arteriole insignificant, indicating some percentage of graft non-functional due to the presence of CHJ. In group 4 all those characters were found, demonstrating that both the tissue and its function has remained intact, which is reinforced by the low prevalence of CHJ. These differences with $p < 0.05$.

The results reinforce the findings of the literature, so it is necessary that new techniques are developed. It is hoped that the technique is enhanced by further research, aiming in this way in the near future, greater benefits for humans.

Keywords: Spleen. Cryopreservation. Viability. Transplant.

REFERÊNCIAS

- CLAYER, M. T. R. et al. The vascular supply of splenic autotransplants. **Journal of Surgical Research**, Adelaide, v. 53, p. 475-484, Nov. 1992.
- GALBINSKI, S.; BOS-MIKICH, A.; FERRARI, A. N. Viabilidade e fertilização in vitro de ócitos bovinos após vitrificação. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 8, p. 553-559, set. 2003.
- HANSEN, K.; SINGER, D. B. Asplenic-hyposplenic overwhelming sepsis: postsplenectomy sepsis revisited. **Pediatric and Developmental Pathology**, Providence, v. 4, p. 105-121, 2001.
- HOLDSWORTH, R. J. Regeneration of the spleen and splenic autotransplantation. **British Journal of Surgery**, Hannover, v. 78, p. 270-278, 1991.
- KIM, S. S. Fertility preservation in female cancer patients: current developments and future directions. **Fertility and Sterility**, Arcadia, v. 85, p. 1-11, Jan. 2006.
- MANLEY, O. T.; MARINE, D. The transplantation of splenic tissue into the subcutaneous fascia of the abdomen in rabbits. **Journal of Experimental Medicine**, Cleveland, v. 25, p. 619-627, Jan. 1917.
- MARQUES, R. G.; PETROIANU A. Infecção fulminante pós-esplenectomia. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 47-54, jan./mar. 2003.
- MARQUES, R. G. ; PETROIANU, A.; OLIVEIRA, M. B. N. Importância da preservação de tecido esplênico para a fagocitose bacteriana. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 17, n. 6, p. 388-393, 2002.
- MASSUMOTO, C. M. et al. Criopreservação de medula óssea e células pluripotentes periféricas utilizando um congelador programável: experiência em 86 congelamentos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 2, p. 93-98, abr./jun. 1997.
- NUNES, S. I. et al. Antibody response of autogenous splenic tissue implanted in the abdominal cavities of mice. **World Journal of Surgery**, Portland, v. 29, no. 12, p. 1623-1629, Dec. 2005.
- PARREIRA, J. G.; SOLDA S.; RASSLAN S. Controle de danos: uma opção tática no tratamento dos traumatizados com hemorragia grave. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 188-197, jul./set. 2002.
- PERLA, D.; MARMORSTON-GOTTESMAN, J. Studies on Bartonella muris anemia of albino rats. III. The protective effect of autoplasmic splenic transplants on the Bartonella muris anemia of splenectomized rats. **Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 52, p. 31-34, June 1930.
- PETROIANU, A. Esplenectomia subtotal e anastomose esplenorrenal proximal para o tratamento da hipertensão portal. **Revista Brasileira de Cirurgia**, São Paulo, v. 73, p. 101-104, 1983.
- PETROIANU, A. Implantes esplênicos autógenos. In: PETROIANU, A. **O baço**. São Paulo: CLR Balieiro, 2003. p. 374-381.
- PETROIANU, A. Mortalidade após esplenectomia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 29, n. 2, p. 103-105, abr./jun. 2007.
- SAAD JÚNIOR, R. R. et al. **Tratado de cirurgia do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2009.

SHOKOUH-AMIRI, M. H. et al. Phagocyte function after splenic autotransplantation. **Archives of Surgery**, Copenhagen, v. 125, no. 5, p. 595-597, May 1990.

STALHSCHMIDT, C. M. M.; FORMIGHIERI, B.; LUBACHEVSKI, F. L. Controle de danos no trauma abdominal e lesões associadas: experiência de cinco anos em um serviço de emergência. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 4, p. 215-219, jul./ago. 2006.

THALHAMER, J.; PIMPL, W.; PATTERMANN, M. The role of the spleen and splenic autotransplants in clearing experimental bacteremia caused by the gram-negative bacterium *E. coli*. **Research in Experimental Medicine**, Berlin, v. 186, p. 229-238, 1986.

THOMAZ, B. A. C. et al. Aspectos histológicos do ovário de coelhas após criopreservação. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 11, p. 6343-6649, nov. 2005.

Enviado em //

Aprovado em //