

**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES**  
**THIAGO DOS SANTOS ROSA**

**O PAPEL DO BAÇO NO METABOLISMO E NA  
REGULAÇÃO DA TEMPERATURA CORPORAL**

**Mogi das Cruzes, SP**

**2010**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES**

**THIAGO DOS SANTOS ROSA**

**O PAPEL DO BAÇO NO METABOLISMO E NA  
REGULAÇÃO DA TEMPERATURA CORPORAL**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação da Universidade de Mogi das Cruzes como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Área de concentração: Biotecnologia aplicada à saúde.

**Orientador: Prof. Dr. Ronaldo de Carvalho Araújo**

**Mogi das Cruzes, SP**

**2010**

### FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade de Mogi das Cruzes - Biblioteca Central

Rosa, Thiago dos Santos

O papel do baço no metabolismo e na regulação da temperatura corporal / Thiago dos Santos Rosa. – 2010.

80 f.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) -  
Universidade de Mogi das Cruzes, 2009

Área de concentração: Biotecnologia Aplicada à  
Saúde

Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Ronaldo de Carvalho Araújo

1. Esplenectomia 2. Baço 3. Metabolismo 4.  
Temperatura I. Araújo, Ronaldo de Carvalho

CDD 619.93

ATAS

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES

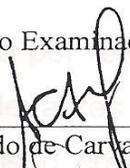
As catorze horas do dia vinte e dois de outubro de dois mil e nove, na Universidade de Mogi das Cruzes, realizou-se a defesa de dissertação "O Papel do Baço no metabolismo e na Regulação da Temperatura Corporal" para obtenção do grau de Mestre pelo(a) candidato(a) **Thiago dos Santos Rosa**. Tendo sido o número de créditos alcançados pelo(a) mesmo(a) no total de 48 (quarenta e oito), a saber: 24 unidades de crédito em disciplinas de pós-graduação e 24 unidades de crédito no preparo da dissertação, o(a) aluno(a) perfaz assim os requisitos para obtenção do grau de Mestre. A Comissão Examinadora estava constituída dos Senhores Professores Doutores Ronaldo de Carvalho Araújo, da Universidade Federal de São Paulo, Niels Olsen Saraiva Câmara da Universidade de São Paulo e Tiago Rodrigues da Universidade de Mogi das Cruzes, sob a presidência do(a) primeiro(a), como orientador(a) da dissertação. A Sessão Pública da defesa de dissertação foi aberta pelo Senhor Presidente da Comissão que apresentou o(a) candidato(a). Em seguida o(a) candidato(a) realizou uma apresentação oral da dissertação. Ao final da apresentação da dissertação, seguiram-se as arguições pelos Membros da Comissão Examinadora. A seguir a Comissão, em Sessão Secreta, conforme julgamento discriminado por cada membro, considerou o(a) candidato(a)

aprovado por unanimidade  
(aprovado(a)/reprovado(a)) (unanimidade/maioria)

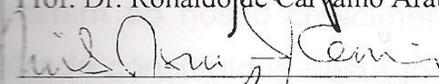
Mogi das Cruzes, 22 de outubro de 2009.

Comissão Examinadora

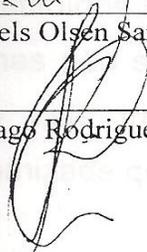
Julgamento

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ronaldo de Carvalho Araújo

aprovado  
(aprovado(a)/reprovado(a))

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Niels Olsen Saraiva Câmara

aprovado  
(aprovado(a)/reprovado(a))

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Tiago Rodrigues

aprovado  
(aprovado(a)/reprovado(a))

# DEDICATÓRIA

A busca por respostas e por sucesso, nos torna ávidos aos sinais mais relevantes da razão, mas cegos às virtudes que importam ao nosso crescimento. Os poucos, mas fortes laços de amizade constituídos nesta jornada indicam o meu atual orgulho e satisfação, mas não só profissional, e sim como ser humano. Por tanto dedico este trabalho aos primeiros e eternos laços de confiança e amizade que constituí...

Dedico aos meus pais, **Josué Bento da Rosa e Célia Maria dos Santos Rosa.**

## AGRADECIMENTOS

Ao grande e inestimável amigo **Anderson Sola Haro**, que tal produção não seria passível de realização sem sua presença, queira pelo profissional metódico, queira pelo amigo das horas difíceis e dos momentos descontraídos também. Muito obrigado Anderson!

À amiga **Elice Carneiro Batista**, que por muitas vezes foi pilar de sustentação com a sua doçura que precede sua competência. Continue sempre assim. És uma das melhores pessoas que já conheci e como profissional dispensa comentários. Obrigado por tudo!

Ao amigo **Dr. Carlos Castilho de Barros**, que com sua incrível inteligência me ajudou com muita paciência nos primeiros passos imersos no mundo laboratorial e mostrou-se amigo em momentos valiosos. Valeu PASTEL!

Ao amigo **Dr. Reury Frank Pereira Bacurau**, que com humildade e bom humor demonstra seu brilhante intelecto, tornando-se imprescindível ao nosso convívio, pois sempre nos enriquece com seus pontos de vista e sua competência.

À amiga **Fernanda Russo**, que muito ilumina nossos dias de trabalho e que já é uma profissional indispensável. Valeu Fernandinha!

Ao amigo **João Davidson Ramalho**, por ter sido tão prestativo em muitos momentos e sem sua ajuda não teria conseguido a bolsa para o mestrado. Valeu Johnny!

À adorável **Dra. Cristiane Brasil de Carvalho Pereira**, com quem tanto aprendi sobre assuntos diversos e me foi tão solícita e carinhosa quando precisei. Muito, muito obrigado!

À amiga **Flávia**, que sempre esteve por perto nos momentos tensos e que ainda temos que partilhar de situações mais descontraídas. Obrigado Flávia, te devo muitas!

Ao amigo **Sandro Soares de Almeida**, que com muito esforço atende as colaborações nos trabalhos relacionados à genética e polimorfismos, contribuindo para o crescimento do laboratório.

Agradeço também pelos tempos idos do laboratório de anatomia, por me deixar estudar fora do horário, mesmo que tenha me esquecido com os cadáveres algumas vezes! Mas tudo bem, eu também serei *caro data vermibus*. Valeu Sandrão!

Aos amigos **Fred e Denis**, que são os novos componentes da família laboratorial. Boa sorte!

Ao **Prof. Dr. João Bosco Pesquero**, da UNIFESP, pelo apoio científico.

À **Renata Luciane da Cunha**, pela sua atuação profissional e paciência. Obrigado!

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UMC, que foram fundamentais na construção do conhecimento gerado no atual trabalho.

Agradeço àquele que é a força motriz do laboratório, **Prof. Dr. Ronaldo de Carvalho Araújo**, que justifica o sentido literal da palavra filosofia (amar o saber) e com curiosidade e inteligência impede a inércia de pensamento e mantém crescente, não só a produção, mas o aprendizado de seus alunos, sem nunca tornar-se análogo à mediocridade que nos rodeia. Agradeço e também parabênzo pela singularidade profissional, competência, paciência e pela grande amizade! Muito obrigado por todos os conselhos!

Por último, no meu propósito de destaque, ao mais que amigo... um irmão não consangüíneo ou como diria o Prof. Ronaldo, um mentor talvez... **Prof. Dr. Milton Rocha de Moraes**, que foi responsável pelo meu entusiasmo ao iniciar nessa trilha e que foi peça fundamental para que eu nunca desistisse, justo que seu exemplo de perseverança faz com que haja reflexão intensa sobre o valor deste caminho. Terminando sabendo que essas palavras não foram suficientes para expressar minha gratidão! Obrigado Milton!

***Quem luta com monstros deve velar, pois ao fazê-lo, que não se transforme também em monstro. E se tu olhares, durante muito tempo, para um abismo, o abismo também olhará para dentro de ti.***

***Friedrich Nietzsche***

## RESUMO

Algumas alterações fisiológicas induzidas pela esplenectomia ainda são pouco compreendidas como as mudanças nos níveis séricos de triglicérides e na temperatura corporal. O objetivo deste trabalho foi investigar parâmetros relacionados ao metabolismo lipídico, glicêmico e a termorregulação de camundongos esplenectomizados. Camundongos WT (C57Bl/6) e ob/ob foram aleatoriamente distribuídos em oito grupos: I - Sham em dieta controle (DC) o; II- Sham em dieta hiperlipídica (DH); III - Esplenectomizados em DC; IV - Esplenectomizados DH ; V - Sham ob/ob em DC; VI - Sham ob/ob em DH –; VII - Esplenectomizado ob/ob em DC; VIII - Esplenectomizado ob/ob em DH. Realizou-se análises para a avaliação dos níveis séricos de triglicérides (TG), leptinemia, insulinemia, teste de tolerância a glicose, teste de resistência a insulina, massa corporal, consumo alimentar, massa de órgãos e temperatura corporal dos animais. Observamos que não houve alteração significativa na massa corporal, consumo alimentar, na massa dos órgãos e no perfil glicêmico dos animais esplenectomizados, porém os níveis séricos de TG aumentaram de forma considerável nos animais esplenectomizados independente da dieta e foram reduzidos quando administrado um fibrato - fármaco hipolipemiante (Genfibrozila). Foi verificado que os animais WT esplenectomizados apresentaram taxas séricas de leptina aumentadas em relação aos sham operados, e as taxas aumentadas de leptina não interferiram na massa corporal e no consumo alimentar. Entretanto após a administração de genfibrozila e redução dos TG séricos o consumo alimentar dos animais WT esplenectomizados reduziu significativamente o que não ocorreu com os animais ob/ob esplenectomizados. Verificamos também que temperatura corporal dos esplenectomizados WT foi maior do que nos animais controle, independente da dieta, porém não houve mudança significativa na temperatura dos animais ob/ob esplenectomizados. Os resultados permitem concluir que a esplenectomia parece interferir nos níveis séricos de triglicérides e na temperatura corporal, independentemente da fonte dietética, os esplenectomizados apresentaram elevação significativa da leptina sérica sem mudanças no consumo alimentar. A redução dos TG séricos induziu uma diminuição da ingestão alimentar, mostrando uma possível interação dos TG com os mecanismos de ação central da leptina. Diante dos resultados acerca da temperatura corporal é possível que a leptina tenha efeito sobre os mecanismos de termorregulação relacionados com o baço.

**Palavras-chave:** Esplenectomia; baço; metabolismo; temperatura.

## ABSTRACT

Some physiological changes induced by splenectomy, changes in serum triglyceride levels and body temperature are still poorly understood. The objective of this study was to investigate parameters related to lipid metabolism, glucose and thermoregulation in mice spleen. WT mice (C57BL/6) and ob/ob were randomly divided into eight groups: I - Sham in control diet (CD); II - Sham in high-fat diet (DH) III - splenectomy in DC; IV - splenectomy with DH; V - Sham ob/ob DC; VI - Sham ob/ob in DH; VII - splenectomized ob/ob DC; VIII - splenectomized ob/ob in DH. Analysis was performed for evaluation of serum triglycerides (TG), leptin, insulin, test glucose tolerance test, insulin resistance, body mass, food intake, organ weights and body temperature of animals. We observed that there was no significant change in body weight, food intake, the organ weight and plasma glucose levels in the splenectomized animals, but serum TG increased significantly in splenectomized animals independent of diet and were reduced when given a fibrate - drug lipid (Gemfibrozil). It was found that splenectomized WT animals showed higher serum leptin levels compared to sham operated, and increased rates of leptin did not affect body mass and food intake. However, after the administration of gemfibrozil and reduction of serum TG food intake of animals splenectomized WT significantly reduced but not with of animals ob/ob splenectomy. It was also noticed that the body temperature of splenectomized WT was higher than in control animals, regardless of diet, but no significant change in temperature of the animals ob/ob splenectomy. The results indicate that splenectomy seems to interfere in serum triglycerides and body temperature, regardless of dietary source. Splenectomized showed significant elevation of serum leptin without changes in food consumption. The reduction of serum TG induced a decrease in food intake, showing a possible interaction of TG with the mechanisms of action of leptin. Considering the results on the body temperature is possible that leptin has an effect on the thermoregulatory mechanisms related to the spleen.

**Key words:** Splenectomy; Spleen; Metabolism; temperature.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|   |    |
|---|----|
| <b>FIGURA 1:</b> LOCALIZAÇÃO TOPOGRÁFICA DO BAÇO.....   | 19 |
| <b>FIGURA 2:</b> FUNÇÃO DO BAÇO.....  | 20 |
| <b>FIGURA 3:</b> MECANISMOS DE SINALIZAÇÃO DA INSULINA...   | 26 |
| <b>FIGURA 4:</b> CURVA DE CRESCIMENTO.....  | 38 |
| <b>FIGURA 5:</b> INGESTÃO ALIMENTAR.....  | 39 |
| <b>FIGURA 6:</b> ÁREA CORPORAL AVALIADA POR DENSITOMETRIA.....  | 40 |
| <b>FIGURA 7:</b> DENSIDADE MINERAL ÓSSEA.....   | 40 |
| <b>FIGURA 8:</b> PERCENTUAL DE GORDURA CORPORAL.....  | 40 |
| <b>FIGURA 9:</b> MASSA RELATIVA DO CORAÇÃO E DEMAIS ÓRGÃOS.....   | 42 |
| <b>FIGURA 10:</b> MASSA RELATIVA DO TECIDO ADIPOSEO INGUINAL E PERIRRENAL.....  | 43 |
| <b>FIGURA 11:</b> NÍVEIS SÉRICOS DE TRIGLICERÍDEOS.....   | 44 |
| <b>FIGURA 12:</b> TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE.....  | 45 |
| <b>FIGURA 13:</b> TESTE DE RESISTÊNCIA À INSULINA.....  | 46 |
| <b>FIGURA 14:</b> NÍVEIS SÉRICOS À INSULINA.....  | 47 |
| <b>FIGURA 15:</b> NÍVEIS SÉRICOS DE LEPTINA.....  | 47 |
| <b>FIGURA 16:</b> MASSA CORPORAL SOB ADMINISTRAÇÃO DE GENFIBROZILA.....   | 49 |
| <b>FIGURA 17:</b> MASSA CORPORAL DE ANIMAIS OB/OB EM DIETA HIPERLIPÍDICA ASSOCIADA À ADMINISTRAÇÃO DE GENFIBROZILA..... | 49 |
| <b>FIGURA 18:</b> INGESTÃO ALIMENTAR SOB ADMINISTRAÇÃO DE GENFIBROZILA.....   | 49 |
| <b>FIGURA 19:</b> INGESTÃO ALIMENTAR SOB ADMINISTRAÇÃO DE GENFIBROZILA EM ANIMAIS OB/OB.....                            | 49 |
| <b>FIGURA 20:</b> TRIGLICERIDEMIA DOS ANIMAIS TRATADOS COM GENFIBROZILA.....  | 50 |

|   |    |
|---|----|
| <b>FIGURA 21:</b> TRIGLICERIDEMIA DOS ANIMAIS OB/OB EM DIETA CONTROLE E DIETA HIPERLIPÍDICA.....            | 50 |
| <b>FIGURA 22:</b> TRIGLICERIDEMIA DOS ANIMAIS OB/OB TRATADOS COM GENFIBROZILA.....                          | 50 |
| <b>FIGURA 23:</b> TEMPERATURA DOS ANIMAIS EM DIETA CONTROLE UM MÊS APÓS A REALIZAÇÃO DA CIRURGIA...         | 51 |
| <b>FIGURA 24:</b> TEMPERATURA DOS ANIMAIS EM DIETA HIPERLIPÍDICA UM MÊS APÓS A REALIZAÇÃO DA CIRURGIA.....  | 52 |
| <b>FIGURA 25:</b> TEMPERATURA DOS ANIMAIS OB/OB EM DIETA CONTROLE UM MÊS APÓS A REALIZAÇÃO DA CIRURGIA..... | 52 |

## **LISTA DE TABELAS**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>TABELA 1. FATORES RELACIONADOS AO METABOLISMO<br/>E SISTEMA IMUNE.....</b> | <b>30</b> |
|---|-----------|

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO.....</b>  | <b>16</b> |
| <b>1.1 O BAÇO E CONCEITUAÇÃO HISTÓRICA.....</b>                                     | <b>16</b> |
| <b>1.2 A ANATOMIA DO BAÇO.....</b>  | <b>17</b> |
| <b>1.3 FUNÇÕES DO BAÇO.....</b>   | <b>18</b> |
| <b>1.4 BAÇO E METABOLISMO.....</b>  | <b>20</b> |
| <b>1.5 OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA.....</b>                                     | <b>24</b> |
| <b>2 OBJETIVOS.....</b>   | <b>32</b> |
| <b>2.1 OBJETIVOS GERAIS.....</b>  | <b>32</b> |
| <b>2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>   | <b>32</b> |
| <b>3 MÉTODO.....</b>  | <b>33</b> |
| <b>3.1 ANIMAIS.....</b>   | <b>33</b> |
| <b>3.2 CIRURGIA.....</b>  | <b>33</b> |
| <b>3.3 INGESTÃO ALIMENTAR - DIETA CONTROLE E<br/>HIPERLIPÍDICA.....</b>             | <b>34</b> |
| <b>3.4 TEMPERATURA CORPORAL.....</b>  | <b>35</b> |
| <b>3.5 MENSURAÇÃO DE TRIGLICERÍDEOS E COLESTEROL<br/>SÉRICOS.....</b>               | <b>35</b> |
| <b>3.6 MENSURAÇÃO DE LEPTINA E INSULINA SÉRICA.....</b>                             | <b>36</b> |
| <b>3.7 TESTE DE TOLERÂNCIA A GLICOSE E TESTE DE<br/>RESISTÊNCIA A INSULINA.....</b> | <b>36</b> |
| <b>3.8 COLETA DE ÓRGÃOS.....</b>  | <b>37</b> |
| <b>3.9 COLETA DE AMOSTRAS DE SANGUE E EXTRAÇÃO DE<br/>SORO.....</b>                 | <b>37</b> |
| <b>3.10 DENSITOMETRIA ÓSSEA.....</b>  | <b>37</b> |
| <b>3.11 ANÁLISE DOS DADOS.....</b>  | <b>37</b> |
| <b>4 RESULTADOS.....</b>  | <b>38</b> |
| <b>4.1 DESENVOLVIMENTO CORPORAL.....</b>  | <b>38</b> |
| <b>4.2 INGESTÃO ALIMENTAR.....</b>  | <b>39</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>4.3 DENSITOMETRIA ÓSSEA.....</b>   | <b>39</b> |
| <b>4.4 MASSA DOS ÓRGÃOS.....</b>  | <b>41</b> |
| <b>4.5 TRIGLICERÍDEOS SÉRICOS.....</b>  | <b>43</b> |
| <b>4.6 TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE E TESTE DE<br/>RESISTÊNCIA À INSULINA.....</b>   | <b>44</b> |
| <b>4.7 INSULINEMIA E LEPTINEMIA.....</b>  | <b>47</b> |
| <b>4.8 UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS OB/OB COMO CONTROLE<br/>NEGATIVO DE LEPTINA E ADMINISTRAÇÃO DE<br/>GENFIBROZILA COMO HIPOLIPEMIANTE.....</b> | <b>48</b> |
| <b>4.9 TEMPERATURA CORPORAL.....</b>  | <b>51</b> |
| <b>5 DISCUSSÃO.....</b>   | <b>53</b> |
| <b>6 CONCLUSÕES.....</b>  | <b>68</b> |
| <b>7 REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>69</b> |

## LISTA DE ABREVIATURAS

AGNE – ácidos graxos não esterificados  
AgRP – proteína agouti-relacionada  
AKT - serina/treonina proteina quinase AKT  
AMPc - adenosina monofosfato-cíclico  
CART – transcrito regulado pela cocaína e anfetamina  
CRH – hormônio liberador de corticotrofina  
CRP – proteína C reativa  
DC - dieta controle  
DH – dieta hiperlipídica  
ERK - proteína quinase regulada por sinal extracelular  
GLP-1 – peptídeo similar ao glucagon 1  
GLUT4 – transportador de glicose do tipo 4  
HDL – lipoproteína de alta densidade  
IDL – lipoproteína de densidade intermediária  
IL - interleucina  
IMC - índice de massa corporal  
IKK- $\beta$  – quinases inibidoras do NF- $\kappa$ B  
IRS-1 – substrato do receptor de insulina  
LDL – lipoproteína de baixa densidade  
LLP – lipase lipoprotéica  
LPS - lipopolissacarídeo de E. coli  
MAPK - proteína quinase ativada por mitógeno  
MCP-1 - proteína quimioatrativa de monócitos  
NF- $\kappa$ B - fator nuclear  $\kappa$ B  
NPY- neuropeptídeo Y  
Ob-Rb - receptor b de leptina  
OMS - Organização Mundial da Saúde  
PAI-1 - inibidor do ativador do plasminogênio 1

PI3K - fosfatidilinositol-3-quinase

PKC- proteína quinase C

PPAR $\alpha$  - receptor ativado pelo proliferador do peroxissomo alfa

POMC - proopiomelanocortina

ROS- espécies reativas de oxigênio

SOCS - supressor da sinalização de citocinas

STAT - transdutor de sinal e ativador de transcrição

TAB - tecido adiposo branco

TG - triglicerídeos

TNF $\alpha$  - fator de necrose tumoral alfa

UCP - proteína desacopladora

VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade

WT - camundongo selvagem (C57Bl/6)

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 O BAÇO E CONCEITUAÇÃO HISTÓRICA

Na antiguidade alguns povos atribuíram ao baço funções das quais foram relatadas também pela ciência atual. Na cultura hebraica, o *Midrash Rabaah*, retórica de tradição histórica (século I a.C), designa ao baço a capacidade de conter junto a 10 órgãos a psique ou simplesmente a alma (ROSNER, 1972; McCLUSKY *et al.*, 1999).

Na concepção provinda do *Zohar* (conjunto de livros judaicos que comentam os cinco livros de Moisés ou *Torá*), conhecido no misticismo hebraico, admitindo que “o baço produz o riso e a alegria”. O baço também é citado no *Talmud* (texto central do judaísmo rabínico), onde está escrito que teria o papel de moinho, responsável por triturar as impurezas do sangue (ROSNER, 1972; McCLUSKY *et al.*, 1999).

Na medicina chinesa, o baço é um dos quatro órgãos do corpo relacionados com a defesa do organismo, fornecendo energia para os outros órgãos e contribuindo para o processo digestivo. Tal energia é representada pelas hemácias que o baço libera na circulação em situações em que há um maior esforço sistêmico, haja visto que em medicina legal a constrição do baço é sinal de morte violenta ou extremo esforço antes do falecimento, condição esta que altera a contagem de hemácias no sangue (COOPER & WILLIAMSON, 1984; PETROIANU *et al.*, 2003).

Além da digestão exercida pelos macrófagos esplênicos, o baço é precursor de grande parte das funções hepatocitárias. No entanto, a função mais estudada se dá no contexto imunológico (COOPER & WILLIAMSON, 1984; PETROIANU *et al.*, 2003).

A primeira indicação de esplenectomia (remoção do baço) também pertence à história hebraica. Na época do rei David, Adoniah tentou apoderar-se do trono e, para isso, conforme relatado no *Talmud* retirou o baço de 50 soldados de sua tropa a fim de que corressem com maior velocidade (ROSNER, 1972). Considerando que nesta época remota, a malária e a esquistossomose mansônica eram doenças endêmicas em todo o Oriente Médio, torna-se pertinente presumir que a esplenomegalia, presente nessas afecções causasse anemia, desconforto abdominal e adinamia (redução de força muscular) (ROSNER, 1972). Esplenectomias ocorriam também em atletas gregos que competiam nas olímpiadas antigas com a finalidade de aprimorar a *performance*, lembrando que no Mediterrâneo havia grande endemia de talassemia que pode causar

esplenomegalia e anemia (ROSNER, 1972). Portanto a esplenectomia poderia ter aumentado o desempenho dos guerreiros e atletas. Em tempos mais atuais, o efeito da esplenectomia no desempenho atlético foi relatado em cunho mais científico, porém com animais.

Em alguns estudos, ratos esplenectomizados apresentaram maior resistência e velocidade em corridas, quando comparados com ratos que possuíam o baço ileso (McCLUSKY *et al.*, 1999; WILKINS, 2002; PETROIANU *et al.*, 2003).

A destruição de hemácias no baço foi discutida por Rudolf Virchow, que acreditava no paradigma de que a morte celular era sempre um sinal de doença e não poderia, portanto, apresentar-se como um processo fisiológico (VIRCHOW, 1852; CROSBY, 1983). No século XIX foi relatado pela primeira vez que o baço seria capaz de promover a remoção de hemácias senís da circulação (KÖLLIKER, 1854).

Ludwig Aschoff e Landau (1913) contribuíram com a descrição do sistema reticuloendotelial, em que o baço constitui-se como um dos principais órgãos. Posteriormente esse sistema, devido à sua capacidade de fagocitar diferentes partículas, por meio de múltiplas células mononucleadas, ficou conhecido como sistema macrofágico e sistema mononuclear fagocitário (PETROIANU *et al.*, 2003)

O baço se desenvolve juntamente ao fígado e pâncreas na maioria dos mamíferos, além de ser um tecido linfóide associado aos vasos quilíferos do intestino.

Um dos fatores que determinam a origem do baço em camundongos é expressão do gene *Hox11*. Os animais que não expressam esse gene nascem asplênicos (KARRER, *et al.*, 1997).

## 1.2 A ANATOMIA DO BAÇO

O baço (do latim: *badiu* e *lien*; e do grego *splen.* avermelhado; castanho) é o maior órgão linfóide do organismo de mamíferos. No estágio embrionário o baço desenvolve-se a partir de uma condensação de células mesodérmicas no epitélio celômico (epitélio de superfície do ovário), que estão situadas na extremidade cranial do mesogástrio dorsal e durante o período fetal admite em comunhão com o fígado a função de hematopoiese (produção de células sanguíneas) (WEISS, 1988).

No indivíduo adulto o baço está disposto no hipocôndrio esquerdo e envolvido por uma cápsula fibrosa aderente ao parênquima, possui polpas e trabéculas originadas da cápsula fibrosa (WEISS, 1988).

Apresenta uma forma oval em humanos e mais alongada em roedores, relacionando-se topograficamente com a cúpula diafragmática esquerda, com o estômago, cólon transversal, glândula supra-renal esquerda e a cauda do pâncreas (WEISS, 1988).

A vascularização lienal ocorre principalmente pela artéria esplênica derivada do tronco celíaco, que sai da porção abdominal da artéria aorta e irriga vários órgãos abdominais. Já sua drenagem venosa é realizada através da veia esplênica, que dará origem a veia porta quando unida à veia mesentérica superior, comunicando-se com o fígado (YOUNG, *et al* 2001). A drenagem linfática é feita pelos vasos linfáticos esplênicos que estão justapostos aos vasos arteriais e venosos de grande calibre. Estes são encontrados na cápsula e nas trabéculas maiores, dirigindo-se aos linfonodos do hilo que acompanham a drenagem do estômago e do pâncreas. A inervação do baço origina-se no nervo vago direito e no plexo celíaco (YOUNG, *et al* 2001).

### **1.3 FUNÇÕES DO BAÇO**

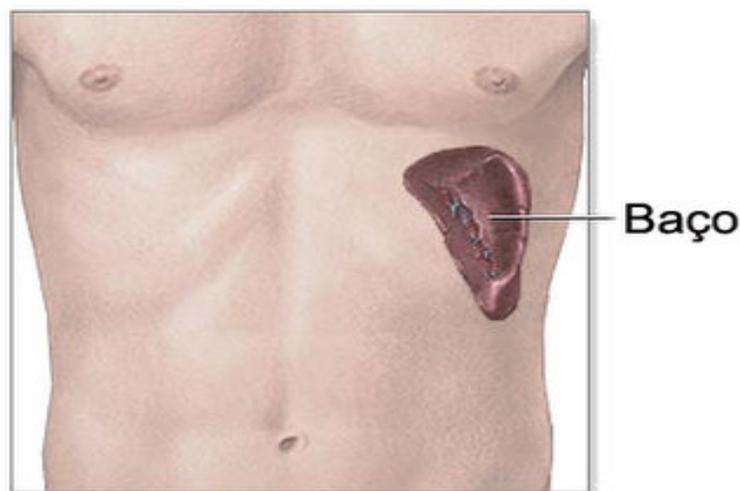
As funções esplênicas mais estudadas incidem na atividade imunológica e fagocitária, já que metade das células esplênicas pertence ao tecido linfóide e a outra metade são células fagocitárias mononucleares (PETROIANU, 2003).

O baço recebe cerca de 300ml de sangue por minuto o que corresponde a 6% do volume-minuto cardíaco em humanos, assim sua estrutura e função caracterizam-se de forma comparativa a um filtro inserido no sistema circulatório, capaz de remover células sanguíneas, microorganismos e imunocomplexos, caracterizando a função de hemocatarese (MOORE, 1994).

Eritrócitos captados da circulação pelo baço sofrem remodelamento e podem então retornar à circulação. Assim, grânulos, vacúolos, corpos de Heinz (eritrócitos deformados pela decomposição bioquímica da hemoglobina em estruturas insolúveis), hemácias velhas (acima de 120 dias) e demais inserções eritrocitárias se acumulam no

sangue após a remoção cirúrgica do baço ou em casos de asplenia (SKANDAANKIS, *et al* 1993; JÁUREGUI, 1999)

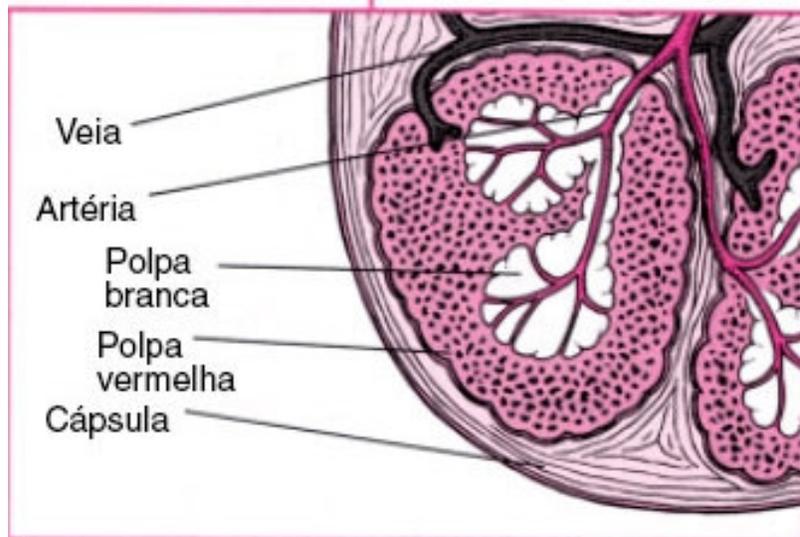
O baço possui um relevante papel como órgão linfóide, aproximadamente um terço das plaquetas do organismo está no baço e o grande fluxo de sangue por ele recebido torna íntimo o seu contato com substâncias circulantes. Desta forma o baço fica situado como um órgão importante para a interação com o sistema imunológico (PETROIANU, 2003).



**Figura 1. Localização topográfica do baço.** O baço está inserido no hipocôndrio esquerdo ou hemicúpula diafragmática esquerda Fonte: Petroianu (2003).

Além de um depurador de bactérias, no baço também ocorre à síntese de anticorpos em resposta e exposição de partículas antigênicas, uma vez que é constituído por pequenos vasos internos que aumentam o contato entre o sangue e monócitos, macrófagos e linfócitos, desempenhando uma função imunológica análoga a dos linfonodos.

As características lienais podem ser observadas sob um ponto de vista anátomo-histológico distinto, já que o baço possui estruturas especializadas como a polpa vermelha, responsável pela depuração de hemácias senís ou então alteradas, como no caso de doenças como a esferocitose. Nesta região se encontra o sistema reticulo-endotelial, uma passagem da rede arteriolar para rede venosa por sinusóides estreitos, onde os monócitos diferenciam-se em macrófagos que realizam a fagocitose eritrocitária (CROSBY, 1983; SKANDAASKIS, *et al* 1993; JÁUREGUI, 1999).



**Figura 2. Função do baço.** As funções do baço são determinadas por regiões que podem ser histologicamente divididas em polpa vermelha (função de hemocatarese) e polpa branca (função de produção e armazenamento de células do sistema imunológico). Fonte: Petroianu (2003).

Os nódulos linfáticos responsáveis pela produção dos linfócitos no baço estão localizados em uma porção chamada de polpa branca, que contém áreas timo-dependentes. Esta área compreende a região periarteriolar, que armazena linfócitos T e a região marginal perifolicular, responsável por armazenar linfócitos B, produzir linfocinas e interleucinas que atuam de maneira singular em processos inflamatórios.

Portanto, no baço pode haver processamento de diversos antígenos, a apresentação dos antígenos aos linfócitos. (SKANDAASKIS, *et al* 1993; JÁUREGUI, 1999).

Para que os linfócitos se alojem em órgãos linfóides como o baço e linfonodos são necessários que estes tecidos expressem moléculas que permitam a interação entre células do sistema imune e o órgão, chamadas de moléculas de adesão e receptores de endereçamento (PETROIANU, 2003).

## 1.4 BAÇO E METABOLISMO

Apesar da condição não vital do baço, logo que sua total remoção não decorre em morte, o indivíduo esplenectomizado ou asplênico necessita de ser avaliado como um portador de doença crônica, precisando de acompanhamento médico por toda vida, porém na prática esse acompanhamento é adequado apenas por um período curto no pós-cirúrgico (MELLENKJOER *et al*, 1995).

Por não haver total compreensão dos mecanismos envolvidos nos distúrbios metabólicos decorrentes da retirada cirúrgica do baço, não há condutas totalmente definidas quanto às conseqüências clínicas e exames complementares (MELLENKJOER *et al*, 1995).

Sabe-se que devido às funções ligadas ao sistema imunológico, a esplenectomia pode trazer complicações graves, como sepse fulminante na presença de agentes infecciosos. Tal risco é reduzido com a utilização de vacinas de amplo espectro, principalmente contra *pneumococos*, *hemófilos* e *meningococos*. E em qualquer procedimento mais invasivo, como cirurgias esplâncnicas (cavidade abdominal), é indicada ao paciente esplenectomizado antibiótico profilaxia (MELLENKJOER *et al*, 1995).

O baço também participa de funções metabólicas importantes, como no metabolismo do ferro (atuando como órgão de armazenamento de micronutrientes como ferro, enxofre e cobre), fator de coagulação VIII ([cofator glicoproteico](#) sintetizado e liberado na corrente sanguínea pela [íntima](#) endotelial, iniciando a formação de coágulos quando ativado proteoliticamente pela proteína C reativa e/ou fator de coagulação IXa), de materiais albuminóides, produção de histamina, bilirrubina (constituída à partir da degradação eritrocitária), além da produção de endopeptidases e carboxipeptidases esplênicas (PETROIANU, 2000; PETROIANU, *et al* 2006).

As ações endócrinas ou metabólicas do baço são percebidas principalmente após sua remoção cirúrgica ou em casos de asplenia. Com a esplenectomia em animais e humanos, ocorrem repercussões orgânicas como hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia e infiltrações gordurosas no fígado causando esteatose hepática. Assim torna-se de extrema importância à investigação dessas alterações vinculadas a este órgão, logo que tais disfunções estão intimamente ligadas a diversas doenças como diabetes melito do tipo II (DM II), dislipidemias, obesidade e síndrome metabólica (FATOUROS, 1995; JAMEL, 2002).

A esplenectomia total ou em casos de asplenia são perdidas algumas funções metabólicas esplênicas. Em dislipidemias ocorridas em afecções, como na doença de Gaucher o paciente asplênico apresenta esteatose hepática, infiltrações gordurosas na medula e insuficiência hepática (PETROIANU, 2000; PETROIANU, *et al* 2006).

É importante salientar que as células do nosso organismo podem obter energia dos ácidos graxos, provindos dos lipídios ingeridos na alimentação, das gorduras

sintetizadas em órgãos como o fígado para serem transportadas a outros tecidos ou das gorduras existentes em células especializadas em armazenar triacilglicerol (TG), os adipócitos. (FRIEDMAN *et al*, 1980).

Não há dados na literatura que reportem alterações pós-esplenectomia dos quilomícrons (PETROIANU, 2003), que são lipoproteínas ricas em triglicerídeos de cadeia longa, sintetizados a partir dos lipídios da dieta. Pelos vasos quilíferos os quilomícrons são transportados ao ducto torácico ganhando a corrente sanguínea e assim, são levados aos tecidos que possuem receptores de apoC-II (apolipoproteína C-II) (DAVIDSON *et al*, 1987).

Com a atividade da lipase lipoprotéica (LLP) sobre os quilomícrons, restam desta catálise moléculas com uma menor quantidade de triacilglicerol os chamados: quilomícrons remanescentes. Estes são captados pelo fígado e são importantes na formação apolipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL do inglês: *very low density lipoprotein*) (KARPE *et al*,1995).

Quanto aos níveis de VLDL, não há evidências de aumento significativo após a esplenectomia total ou parcial, porém mesmo que de forma controversa há relatos das mudanças das frações de LDL (*low density lipoprotein*) e HDL (*high density lipoproteins*) em pacientes asplênicos e esplenectomizados (REZENDE *et al*, 2007).

As VLDLs podem ser convertidas em moléculas de densidade intermediária ou IDLs, que podem ser processadas no fígado para a formação das LDLs. As IDLs são importantes precursoras das LDLs (*low density lipoprotein*), moléculas de baixa densidade, ricas em colesterol, contendo apoB-100 como a principal apolipoproteína (KARPE *et al*,1995).

As LDLs transportam os lipídios aos tecidos extra-hepáticos que possuem receptores de apoB-100 que medeiam a captação do colesterol (KARPE *et al*,1995).

Alguns trabalhos apontam modificações importantes nos níveis de LDL colesterol em animais e humanos esplenectomizados, culminando em aterosclerose nas áreas de maior estresse de cisalhamento como no arco aórtico e seio carotídeo (PETROIANU, 2000; PETROIANU, 2003; PETROIANU, *et a l* 2006; REZENDE *et al*, 2007)

Há também moléculas lipoprotéicas sintetizadas pelo fígado, com maior densidade, podendo realizar o transporte reverso de colesterol, que são as lipoproteínas de alta densidade ou HDLs (*high density lipoproteins*) (HAVEL *et al*, 1995; KARPE *et al*,1995).

A respeito dos níveis de HDL após a retirada do baço ou em asplenia, ainda há divergências, logo que existem dados que apontam um significativo aumento dos níveis séricos de HDL (PAULO *et al*, 2007) e há evidências de sua diminuição após a cirurgia (PETROIANU *et al*, 2006).

Alterações no metabolismo lipídico após a esplenectomia são evidenciadas em humanos e em animais, mas não há caracterização de possíveis mecanismos desse evento. E a mudança clínica do perfil lipêmico, aponta razão suficiente para a indicação de cirurgias mais conservadoras, evitando a esplenectomia total (PAULO *et al*, 2007). O perfil de dislipidemia característico do diabetes, da obesidade e da síndrome metabólica, por exemplo, é representado principalmente pela elevação dos triglicérides (TG), pela redução do HDL colesterol e pela presença aumentada de LDL colesterol no sangue, o que constitui a chamada tríade lipídica de elevado potencial aterogênico (NCEP III, 2001; ADA, 2004) que também pode suceder em indivíduos asplênicos ou esplenectomizados (PAULO *et al*, 2007).

Portanto, o HDL diminuído, elevação dos níveis séricos de LDL colesterol e de triglicérides constituem alentado preditor de risco cardiovascular, incrementando a incidência de aterosclerose (NCEP III, 2001).

Em indivíduos diabéticos com dislipidemia ocorre, no entanto, devido à hiperglicemia uma oxidação e glicação das LDLs, ocorrendo um aumento significativo das LDLs pequenas e densas, partículas bem mais aterogênicas que as LDLs de maior diâmetro (CORTI, 1995; ADA, 2004).

Nesse caso o baço pode ter uma função importante fazendo um *clearance* do LDL-oxidado o que talvez pudesse explicar o evento de elevação do LDL colesterol após a retirada do baço, mas ainda se trata de uma teoria (PETROIANU, 2003). Além disso, não relatos consistentes da epidemiologia do diabetes e obesidade em indivíduos asplênicos e esplenectomizados que sofrem com as dislipidemias, impedindo uma melhor abordagem farmacológica e clínica desses indivíduos.

Os estudos de CUI (2001) e LU (2003) demonstraram os possíveis mecanismos que definem os efeitos da resistência à insulina e da dislipidemia aterogênica característica do diabetes e da síndrome metabólica que parecem estar relacionados ao aumento da quebra dos triglicérides com liberação de ácidos graxos não esterificados. O excesso de ácidos graxos infiltra no fígado, nos músculos e possivelmente nas células beta pancreáticas, contribuindo para exacerbar a resistência

à insulina em órgãos alvo, bem como para amortizar a produção de insulina pelo pâncreas (LU, 2003).

A importância desse complexo aterogênico típico da resistência à insulina levou ao NCEP (*The National Cholesterol Education Program III*) de 2001 a considerar o controle dos níveis de triglicérides como um alvo terapêutico a ser alcançado, assim como os níveis de colesterol total e frações de VLDL e LDL. Orientação dietética, perda de peso e estímulo à prática regular de atividade física parecem constituir balizadores cuja importância sempre resistirá à ação do tempo. Estratégias que apontam o controle sobre os metabolismos glicêmico e lipídico parecem adquirir cada vez mais importância à medida que todas essas complexas relações aterogênicas vão sendo esclarecidas.

O tratamento específico, correto e intensivo do diabetes tipo II, inclusive contribui para o melhor controle do perfil lipídico no diabetes. No entanto, resistência à insulina, a obesidade, estilo de vida sedentário são condições com elevada prevalência na atualidade que devem dobrar a incidência nas próximas duas décadas (NCEP III, 2001; ADA, 2004).

Contudo ainda existe uma lacuna quanto à avaliação do perfil glicêmico e resistência à insulina de esplenectomizados, já que apenas se verificam trabalhos que analisam a glicemia antes e logo após a cirurgia, então se torna necessário uma investigação da glicemia do esplenectomizado após alguns dias ou meses (PETROIANU, 2003). Lembrando que ainda não há estudos que traçam os valores glicêmicos de esplenectomizados após desafio com glicose ou simplesmente num período pós-prandial.

## **1.5 OBESIDADE, INFLAMAÇÃO E BAÇO**

A obesidade é considerada um problema de saúde pública mundial que contribui para a gênese de várias afecções crônicas. (MANSON J E, *et al.*, 1990). Há tempos a obesidade e o sobrepeso vem sendo muito estudados, todavia ainda existe grande aumento na prevalência de pessoas com peso corporal aumentado nos últimos anos. Alguns dados expõem que há uma ampliação na mortalidade em indivíduos com a massa corporal elevada, além de apresentarem um maior acréscimo de afecções crônicas, como hipertensão, diabetes do tipo II, aterosclerose, coronariopatias,

dislipidemia, câncer e doença pulmonar obstrutiva crônica (FLEGAL *et al.*, 2005; FRIEDMAN, 2004; KOPELMAN, 2000).

É bem aceito que a obesidade e dislipidemias participam da etiopatologia do diabetes do tipo II (EVERSON *et al.*, 1998; KAHN & FLIER, 2000). Um dos principais fatores para a gênese da síndrome metabólica é o aumento de peso corporal, sobretudo quando há grande acúmulo de tecido adiposo branco esplâncnico (visceral). Além do controle da homeostase glicêmica, outro papel endócrino de grande importância desempenhado pelos adipócitos é o controle da ingestão de alimentos e do gasto energético, assim a leptina é sem dúvida a principal adipocina.

Em 1994, Zhang *et al.* caracterizaram o produto do gene *ob*, localizado no cromossomo 7 (7q31.3), composto de três exons e dois introns formados por 18kb (GONG, 1996), em que uma mutação pontual no genoma de camundongos estava relacionada a um fenótipo de obesidade grave. O produto se revelou uma proteína de 16 kDa a qual foi denominada leptina (do grego *Leptos* = magro). Estudos posteriores levaram à caracterização dessa proteína como uma citocina helicoidal, de estrutura parecida com o TNF- $\alpha$  (ZHANG *et al.*, 1997; MADEJ *et al.*, 1995, GRESSNER, 2004). Efeitos regulatórios da ingestão alimentar são mediados pela leptina que é expressa, principalmente após ocorrer um maior estoque de TG no tecido adiposo, ou seja, presente para contra-regular o balanço energético positivo (SCHWARTZ, PESKIND, 1996).

A leptina atua em vários receptores, sendo que o receptor OBR, parece estar relacionado com os principais efeitos descritos em relação à ação da leptina. Agindo no hipotálamo ventro-medial, lateral, paraventricular, perifornical e no núcleo arqueado, a leptina inibe a biossíntese e a secreção de neuropeptídeo Y (NPY), hormônio concentrador de melanina, proteína agouti-relacionada (AgRP), peptídeos de ação orexígena, ou seja, estimuladores do apetite (STEPHENS *et al.*, 1995; GOLDEN, 1997; KRISTENSEN, 1998, BARIOHAY, 2005). A leptina também é capaz de aumentar a expressão de hormônios anorexígenos, como a pró-opiomelanocortina (POMC), transcrito regulado pela cocaína e anfetamina (CART), peptídeo similar ao glucagon-1 (GLP-1), hormônio liberador de corticotrofina (CRH) (STEPHENS *et al.*, 1995; LOPEZ, 2000; MEISTER, 2000; KUMANO, 2003).

A total falta da leptina pode ser avaliada em camundongos *ob/ob*. Estes camundongos apresentam hiperfagia, resistência à insulina, hipotermia, tônus

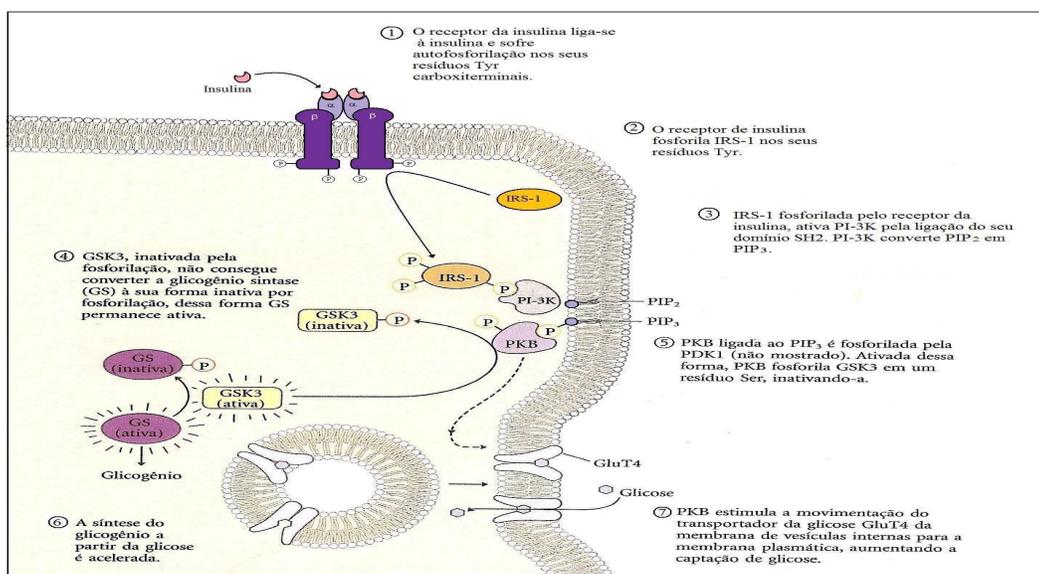
simpático diminuído e infertilidade, quadros que se normalizam com a administração de leptina exógena (FREDERICH *et al.*, 1995; PELLEYMOUNTER *et al.*, 1995; HALAAS *et al.*, 1995).

Existe grande correlação entre obesidade e diabetes do tipo II e o ganho de massa gorda parece preceder o fenômeno de resistência à insulina. Quantidades elevadas de lipídeos e carboidratos plasmáticos aumentam os níveis de vários hormônios que induzem resistência à insulina, resultando em uma inibição da sinalização celular da insulina (WELLEN & HOTAMISLIGIL, 2005). A resistência à insulina no fígado e tecido adiposo induz a intolerância à glicose e a hiperglicemia, sinais típicos do diabetes tipo II.

Resistência à insulina e hiperinsulinemia está correlacionada a anormalidades, como: hipertrigliceridemia, baixos níveis de HDL, índices elevados de VLDL, aumento da resistência vascular periférica gerando hipertensão arterial, modificação dos níveis hormonais de esteróides e aumento de peso (REAVEN, 1993).

A ação da insulina em células periféricas, como no tecido adiposo e no músculo esquelético, medeia uma sinalização intracelular, uma cascata enzimática para a translocação do transportador de glicose 4 e captação da glicose do meio extracelular para o meio intracelular. Essa sinalização celular é sensível aos processos inflamatórios, excesso de ácidos graxos e hiperinsulinemia (GRIFFIN, 1999).

A ação fisiológica da insulina está demonstrada na figura 3.



**Figura 3. Mecanismo de sinalização da insulina.** Evidenciando a fosforilação do IRS-1 em tirosina e translocação do GLUT 4. Fonte: Cox; Nelson. (2006, p.384)

Os AGNEs estão envolvidos na patogênese da resistência à insulina. Em obesos insulino-resistentes pode-se encontrar níveis plasmáticos elevados de AGNEs (GRIFFIN, 1999).

Alguns estudos sugeriram que a elevação de AGNEs no sangue resultaria em aumento da atividade da proteína quinase C (PKC), uma serino-quinase, que fosforilaria em serina o IRS-1 (ao invés de uma fosforilação em tirosina), o que reduz a capacidade do IRS de se ligar e ativar a PI3k, alterando (reduzindo) a transmissão do sinal de insulina para que haja à translocação de GLUT 4 em direção a membrana celular (GRIFFIN, 1999).

A infusão de lipídeos em animais reduz a captação de glicose estimulada por insulina e a ativação da PI3k associada ao IRS-1 no músculo esquelético. O pré-tratamento com salicilato evita esses efeitos induzidos por lipídeos. Para examinar o mecanismo de ação do salicilato, foi pesquisado o efeito da infusão de lipídeos na sinalização de insulina em camundongos nocautes de proteínas que atuam na via das serino quinases (KIM, 2001).

Uma propriedade comum às diversas patologias ligadas à síndrome metabólica e a obesidade é a participação do processo inflamatório como agente etiopatogênico. A obesidade, por exemplo, é considerada um quadro inflamatório crônico moderado (TILG & MOSCHEN, 2006; WELLENKE & HOTAMISLIGIL, 2005; DANDONA *et al.*, 2004).

Essa conclusão deriva de trabalhos que mostram que mediadores inflamatórios estão aumentados em obesos, dentre eles o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), a proteína C reativa (CRP), a interleucina 6 (IL-6), a interleucina 1 (IL-1) e o inibidor do ativador do plasminogênio 1 (PAI-1) (DANDONA *et al.*, 2004; DANDONA *et al.*, 2005), assim como após a esplenectomia, que também gera a produção de citocinas (FELEDER, 2003).

E vários estudos indicam uma acuidade para esses mediadores inflamatórios na gênese das afecções associadas à obesidade (DANDONA *et al.*, 2004; DANDONA *et al.*, 2005), mas não há evidências que apontam correlação dos fenômenos ligados à obesidade no indivíduo esplenectomizado.

O TNF- $\alpha$ , a IL-6 e a proteína quimioatrativa de monócitos (MCP-1) são alguns dos fatores pró-inflamatórios considerados indutores de resistência à insulina (HOTAMISLIGIL *et al.*, 1993; KIM *et al.*, 2004; KANDA *et al.* 2006).

A administração crônica de TNF- $\alpha$  em murinos, inibe várias etapas da cascata de sinalização da insulina, levando à diminuição da atividade de tirosina quinase do receptor de insulina (receptor de membrana  $\alpha$  e  $\beta$ ), da fosforilação do substrato do receptor de insulina 1 (IRS1) (FEINSTEIN *et al.*, 1993) e da síntese do transportador de glicose do tipo 4 (GLUT4) (STEPHENS & PEKALA, 1991). Animais obesos em que a função do TNF- $\alpha$  foi perdida devido à deleção do gene que expressa o TNF- $\alpha$ , assim como a deleção dos genes que codificam seus receptores, apresentam uma melhora significativa da sensibilidade sistêmica à insulina (UYSAL *et al.*, 1994).

O tecido adiposo unilocular (tecido adiposo branco-TAB) constitui a maior reserva de energia em forma de gordura no organismo, além disso, uma das maiores fontes de citocinas pró-inflamatórias em mamíferos (FANTUZZI, 2005). Sabe-se que o acúmulo de gordura no tecido adiposo está ligado ao aumento da produção de várias adipocinas (FAIN *et al.*, 2004) que participam no processo inflamatório, no controle da homeostase glicêmica, no balanço energético, no metabolismo lipídico e na regulação do tônus vascular (ARNER, 2003)

Peraldi *et al.*, 1998, sugeriram que o TNF- $\alpha$  seria capaz de alterar sinalização da insulina através do aumento de fosforilação em serina do IRS-1. Camundongos com ausência total do receptor de TNF- $\alpha$  apresentam melhora da sensibilidade à insulina. Para testar a hipótese de que a resistência à insulina pode estar envolvida com a ativação de uma cascata de serino quinases induzida por lipídeos, Kim *et al.*, (2001), estudaram a sinalização da insulina em ratos após administração intravenosa de lipídeos, antecedida ou não de tratamento com salicilato sódico (anti-inflamatório).

O camundongo que não expressa IKK- $\beta$  (quinases inibidoras do NF- $\kappa$ B) não apresentou alterações na sinalização de insulina observada após a infusão de lipídeos. Em suma, altas doses de anti-inflamatórios e inativação de IKK-  $\beta$  evitaram a resistência à insulina induzida por lipídeos, bloqueando as alterações na sinalização e ação da insulina, mostrando a inflamação como um fenômeno importante na gênese do diabetes melito do tipo II (BIRBAUM, 2001; KIM, 2001).

Yuan *et al.*, (2001), investigaram o efeito de altas doses de salicilatos na resistência à insulina de animais geneticamente obesos (camundongos ob/ob) e demonstraram uma melhora acentuada da resistência a esse hormônio, quando associada à redução dos níveis séricos de AGNEs e triglicerídeos.

Uma influência mútua da resistência à insulina, inflamação e obesidade é a proposição que mais integra os múltiplos itens da síndrome metabólica. A resistência à insulina corresponde com a obesidade, notadamente a obesidade andróide (visceral), e é grave fator para formação da diabetes, assim como a presença do estado inflamatório conjunto ao aumento de peso corporal. (DANDONA *et al*, 2005).

Já está bem documentado que a esplenectomia total pode levar a diversas complicações, notadamente imunológicas e inflamatórias. Morris & Bullock (1919) demonstraram que a esplenectomia poderia resultar em aumento da susceptibilidade a infecções e que indivíduos asplênicos estariam menos aptos a controlar a sepse bacteriana.

King e Shumacker (1952) constataram a associação entre a remoção do baço e a ocorrência de sepse em crianças. Em 1969, Diamond propôs a denominação de infecção fulminante pós-esplenectomia a um quadro clínico distinto de sepse que ocorria em pacientes esplenectomizados.

Feleder em 2003 evidenciou que a esplenectomia em modelos experimentais leva a mudanças de temperatura, maior expressão de proteínas pró-inflamatórias como IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  caracterizando a esplenectomia como um evento diretamente ligado a um estado inflamatório.

Estudos têm demonstrado uma provável relação da função esplênica com o metabolismo lipídico. Caliguri *et al* (2002) mostraram que a imunidade, principalmente aquela mediada pelos linfócitos B, exerce um efeito protetor na progressão da aterosclerose. Estudos em animais verificaram que após a completa remoção esplênica, os níveis séricos de colesterol e de triglicerídeos podem se elevar e que procedimentos cirúrgicos de conservação do baço poderiam evitar essa alteração. Além dos processos dislipidêmicos a retirada do baço promove acúmulo de metabólitos pirogênicos como a IL-1 $\beta$  que pode causar um estado febril ligado a um estado séptico ou hipertermia por muitos meses sem fenômeno séptico associado (PETROYANU, 2003).

A tabela I resume o papel das várias adipocinas e sua relação com o sistema imune e sua expressão na obesidade.

**Tabela 1. Fatores relacionados ao metabolismo e sistema imune.** TNF $\alpha$ , fator de necrose tumoral alfa; IL, interleucina; IL-R $\alpha$ ,receptor de IL-1 alfa; MCP-1, proteína quimioatrativa de monócitos; MIF, fator inibitório de migração de macrófago; M-CSF, fator estimulante de colônias de macrófagos; TGF $\beta$ , Fator de crescimento transformador beta; TNFR, receptor de TNF; CRP, proteína Creativa. Modificado de Wellen & Hotamisligil, (2005).

| Fatores        | Regulação metabólica | Efeitos  |
|----------------|----------------------|--|
| TNF $\alpha$   | ↑ na obesidade       | Promove resistência à insulina   |
| IL-6           | ↑ na obesidade       | Promove resistência à insulina<br>Ação central anti-obesidade                                    |
| Leptina        | ↑ na obesidade       | Efeitos imunes múltiplos<br>Inibe o apetite<br>Promove oxidação de ácidos gráxos                 |
| Adiponectina   | ↓ na obesidade       | Anti-inflamatória<br>Promove sensibilidade à insulina<br>Estimula oxidação de ácidos gráxos      |
| Visfatina      | ↑ na obesidade       | Fator de crescimento de célula B<br>Insulino-mimético  |
| Resistina      | ↑ na obesidade       | Induzida por endotoxemia/inflamação<br>Promove resistência à insulina<br>Regula a glicemia basal |
| IL-1           | ↑ na hiperglicemia   | Pró-inflamatória<br>Regula a secreção de insulina<br>Envolvida na ação central da leptina        |
| IL-1R $\alpha$ | ↑ na obesidade       | Anti-inflamatório<br>Se opõe aos efeitos da leptina  |
| IL-8           | ↑ na obesidade       | Pró-aterogênica  |
| IL-10          | ↑ na obesidade       | Anti-inflamatória<br>Promove sensibilidade à insulina  |
| IL-18          | ↓ na obesidade       | Pró-aterogênica  |
| MCP-1          | ↑ na obesidade       | Pró-aterogênica<br>Promove resistência à insulina  |
| MIF            | ↑ na obesidade       | Inibe migração de macrófagos   |
| M-CSF          | ↑ na obesidade       | Diferenciação monócito/macrófago<br>Estimula o crescimento do tecido adiposo                     |
| TGF $\beta$    | ↑ na obesidade       | Inibe a diferenciação de adipócitos e o desenvolvimento do tecido adiposo                        |
| TNFR solúvel   | ↑ na obesidade       | Pró-inflamatório   |
| CRP            | ↑ na obesidade       | Pró-inflamatória; Aterogênica<br>Fator de risco para diabetes                                    |
| Haptoglobina   | ↑ na obesidade       | Pró-inflamatória   |

O TNF- $\alpha$  também é expresso em indivíduos esplenectomizados, pois a falta dos macrófagos lienais diminuem o *clearance* de lipopolissacarídeos, função que os hepatócitos admitem e em conseqüência há um aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias (FELEDER, 2003), porém não há estudos que correlacionem o TNF- $\alpha$  expresso em esplenectomizados com a resistência à insulina.

Assim as alterações metabólicas causadas pela esplenectomia, como aumento dos níveis plasmáticos de triglicérides e colesterol, aumento plasmático de TNF- $\alpha$  e aumento na temperatura corporal precisam ser melhor elucidados. A elevação na temperatura corporal pode indicar um maior dispêndio calórico e uma possível alteração do metabolismo basal. E taxas elevadas de triglicérides no plasma podem evidenciar uma maior atividade lipolítica. (BACHMAN, *et al* 2005).

Para as mudanças na temperatura após a retirada do baço não há explicações satisfatórias, porém algumas hipóteses sugerem que devido à retirada de um órgão responsável pela filtração do sangue, pode haver um acúmulo de metabólitos que permanecem na circulação atuando como pirógenos, causando um estado febril ou de hipertermia, com ou sem a presença de um antígeno gerando um quadro séptico (PETROIANU, 2003). No baço e no fígado estão alojados macrófagos que produzem IL-1 que é um agente pró-inflamatório que pode modular a temperatura para a indução de hipertermia (FELEDER, *et al.*, 2003).

Pacientes submetidos à esplenectomia apresentam variações de temperatura e o controle térmico do hipotálamo sofre alterações assim como os termorreceptores periféricos (MEEKES, 1995).

Se os mecanismos fisiológicos e bioquímicos destes eventos supracitados forem elucidados, poderá ser de grande valia para o controle do peso corporal, atenuando as intercorrências da obesidade, diabetes e síndrome metabólica, além de prevenir desfechos cardiovasculares em pacientes esplenectomizados.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVOS GERAIS**

Investigar parâmetros relacionados ao metabolismo lipídico, glicêmico e a termorregulação de murinos esplenectomizados.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Verificar se a esplenectomia interfere no ganho de peso corporal;
- Verificar se a esplenectomia interfere nos resultados do hemograma;
- Verificar se a esplenectomia interfere na ingestão alimentar;
- Verificar se a esplenectomia causa mudanças na massa de diversos órgãos;
- Verificar se a esplenectomia causa mudanças na temperatura corporal de murinos;
- Verificar se a esplenectomia pode gerar resistência à insulina;
- Verificar se a esplenectomia pode interferir na captação de glicose;
- Verificar se a esplenectomia pode interferir na trigliceridemia de murinos;
- Verificar se a esplenectomia pode modificar os níveis séricos de leptina;
- Verificar se a esplenectomia pode modificar os níveis séricos de insulina.

## 3 MÉTODO

### 3.1 ANIMAIS

Os camundongos usados neste estudo foram da linhagem C57BL/6 selvagens (Wild Type/WT) e animais deficientes para leptina (*ob/ob*), machos, de aproximadamente 3 meses de idade, obtidos no Instituto de Farmacologia Nacional da Universidade Federal de São Paulo (INFAR/UNIFESP). Estes murinos foram usados a fim de gerar os modelos experimentais operados, formando grupos esplenectomizados e controles. Os animais foram mantidos em biotério, no Laboratório de Experimentação Animal – INFAR em microisoladores ventilados com água e ração *Nuvital*® CR-1 *ad libitum*, autoclavados. Temperatura da sala de  $21\pm 2^{\circ}\text{C}$  e ciclo de 12 horas de luz/12 horas de escuro. Os animais apresentaram microbiologia negativa (bactérias e fungos) para os agentes prevalentes segundo a relação sugerida pela FELASA (Federação Européia da Ciência de Animais de Laboratório). Todos os experimentos com os animais são conduzidos em conformidade com o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA e aval do Comitê de Ética da Universidade de Mogi das Cruzes.

### 3.2 CIRURGIA

As cirurgias procederam em sala higienizada e desinfetada por solução germicida, controle do acesso e trânsito de pessoas dentro da sala, paramentação e escovação das mãos adequadas e desinfecção com álcool (70%), manutenção da temperatura da sala de cirurgia em  $27^{\circ}\text{C}$ .

Os animais foram anestesiados com xilazina e a ketamina nas doses de 10 e 150 mg por kg, respectivamente. E posteriormente foram tricotomizados na porção lateral esquerda do abdômen e dorso com tosquiadeira elétrica.

Pôr-se campo cirúrgico estéril com abertura para região tricotomizada. Após a aplicação de álcool iodado na região tricotomizada iniciou-se a laparotomia com acesso lateral esquerdo por incisão ao longo eixo do animal, abaixo das costelas no hipocôndrio sinistro com invasão peritoneal.

Após a visualização do baço, este foi exposto à região extra peritoneal para melhor dissecação dos ligamentos lienais, com o cuidado para não descapsular o baço,

causando hemorragia. Uma atenção especial foi dada aos ligamentos que unem o baço ao pâncreas e ao fundo gástrico, para que não houvesse lesões que pudessem comprometer tais órgãos.

Após a identificação dos componentes anatômicos a dissecação vascular foi precedida por *clamps*, forjados por pontos fixos nas artérias e veias esplênicas, facilitando a ablação lienal, sem maior sangramento.

Dado o procedimento supracitado com a retirada total do baço determinou-se o modelo esplenectomizado. Para o modelo controle ou Sham operado o procedimento seguiu-se com o mesmo rigor até a exposição do baço ao meio extra peritoneal, posteriormente não havendo dissecação de seus componentes anatômicos. Assim o baço fora colocado íntegro no hipocôndrio esquerdo.

A solução de continuidade da pele e músculos foi reduzida com pontos simples feitos com fio cirúrgico de polipropileno número 4-0. Após a cirurgia, foi administrado antibiótico (benzilpenicilina, 100.000UI/kg), antiinflamatório (Butorphanol 5 mg/Kg a cada 6 horas) e reposição hidroeletrólítica (solução de NaCl a 0,9%, 500µL/30g) via subcutânea, para evitar infecção pós-cirúrgica, reduzir o desconforto dos animais e desidratação. Após a cirurgia os camundongos foram mantidos em placas aquecidas à 37°C até recobrem a atividade, para evitar o quadro de hipotermia. Os animais foram monitorados diariamente durante todo o período do estudo e o acompanhamento quanto à variação da massa corporal foi realizado semanalmente. Após quatro semanas de recuperação os animais foram submetidos à dieta controle ou hiperlipídica e coletas de sangue.

Para os camundongos machos *ob/ob*, os procedimentos cirúrgicos foram os mesmos na determinação dos modelos *ob/ob* Sham e *ob/ob* esplenectomizado. Desta forma os animais foram mantidos individualizados em suas caixas por um período de quatro semanas para se recuperarem da cirurgia.

### **3.3 INGESTÃO ALIMENTAR - DIETA CONTROLE E HIPERLIPÍDICA**

Os camundongos machos com um mês após a cirurgia encontravam-se individualizados e foram mantidos, então em dieta padrão Nuvital® CR-1 (6 % das kcal provenientes de lipídeos) ou submetidos à dieta hiperlipídica *Research Diets*® (45 % das kcal provenientes de lipídeos) por 10 semanas. Durante a dieta, o peso corporal e

a ingestão de alimentos foram monitorados semanalmente e quando necessário diariamente. Ao final da dieta os animais foram submetidos ao teste de tolerância à glicose, teste de resistência à insulina e posteriormente sofreram eutanásia para coleta de sangue e tecidos. Os tecidos foram imediatamente pesados, divididos e congelados em nitrogênio para posterior armazenamento em freezer  $-80^{\circ}\text{C}$ . O sangue foi centrifugado a  $1000 \times g$  por 15 minutos e o soro foi coletado para dosagem de leptina e insulina. As dosagens foram feitas por *kits* de ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).

### **3.4 TEMPERATURA CORPORAL**

A temperatura corporal é uma referência do metabolismo basal, além de indicar alterações importantes causadas por um estado inflamatório.

A temperatura dos animais foi aferida por via retal com termômetro clínico INCOTERM BR-P 271. A mensuração da temperatura foi realizada de três em três horas para curvas de vinte e quatro horas. Os animais foram mantidos em contensor durante a introdução do termômetro e houve espera de três minutos até a estabilização da temperatura no termostato. A temperatura foi mensurada antes e após a cirurgia e após as 10 semanas de tratamento com a dieta especificada.

### **3.5 MENSURAÇÃO DE TRIGLICERÍDEOS**

Após um mês de cirurgia e após a dieta o soro dos animais foi coletado e armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$ . A partir dessas amostras foram dosados os níveis de triglicérides, por meio de *kit* para método enzimático colorimétrico (TRIGLICÉRIDES LIQUIFORM , LABTEST, Av. Paulo Ferreira Costa, 600, Lagoa Santa, MG, Brasil). Também houve mensuração dos níveis de TG em animais tratados com genfibrozila (1mg/g mais o veículo) ou apenas o veículo como um placebo (carboximetilcelulose 0,5%), via gavagem por sete dias com concomitante pesagem da massa corporal e da ingestão alimentar do animal.

### **3.6 MENSURAÇÃO DE LEPTINA E INSULINA SÉRICA**

Foram coletadas amostras de sangue dos animais após um mês de cirurgia. Os soros das amostras foram separados por centrifugação e armazenados a  $-20^{\circ}$  C. Leptina e insulina sérica foram mensuradas por meio de ELISA (Mouse Leptin Immunassay, Quantikine, R&D Systems, 614 McKinley Place NE, Minneapolis, MN 55413, United states of América; e RAT/MOUSE INSULINE ELISA KIT, LINCO Research, 6 Research Park Dr, St. Charles, Missouri 63304, USA).

### **3.7 TESTE DE TOLERÂNCIA A GLICOSE E RESISTÊNCIA A INSULINA**

A glicemia dos animais gerados e seus controles foi aferida. Para isso foram realizados o teste de tolerância à glicose (TTG) e o teste de resistência à insulina (TRI). Para evitar alterações por estresse houve um intervalo de uma semana entre os testes.

Os níveis glicêmicos foram dosados nos animais privados de ração por 8 horas, através de uma gota retirada da parte distal da cauda. Para a análise usamos um glicosímetro (Accu-Chek Advantage). Após a realização da leitura basal ou tempo 0 da curva glicêmica, foi injetado 1mg de glicose por grama de peso do animal via intraperitoneal (IP). As dosagens são realizadas no tempo 0, 30, 60, 120 e 180 minutos. Os mesmos tempos são usados para a análise de resistência a insulina, onde os animais WT receberam 0,01 UI por kg IP de Insulina recombinante humana Humalog® (para uso *in vivo* e de ação rápida com pico de ação em 15 minutos).

### **3.8 COLETA DE ÓRGÃOS**

Após os testes glicêmicos, os animais sofreram eutanásia por deslocamento cervical e tiveram alguns de seus órgãos coletados: fígado, pâncreas, coração, rins, tecido adiposo inguinal (TAI), tecido adiposo peri-renal (TAP) e músculo esquelético (tríceps sural). As massas dos órgãos foram mensuradas e amostras foram conservadas tanto em formol tamponado (400ml de formaldeído 37%; 3600ml de água destilada; 16g de fosfato de sódio monobásico; 26g de fosfato de sódio dibásico) como por congelamento em nitrogênio líquido para futuras análises.

### **3.9 COLETA DE AMOSTRAS DE SANGUE E EXTRAÇÃO DE SORO**

As amostras de sangue foram obtidas por punção retrorbital com o animal sedado, utilizando-se pipetas tipo *Pasteur*. Após centrifugação a 1000 x g por 15 minutos, o soro foi coletado e armazenado a – 20°C para realização dos testes bioquímicos e de ELISA.

### **3.10 DENSITOMETRIA ÓSSEA**

Alterações metabólicas podem interferir na composição corporal. Por isso, a densidade mineral óssea foi mensurada nos animais do estudo por meio de densitometria óssea por técnica de Absorciometria de Raios X de Dupla Energia DEXA (Hologic QDR, software para pequenos animais) com a colaboração do Prof. Dr. Charles Helden Castro do Departamento de Medicina-UNIFESP, disciplina de Reumatologia. A densitometria por DEXA é simples e indolor, e leva de dois a quatro minutos para ser realizada em cada animal.

A máquina mede a densidade óssea detectando a extensão na qual os ossos absorvem fótons, que são gerados por níveis baixos de raios X. As medidas da densidade mineral óssea são geralmente reportadas na concentração média de cálcio, nas áreas escaneadas pelo aparelho, mas outros parâmetros também são avaliados como massa gorda e massa livre de lipídios.

### **3.11 ANÁLISE DO DADOS**

Os dados encontrados foram apresentados sob média  $\pm$  erro padrão no texto descritivo, tabelas e gráficos. Para tratamento estatístico foi utilizado o Teste t de Student não pareado de duas caudas para amostras independentes. Quanto às análises de mais de duas amostras foi aplicado análise de variância (*One Way ANOVA*) seguida de verificação *post-hoc* de Tukey. As diferenças foram determinadas significantes quando o valor de p foi menor que 0,05 ( $p < 0,05$ ).

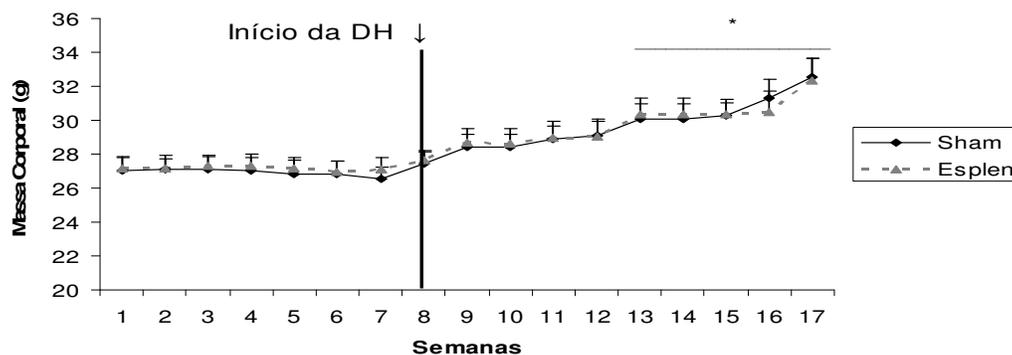
## 4 RESULTADOS

### 4.1 DESENVOLVIMENTO CORPORAL

Para avaliar o ganho de peso absoluto dos animais esplenectomizados (n=9), assim como seus controles (Sham; n=9), após um mês de recuperação da cirurgia os animais tiveram suas massas aferidas semanalmente durante oito semanas (ver figura 4), sendo ofertada uma dieta controle neste período.

A partir da oitava semana os animais foram submetidos à ingestão de ração hiperlipídica e foram acompanhados e pesados por dez semanas.

Observou-se ganho de peso significativo com a administração da dieta hiperlipídica a partir da quinta semana de tratamento com a mesma, mas não houve diferença estatística entre os grupos sham e esplenectomizado com a dieta controle (DC) ou com a dieta hiperlipídica.

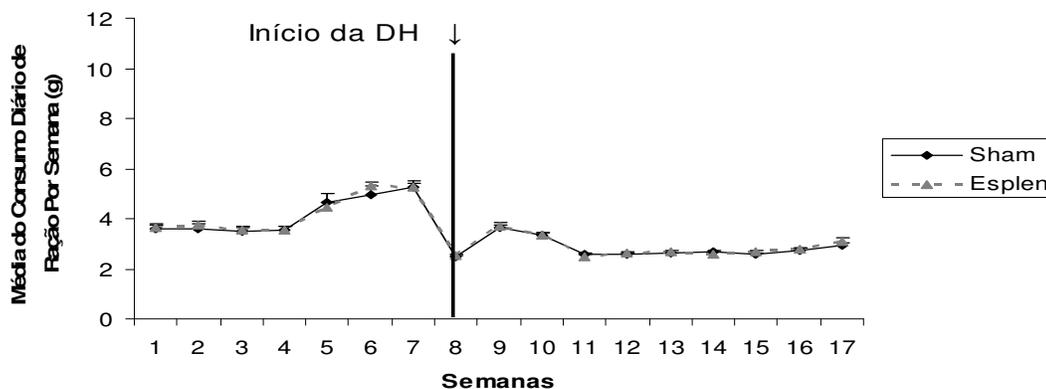


**Figura 4: Ganho de massa corporal.** A massa dos camundongos foi aferida semanalmente após um mês de recuperação da cirurgia. Sham (n =9); Esplenectomizado (n=9); \* = p<0,05 em relação ao período sob dieta controle.

### 4.2 INGESTÃO ALIMENTAR

A ingestão alimentar (ver figura 5) foi aferida mediante pesagem semanal da ração comumente à pesagem dos camundongos, para que pudéssemos verificar possíveis alterações no consumo alimentar após a cirurgia e indução de dieta rica em gordura. Percebe-se oscilação do consumo da ração no período que compete ao início

da administração da dieta hiperlipídica, mas em nenhum período observou-se diferença no consumo entre o grupo sham e esplenectomizado.



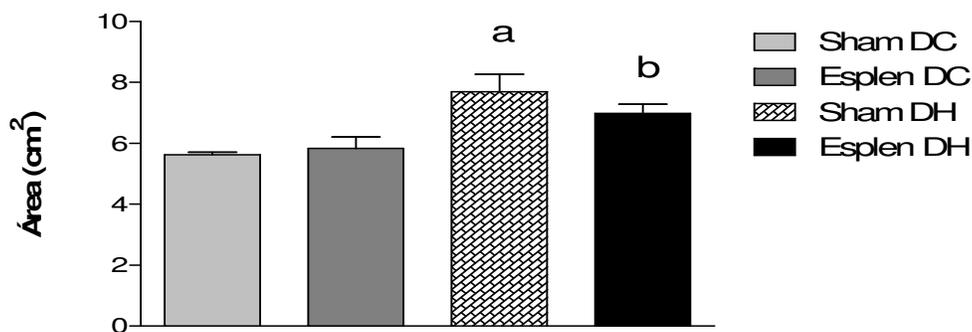
**Figura 5: Ingestão alimentar.** O consumo de ração dos camundongos não obteve diferença entre os grupos. Sham (n =9); Esplenectomizado (n=9);

### 4.3 DENSITOMETRIA ÓSSEA

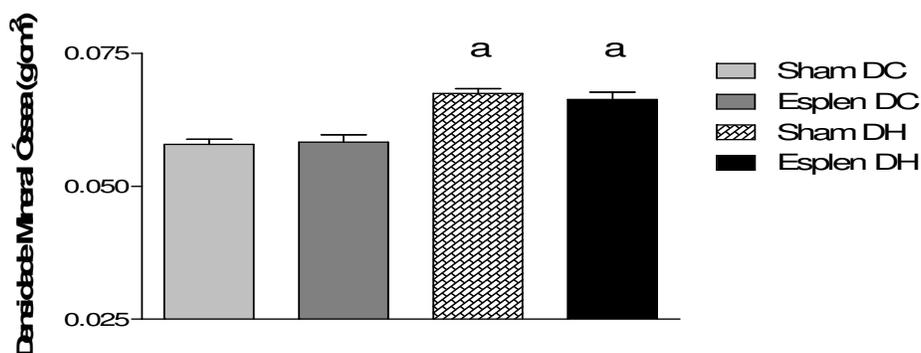
Utilizando animais adultos, operados e separados em grupos submetidos à dieta controle e dieta hiperlipídica, realizou-se a avaliação da densidade mineral óssea, percentual de gordura e área corporal pelo método de Absorciometria de Raios X de Dupla Energia (DEXA).

A avaliação da área corporal (figura 6) nos revela diferença entre os tratamentos dietéticos, sendo que o grupo sham em DH apresentou área corporal com diferença estatística em relação aos grupos sham DC e esplenectomizado DC, e o grupo esplenectomizado em DH mostrou-se diferente do grupo sham em DC e esplenec em DH. Ao observarmos a densidade mineral óssea, percebemos diferença entre os tratamentos dietéticos (figura 7), mas não houve diferença entre Sham e Esplenctomizados.

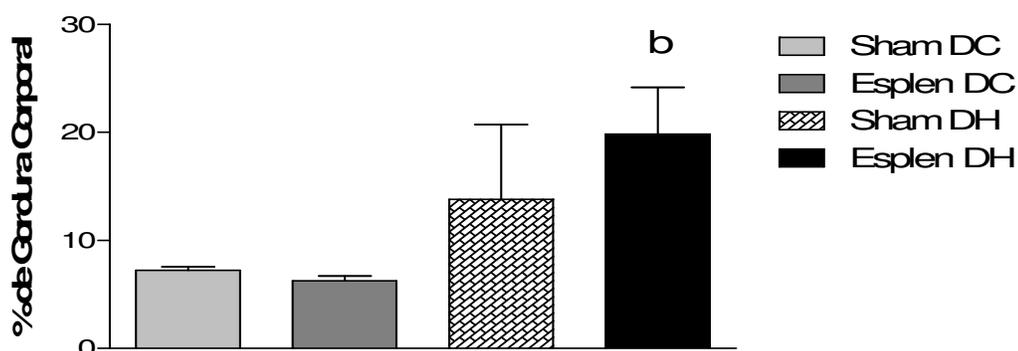
Analisando o percentual de gordura evidenciamos que o animal esplenectomizado em DH apresentou um o maior percentual de gordura em relação aos grupos em DC, enquanto os camundongos sham DH mantêm o percentual estatisticamente igual aos animais em DC, apresentando apenas uma tendência (ver figura 8).



**Figura 6: Área corporal avaliada por densitometria.** Os animais em DH apresentaram maior área corporal. Sham DC (n =6); Esplenectomizado DC (n=5); Sham DH (n=7); Esplenectomizado DH (n=7). a =  $p < 0,01$  em relação ao sham DC e esplenectomizado DC; b =  $p < 0,05$  em relação ao esplenectomizado DC.



**Figura 7: Densidade mineral óssea.** Os animais induzidos a DH sofreram aumento da densidade mineral óssea, mas não houve diferença entre os grupos operados. Sham DC (n=6), esplenectomizado DC (n=5), sham DH (n=7), esplenectomizado DH (n=7). a =  $p < 0,001$  em relação ao sham e esplenectomizado em DC.



**Figura 8: Percentual de gordura corporal.** Os animais esplenectomizados em DH apresentaram um maior percentual de gordura corporal. Sham DC (n=6), esplenectomizado DC (n=5), sham DH (n=7), esplenectomizado DH (n=7). b =  $p < 0,05$  em relação ao sham e esplenectomizados DC.

## 4.4 MASSA DOS ÓRGÃOS

Ao final dos tratamentos e testes in vivo, os animais sofreram eutanásia e tiveram alguns órgãos coletados e pesados. As massas dos órgãos foram aferidas e comparadas. Após o deslocamento cervical de cada animal o coração foi retirado da cavidade torácica, ainda em contração/relaxamento e foi colocado em solução salina (0,9%NaCl) para retirada do excesso de sangue.

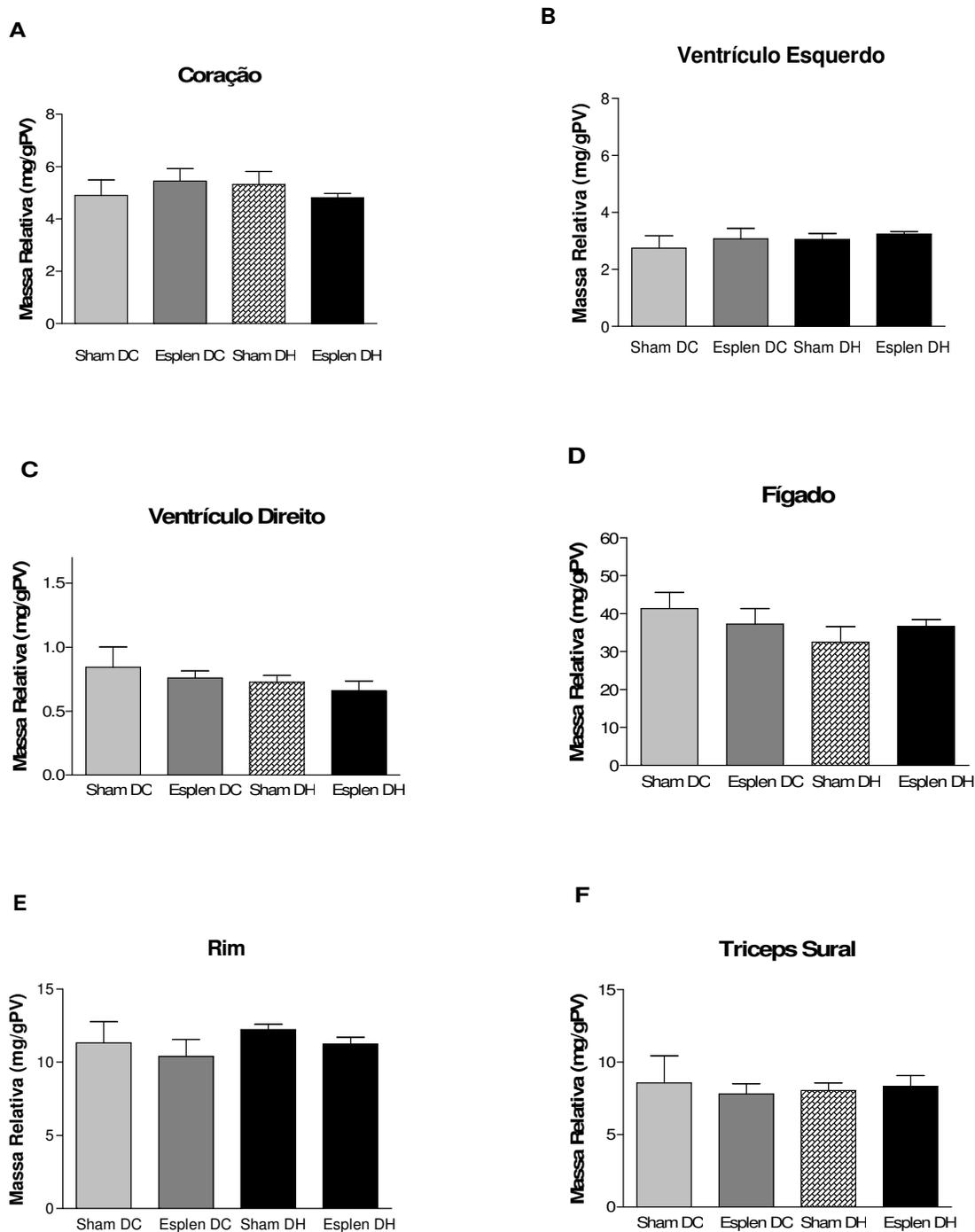
Após a retirada do coração da solução salina, retiramos o excesso de gordura que o envolve e o pesamos íntegro (figura 9 A). Após a pesagem do coração íntegro separamos com uma tesoura os átrios e delicadamente retiramos o ventrículo direito (figura 9 C) e o pesamos. Logo após pesamos o ventrículo esquerdo (figura 9 B).

Não foi observada nenhuma mudança significativa no peso relativo do coração e câmaras cardíacas entre as dietas ou entre esplenectomizados e sham operados. Também aferimos o peso de outros órgãos dos quais poderiam ter sofrido alguma modificação morfológica após a cirurgia ou após a indução da dieta.

Do ponto de vista morfológico, a hipertrofia ventricular esquerda é um processo dependente do aumento de volume dos cardiomiócitos pela síntese de novas unidades de sarcômeros e da proliferação de fibras colágenas e elásticas, constituintes fundamentais da arquitetura miocárdica .

O aumento progressivo da concentração de colágeno parece exercer uma série de efeitos adversos no comportamento mecânico do coração, prejudicando o relaxamento diastólico, interferindo na transmissão de forças para as fibras musculares adjacentes e, finalmente, o desenvolvimento de tensão durante a sístole.

Além disso, a acentuação do processo fibrótico poderá também induzir atrofia dos cardiomiócitos, criando um cenário de isquemia e isolamento elétrico dessas células, facilitando a instalação de substrato anatômico para o desenvolvimento de arritmias e outras manifestações cardíacas.

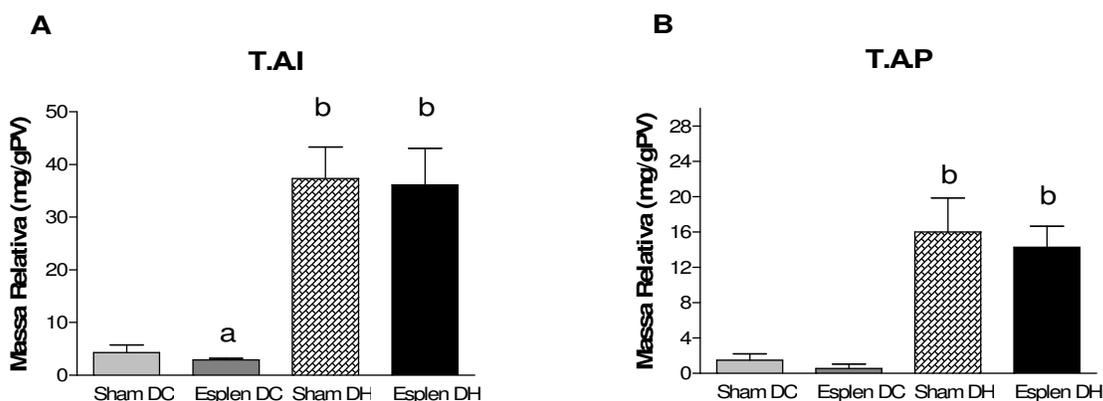


**Figura 9: Massa relativa do coração e demais órgãos.** A massa do coração e foi dividida pela massa corpórea total, assim como suas câmaras e os demais órgãos; Coração Inteiro(A); Ventriculo Esquerdo (B); Ventriculo Direito(C); Fígado (D); Rim (E); Tríceps Sural (F). Sham DC (n=6), esplenectomizado DC (n=5), sham DH (n=6), esplenectomizado DH (n=6).

O peso do rim (figura 9 E), fígado (figura 9 D) e do tríceps sural (figura 9 F) foi avaliado em seguida à lavagem com salina, assim como a massa relativa do coração

as massas do rim, fígado e músculo esquelético (tríceps sural) não foram diferentes entre os grupos esplenectomizados e sham e entre as dietas.

Contudo ao avaliarmos a massa de tecido adiposo inguinal (TAI) (figura 10 A) e perirrenal (TAP) (figura 10 B), verificamos diferença significativa ( $P < 0,001$ ) entre os animais tratados com dieta controle e dieta hiperlipídica, mas não houve diferença entre sham e esplenectomizados em DC quando observamos a massa de TAP, porém quando verificamos o peso do TAI percebe-se que os animais esplenectomizados em DC possuem uma menor massa de TAI comparados aos sham em DC.

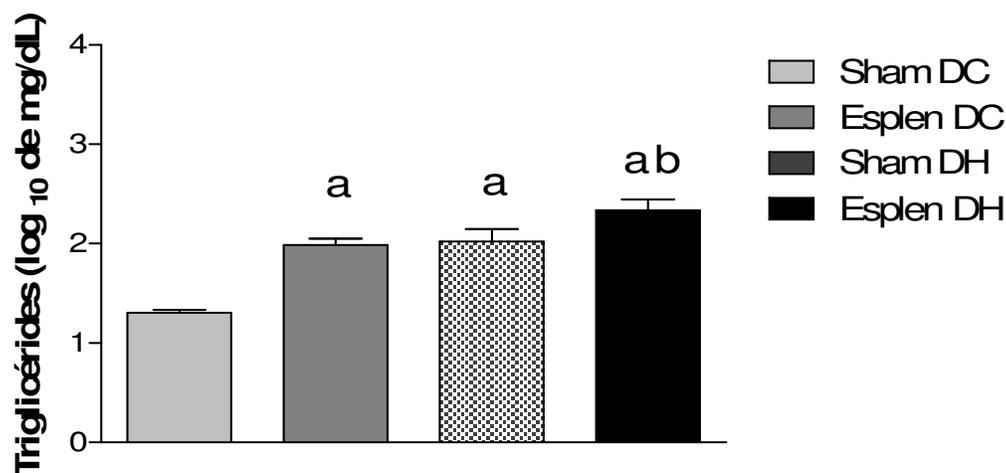


**Figura 10: Massa relativa do tecido adiposo inguinal e perirrenal.** A massa do tecido adiposo inguinal (A) e perirrenal (B) foram divididas pela massa corpórea total e verificamos grande diferença entre os tratamentos. Sham DC (n=6), esplenectomizado DC (n=5), sham DH (n=6), esplenectomizado DH (n=6). b=  $p < 0,001$  em relação ao sham e esplenectomizado em DC; a =  $p < 0,05$  em relação ao sham DC.

#### 4.5 TRIGLICERÍDEOS SÉRICOS

Após o tratamento dietético dos animais WT operados, foi realizada por punção retrorbital a retirada de sangue para a extração do soro e posterior avaliação dos níveis séricos de triglicérides, estabelecendo assim, a trigliceridemia dos animais. Os animais esplenectomizados em DC apresentaram elevado índice de triglicérides no plasma em comparação aos animais sham DC, estatisticamente significativa.

Quando analisamos o animal esplenectomizado em DH percebemos que houve diferença em relação aos grupos em DC ( $p < 0,05$ ) e também diferiu dos animais sham em DH (figura 11). É importante observar que os níveis de triglicérides não diferiram entre os grupos esplenectomizados em DC e sham em DH (figura 11).



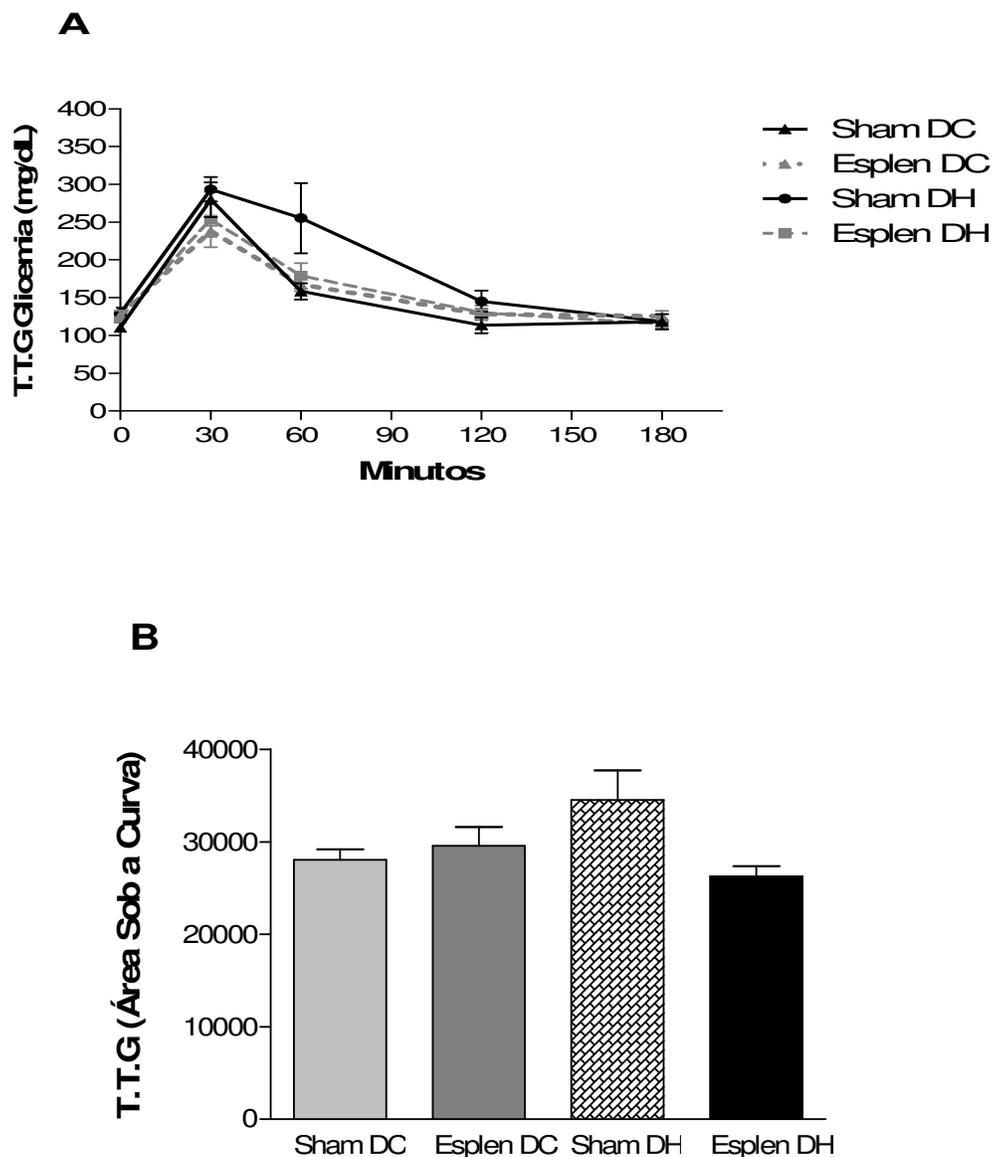
**Figura 11: Níveis séricos de triglicerídios.** O resultado foi obtido a partir da sorologia dos animais em dieta controle e hiperlipídica. Sham DC (n=6), esplenectomizado DC (n=5), sham DH (n=7), esplenectomizado DH (n=7). Os valores representam média  $\pm$  erro padrão dos níveis séricos de triglicerídeos. a=  $p < 0,001$  em relação ao sham DC; b =  $p < 0,05$  em relação ao esplenectomizado DC e sham DH.

#### 4.6 TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE E TESTE DE RESISTÊNCIA À INSULINA

Para avaliar a captação de glicose dos camundongos foram realizados testes de tolerância à glicose (TTG) (figura 12) e de resistência à insulina (TRI) (figura 13).

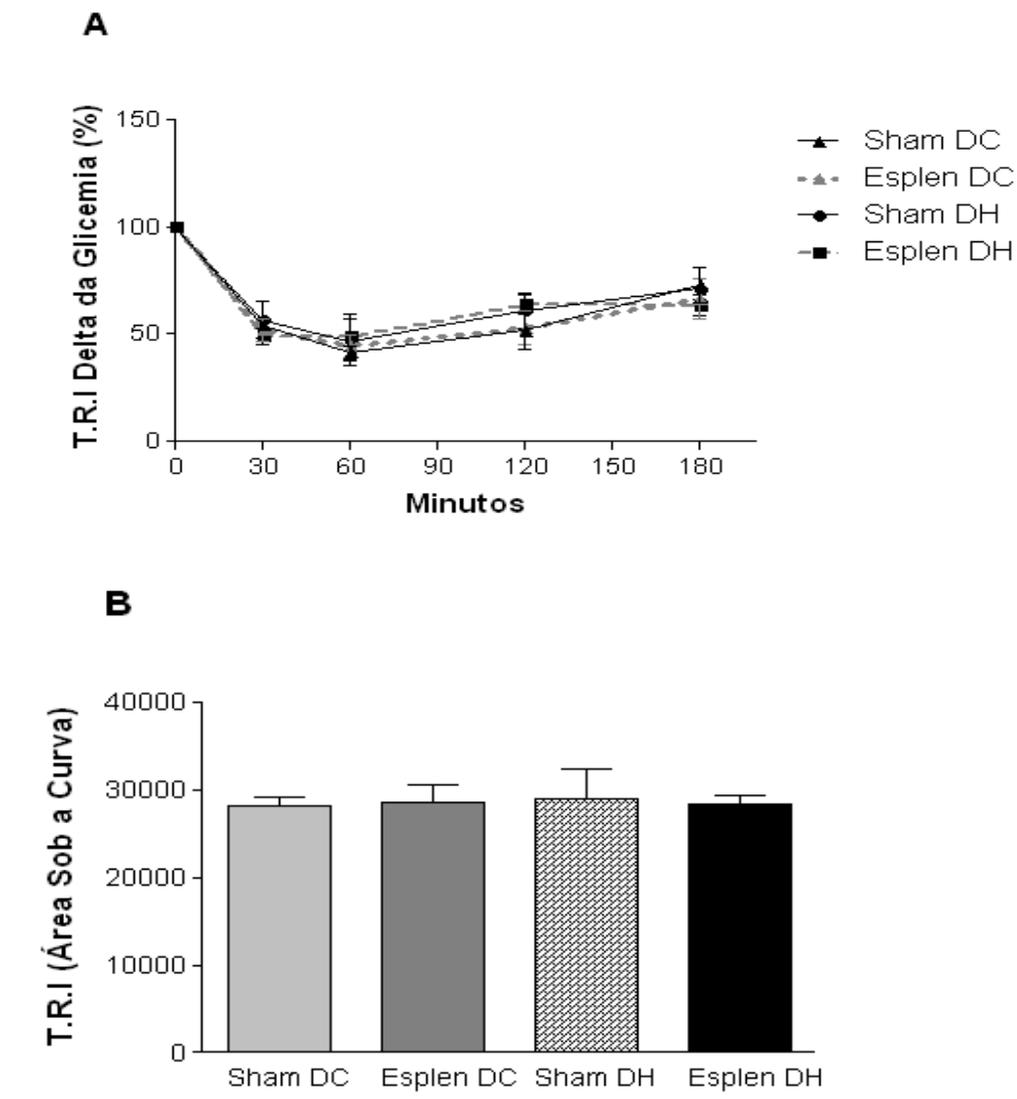
Os testes foram realizados ao final do tratamento dietético com diferença de uma semana entre cada teste para reduzir a possibilidade de interferência do estresse sofrido em cada procedimento. Ao analisarmos as curvas glicêmicas, optamos em avaliar a área sob a curva como parâmetro estatístico. Não obtivemos diferença significativa na tolerância à glicose entre os grupos, como verificado pelo TTG na figura 12.

Ao avaliar-mos o efeito da DH na indução de resistência à insulina, logo que o quadro de resistência à insulina normalmente se instala primeiro que o fenômeno de intolerância à glicose. Aplicamos a insulina i.p. nos animais e avaliamos a glicemia em vários tempos. E assim, verificamos que não houve diferença entre os grupos e entre as dietas (figura 13).



**Figura 12: Teste de tolerância à glicose.** O teste de tolerância à glicose foi realizado após um mês da cirurgia somado a um mês de indução de dieta (a curva vista em A). E em (B) a área sob a curva do teste de tolerância à glicose. Sham DC(n=6); Esplenectomizado (n=7); Sham DH (n=7); Esplenectomizado (n=7).

No teste de tolerância à glicose injetamos glicose intraperitoneal (i.p.) e avaliamos a glicemia nos tempos 0, 30, 60, 120 e 180 minutos e relatamos um curva (figura 12 A) da glicemia após a aplicação e para avaliação estatística fizemos o tratamento dos dados por meio da análise da área sob a curva e posterior análise de variância.

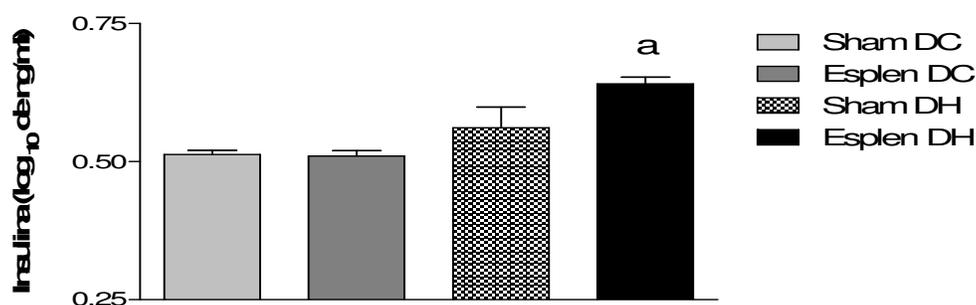


**Figura 13: Teste de resistência à insulina.** O teste de resistência à insulina foi realizado após um mês da cirurgia(A). E em (B) a área sob a curva. Sham DC(n=6); Esplenectomizado DC (n=7); Sham DH (n=7); Esplenectomizado DH (n=7).

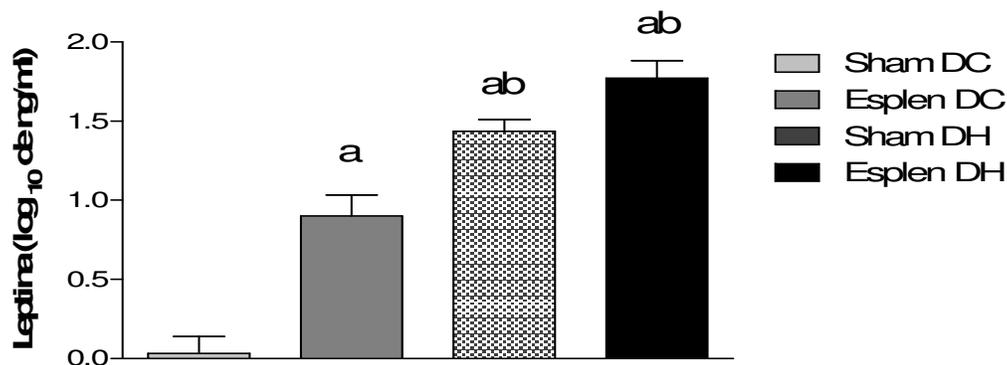
Neste teste (TRI) injetamos insulina recombinante humana nos animais em jejum e avaliamos a glicemia nos tempos 0, 30, 60, 120 e 180 minutos e traçamos uma curva com o percentual da glicemia (ver figura 14 A) e a análise estatística da curva foi realizada mediante a área sob a curva (ver figura 13 B).

## 4.7 INSULINEMIA E LEPTINEMIA

Com o soro obtido por meio de centrifugação do sangue retirado por punção retrorbital, realizamos análises (ELISA) dos níveis séricos de insulina e leptina. Os animais esplenectomizados DH apresentam insulinemia superior aos demais grupos (figura 15), assim como a leptinemia (figura 16). Observamos que o grupo sham em DH apresentou maior tendência à elevação dos níveis de insulina, mas sem significância estatística (figura 15).



**Figura 14: Níveis séricos de insulina nos animais operados.** A insulina sérica de camundongos C57BL/6 (WT) sham e esplenectomizados submetidos a DC e DH. Sham DC (n=7); Esplenectomizado DC (n=6); Sham DH (n=7); Esplenectomizado DH (n=6). a =  $p < 0,001$  em relação ao sham DC, esplenectomizado DC e sham DH.



**Figura 15: Níveis séricos de leptina nos animais operados.** Leptina sérica de camundongos C57BL/6 (WT) sham e esplenectomizados submetidos a DC e DH. Sham DC (n=7); Esplenectomizado DC (n=6); Sham DH (n=7); Esplenectomizado DH (n=6). a =  $p < 0,001$  em relação ao Sham DC e b =  $p < 0,05$  em relação ao Esplenec DC.

Na figura 15 podemos observar os níveis de leptina sérica dos grupos. Os camundongos esplenectomizados em DC apresentam altos níveis de leptina em relação aos animais sham em DC ( $p < 0,001$ ), mas os animais sham em DH superam os níveis de leptina de ambos os grupos em DC. Os esplenectomizados em DH (figura 15)

apresentaram diferença estatística dos índices de leptina em relação aos animais em DC ( $p < 0,001$ ) e em relação aos animais sham em DH ( $p < 0,05$ ).

#### **4.8. UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS COM GENÓTIPO OB/OB COMO CONTROLE NEGATIVO DE LEPTINA E ADMINISTRAÇÃO DE GENFIBROZILA COMO HIPOLIPEMIANTE.**

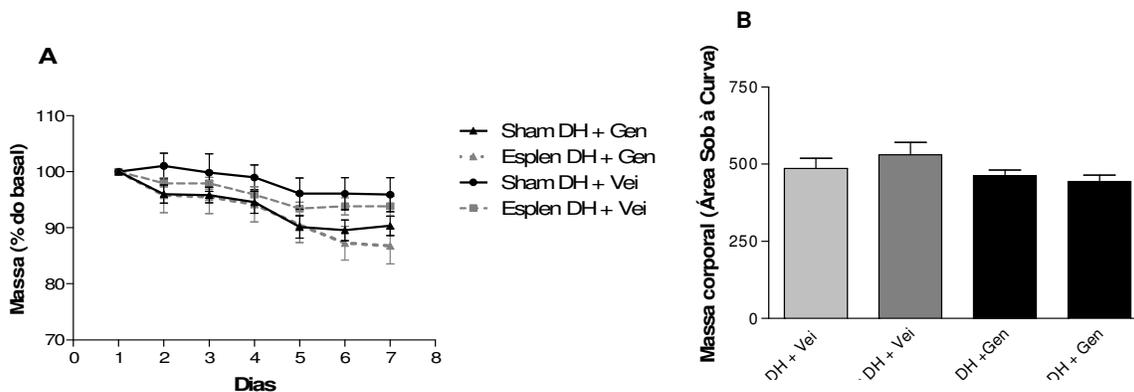
Perante os resultados mostrando diferença nos níveis séricos de leptina e também de triglicérides, achamos necessário a utilização de animais ob/ob como um controle negativo de leptina além de utilizarmos um hipolipemiante (genfibrozila) via oral para uma equalização dos níveis de triglicérides.

Os fibratos são as drogas de escolha nas hipertrigliceridemias. Após sua absorção, os fibratos são metabolizados pelo fígado (VAKKILAINEN, 2003).

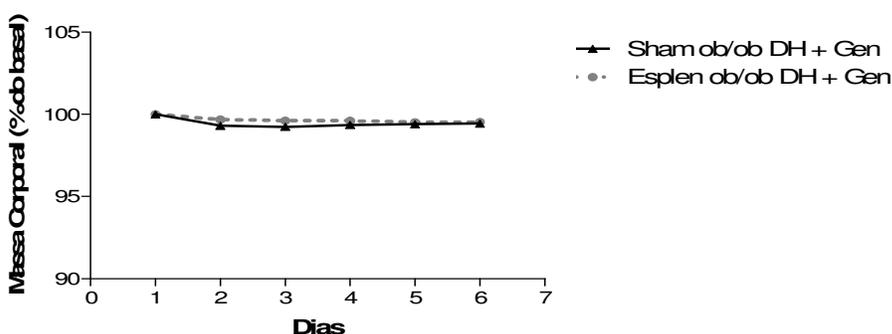
Entretanto, para alguns fibratos, como o genfibrozila, uma interação com estatinas pode ocorrer pelo deslocamento de frações livres de estatina ligadas às proteínas plasmáticas (VAKKILAINEN, 2003).

A vida-média plasmática é variável entre os fibratos (2-80 horas). Recentemente, foi demonstrado que os fibratos promovem suas ações lipídicas pelo estímulo dos PPAR- $\alpha$ . Através dessa ação, existe um incremento na transcrição de alguns genes relacionados com o metabolismo lipídico, como a lipase lipoprotéica (LLP), apolipoproteína apoAI, apolipoproteína AII (apoAII), bem como uma diminuição na expressão da apolipoproteína CIII (apoCIII), e muitas outras ações (VAKKILAINEN, 2003).

A administração do genfibrozila (por apresentar insolubilidade em água) foi feita junto a um veículo (carboximetilcelulose 0,5%) via gavagem. A carboximetilcelulose foi utilizada como controle (placebo).

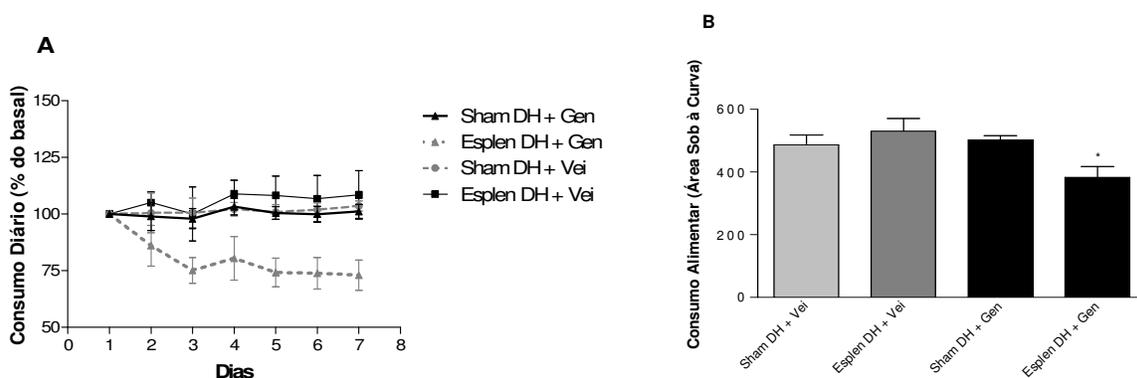


**Figura 16: Massa corporal sob administração de genfibrozila.** Administração de genfibrozila por sete dias via gavagem.

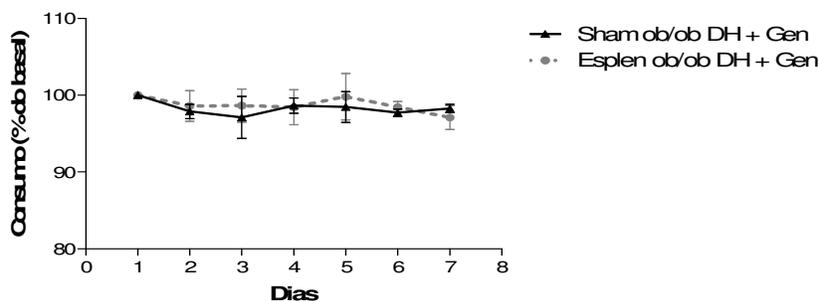


**Figura 17: Massa corporal dos animais ob/ob em DH mais a administração de genfibrozila.** Administração de genfibrozila por sete dias via gavagem em animais ob/ob não apresentou diferença na massa corporal.

Na figura 16 A observamos uma tendência a diminuição da massa corporal após a administração do fibrato, porém constatamos que não houve diferença entre os grupos (ver figura 16 B). Animais ob/ob não apresentaram redução do peso corporal após a administração do genfibrozila (figura 17).

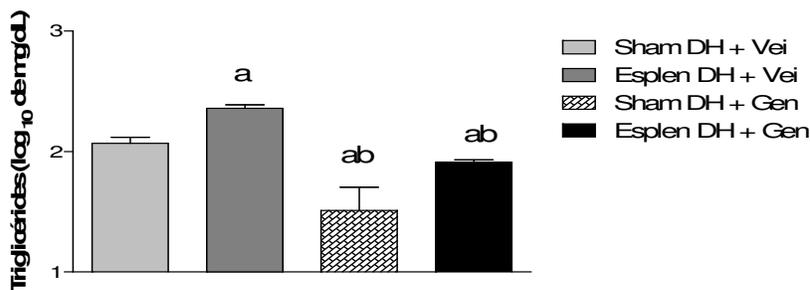


**Figura 18: Ingestão alimentar sob administração de genfibrozila.** Administração de genfibrozila por sete dias via gavagem em animais sham e esplenectomizados em DH. \* =  $p < 0,05$

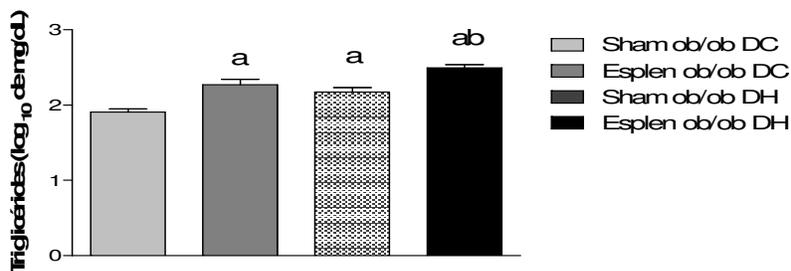


**Figura 19: Ingestão alimentar sob administração de genfibrozila em animais ob/ob.** Administração de genfibrozila por sete dias via gavagem em animais ob/ob sham e ob/ob esplenectomizados em DH.

Não observamos mudanças no peso corporal nos animais sob a administração do fibrato, mas quando observamos o consumo alimentar conseguimos visualizar que os animais sham em DC e DH e esplenectomizados em DC não diferem, porém os esplenectomizados em DH passam a apresentar uma diminuição significativa no consumo de ração (figura 18 A e B). Podemos verificar na figura 19 que a administração do genfibrozila não surtiu efeito no consumo alimentar de animais do genótipo ob/ob.



**Figura 20: Trigliceridemia dos animais tratados com genfibrozila.** Administração de genfibrozila por sete dias via gavagem em animais sham e esplenectomizados em DH reduziu os níveis séricos de TG. a =  $p < 0,05$  em relação ao sham DH+Veículo; b =  $p < 0,001$  em relação ao esplenectomizado DH+Veículo.

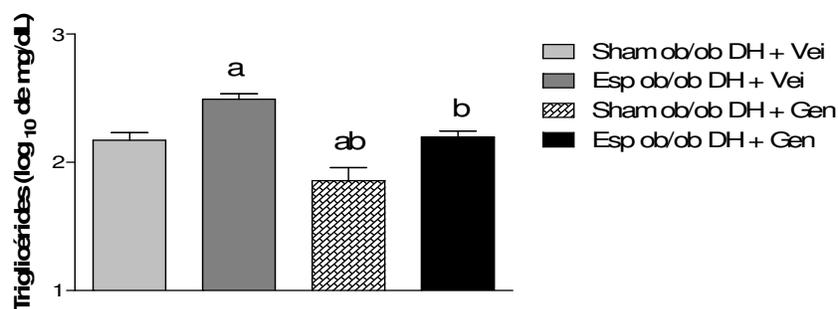


**Figura 21: Trigliceridemia dos animais ob/ob em DC e DH.** Administração de genfibrozila por sete dias via gavagem em animais sham ob/ob e esplenectomizados ob/ob em DC e DH. a =  $p < 0,05$  em relação ao sham ob/ob DC; b =  $p < 0,01$  em relação ao esplenectomizado DC e sham DH.

Para verificar se o genfibrozila realmente alterou os níveis de triglicérides nos camundongos, fizemos a punção retroorbital nos animais após os sete dias de administração do fibrato. Pelo método de ELISA dosamos os níveis de triglicérides

animais e constatamos que o fármaco reduziu os níveis de triglicérides nos animais tratados por sete dias (figura 20)

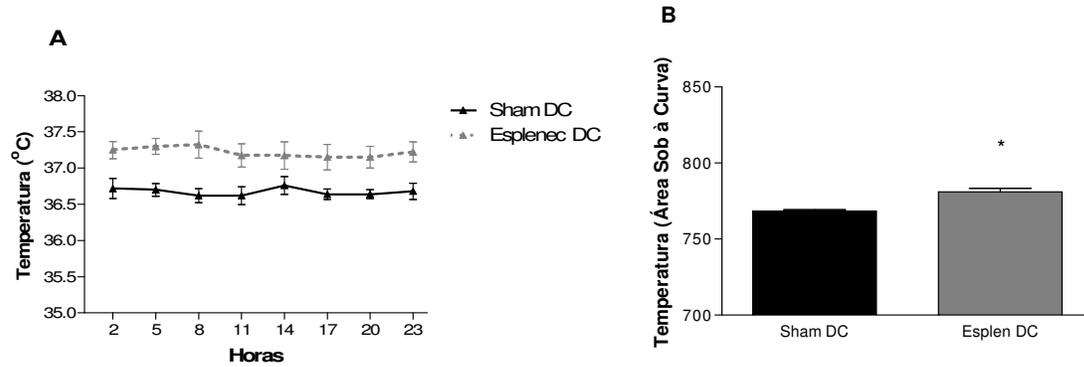
Na figura 21 podemos constatar que hipertrigliceridemia vista em animais magros esplenectomizados, também ocorre em animais do genótipo ob/ob quando esplenectomizados, sendo que os animais esplenectomizados ob/ob em DC apresentam níveis maiores de TG do que os sham ob/ob em DC e os esplenectomizados ob/ob em DH diferiram dos demais grupos (figura 21). Na figura 22 é possível perceber que o genfibrozila também foi capaz de reduzir os níveis de TG dos animais de genótipo ob/ob.



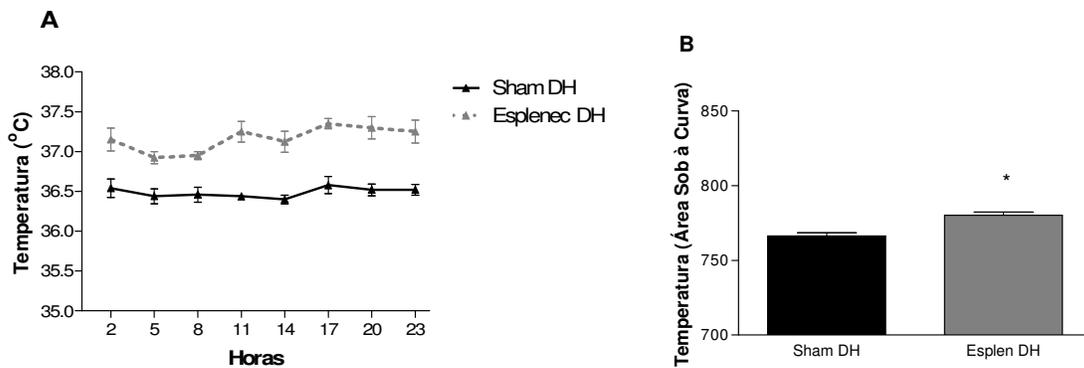
**Figura 22: Trigliceridemia dos animais ob/ob tratados com genfibrozila.** Administração de genfibrozila por sete dias via gavagem em animais sham ob/ob e esplenectomizados ob/ob em DH. a =  $p < 0,05$  em relação ao sham ob/ob DH+Veículo; b =  $p < 0,001$  em relação ao esplenectomizado em DH+Veículo.

#### 4.9. TEMPERATURA CORPORAL

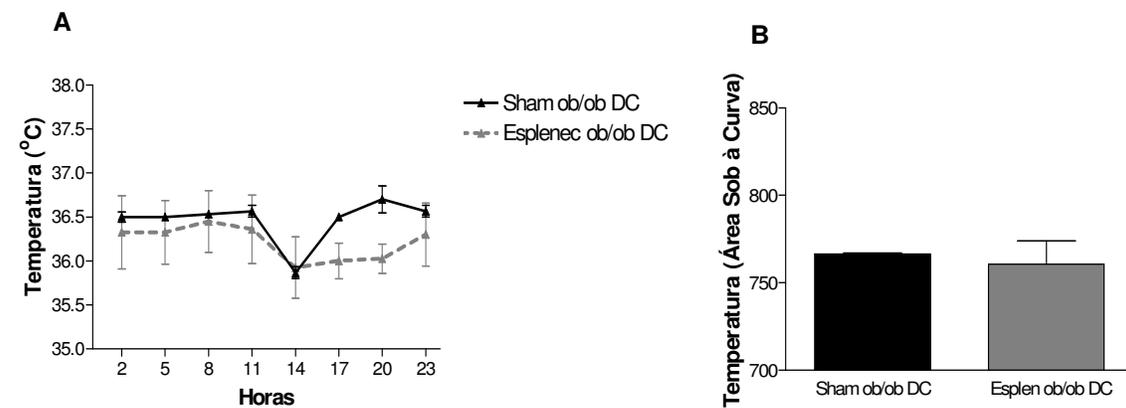
A temperatura corporal foi aferida por termômetro via retal, em períodos de três em três horas para traçar curvas de vinte e quatro horas, antes e após a cirurgia e indução de dieta, como uma medida para avaliação do gasto calórico e averiguação de estado febril pós-esplenectomia. Foi observado que antes da cirurgia os animais obtinham curvas de temperatura parecidas. Um mês após a cirurgia sob consumo de dieta normal os grupos diferiram nas suas curvas de temperatura, sendo o animal esplenectomizado o que manteve maior temperatura corporal (figura 23 A e B). E essa diferença se manteve após a indução de dieta hiperlipídica. (figura 24 A e B). Em animais ob/ob não houve diferença nas temperaturas entre sham ob/ob e esplenectomizado ob/ob submetidos à dieta controle (figura 25).



**Figura 23: Temperatura corporal dos animais em dieta controle um mês à realização da cirurgia.** Os animais tiveram a temperatura corporal medida um mês após a realização da cirurgia, evidenciando aumento da temperatura para os animais esplenectomizados. \* =  $p < 0,05$ .



**Figura 24: Temperatura corporal dos animais em dieta hiperlipídica um mês após a realização da cirurgia.** Os animais tiveram a temperatura corporal medida após um mês da realização da cirurgia, evidenciando aumento da temperatura para os animais esplenectomizados em DH. \* =  $p < 0,05$ .



**Figura 25: Temperatura corporal dos animais ob/ob em DC um mês após a realização da cirurgia.** Os animais ob/ob tiveram a temperatura corporal medida após um mês da realização da cirurgia.

## 5. DISCUSSÃO

A esplenectomia gera grande atenção da área médica devido a função fagocitária do baço. Procedimentos relacionados à otimização do sistema imunológico, como vacinas, são medidas comuns no pós-operatório e moderam os processos infecciosos, tornando a falta do baço no organismo um fenômeno não letal (PETROIANU, 2006). Porém a importância incontestável do baço na resposta imunitária orgânica e a descoberta de outras atribuições desse órgão trouxeram uma nova orientação no tratamento das afecções esplênicas. Tanto a indicação quanto a abordagem cirúrgica tornaram-se cada vez mais conservadoras, pois alterações endócrinometabólicas são percebidas após a esplenectomia total, como mudanças no perfil lipêmico (PETROIANU, 2006).

A participação do tecido esplênico na regulação dos lipídios plasmáticos foi inicialmente apontada por Robinette e Fraumeni Jr, que em 1977, estudaram a mortalidade por doenças cardiovasculares de veteranos que foram esplenectomizados durante a Segunda Guerra Mundial. A alta incidência de infarto agudo do miocárdio por aterosclerose nesta corte fez com que esses autores atribuíssem à asplenia possíveis distúrbios lipídicos que provocariam os incidentes vasculares. Em pacientes com doenças mieloproliferativas foi encontrada redução nas concentrações plasmáticas de lipídios provavelmente decorrentes da hiperfunção esplênica e esplenomegalia.

Apesar dos trabalhos descritos na literatura que apontam tal fenômeno clínico, os resultados encontrados ainda são conflitantes e a participação do baço no metabolismo lipídico, ainda é um assunto controverso e obscuro.

Considerando que a hiperlipidemia está diretamente associada à formação de placas ateromatosas e que as doenças ateroscleróticas são uma das principais causas de morte (KOPELMAN, 2000), foi pertinente verificar no presente estudo, se de fato a esplenectomia predispõe às alterações nos níveis de triglicerídeos e se sua ausência influencia em outros índices metabólicos.

Alterações nos níveis plasmáticos de ácidos graxos podem incorrer em mudanças no desenvolvimento corporal, no perfil glicêmico e na termorregulação (KOPELMAN, 2000).

Neste estudo, conscientes da interferência da ablação lienal no perfil lipêmico, usamos modelos animais esplenectomizados para a investigação do metabolismo

lipídico e suas possíveis interferências no metabolismo glicêmico, composição corporal e mudanças humorais.

Foram desenvolvidos inicialmente grupos operados, com camundongos de três meses, divididos em esplenectomizados e sham (falso operado), que foram tratados com dieta controle (DC) e dieta hiperlipídica (DH) após a cirurgia.

Neste estudo, a mortalidade observada após o procedimento cirúrgico foi de aproximadamente 5%. É possível que o controle rigoroso das condições de manutenção e manuseio dos animais tenha contribuído para esse resultado favorável.

Os animais adultos foram acompanhados quanto ao consumo de ração controle e massa corporal no período de oito semanas e constatou-se que não houve ganho de peso significativo neste período (figura 4), assim como não houve diferença entre os grupos sham e esplenectomizado o que condiz com o estado do peso corpóreo no pós operatório de esplenectomias em humanos e animais (PETROIANU, 2003).

Posteriormente os camundongos foram tratados com ração rica em gordura (45% das kcal na forma de lipídios) após a oitava semana e foram acompanhados por mais dez semanas. Apesar de haver uma tendência a diminuição do consumo absoluto de ração (figura 5) em relação à DC, os animais chegaram ao balanço calórico positivo devido à alta densidade calórica da ração, demonstrado pelo ganho de massa corporal acentuado após o início do tratamento (figura 4).

O aumento de peso corpóreo tornou-se significativo em relação à fase de ingesta de DC, a partir da quinta semana de tratamento com a DH (figura 4). Porém o ganho de peso não foi diferente entre os grupos sham e esplenectomizados. A esplenectomia possivelmente não é uma intervenção capaz de alterar o peso corporal absoluto, tanto sob condições dietéticas normais quanto hiperlipídicas.

As mudanças na composição corporal também foram aferidas por avaliações absorciométricas. A área corporal mensurada pela densitometria mostrou-se diferente estatisticamente apenas entre os tratamentos com as dietas e não entre os camundongos sham e esplenectomizados (figura 6) confirmando a resposta obtida apenas pela avaliação da pesagem corporal.

A densidade mineral óssea aumentou expressivamente após a dieta hiperlipídica em ambos os grupos (figura 7), o que pode inicialmente ser respondido como consequência do efeito piezoelétrico que consiste na variação das dimensões físicas de certos materiais sujeitos à pressões que alteram os campos elétricos, o que pode

mudar a atividade dos osteoblastos e osteoclastos, diminuindo a reabsorção óssea e aumentando o conteúdo mineral ósseo (SEGURA, 2007). No entanto torna-se importante salientar, desde já, que os animais esplenectomizados apresentaram altas taxas de leptina circulante (figura 15) e que esta, periféricamente tem papel importante no metabolismo ósseo, inibindo o crescimento de tal tecido, logo os resultados de nosso estudo vão de encontro aos resultado encontrados por Ducy (2000).

Porém os resultados evidenciados pelo grupo de Ducy foram em animais deficientes na produção de leptina e não em grupos operados. Elefteriou *et al.* (2004), concluíram que baixos níveis de leptina alteram a densidade óssea diminuindo-a; e Hamrick, *et al.*, (2004), que utilizaram um modelo animal obeso e naturalmente deficiente na produção de leptina, o camundongo *ob/ob*, verificando aumento da composição mineral óssea nas vértebras e diminuição no fêmur. Então existe a exigência futura de salientarmos as diferentes densidades minerais nas diferentes áreas corpóreas, já que a análise realizada foi no corpo total do animal e não topograficamente.

Quando observado o percentual de gordura dos grupos, os animais esplenectomizados tratados com DH mostraram-se diferentes dos esplenectomizados tratados com DC (figura 8). Logo tais informações tornaram-se relevantes e saber como a gordura corporal está distribuída em diferentes regiões foi impressionante.

Após a eutanásia dos animais, foi possível avaliar a massa relativa dos órgãos. O coração foi avaliado, assim como as câmaras cardíacas separadas. Tal avaliação foi necessária, por tratar-se de um órgão que sofre variações dramáticas quando há mudanças hemodinâmicas, alterações como a hipertrofia ventricular esquerda concêntrica, quando há aumento da resistência vascular periférica e hipertrofia ventricular direita sob condições de estenose da válvula pulmonar, da via de saída de ventrículo direito ou de ramos da artéria pulmonar ou até uma hipertensão pulmonar (PANKOW, 2004).

Tais variações podem ocorrer quando há afecções crônicas causadas por mudanças no metabolismo lipídico e glicêmico. Na figura 9 A, verificamos que a massa cardíaca não diferiu entre os grupos e não diferiu entre os tratamentos dietéticos e obtivemos semelhante resposta quando avaliamos as câmaras separadamente (figura 9 B e C). Neste caso, concluímos que tanto a esplenectomia, quanto a DH não alteraram as condições morfológicas do coração, mas torna-se necessário uma nova

avaliação em animais com diferentes idades e submetidos a um maior tempo de tratamento.

Os pesos do fígado e rins (figura 9 D e E) foram analisados por serem órgãos intimamente ligados ao metabolismo lipídico e glicêmico, que podem sofrer alterações relevantes como esteatose e nefropatias (KIM, 2004), porém os dados relacionados à massa desses órgãos não diferiram, assim como não houve diferença para a massa muscular esquelética, avaliada pela pesagem do tríceps sural (figura 9 F). Mas ainda se faz preciso a análise das variações hemodinâmicas referentes ao duplo produto em diversos momentos da vida do animal operado e tratado.

Ao analisarmos a massa do tecido adiposo inguinal (TAI) figura 10 A, e perirrenal (TAP) figura 10 B, afim de averiguação da distribuição do tecido adiposo, notou-se uma diferença expressiva na quantidade de tecido adiposo visceral entre os animais tratados com DH.

Além da diferença evidenciada nos animais esplenectomizados em DC quanto ao TAI (figura 10 A), pois apresentam uma menor quantidade de gordura visceral (TAI). Por tanto no presente estudo constatamos que a esplenectomia *per se* não interfere drasticamente na massa corporal total de animais operados e nem altera o ganho de peso corporal induzido por DH.

Quanto à deposição da gordura parece que o animal esplenectomizado submetido a uma dieta controle possui uma menor quantidade de gordura visceral (TAI) figura 10 A. Mas a indução da dieta rica em gordura altera significativamente o percentual de gordura dos animais esplenectomizados em relação aos animais sham (figura 8).

Estudos demonstram que o acúmulo de gordura visceral, caracterizada pela deposição predominante de tecido adiposo na região do abdômen, além de representar maior fator de risco para doenças cardiovasculares, também está envolvida no desenvolvimento da síndrome metabólica e alterações nos níveis plasmáticos de lipídios e glicose (EMPANA, 2004; BERGMAN, 2007).

Antecedente à eutanásia dos animais houve punção do sangue via artéria retrorbital para a coleta de soro e identificação das possíveis mudanças séricas dos níveis de triglicérides.

Ao avaliarmos os níveis de triglicérides no soro dos animais (figura 11), identificamos uma alteração significativa das taxas de TG em animais

esplenectomizados tratados com DC, ressaltando ainda que o nível de TG destes animais não diferiu dos níveis de TG do grupo Sham operado e tratado com DH. Quando voltamos à atenção aos camundongos esplenectomizados tratados com DH, constatamos que tal tratamento modificou significativamente as taxas de TG sérico.

ASAI *et al*, em 1990, observaram aumento de TG, de colesterol total e da fração HDL em coelhos esplenectomizados sob condições dietéticas normais, porém não foram encontradas diferenças na fração LDL. Corroborando, PAULO *et al*, em 2005, descreveram que a esplenectomia induz uma elevação dos níveis de TG, de colesterol total e das frações HDL, LDL e VLDL em ratos. E PETROIANU *et al*, em 2006, verificaram que após a esplenectomia em ratos os níveis de colesterol total e da fração LDL elevam-se, enquanto que a fração HDL diminui. Corroborando com as evidências da literatura encontramos diferenças nos níveis de TG em animais esplenectomizados em DC, além de verificar-mos tal fenômeno quando a esplenectomia foi associada a DH.

Caliguri *et al* (2002), encontraram alterações nos níveis de colesterol em camundongos esplenectomizados. Segundo esses autores o baço influencia no metabolismo lipídico por meio de linfócitos B capazes de produzir anticorpos anti-LDL-colesterol. Esse complexo antígeno-anticorpo seria retirado da circulação por macrófagos teciduais, incluindo os esplênicos. O baço participaria não apenas da depuração dos imunocomplexos, mas também da produção de anticorpos anti-LDL-colesterol, por conter a maior parte dos linfócitos B de memória e por ser o principal local de apresentação antigênica e produção de anticorpos.

Caliguri *et al* (2002) mostraram também que a imunidade, principalmente aquela mediada pelos linfócitos, exerce um efeito protetor na progressão da aterosclerose. Estudos em animais verificaram que após a completa remoção esplênica, os níveis séricos de triglicérides podem se elevar e que procedimentos cirúrgicos de conservação do baço poderiam evitar essa alteração, mas ainda não evidências conclusivas do mecanismo que liga a esplenectomia ao aumento dos níveis de triglicérides (PETROYANU, 2006).

As dislipidemias caracterizam-se por uma série de anormalidades nas várias fases do metabolismo lipídico. A não supressão pós-prandial insulino-mediada de AGNEs aumenta o fluxo dos mesmos ao fígado, causando não só maior síntese e secreção de VLDL ricas em TG com maior secreção de apoB. A resistência à ação da

insulina quanto à supressão de AGNEs se acompanha de menor captação de glicose e hiperinsulinemia que se correlacionam significativamente com os níveis de TG (LAWS, 1994; JEPPESEN, 1995).

O acúmulo de gordura visceral promove um aumento de ácidos graxos, triglicérides e colesterol circulantes; de citocinas inflamatórias, como interleucina - 1 $\beta$ , proteína C reativa e fator de necrose tumoral -  $\alpha$ ; e de glicose plasmática, promovendo hiperglicemia e hiperinsulinemia. Além disso, pode levar à diminuição de adiponectina, responsável pela proteção das paredes arteriais e HDL, uma lipoproteína de alta densidade envolvida na manutenção da luz vascular. Essa cascata pode levar ao desenvolvimento da aterosclerose e outras doenças cardiovasculares, além da resistência à insulina e diabetes mellitus tipo II (CATERSON, 2004).

Em roedores, a indução de DH leva à resistência à insulina principalmente pelo aumento de do tecido adiposo visceral e diminuição da expressão de transportadores de glicose do tipo 4 (GLUT4).

Vários fatores secretados pelo tecido adiposo influenciam a sensibilidade à insulina, entre eles está o TNF- $\alpha$  (ARNER, 2003). Ele age inibindo a sinalização da insulina em tirosina quinase e assim influencia a homeostase de glicose e o metabolismo lipídico, contribuindo para o nível elevado de triglicérides na obesidade (LANGIN, 2006). A ausência de TNF $\alpha$  resulta em significativo aumento da sensibilidade à insulina na obesidade induzida por DH. Ratos obesos deficientes de TNF- $\alpha$  têm baixo nível de AGNEs circulantes, e são hipersensíveis à insulina no músculo e no tecido adiposo (UYSAL, 1997). O baço é um importante depurador de bactérias devido a sua função fagocitária e sua falta em animais esplenectomizados torna o fígado um órgão responsável para realizar o *clearance* de lipopolissacarídeos (FELEDER, 2003). Ao assumir tal função as células de Kupffer no fígado produzem citocinas inflamatórias como TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , IL-6. A IL-6, que podem exercer um efeito inibitório na sinalização da insulina, transporte de glicose (ROTTER, 2003; FELEDER, 2003), reforçando a idéia de que fatores inflamatórios estão envolvidos na síndrome metabólica e obesidade e que a esplenectomia pode contribuir no quadro inflamatório (SHOELSOM, 2006). Mas ainda é necessária uma investigação dos níveis séricos de citocinas inflamatórias.

A ação exclusiva do TNF- $\alpha$  no tecido adiposo inibe a ação da insulina neste local e leva a uma redução da adiposidade (XU, 2002). Em pessoas obesas ou com diabetes

tipo II os níveis séricos de TNF $\alpha$  estão altos e relacionados com níveis aumentados de insulina plasmática e a redução da sensibilidade à insulina. Em humanos a perda de peso diminui o TNF $\alpha$  e aumenta a sensibilidade à insulina (SETHI,1999). Dada às alterações nos níveis de triglicerídios e havendo indícios na literatura sobre o quadro inflamatório após a esplenectomia, justificou-se a investigação do estado glicêmico.

Verificamos então a capacidade de tolerância à glicose. Foi evidenciada igual tolerância à sobrecarga glicídica nos grupos de camundongos, observada pela área abaixo da curva glicêmica dos animais em experimento. E logo se constatou que a ablação lienal não alterou a captação periférica de glicose, assim como também não houve diferença estatística deste quadro com a indução da DH (figura 12 A e B).

A intolerância à glicose é um quadro que se instala posteriormente ao fenômeno de resistência à insulina, justo que o agravamento desta leva à menor captação de glicose nas células (YAMAUCHI, 2002). Ao realizarmos o teste de resistência à insulina, observamos que o tratamento com DH não tornou os animais resistentes à insulina (figura 13), mesmo os camundongos esplenectomizados possuindo níveis séricos de TG muito maiores (figura 11).

PETROIANU (2006), mostrou que em humanos não há mudança da glicemia basal (jejum) da maioria dos esplenectomizados e quando há é decorrente do estresse pós-cirúrgico, podendo tornar o indivíduo diabético, mas não encontramos estudos que realizassem testes de indução de carga glicêmica ou insulínica com verificação da captação de glicose temporal em esplenectomizados. A sensibilidade à insulina mantida nos animais em DH deve estar ligada a outros fatores endócrinos, como uma maior liberação de insulina. Assim realizamos a verificação da insulinemia por dosagens séricas de insulina basal aferida por ELISA, no qual os esplenectomizados em DH apresentaram uma maior concentração de insulina sérica, tornando condizente tal hipótese (figura 14).

No entanto, ainda é necessária a realização de testes, logo que não houve diferença de hiperinsulinemia nos animais sham em DH, apenas uma tendência.

Os inúmeros processos metabólicos relacionados aos carboidratos, lipídios e proteínas são sediados por mediadores hormonais como a insulina, cortisol, adrenalina, leptina entre outros.

Animais nocautes para o receptor de insulina no tecido adiposo têm menos gordura corpórea, perdem a relação entre massa corpórea e leptina, são protegidos

contra obesidade relacionada à idade, e também contra a intolerância à glicose (BLÜHER, 2002).

Sabe-se que a insulina atua na modulação da produção e secreção de leptina pelos adipócitos e que em nível central, é anorexígena e induz aumento do tônus simpático, secretando assim mais adrenalina, levando a uma maior taxa de lipólise que eleva as taxas de VLDL rica em TG (LEVY, 2001).

A primeira evidência da existência de uma *cross-talk* entre as vias de sinalização da leptina e da insulina surgiu quando se observou que o tratamento periférico com leptina era capaz de melhorar o quadro de hiperglicemia do camundongo ob/ob, independentemente da redução do peso (SIVITZ et al. 1997).

As funções da insulina não podem então, serem analisadas de forma isolada, particularmente no que se refere ao metabolismo lipídico, onde a interação com a leptina é essencial. Na lipodistrofia, por exemplo, a destruição dos adipócitos causa uma baixa nos níveis de leptina com o surgimento de um quadro metabólico caracterizado por resistência à insulina, elevação de TG e diabetes melito tipo II (SIVITZ et al. 1997).

É importante ressaltar que a massa corpórea é regulada por diversos sistemas, como o sistema nervoso central e autônomo, e o sistema endócrino (CLEMENTE e FERRE, 2003). Tais sistemas são capazes de receber informações dos tecidos periféricos que medeiam o metabolismo e a ingestão alimentar (CLEMENTE e FERRE, 2003). Logo então, tornou-se importante a investigação de fatores humorais como a leptina, para salientar as questões inerentes ao ganho de massa adiposa, logo que se trata de um tecido com grande expressão do hormônio supracitado. Além de que o desafio aos animais com a DH surtiu efeito quanto ao acúmulo de tecido adiposo visceral.

Tais evidências relatadas na literatura fizeram com que a verificação dos níveis séricos de leptina fossem mensurados, já que não há dados na literatura que revelem os níveis de leptina em esplenectomizados.

No atual estudo os animais esplenectomizados em DC apresentaram maior quantidade de leptina sérica, significativa sob análise de variância (figura 15). E com os esplenectomizados em DH evidenciou-se notável diferença na leptinemia (figura 15).

Então foi clara a necessidade de uma investigação dos aspectos relacionados à esplenectomia atuando na gênese da hiperleptinemia e hiperinsulinemia.

O rim é o maior centro de catabolismo da leptina, sendo responsável por mais de 80% da remoção da leptina em humanos. Mas a leptina circula ligada a proteínas transportadoras e tem sido relatada alta correlação entre leptina na forma livre e obesidade em humanos, isto pode ocorrer por hiperleptinemia, que induz à resistência a leptina ou deficiência no transporte ou ligação com o transportador pela barreira hematoencefálica, o baço por se tratar de um órgão responsável pela depuração de vários complexos, talvez seja também centro de depuração de leptina, o que tornariam maiores os níveis séricos de leptina após a esplenectomia.

Estudos como o de El-Sukkari (2006) mostram que o baço possui grande concentração de cisteíno-proteases que atuam na degradação de vários peptídeos e investigações em torno de proteínas lisossomais do baço seriam importantes.

A expressão do RNAm da leptina em humanos e roedores e o nível de leptina no sangue são correlacionados com o grau de adiposidade. Os estudos indicam que a insulina tem um papel importante na regulação da expressão da leptina *in vivo* e *in vitro*. Levando em consideração que os animais esplenectomizados em DH apresentaram hiperinsulinemia é interessante apontar que a insulina aumenta a expressão do RNAm da leptina, enquanto a leptina reduz a secreção de insulina no pâncreas e a sua habilidade de regular a utilização da glicose. Isto estabelece um mecanismo de retroalimentação negativa entre a insulina e a leptina (HOUSEKNECHT *et al.*, 2000).

As diversas alterações observadas nas situações em que há deficiência de leptina e as anormalidades metabólicas presentes nos portadores de lipodistrofia, resistência à insulina, hipertrigliceridemia e a esteatose hepática estimularam o estudo de Oral *et al.*, (2009) que administraram leptina recombinante em portadores de lipodistrofia e observaram uma melhora no controle glicêmico e uma diminuição nos níveis plasmáticos de triglicérides e concluíram que várias alterações verificadas na lipodistrofia são secundárias a deficiência de leptina.

Animais esplenectomizados em DH apresentaram resultados não significantes para o teste de tolerância à glicose, mesmo com níveis alterados de triglicérides e não apresentaram resistência à insulina, talvez por manterem altos níveis de leptina circulante, protegendo-os da resistência à insulina ou apenas os altos níveis de insulina estariam compensando a captação de glicose.

A leptina promove estímulo para a lipólise e inibição da lipogênese, é considerada mecanismo de proteção contra adipotoxicidade provocada pelo excesso de TG no citosol em células que não são adipócitos e, portanto, não estão preparadas para conter uma grande quantidade de lipídios em seu interior (KELLEY, GOODPASTER, 2001). Assim o nível aumentado de TG em animais esplenectomizados pode estar relacionado com os maiores níveis de leptina.

Como já mencionado os níveis de leptina são proporcionais à massa de adipócitos, o que corrobora com os dados encontrados em nosso estudo, pois os animais esplenectomizados em DH apresentam maior percentual de gordura correlacionado com maiores níveis de leptina. Níveis baixos de leptina induzem a ativação dos mecanismos de adaptação ao jejum. Indivíduos com deficiência de leptina por mutações no seu gene são obesos mórbidos, mostrando resistência à insulina e hipogonadismo (TELLES-CORREIA, 2008 ).

A própria leptina é fator fundamental para gênese da obesidade ou alterações nos mecanismos relacionados à ação central da leptina, fazendo com que ela não tenha o efeito esperado. Esta condição poderia iniciar com o aumento da concentração da leptina sérica, o que é possível de observar em indivíduos obesos. Desta forma o aumento progressivo das concentrações de leptina no sangue levaria também a um aumento da resistência a leptina ou diminuição da sensibilidade. Haja visto que casos de obesidade ligados a falta da leptina são raros em humanos (HOFBAUER, 2002). Observamos que os animais esplenectomizados em DH apresentaram altos níveis de leptina sérica, um hormônio anorexígeno, porém não obtiveram diferença de massa corporal e nem diferença de consumo de ração (figura 4 e 5). Gerando hipóteses relacionadas à resistência à leptina.

A mudança no grau de eficiência da leptina poderia ser explicada por algumas hipóteses. Uma capacidade saturável de transporte pela barreira hematoencefálica, aos locais que possuem receptores de leptina (OB-R) no hipotálamo. Halaas *et al* (1995), verificaram que a resposta a infusões de leptina diretamente no sistema nervoso central (intracerebroventricular) é mais eficaz que as infusões periféricas (subcutânea), talvez pela incapacidade da leptina transpor a barreira hematoencefálica de modo proporcional ao seu aumento na corrente sanguínea.

Outra hipótese seria por retroalimentação negativa entre a concentração de leptina plasmática e o número ou atividade dos receptores OB-R. Desta forma, existe

possibilidade que a proteína SOCS-3(supressor do sinal de citocina 3 ou *suppressor of cytokine signalling-3*), tenha a sua expressão aumentada pela ativação dos receptores de citocinas, como é o caso do OB-R, que pertence a super família dos receptores de citocinas. O SOCS-3 interage com o OB-R diminuindo sua atividade.

Quanto maior a ativação do receptor OB-R, maior será a ativação de SOCS-3, que por sua vez, inibe o OB-R exigindo a necessidade de mais leptina para provocar a mesma ativação de outrora. Este quadro pode se tornar um ciclo vicioso em que, com o passar do tempo, cada vez mais leptina é necessária para provocar a mesma ativação dos seus receptores, aumentando o patamar (*set-point*) em que o peso se estabelece (GOOD, 2000).

É possível que a interferência entre as reações pós-ativação do OB-R com outras substâncias seja responsável pelo quadro que se convencionou chamar de resistência a leptina (GOOD, 2000). Muitas reações na cascata de ativação intracelular da leptina com o seu receptor também ocorrem na ativação de outros receptores (citocinas, insulina, entre outros) (SWEENEY, 2002). Além disso, a expressão de proteínas que são influenciadas pela ativação do OB-R, como o neuropeptídeo Y (NPY), cuja síntese é inibida pela leptina, pode ser um local de resistência a leptina. A infusão crônica de leptina no hipotálamo de ratos provoca acentuada redução na quantidade de RNAm do NPY nos primeiros dias. Porém com o prolongamento da infusão, há tendência da expressão gênica do NPY voltar aos valores normais, a despeito da alta concentração de leptina no SNC (SAHU, 2002).

Friedman et al, (2003) estudaram a atividade da leptina sérica em indivíduos obesos e magros e não constataram nenhuma diferença. Esses pesquisadores sugeriam que houvesse alguma alteração na atividade sérica, ela seria decorrente de proteínas ligadoras à leptina ou ao OB-R, antagonistas ou próprias mutações na molécula de leptina ou OB-R, que embora não impedissem a análise quantitativa dessas substâncias por radioimunoensaio, Elisa ou Western Blot, poderia interferir em sua atividade normal, que provavelmente, estaria diminuída em obesos (FRIEDMAN et al. 2003).

Outra possibilidade decorre sobre a possibilidade que Kastin e Akerstrom, (2001) verificaram, onde a barreira hematoencefálica altera a capacidade de transporte de leptina conforme a ingestão de nutrientes, concentração plasmática de insulina e o jejum prévio.

Um estudo mostrou que o aumento dos níveis de triglicerídios no plasma, induz uma deficiência na permeabilidade da barreira hematoencefálica à leptina (BANKS, 2004), lembrando que os animais esplenectomizados em DH apresentaram maiores taxas lipêmicas em relação aos demais grupos.

Em nosso estudo utilizamos um fibrato hipolipemiante, o genfibrozila, para averiguar se com a diminuição dos níveis de TG haveria mudanças no consumo e na massa corporal.

Com a administração de genfibrozila aos animais em dieta hiperlipídica, verificamos diminuição significativa dos níveis de TG (figura 20) e diminuição significativa na ingestão alimentar que pode ser visto na figura 18. Esse fato explicaria uma taxa aumentada de leptina circulante não foi capaz de alterar o consumo dos animais esplenectomizados, porém a massa corporal não diminuiu significativamente (figura 17).

Mas a administração de genfibrozila foi induzida em um período curto de uma semana. O camundongo ob/ob, que apresenta uma anomalia na molécula de leptina e que impede sua adequada função. Em decorrência do efeito estrutural, o camundongo apresenta quadro hiperfágico e desenvolve obesidade e ainda uma série de outras anomalias como hipotermia e distúrbios neuro-endócrinos, hiperinsulinemia, hiperglicemia e dislipidemias.

As taxas de TG de animais ob/ob esplenectomizados em DC apresentaram-se diferentes (maiores) às taxas do sham ob/ob em DC (figura 21), e na figura 11 verificamos que os animais ob/ob esplenectomizados em DH têm sua trigliceridemia alta mas é normalizada com a administração de genfibrozila (figura 22). Mas o seu consumo alimentar não obteve alteração com administração de genfibrozila, o que podemos observar na figura 19. Tais informações nos levam à concordância de que o excesso de TG sanguíneo pode interferir diretamente na ação anorexígena da leptina, assim como os resultados apresentados por Banks (2004), além do baço poder atuar na degradação de leptina a possibilidade de maior produção de leptina também é um fator a ser considerado, pois sua expressão é estimulada por algumas citocinas como TNF- $\alpha$  e IL-1. Animais esplenectomizados expressam IL-1 e TNF- $\alpha$  no tecido hepático (FELEDER, 2003), levando a um estado febril e talvez estimulando a produção de leptina.

A leptina reverte alterações imunológicas da desnutrição em camundongos e faz diminuir as concentrações de TNF- $\alpha$ , cujo aumento decorreu pelo desafio da administração de lipopolissacarídeo, elevando a sobrevivência dos camundongos (FELEDER, 2003).

O TNF- $\alpha$  atua interferindo na fosforilação em tirosina do IRS-1, interrompendo a progressão da cascata enzimática intracelular. O TNF- $\alpha$ , assim como a IL-1 $\beta$  e a IL6 causam interferências na sinalização celular. Hipoteticamente a leptina poderia estar aumentada também como uma contraregulação de citocinas inflamatórias como TNF- $\alpha$  (DANDONNA, 2004).

As possíveis interações da leptina com a atividade mitocondrial já há muito tempo foram cogitadas, dada a observação de que a elevação nos níveis de leptina, além de diminuir o apetite causavam um aumento no gasto energético, e a baixa nos seus níveis causavam queda no gasto energético e aumento de apetite.

Diante de alguns dados encontrados na literatura, buscamos identificar a temperatura corporal dos animais. Em muitos casos o aumento de temperatura corporal de pessoas esplenectomizadas pode perdurar por muitos meses, sem nenhum quadro séptico (PETROIANU, 2006). Em porcos da Índia a esplenectomia causa aumento de temperatura corporal até um estágio febril prolongado, principalmente quando desafiados com infusão de lipopolissacarídeos (LPS), enquanto animais com o baço íntegro apresentam um pico febril bem mais curto (FELEDER, 2003). Foi avaliado nos animais, possíveis infecções antes da cirurgia e a temperatura para certificar que os grupos eram homogêneos.

Um mês após a cirurgia, somado a um mês de dieta verificamos a temperatura dos grupos. Os grupos esplenectomizados em DC e em DH apresentaram temperaturas significativamente maiores que seus controles, mas não chegaram a um estado considerado febril (38,5 $^{\circ}$ ) (figura 24 e 25 respectivamente), dados que condizem com resultados de Feleder (2005).

Acreditamos que a leptina tenha função importante no papel da temperatura corporal de animais esplenectomizados.

A ação termogênica da leptina foi estudada por Zhou *et al.*(1997), onde as alterações no metabolismo mitocondrial permitem que a leptina estimule o metabolismo lipídico em vários tecidos. Outros autores pesquisaram o efeito da leptina sobre a expressão de genes que codificam as enzimas envolvidas na oxidação e esterificação

dos ácidos graxos e de um gene envolvido na termogênese. Uma vez que a leptina é secretada pelas células do tecido adiposo, ela pode agir centralmente ou na periferia (KAKUMA, 2000).

Nos tecidos periféricos, tem-se estudado a capacidade da leptina em atuar *per se* na taxa metabólica basal, por meio do estímulo da atividade das proteínas desacopladoras 1, 2, 3 (*uncoupling proteins*, UCP-1, UCP-2, UCP-3) cuja função é de dissipar o potencial eletroquímico do espaço intermembranas da mitocôndria, gerado pela cadeia de transporte de elétrons, resultando em perda de energia na forma de calor, e não pelo aproveitamento da energia derivada do alimento na ressíntese de ATP (GULLICKSEN et al., 2002).

Observou-se em tais estudos uma elevação da atividade enzimáticas de duas enzimas chaves que participam da oxidação de AGNEs. Ficou demonstrado ainda que o efeito sobre a termogênese antes atribuído apenas ao tecido adiposo marrom, por meio da UCP-1. Efeito que se estende pela maior atividade de UCP-2 a vários outros tecidos em que há expressão do receptor de leptina Ob-R (GULLICKSEN et al., 2002).

Commins *et al.*(2001) observaram que no camundongo ob/ob, o fornecimento de leptina reduziu o peso corporal e produziu uma elevação de 4 a 5 vezes nos níveis de RNAm de UCP-1. Tanto no tecido adiposo marrom interescapular quanto no tecido adiposo branco peritoneal o aumento do RNAm de UCP-1 foi acompanhado de aumento comparável de proteínas UCP-1 nas mitocôndrias. Estes autores demonstraram que a infusão de leptina estimula a utilização de energia no camundongo ob/ob por meio do aumento da termogênese. É possível que a leptina eleve a expressão de UCP-1 por meio do aumento da atividade simpática, posto que a noradrenalina ativa diretamente a UCP-1 por meio do receptor  $\beta$ 3-adrenérgico e, simultaneamente aumenta a capacidade termogênica pela ativação da transcrição do gene da UCP-1.

Em cordeiros, produção de calor a partir do tecido adiposo marrom pode estar regulada por mudanças na secreção de leptina após o nascimento (STEPHENSON et al. 2001). As elevadas concentrações de leptina no leite nos estágios iniciais da lactação podem prover um mecanismo para a termorregulação, saciedade e controle endócrino da homeostasia do neonato (MCFADIN et al., 2002). A administração de leptina em cordeiros recém nascidos aumenta a temperatura retal e aumenta a velocidade de desaparecimento do tecido adiposo marrom (MOSTYN et al., 2001).

Masaki *et al* (2003) efetuaram estudo para esclarecer as alterações relativas às baixas temperaturas observadas em camundongos obesos, por meio da avaliação da atividade das proteínas desacopladoras. Os autores demonstraram que as respostas das UCPs à exposição ao frio, que são reguladas pela inervação simpática, estavam impedidas nos camundongos obesos.

Nós utilizamos os animais ob/ob como um controle negativo da ação da leptina, para verificar a associação do hormônio com o aumento da temperatura corporal de esplenectomizados e observamos que a temperatura corporal de animais ob/ob sham operados e esplenectomizados não diferiram (figura 25). Desta forma concluímos que a leptina é uma adipocina importante para indução da hipertermia em animais esplenectomizados, além das citocinas pirogênicas como o TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  entre outras.

A leptina também atua em grande variedade de tecidos com possíveis efeitos na hematopoiese, no sistema imunológico, no endotélio de vasos sanguíneos, na recuperação de lesões, na formação óssea, na homeostase da pressão arterial e na atividade lipolítica (FRÜHBECK, 2002). A esplenectomia induz alterações importantes do ponto de vista metabólico, com mudanças na produção de hormônios que podem reger o metabolismo lipídico e glicêmico, mas é pertinente que ainda haja um esforço para a determinação específica das causas e efeitos da ablação lienal.

## 6. CONCLUSÕES

A esplenectomia não foi capaz de gerar diferença no ganho de massa corporal, consumo de ração e densidade mineral óssea independente da dieta. Mas com a indução de DH observamos a modificação no percentual de gordura dos esplenectomizados.

Os camundongos esplenectomizados apresentaram mudanças nos níveis séricos de triglicérides com e sem a indução de dieta rica em gordura.

Não houve interferência na captação de glicose e resistência à insulina quando comparamos os animais sham e esplenectomizados com e sem a dieta hiperlipídica.

Foi observado que os níveis circulantes de insulina nos animais esplenectomizados em dieta controle não sofreram mudanças na concentração de insulina, porém quando os camundongos esplenectomizados foram submetidos a dieta hiperlipídica os níveis de insulina aumentaram.

Não houveram mudanças no consumo alimentar e na massa corporal dos animais com os níveis aumentados de leptina, possivelmente por uma resistência à leptina gerada pelo nível de TG alterado nos animais esplenectomizados. Logo que a ação de um hipolipemiante fez com que reduzissem o consumo alimentar de forma significativa.

A temperatura corporal dos esplenectomizados demonstrou-se diferente, independente da dieta, possivelmente relacionado à ação da leptina, pois os animais ob/ob esplenectomizados e sham operados mostraram-se iguais quanto a temperatura. Mas novos estudos deverão ser realizados sob um foco molecular para elucidar as origens das modificações fisiológicas encontradas após a esplenectomia.

## REFERÊNCIAS

ADA. American Diabetes Association. Dyslipidemia management in adults with diabetes. **Diabetes Care**; v.27, n.1, p.568-571. 2004.

ARNER, The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. **Trends Endocrinol. Metab.** v.14, n.3, p.137-145. 2003.

BACHMAN, S.L., HANLY, E.J., SAAD, D., NWANKO, J.I., LAMB, J., HERRING, A.E., MAROHN, M.R., De-MAIO, A., TALAMINI, M.A. The role of the spleen in laparoscopy-associated inflammatory response. *Surg Endosc.* v.19, n.8 p.1035-44. 2005.

BANKS, WA, COON AB, ROBINSON SM, MOINUDDIN A, SHULTZ JM, NAKAOKE R, MORLEY JE. Triglycerides induce leptin resistance at the blood-brain barrier. **Diabetes. May**; v.53, n.5, p.1253-60. 2004.

BARIOHAY, B., B. LEBRUN, E. MOYSE e A. JEAN. Brain-derived neurotrophic factor plays a role as an anorexigenic factor in the dorsal vagal complex. **Endocrinology**, v.146, n.12, p.5612-20. 2005.

BERGMAN R.N, Orchestration of homeostasis of glucose metabolism. *Journ Annu Diabetol Hotel Dieu.* v. 5, n.7, p127-38. 2007.

BIRBAUM, M.J. Turning down insulin signaling. *J Clin Invest.* v.108, n.5, p.655-9.2001.

BLÜHER, M., MICHAEL, M.D., PERONI, O.D., UEKI, K., ARTER, N., KAHN, B.B., KAHN, C.R. Adipose tissue selective insulin receptor knockout protects against obesity and obesity-related glucose intolerance. **Dev. Cell.** v.3, n.7, p. 25-38. 2002.

CALIGIURI G, NICOLETTI A, POIRIER B, HANSSON GK. Protective immunity against atherosclerosis carried by B cells of hypercholesterolemic mice. *J Clin Invest.* v.109, n.6, p.745-53. 2002.

CASABIELL, X., V. PINEIRO, M. A. TOME, R. PEINO, C. DIEGUEZ e F. F. CASANUEVA. Presence of leptin in colostrum and/or breast milk from lactating

mothers: a potential role in the regulation of neonatal food intake. **J Clin Endocrinol Metab**, v.82, n.12, p.4270-3. 1997.

CATERSON, ID, HUBBARD V, BRAY GA, GRUNSTEIN R, HANSEN BC, HONG Y, LABARTHE D, SEIDELL JC, SMITH SC Jr; American Heart Association. Prevention Conference VII: Obesity, a worldwide epidemic related to heart disease and stroke: Group III: worldwide comorbidities of obesity. *Circulation*. v.2, n.18, p.476-83. 2004.

CLEMENT K, FERRE P. Genetics and the pathophysiology of obesity. **Pediatr Res**. v.53, n.12, p.721-725. 2003.

COMMINS SP, WATSON PM, FRAMPTON IC, GETTYS TW. Leptin selectively reduces white adipose tissue in mice via a UCP1-dependent mechanism in brown adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. v.280, n.2, p.372-7. 2001.

COOPER M.J, WILLIAMSON R.C. Splenectomy: indications, hazards and alternatives. *Br J Surg*. v.71, n.3, p.173-80.1984.

CORTI M.C, GURALNIK, J.M, SALIVE, M.E. HDL cholesterol predicts coronary heart disease mortality in older persons. **JAMA**. v.17, n.13, p.539-44. 1995.

CROSBY, W. H., Structure and functions of the spleen. In Willians W. J, Beutler E, Erslev A. J, Lichtman M. **Hematology**. v.124, n16, p. 89-97. 1983

CUI, Y. Lipid Research Clinic. **Arch Intern Med**. v.161, n. 21 p.1413-1419. 2001.

DANDONA, P., ALJADA, A., BANDYOPADHYAY, A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. **Trends Immunol**. v.25, n.23, p.4-7. 2004.

DANDONA, P., ALJADA, A., CHAUDHURI., A, MOHANTY P., GARG,. R. Metabolic syndrome: A comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. **Circulation**; v.111, n.31, p.1448-54. 2005.

DIAMOND L.K. Splenectomy in childhood and the hazard of overwhelming infection. *Pediatrics*. v.43, n.5, p.886-9. 1969.

DAVIDSON N.O. MAGNUM A.M, BRASITUS T.A, GLICKMAN R.M. Intestinal apolipoprotein A-I and B-48 metabolism: effects of sustained alterations in dietary triglyceride and mucosal cholesterol flux. *J Lipid Res.* v.28, n.4, p.388-402. 1987.

DUCY P, AMLING M, TAKEDA S, PRIEMEL M, SCHILLING AF, BEIL FT, SHEN J, VINSON C, RUEGER JM, KARSENTY G. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. **Cell.** v.21, n.2, p.197-207. 2000.

ELEFTERIOU F, KARSENTY G. Bone mass regulation by leptin: a hypothalamic control of bone formation. *Pathol Biol (Paris).* v.52, n.3, p.148-53. 2004.

EMPANA J.P, DUCIMETIERE P, CHARLES M.A, JOUVEN X. Sagittal abdominal diameter and risk of sudden death in asymptomatic middle-aged men: the Paris Prospective Study I. *Circulation.* v.2, n.18, p.2781-5. 2004.

EVERSON S.A, GOLDBERG D.E, HELMERICK S.P, LAKKA T.A, LYNCH J.W, KAPLAN G.A, SALONEN J.T. Weight gain and the risk of developing insulin resistance syndrome. *Diabetes Care.* v.21, n.10, p.1637-43. 1998.

FATOUROS, M., BOURANTAS, K., BAIRAKTARI, E., ELISAF. M., TSOLAS, O., CASSIOUMIS, D., Role of the spleen in lipid metabolism. **Br J Surg;** v.82, n.12, p.1675-7. 1995.

FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* v.115, n.5, p.911-9. 2005.

FEINSTEIN, R., KANETY, H., PAPA, M.Z., LUNENFELD, B., KARASIK, A. Tumor necrosis factor-alpha suppresses insulin-induced tyrosine phosphorylation of insulin receptor and its substrates. **J. Biol. Chem.** v.268, n.43, p.2655-2658. 1993.

FELEDER, C, LI Z, PERLIK, V, EVANS, A, BLATTEIS, CM. The spleen modulates the febrile response of guinea pigs to LPS. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* v.284, n.6, p.1378-9. 2003.

FLEGAL, K.M., GRAUBARD, B.I., WILLIAMSON, D.F., GAIL, M.H. Excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. **JAMA.** v.293, n.42, p.1861-1867. 2005.

FREDERICH, R.C., HAMANN, A., ANDERSON, S., LOLLMANN, B., LOWELL, B.B., FLIER, J.S. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. **Nat. Med.** v.1, n.12, p.1311-1314. 1995.

FRIEDMAN J.M, A war on obesity, not the obese. *Science*. v.7, n299, p.856-8.2003

FRIEDMAN K.J, GLICK D. Role of lipids in the *Neurospora crassa* membrane: III. Lipid composition and phase transition properties of the plasma membrane, and its components. *J Membr Biol.* v.15, n.3, p.183-90.1980.

FRÜHBECK G, Peripheral actions of leptin and its involvement in disease. *Nutr Rev.* v.60, n.10, p.47-55; discussion p.68-84. 2002.

GOLDEN, P. L., T. J. MACCAGNAN e W. M. PARDRIDGE. Human blood-brain barrier leptin receptor. Binding and endocytosis in isolated human brain microvessels. **J Clin Invest**, v.99, n.1, p.14-8. 1997.

GONG, D. W., S. BI, R. E. PRATLEY e B. D. WEINTRAUB. Genomic structure and promoter analysis of the human obese gene. **J Biol Chem**, v.271, n.8, p.3971-4. 1996.

GOOD DJ, How tight are your genes? Transcriptional and posttranscriptional regulation of the leptin receptor, NPY, and POMC genes. *Horm Behav.* Jun;37(4):284-98. 2000.

GRESSNER, A.M, MEIER, U. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin Chem.* v.50, n.9, p.1511-25.. 2004.

GRIFFIN, B.A. Lipoprotein atherogenicity: an overview of current mechanisms. *Proc Nutr Soc.* v.58, n.1, p.163-9.1999.

GULLICKSEN PS, FLATT WP, DEAN RG, HARTZELL DL, BAILE CA. Energy metabolism and expression of uncoupling proteins 1, 2, and 3 after 21 days of recovery from intracerebroventricular mouse leptin in rats. *Physiol Behav.* v.1, n.4, p.473-82. 2002.

HALAAS, J.L., GAJIWALA, K.S., MAFFEI, M., COHEN, S.L., CHAIT, B.T., RABINOWITZ, D., LALLONE, R.L., BURLEY, S.K., FRIEDMAN, J.M. Weightreducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. **Science** v.269, n.5, p.543-546. 1995.

HAMRICK M.W. Leptin, bone mass, and the thrifty phenotype. *J Bone Miner Res.* v.19, n.10, p.1607-11. 2004.

HAVEL, R.J., RAPAPORT, E. Management of primary hyperlipidemia. *N Engl J Med.* v.1, n.22, p.1491-8.1995.

HOFBAUER KG, Molecular pathways to obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord.* v.26, n.2, p.518-27. 2002.

HOTAMISLIGIL, G.S., SHARGILL, N.S., SPIEGELMAN, B.M. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science** v.259, n.12, p. 87-91. 1993.

HOUSEKNECHT KL, PORTOCARRERO CP, JI S, LEMENAGER R, SPURLOCK ME. Growth hormone regulates leptin gene expression in bovine adipose tissue: correlation with adipose IGF-1 expression. *J Endocrinol.* Jan;164(1):51-7. et al. 2000.

JAMEL MJ, REIFINETI, RA, SILVA, MM, MACIEL, ACC, MARELLI, GB. Papel do remanescente esplênico no perfil lipídico. **Arq Bras Cir Dig;** v.15, n.3, p.105-7. 2002.

JÁUREGUI, E, Anatomy of the splenic artery. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba;* v.56, n.1, p.21-41. 1999.

JEPPESEN J, CHEN YD, ZHOU MY, WANG T, REAVEN GM. Effect of variations in oral fat and carbohydrate load on postprandial lipemia. *Am J Clin Nutr.* v.62, n.6, p.1201-5.1995.

KAHN, B.B., FLIER, J.S. Obesity and insulin resistance. **J. Clin. Invest.** 106: v.31, n.17, p.473-481. 2000.

KAKUMA T, WANG ZW, PAN W, UNGER RH, ZHOU YT. Role of leptin in peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 expression. *Endocrinology*. v.141, n.12, p.4576-82. 2000.

KANDA, H., TATEYA, S., TAMORI, Y., KOTANI, K., HIASA, K., KITAZAWA, R., KITAZAWA, S., MIYACHI, H., MAEDA, S., EGASHIRA, K., KASUGA, M. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. **J. Clin. Invest.** v.116, n.32, p.1494-1505. 2006.

KASTIN AJ, AKERSTROM V, HACKLER L, PAN W. Adrenomedullin and the blood-brain barrier. *Horm Metab Res*. v.33, n.1, p.19-25. 2001.

KARPE, F, HULTIN, M. Endogenous triglyceride-rich lipoproteins accumulate in rat plasma when competing with a chylomicron-like triglyceride emulsion for a common lipolytic pathway. **J Lipid Res**; v.36, n.7, p.1557-66.1995.

KARRER U, ALTHAGE, A, ODERMATT, B, ROBERTS, C.W, KORSMEYER S.J, MIYAWAKI S, HENGARTNER, H, ZINKERNAGEL, R.M. On the key role of secondary lymphoid organs in antiviral immune responses studied in alymphoplastic (aly/aly) and spleenless (Hox11(-)/-) mutant mice. **The Journal of Experimental Medicine**. v.185, n.43, p. 2157-2170.1997.

KELLEY DE, GOODPASTER BH. Effects of exercise on glucose homeostasis in Type 2 diabetes mellitus. *Med Sci Sports Exerc*. Jun;v.33, n.31, p.495-501. 2001.

KENNEDY, G.C. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. **Proc. Roy. Soc. Lond.** v.140, n.63, p. 579-592. 1953.

KING, H, SHUMACKER H.B.Jr. Splenic studies. I. Susceptibility to infection after splenectomy performed in infancy. *Ann Surg*. **Aug**; v.136, n.2, p.239-42. 1952.

KIM, H.J., HIGASHIMORI, T., PARK, S.Y., CHOI, H., DONG, J., KIM, Y.J., NOH, H.L., CHO, Y.R., CLINE, G., KIM, Y.B., KIM, J.K. Differential effects of Bibliografia 140 interleukin-6 and -10 on skeletal muscle and liver insulin action in vivo. **Diabetes**, v.53, n.34, p.1060-1067. 2004.

KÖLLIKER, A. VON. Manual of human microscopical anatomy. **Lippincott**. v.137, n.31, p.561-562. 1854.

KOPELMAN, P.G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v.404, n.312, p.635-43. 2000.

KRISTENSEN, P., M. E. JUDGE, L. THIM, U. RIBEL, K. N. CHRISTJANSEN, B. S. WULFF, J. T. CLAUSEN, P. B. JENSEN, O. D. MADSEN, N. VRANG, P. J. LARSEN e S. HASTRUP. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. **Nature**, v.393, n.6680, p.72-6. 1998.

KUMANO, S., H. MATSUMOTO, Y. TAKATSU, J. NOGUCHI, C. KITADA e T. OHTAKI. Changes in hypothalamic expression levels of galanin-like peptide in rat and mouse models support that it is a leptin-target peptide. **Endocrinology**, v.144, n.6, p.2634-43. 2003.

LANGHANS, W., HRUPKA, B. Interleukins and tumor necrosis factor as inhibitors of food intake. **Neuropeptides** v.33, p.415-424 (1999).

LANGIN D, ARNER P. Importance of TNFalpha and neutral lipases in human adipose tissue lipolysis. *Trends Endocrinol Metab.* Oct; v.17, n.8, p.314-20. Epub Aug 30.2006.

LAWS A, JEPPESEN JL, MAHEUX PC, SCHAAF P, CHEN YD, REAVEN GM. Resistance to insulin-stimulated glucose uptake and dyslipidemia in Asian Indians. *Arterioscler Thromb.* Jun; v.14, n.6, p.917-22. 1994.

LEVY JC, Insulin signalling through ultradian oscillations. *Growth Horm IGF Res.* 2001 Jun;11 Suppl A:S17-23. 2001.

LOPEZ, M., L. SEOANE, M. C. GARCIA, F. LAGO, F. F. CASANUEVA, R. SENARIS e C. DIEGUEZ. Leptin regulation of prepro-orexin and orexin receptor mRNA levels in the hypothalamus. **Biochem Biophys Res Commun**, v.269, n.1, p.41-5. 2000.

LU, W. Strong Heart study. **Diabetes Care**; v.26, p16-23. 2003.

MANSON, JE, COLDITZ, GA, STAMPFER, MJ, WILLETT, WC, ROSNER, B, MONSON, RR, SPEIZER, FE, HENNEKENS, CH. A prospective study of obesity and coronary heart disease in women. **N Engl J Med**; v.322, p.882-9. 1990.

MASAKI T, CHIBA S, YASUDA T, TSUBONE T, KAKUMA T, SHIMONURA I, FUNAHASHI T, MATSUZAWA Y, YOSHIMATSU H. Peripheral, but not central, administration of

adiponectin reduces visceral adiposity and upregulates the expression of uncoupling protein in agouti yellow (Ay/a) obese mice. *Diabetes*. Sep; v.52, n.9, p.2266-73. 2003.

McCLUSKY D.A 3rd, SKANDALAKIS L.J, COLBORN G.L, SKANDALAKIS J.E. Tribute to a triad: history of splenic anatomy, physiology, and surgery--part 1. *World J Surg*. Mar; v.23, n.3, p.311-25. 1999.

McFADIN EL, MORRISON CD, BUFF PR, WHITLEY NC, KEISLER DH. Leptin concentrations in periparturient ewes and their subsequent offspring. *J Anim Sci*. Mar; v.80, n.3, p.738-43. 2002.

MEEKES I, van der STAAK, F, van OOSTROM, C. Results of splenectomy performed on a group of 91 children. *Eur J Pediatr Surg*. Feb; v.5, n.1, p.19-22. 1995.

MEISTER, B. Control of food intake via leptin receptors in the hypothalamus. **Vitam Horm**, v.59, p.265-304. 2000.

MELLENKJOER L, OLSEN J.H, LINET M.S, GRIDLEY G, McLAUGHLIN J.K. Cancer risk after splenectomy. *Ugeskr Laeger*. Sep v.11, n.37, p.5097-100.1995.

MOORE, K. L., O abdomen. In Moore KL. **Anatomia orientada para clínica**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan; p. 113-215. 1994.

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

ORAL EA, BURANT C. Leptin and insulin resistance: good, bad, or still unclear? *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009 Feb;v.296 , n.2, p.E394-5. 2009.

PANKOW, J.S., DUNCAN, B.B., SCHIMIDT, M.I., BALLNTYNE, C.M., Couper DJ, Hoogeveen RC, et al. Fasting plasma free fatty acids and risk of type 2 diabetes: The atherosclerosis risk in communities study. **Diabetes Care**. v.27, p.77-82. 2004.

PAULO DN, KALIL M, GRILLO JUNIOR LS, BORGES EB, CINTRA LC, PEREIRA FE, da SILVA AL, Viability of the spleen in rats after ligation of the splenic vessels: effects of hyperbaric oxygen therapy. *Rev Assoc Med Bras. Jan-Feb*;v.51, n.1, p.46-50.2007.

PELLEYMOUNTER, M.A., CULLEN, M.J., BAKER, M.B., HECHT, R., WINTERS, D., BOONE, T., COLLINS, F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. **Science** v.269, p. 540-543. 1995.

PETROIANU, A., **Baço**. In **Anatomia cirúrgica**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan; p. 470-8. **2000**.

PETROIANU, A., **O baço**. São Paulo, CLR Balieiro, **2003**.

PETROIANU, A., VELOSO, D., FABRÍCIO, M., COSTA, ROCHA,A., RONALDO, L. Effects of splenic surgeries on lipidogram of rats. *Rev. Assoc. Med. Bras.* v.52, n.1, p.56-59, 2006.

REAVEN,G.M. Role of insulin resistance in the pathophysiology of non-insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes Metab Rev.* v.1, p.5S-12S.1993.

REZENDE . F.A, ROSADO L.E, RIBEIRO R.C, VIDIGAL F.C, VASQUES A.C, BONARD I.S, CARVALHO C.R. Body mass index and waist circumference: association with cardiovascular risk factors. *Arq Bras Cardiol.* v.87, n.6, p.728-34.2007.

ROBINETTE e FRAUMENI JR, Splenectomy and subsequent mortality in veterans of the 1939-45 war. **Lancet.** v.16, n.2, p.127-9. 1977.

ROSNER, F, The spleen in the Talmud and other early Jewish Writings. *Bull Hist Med.*;v.46, n.1, p.82-5. 1972.

SAHU A, Resistance to the satiety action of leptin following chronic central leptin infusion is associated with the development of leptin resistance in neuropeptide Y neurones. *J Neuroendocrinol.* Oct; v.14, n.10, p.796-804. 2002.

SCHWARTZ, M.W., PESKIND, E., RASKIND, M., BOYKO, E.J., PORTE, D. Jr. Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. **Nat. Med.** V.2, n. 62, p. 589-593. 1996.

SEGURA MN, MURILLO GE, ROJAS-DOTOR S, RICO G, MARTINEZ HL, SANDOVAL SC., Inflammatory markers associated with asthma and body mass index. *Rev Alerg Mex.* v.54, n.6, p.196-200. 2007.

SETHI, J.K., HOTAMISLIGIL, G.S. The role of TNF- $\alpha$  in adipocyte metabolism. **Semin. Cell Dev. Biol.** V.10, n.6, p.19-29. 1999.

SHOELSOM SE, Banking on ATM as a new target in metabolic syndrome. *Cell Metab.* v.4, n.5, p.337-8. 2006.

SIVITZ, WI, WALSH, SA, MORGAN, DA, THOMAS, MJ, HAYNES, WG. Effects of leptin on insulin sensitivity in normal rats. *Endocrinology.* v.138, n.8, p.3395-401. 1997.

SKANDALAKIS, P.N., COLBORN, G.L., SKANDALAKIS, P.N., RICHARDSON, D.D., MITCHELL, I W.E. Jr, SKANDALAKIS, J.E., The surgical anatomy of the spleen. *Surg Clin North Am.* v.73, n.4, p.747-68. 1993.

STEPHENS, J.M., PEKALA, P.H. Transcriptional repression of the GLUT4 and C/EBP genes in 3T3-L1 adipocytes by tumor necrosis factor- $\alpha$ . **J. Biol. Chem.** v.266, n.23, p.21839-21845. 1991.

STEPHENS, T.W., BASINSKI, M., BRISTOW, P.K., BUE-VALLESKEY, J.M., BURGETT, S.G., CRAFT, L., HALE, J., HOFFMANN, J., HSIUNG, H.M., KRIAUCIUNAS, A., MACKELLAR, W., ROSTECK JR, P.R., SCHONER, B., SMITH, D., TINSLEY, F.C., ZHANG, X.Y., HEIMAN, M. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. **Nature** v.377, n.63, p. 530-532. 1995.

STEPHENSON T, BUDGE H, MOSTYN A, PEARCE S, WEBB R, SYMONDS M.E. Fetal and neonatal adipose maturation: a primary site of cytokine and cytokine-receptor action. *Biochem Soc Trans.* v.29, n. 2, p.80-5.2001.

SWEENEY MI, KALT W, MACKINNON SL, ASHBY J, GOTTSCHALL-PASS KT, Feeding rats diets enriched in lowbush blueberries for six weeks decreases ischemia-induced brain damage. *Nutr Neurosci.* V.5, n.6, p.427-31. 2002.

TELLES-CORREIA D, GUERREIRO DF, COENTRE R, GÓIS C, FIGUEIRA L. Psychopharmacology and metabolic syndrome. *Acta Med Port.* v.21, n.3, p.247-58. 2008.

TILG, H., MOSCHEN, A.R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. **Nat. Rev. Immunol.** V.6 p.772-783. 2006.

UYSAL, K.T., WIESBROCK, S.M., MARINO, M.W., HOTAMISLIGIL, G.S. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF-alpha function. **Nature** v.389: p.610-614. 1994.

VAKKILAINEN, J, STEINER G, ANSQUER J.C, AUBIN F, RATTIER S, FOUCHER C, HAMSTEN A, TASKINEN M.R. Relationships between low-density lipoprotein particle size, plasma lipoproteins, and progression of coronary artery disease: the Diabetes Atherosclerosis Intervention Study (DAIS). *Circulation.* V.8, n.13, p.1733-7. 2003.

VIRCHOW, R. Über blutkörperchenhaltige zellen. **Virchows Arch.** V.4n.43, p.515-540. 1852.

WALLENIUS, V., WALLENIUS, K., AHREN, B., RUDLING, M., CARLSTEN, H., DICKSON, S.L., OHLSSON, C., JANSSON, J.O. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. **Nat. Med.** V.8, n.4, p.75-79. 2002.

WEISS, L., **Cell and tissue Biology** – A textbook of biology, 6<sup>th</sup> ed, Baltimore, 1988. Urban and Schwarzenberg;

WELLEN, K.E., HOTAMISLIGIL, G.S. Inflammation, stress, and diabetes. **J. Clin. Invest.** v.115, n.12, p.1111-1119. 2005.

WILKINS, BS, The spleen. *Br J Haematol.* V.11, n.72, p.265-74.2002.

XU LG, SHU HB. TNFR-associated factor-3 is associated with BAFF-R and negatively regulates BAFF-R-mediated NF-kappa B activation and IL-10 production. *J Immunol.* V. 15, n.12, p.6883-9. 2002.

YAMAUCHI, T., OIKE, Y., KAMON, J., WAKI, H., KOMEDA, K., TSUCHIDA, A., DATE, Y., LI, M.X., MIKI, H., AKANUMA, Y., NAGAI, R., KIMURA, S., SAHEKI, T., NAKAZATO, M., NAITOH, T., YAMAMURA, K., KADOWAKI, T. Increased insulin sensitivity despite lipodystrophy in Crebbp heterozygous mice. **Nat. Genet.** V.30, n.32, p. 221-226. 2002.

YOUNG B., HEATH J. W. **Wheater Histologia functional** – Texto e atlas em cores, 4a ed, Rio de Janeiro, 2001. Guanabara Koogan.

YUAN, M, KONSTANTOPOULOS, N, LEE, J, HANSEN L, LI, Z.W, KARIN, M, SHOELSON, S.E. Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikkbeta. *Science*. V.293 n.5535, p.1673-7.2001.

ZHANG, F., BASINSKI, M.B., BEALS, J.M., BRIGGS, S.L., CHURGAY, L.M., CLAWSON, D.K., DIMARCHI, R.D., FURMAN, T.C., HALE, J.E., HSIUNG, H.M., SCHONER, B.E., SMITH, D.P., ZHANG, X.Y., WERY, J.P., SCHEVTTZ, R.W. Crystal structure of the obese protein leptin-E100. **Nature** v.387 p.206-209. 1997.

ZHANG, Y., PROENCA, R., MAFFEI, M., BARONE, M., LEOPOLD, L., FRIEDMAN, J.M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature** v.372, p.425-432. 1994.

ZICK, Y. Role of Ser/Thr kinases in the uncoupling of insulin signaling. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.** v.27 p.S56-S60. 2003.

ZHOU, Y.T, SHIMABUKURO, M, KOYAMA, K, LEE, Y, WANG, MY, TRIEU, F, NEWGARD, C.B, UNGER, R.H. Induction by leptin of uncoupling protein-2 and enzymes of fatty acid oxidation. *Proc Natl Acad Sci USA*. V.10 n.12 p.6386-90.1997.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)