

O ALOENXERTO DE PELE DIMINUI A FREQUÊNCIA DO CANCRO DA MAMA

Em ratinhos fêmeas irradiadas com Co⁶⁰

W.H. CLODE, M.B. PATRÍCIO, J.A. RICARDO

Biotério e Departamento de Radioterapia do Instituto Português de Oncologia de Francisco Gentil.
Centro Regional de Lisboa.

RESUMO

Ratinhos fêmeas BALB/c em número de 51 foram submetidas a enxertos de pele seguindo uma técnica simples, concebida pelos autores. A pele para o enxerto foi retirada de ratinhos, C57BL/6, machos. Os animais utilizados eram homozigóticos. Os aloenxertos eram rejeitados e a pele do animal receptor cicatrizava. Um mês depois da execução do enxerto os animais foram irradiados com uma dose de 400 cGy de Co⁶⁰. Um grupo controlo de 148 animais da mesma estirpe, sexo e idade, mas sem enxerto, foram irradiados nas mesmas condições. Os animais foram deixados evoluir naturalmente em condições iguais de habitat, alimentação e higiene. O registo dos acontecimentos, particularmente o aparecimento de tumores ou alterações de comportamento sugerindo doença, levavam ao isolamento referenciado dos animais. A morte natural ou provocada pelo éter sulfúrico, ou motivada por doença debilitante, era seguida de necrópsia. A identificação dos animais e todos os dados de interesse como idade, peso, tempo após irradiação e ainda o esclarecimento histopatológico de tecidos alterados pela doença, constituíram os elementos que permitiram a comparação dos dois grupos. Os resultados foram analisados com particular interesse na detecção da patologia neoplásica maligna. Salienta-se que o tumor encontrado em maior número foi o carcinoma da mama e que a diferença entre a frequência deste tumor nos animais com aloenxerto de pele (25%) e os animais do grupo controlo (45%) foi estatisticamente significativa ($p=0,009$). Também foi significativa, nos dois grupos, a maior quantidade de animais que morreram sem patologia tumoral: 18% nos ratinhos com enxerto e 5% nos do grupo controlo ($p=0,0011$). Quanto às restantes patologias neoplásicas não encontramos resultados que diferenciassem significativamente os dois grupos de animais. O tempo de vida dos ratinhos foi semelhante nos dois grupos. Na discussão dos resultados ressaltam três pontos: a) O enxerto de pele, bem conhecido como exemplo de experiências da esfera imunológica, não tem sido utilizado na experimentação da protecção oncogénica, pelo que os resultados relatados despertaram curiosidade acerca da natureza íntima do processo de profilaxia oncológica; b) A irradiação na dose utilizada, como promotora do cancro no ratinho é responsável por numerosas neoplasias malignas com particular frequência no cancro da mama. A protecção dada aos animais irradiados com prévio aloenxerto de pele foi significativamente importante. Foi o cancro da mama o que se revelou mais sensível ao efeito da resposta do hospedeiro ao aloenxerto; c) A reacção do hospedeiro ao aloenxerto de pele desencadeia mecanismos imunitários de histoincompatibilidade que poderão ser semelhantes aos que são desenvolvidos pelas células alteradas na sua constituição fenotípica e genotípica, por factores oncogénicos. A natureza do processo, a avaliar analiticamente, poderá justificar a protecção encontrada neste trabalho como factor preventivo da oncogénese. Em conclusão, o aloenxerto de pele protege ratinhos BALB/c fêmeas, irradiadas com Co⁶⁰, contra o desenvolvimento de neoplasias malignas, com relevância para o cancro da mama.

SUMMARY

Skin Allograft reduced the frequency of Mamary Cancer in Balb/c Female Mice Irradiated with Co⁶⁰

Skin allografts were performed in 51 BALB/c female mice by means of an easy technique devised by the authors. The skin for the allografts was taken from C57BL/6 male mice. All the mice were homozygotic. One month after the graft, the female mice were irradiated with 400

cGy of Co⁶⁰. A control group of 148 female mice belonging to the same strain and with the same age were irradiated in equal conditions. All the animals were observed daily and all the occurrences registered. Dead animals were identified and their necropsies performed. Results were analysed bearing in mind the incidence of malignancy. It was observed that mammary carcinoma was the most frequent solid tumour and that the statistical difference between mice with skin allografts and those of the control group was significant ($p=0,009$). In the two groups studied the difference between dead animals without tumour pathology was also statistically significant ($p=0,0011$). With regard to other neoplastic pathologies, the results were not statistically different between the two groups of animals. According to the literature, skin allografts have not been used in oncogenic protection. However, in this work, irradiated mice proved to be protected against oncogenic effects of Co⁶⁰ radiation, when they had previously received a skin graft. In conclusion, the authors emphasize the protection of skin allograft in BALB/c female mice against the oncogenic effect of Co⁶⁰ radiation in the mice studied, with special significance for mammary carcinoma.

INTRODUÇÃO

A Genética, a Biologia Molecular, a Imunologia, a Bioquímica, a Histoquímica e uma numerosa tecnologia diferenciada, aplicável à microbiologia, levam-nos a uma especificação de conhecimentos e a uma noção generalizada da complexidade do processo de descodificação da Natureza.

A dificuldade de acesso a conhecimentos tão diferenciados não deve ser razão de desmotivação para investigar. Utilizando técnicas acessíveis e possíveis de manuseio procuraremos singrar por meandros ainda por desbravar cujo interesse só se conhece conseguindo percorre-los.

O interesse pela doença oncológica conduz-nos à necessidade de conhecer os mecanismos íntimos da oncogénese e também à necessidade de ter padrões de referência a nível experimental. Estes devem-se ao facto de os estudos no Homem serem morosos e serem difíceis de coligir dados sistemáticos representativos dos acontecimentos.

Esta é a razão da necessidade de estudos de Biologia experimental e do interesse que nos tem despertado a colheita de dados referentes à oncogénese induzida por radiações ionizantes, em ratinhos¹.

Em experiências anteriores verificámos^{2,3} que a radiação do Co⁶⁰, em dose seleccionada, produzia alta frequência de cancro da mama em ratinhos. Estudos vários foram efectuados com o objectivo de tentar obter conhecimentos de mecanismos com acção protectora contra o cancro nos animais irradiados⁴.

A transplantação de tecidos neoplásicos e normais foi também um tema que tem ocupado a nossa atenção.

A transplantação de tumores em ratinhos homocigóticos é de fácil exequibilidade. As passagens de tumores,

particularmente da mama, em séries sucessivas de animais, durante anos, dá-nos oportunidade de planificar ensaios de carácter experimental com a finalidade de conhecer a evolução do cancro em condições pré-estabelecidas.

O sarcoma 37 (S-37), tumor proveniente de um carcinoma da mama de ratinho, utilizado em laboratórios há cerca de 90 anos, é um exemplo da utilização com interesse, tendo em conta os numerosos trabalhos até hoje efectuados.

A evolução recente relativa à transplantação de órgãos no Homem tem contribuído muito para o conhecimento de alguns dos mecanismos bio-histoquímicos do processo de aceitação ou rejeição dos tecidos.

Para nós teve particular interesse a manipulação de enxertos da pele. Estes, em ratinhos, são na aparência um processo simples mas que se complica, na prática. A dificuldade reside na rebeldia dos animais na aceitação de material estranho ao próprio corpo. Várias soluções têm sido propostas com maior ou menor engenho, mas os resultados são pouco gratificantes.

Um método que idealizámos deu-nos possibilidade de obter enxertos de pele com facilidade, rapidez e eficiência, o que nos permitiu obter animais enxertados em quantidade desejável⁵.

Foi com base na experiência dos enxertos de pele que verificámos que o aloenxerto de pele de ratinhos pretos, C57 BL/6, em ratinhos brancos, BALB/c, protegia estes animais da evolução do S-37 inoculado nos animais, um mês após o enxerto. Esta observação levou-nos a elaborar um plano de estudo que correspondeu ao seguinte trabalho: observar a frequência de neoplasias em animais irradiados com e sem aloenxerto de pele.

MATERIAL E MÉTODOS

ANIMAIS UTILIZADOS E CONDIÇÕES DE TRABALHO

Foram utilizados ratinhos (*Mus musculus* Linn.) criados no Biotério do Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil, Centro Regional de Lisboa. Estes animais provieram do Biotério do Instituto Gulbenkian de Ciências de Oeiras e têm-se multiplicado por cruzamento "in bred" há cerca de 20 anos. São animais homozigóticos, característica comprovada pela aceitação de isoenxertos de pele.

Nas experiências utilizaram-se duas estirpes de ratinhos: BALB/c, ratinhos de pêlo branco, e C57 BL/6, ratinhos de pêlo preto.

Os animais em experiência eram mantidos em número de 10 por gaiola.

Quer na reprodução quer posteriormente a nível das experiências, os animais foram diariamente observados e permaneceram sempre em condições de temperatura, humidade e alimentação padronizadas e com uma higiene escrupulosa, dentro da conveniência da experimentação.

A vigilância diária permitia isolar os animais que apareciam doentes. Este cuidado evitava a morte nas gaiolas em comunidade, circunstância que favorecia o desaparecimento dos animais mortos devido a canibalismo, pelo que se perdia a informação da patologia que condicionara a morte.

Os animais que morriam naturalmente e os que foram mortos com éter por estarem gravemente debilitados foram necropsiados. Todos foram devidamente identificados e foram registadas todas as alterações patológicas, bem como o peso, a idade e o tempo decorrido após a irradiação. Fragmentos de tecidos foram extraídos para exame histológico.

O número total de animais utilizados foi de 199, sendo 51 de experiência (grupo de experiência) e 148 testemunhas (grupo controlo). Não estão incluídos os animais dadores do enxerto de pele.

GRUPO DE EXPERIÊNCIA

Este grupo é constituído por 51 fêmeas BALB/c enxertadas com pele proveniente de machos da estirpe C57 BL/6. As fêmeas submetidas ao enxerto tinham idade entre 8 a 10 semanas. Os machos fornecedores do aloenxerto de pele tinham idade entre 8 a 12 semanas.

As fêmeas, depois de feito o enxerto, aguardavam aproximadamente um mês para que se desse a rejeição do mesmo e para que a pele cicatrizasse, sendo posterior-

mente irradiadas, com idade de cerca de 12 semanas.

GRUPO CONTROLO

Este grupo é constituído por ratinhos BALB/c fêmeas irradiadas com idade de cerca de 12 semanas. Compreende um total de 148 animais irradiados nas mesmas condições e que serviram de controlo em mais do que um projecto de investigação, no entanto, considerados em conjunto, como testemunhas, a fim de obter um grupo mais numeroso e permitir uma mais rigorosa avaliação dos resultados.

O ENXERTO

A técnica do enxerto de pele, embora seja teoricamente simples de executar, é, na prática, difícil na obtenção de resultados. A dificuldade reside na resistência que o animal contrapõe ao que no seu corpo lhe é estranho. Com os dentes e com as unhas ele elimina os pensos e os fragmentos de pele enxertados. Há várias soluções propostas para conseguir o enxerto. Todas as aconselhadas foram por nós experimentadas mas a eficácia não foi aliciente, pelo que introduzimos uma nova metodologia simples e com resultados muito bons.

O método por nós efectuado consiste em manter os animais sob acção sedante do decanoato de haloperidol a 5%, diluído em água (uma gota do soluto em cada mililitro de água). Os animais começam a ingerir a solução dois dias antes da execução do enxerto e mantêm-se a beber o sedante durante as 3 semanas seguintes. O enxerto é efectuado sob anestesia com éter sulfúrico. O pêlo do dorso é previamente rapado com lâmina de barbear. A pele é limpa com éter sulfúrico e coberta com adesivo poroso que adere firmemente. Como a pele do dorso é facilmente distensível, ao suspender-se o animal, previamente anestesiado com éter, beliscando o dorso com dois dedos, provoca-se uma prega que se coloca sobre um pequeno estrado de madeira coberto com cartão. Nestas condições aplica-se um punção evacuador, de 10 mm de diâmetro, sobre a pele que é seccionada com uma pancada sobre o punção colocado perpendicularmente à superfície da pele. A pancada pode ser dada com um martelo e imediatamente são retirados dois discos de pele que se destaca aderente ao adesivo. O uso do adesivo impede a retracção da pele quer do fragmento retirado, quer do dorso do animal onde ficam duas superfícies de áreas circulares correspondentes aos discos da pele destacados. Nestas circunstâncias temos, no animal, possibilidade de colocar na área da pele retirada discos de pele exactamente com as mesmas dimensões, retirados de outro animal, conforme o tipo de enxerto que se pretende

efectuar.

Deste modo, neste trabalho, retirámos pele de machos C57BL/6 e colocámos nas superfícies cruentas da pele de ratinhos BALB/c fêmeas, previamente preparadas.

Os enxertos fixam-se com tiras de adesivo poroso, colocadas de modo a envolver, em cinta, todo o animal.

Planificando convenientemente o trabalho, conseguimos em cada fêmea BALB/c colocar dois enxertos de pele de machos C57BL/6 diferentes.

Após esta primeira fase do enxerto os animais são colocados em gaiolas devidamente identificadas. Nestas condições os animais toleram bem a manipulação para se conseguir que o enxerto não seja danificado. Ao fim de 3 semanas liberta-se progressivamente o adesivo de modo que às 4 semanas o animal fica recuperado. Durante este tempo deu-se a rejeição do aloenxerto. Esta rejeição sabemos que se inicia desde o primeiro contacto do enxerto, mas, propositadamente, deixamos o penso o tempo necessário para que o animal se sensibilize e se faça a cicatrização da pele ferida.

Foi assim que obtivemos os 51 animais submetidos ao aloenxerto e posteriormente irradiados. A irradiação foi efectuada sempre após um mês da operação. Este intervalo de tempo foi o considerado conveniente para que o animal produzisse o máximo de defesas a nível imunológico.

IRRADIAÇÃO

A radiação utilizada foi a proveniente de uma fonte de Cobalto (Co^{60}), identificada por Gamatrão II "Siemens Reiniger". Os animais a irradiar eram colocados num dispositivo concebido para este fim: consiste em tubos de plástico transparente, dispostos radiariamente e com diâmetro e comprimento em condições de conter cada animal imobilizado durante a irradiação.

Estabeleceu-se uma dose de irradiação de 400 cGy, dose sub-letal que tínhamos verificado induzir cancro sem alterar significativamente a sobrevivência em relação a animais não irradiados.

Para se obter a dose pretendida de um modo homogéneo, os animais ficavam a uma distância fixa de 130 cm da fonte, com o dispositivo colocado num plano horizontal. O tempo de exposição calculado para obter a dose prevista foi de cerca de 40 minutos, a uma taxa de dose de 16.9 cGy a 100 cm.

RESULTADOS

A descrição dos resultados será feita comparando os valores obtidos no grupo de experiência constituído por animais com aloenxerto de pele e irradiados, com os va-

lores verificados nos animais do grupo controlo, irradiados sem enxerto de pele.

Utilizámos, para análise da significância estatística dos resultados obtidos na população dos animais dos dois grupos, a determinação do valor de p de Fisher.

No Quadro I estão representados os resultados referentes ao diagnóstico atribuído à causa de morte. Há animais que morreram com tumores e outros sem patologia neoplásica evidente e ainda outros com pequenos tumores que nitidamente não foram responsáveis directos pela morte.

Quadro I - Resultados (Números de mortes e sua causa oncológica)

Grupo	Número Animais	Morte sem Tumores	Morte não Tumoral*	Tumor Mama	Doença Linfoproliferativa	Tumor Ovário	Outros Tumores
Experiência	51	9 (18%)	8 (16%)	13 (25%)	10 (20%)	7 (14%)	4 (8%)
Controlo	148	8 (5%)	13 (9%)	67 (45%)	26 (18%)	15 (10%)	19 (13%)

* Animais mortos de causa não tumoral mas com tumores pequenos.

Morreram sem causa tumoral 9 (18%) dos animais da experiência e 8 (5%) dos animais do controlo. Esta diferença de resultados é estatisticamente significativa ($p = 0,011$).

Há animais mortos nos quais, na necropsia, se encontravam pequenos tumores não responsáveis pela morte. No grupo da experiência são 18 (16%), no grupo controlo 13 (9%). Esta diferença de resultados não é significativa ($p = 0,133$).

Quanto ao cancro da mama, o tumor que aparece com mais frequência nos animais irradiados nas condições estabelecidas de trabalho, obtivemos os seguintes resultados: Animais da experiência 13 tumores da mama o que corresponde a 25%; nos animais de controlo 67 tumores da mama o que corresponde a 45%. A diferença relativa à incidência do tumor da mama nos dois grupos é significativa ($p = 0,009$).

A doença linfoproliferativa (DLP) compreende toda a patologia neoplásica maligna do sistema linfático. No grupo da experiência encontramos 10 animais em que a DLP foi causa de morte (20%) enquanto no grupo de controlo o número de animais com DLP foi de 26 (18%). Não existe, diferença significativa entre os resultados referentes à DLP.

Os tumores do ovário como causa de morte foram 7 (14%) no grupo da experiência e 15 (10%) no grupo controlo. Estes valores não se diferenciam estatisticamente ($p = 0,316$).

No Quadro I incluímos numa única coluna os resulta-

dos referentes a outros tumores causadores da morte e que especificamos no Quadro IV. Assim, no grupo da experiência, o total de "outros tumores" é de 4 (8%) enquanto no controlo é de 19 (13%), diferença também não significativa ($p = 0,245$).

Em relação ao cancro da mama, por ser a neoplasia mais frequente, causadora de morte, elaborámos o Quadro II onde se diferenciam os animais que desenvolveram um só tumor, os que desenvolveram dois tumores e os que desenvolveram três tumores da mama, independentes.

Quadro II - Tumores da Mama

Grupos	Animais c/ 1 tumor	Animais c/ 2 tumores	Animais c/ 3 tumores	Total animais c/ tumor	Total Tumores
Experiência n=51	9 (18%)	4 (8%)	—	13 (25%)	17
Controlo n=148	53 (36%)	12 (8%)	2 (1%)	67 (45%)	83

No grupo da experiência existem com um só tumor 9 animais (18%), no grupo controlo 53 animais (36%); com dois tumores da mama independentes existem no grupo da experiência 4 (8%) animais e no grupo controlo 12 (8%); com três tumores da mama independentes só existem 2 animais no grupo controlo. Apenas no grupo de animais com 1 tumor é significativa a diferença de resultados ($p = 0,011$). O total de tumores da mama, resultante da soma de animais com 1 ou mais tumores foi: no grupo da experiência 17 tumores, no grupo controlo 83 tumores.

O tumor do ovário é frequente nos animais irradiados. Os tumores que são causa de morte são raros e não se diferenciam estatisticamente nos dois grupos de animais estudados. Contudo, parece-nos útil descrever no Quadro III a incidência de tumores do ovário não responsáveis directos pela morte dos animais: no grupo da experiência há 18 animais (35%) com tumor do ovário, sendo 9 com um só tumor e 9 com dois tumores o que perfaz um total de 27 tumores do ovário; no grupo controlo há 61 animais (41%) com tumor do ovário sendo 39 (26%) com um só tumor e 22 (15%) com dois tumores, o que perfaz um total de 83 tumores do ovário. Não é significativa a diferença de resultados relativa à incidência deste tumor nos dois grupos estudados ($p = 0,283$).

Quadro III - Tumor do Ovário*

Grupos	Animais	1 Tumor	2 Tumores	Total Tumores
Experiência n=51	18 (35%)	9 (18%)	9 (18%)	27
Controlo n=148	61 (41%)	39 (26%)	22 (15%)	83

* Não causador de morte

Os tumores menos frequentes pertencem a uma patologia dispersa a qual está representada no Quadro IV. Nos animais da experiência há 3 timomas e 1 tumor do pulmão; nos animais do grupo controlo há 7 timomas, 1 tumor do pulmão, 1 tumor das glândulas salivares, 3 tumores do olho, 1 tumor do rim, 1 tumor retroperitoneal, 1 tumor do fígado, 1 tumor do cerebelo, 1 tumor do jejuno, 1 tumor do pâncreas e um tumor da vagina. O conjunto destes tumores perfaz no grupo da experiência 4 (8%) e no grupo controlo 19 (13%), diferença não significativa ($p = 0,245$).

Quadro IV - Outros Tumores

Grupos	Experiência n=51	Controlo n=148
Timoma	3	7
T. Pulmão	1	1
T. Salivar	—	1
T. Olho	—	3
T. Rim	—	1
T. Retroperitoneal	—	1
T. Fígado	—	1
T. Cerebelo	—	1
T. Jejuno	—	1
T. Pâncreas	—	1
T. Vagina	—	1
Total Tumores	4 (8%)	19 (13%)

No que se refere à evolução da vida dos animais dos dois grupos, os valores são sobreponíveis. Assim os animais tiveram um máximo de sobrevivência de 27 meses e o tempo para que as duas populações se reduzissem a metade foi de 16 meses.

Os tumores da mama começaram a aparecer nos dois grupos por volta dos 12 meses de idade ou seja cerca de 9 meses após a irradiação e vão surgindo ao longo do tempo de vida até cerca dos 20 meses.

Os tumores que surgem mais tardiamente nos dois grupos são os tumores do ovário e os que aparecem mais precocemente são os timomas. Quanto às outras neoplasias elas ocorrem ao acaso indiscriminadamente.

DISCUSSÃO

A necessidade de conseguir obter enxertos de pele de uma maneira simples, deu-nos a possibilidade de ter ratiños com aloenxertos nos quais tentámos implantar o sarcoma - 37 (S-37). Verificámos, então, que, nos animais em que o enxerto correspondia a um aloenxerto, o S-37 não se desenvolvia enquanto evoluía nos restantes. Posteriormente, verificámos também que outros tumores originários de carcinomas da mama, conservados por passagens sucessivas em animais homocigóticos, eram também recusados por animais sujeitos a prévio aloen-

xerto. Este facto foi motivo de interesse e de consultas bibliográficas sem que encontrássemos uma resposta esclarecedora do acontecimento - rejeição do tumor.

Pareceu-nos estar na presença de uma pista a explorar e nesse sentido elaborámos vários projectos de trabalho dos quais sobressaiu o que agora apresentamos.

No presente trabalho há três assuntos a considerar na discussão: a) o aloenxerto; b) a oncogénese radiógena; e c) a protecção que o enxerto alogénico pode dar contrariando o desenvolvimento do cancro.

a) O enxerto de tumores experimentais e de órgãos tem interessado aos investigadores, há longos anos. Os tumores experimentais têm sido objecto de vários estudos sistematizados.^{6.7.8}

Os tumores, tal como os tecidos, desenvolvem-se nos animais conforme as características genéticas. Daí os autoenxertos, os isoenxertos, os aloenxertos e os xenoenxertos conforme o enxerto se faz no próprio animal, no animal homozigótico, no heterozigótico ou em animal de espécie diferente. As reacções do hospedeiro foram sendo progressivamente estudadas e, simultaneamente com os tumores, foram estudados os enxertos de órgãos.

No ratinho, por ser um animal de escolha para determinados estudos foi definido em 1936 o Complexo Major de Histocompatibilidade (CMH ou MHC do inglês)⁹. Este conjunto de genes localizado no braço curto do cromossoma 6 permitiu encontrar explicação para muitas observações experimentais então realizadas.

A imunidade humoral e celular integra-se no vasto sistema de aceitação ou rejeição de tecidos e passaram a distinguir-se moléculas e variedades celulares que constituem cadeias envolvidas ou "enredadas" no acontecimento.

No Homem os conhecimentos evoluíram num certo paralelismo, tendo sido encontrado em 1954 o complexo molecular correspondente ao CHM conhecido por HLA (Human Leucocyte Antigen)¹⁰. A partir de então esta molécula tem sido pretexto para compreensão dos mecanismos de aceitação ou rejeição de tecidos a que não é estranho todo o conjunto humoral e celular relacionado com a imunologia de transplantação¹¹.

Acerca dos aloenxertos convirá salientar o grande interesse que houve e há relativo à transplantação de órgãos. É sem dúvida um avanço no conhecimento médico que permite a possibilidade de prolongar a vida pela substituição de um ou mais órgãos cujas funções se exauriram no respectivo portador¹².

Actualmente, só é possível corresponder à numerosa solicitação de substituição de órgãos utilizando aloenxertos (os isoenxertos são a excepção entre gémeos homozigóticos)¹³.

góticos)¹³.

As reacções de rejeição do hospedeiro exigem conhecimentos precisos das características de histocompatibilidade do receptor e do dador¹⁴, as quais não sendo perfeitamente iguais obrigam a superar a intolerância do receptor com medicação imuno-supressora. Esta medicação, por sua vez, provoca, mesmo nas melhores condições de uso, muita morbidade entre a qual está a maior frequência de cancro dos doentes imuno-deprimidos^{15.16.17}.

A comunidade científica tem-se debruçado sobre este assunto^{18.19}. Tomando como palavras chave aloenxerto e cancro, encontramos na bibliografia as atenções dirigidas para a imuno-depressão e o cancro subsequente, mas não para o que no presente trabalho procuramos estudar - a protecção do aloenxerto na incidência do cancro.

b) A radiação ionizante é conhecida desde a sua descoberta como agente indutor do cancro. O conhecimento da acção cancerígena desta radiação é essencial para prevenir a doença em diversas circunstâncias particularmente a nível dos que trabalham ou estão sujeitos à exposição não desejada à mesma. No entanto, o efeito cancerígeno é aproveitado para trabalhos experimentais onde se pretendam conhecer resultados de acordo com planos elaborados, evidentemente com a devida protecção relativa ao experimentador. Isto porque os tumores espontâneos são pouco frequentes e para ter resultados válidos são exigidas populações muito numerosas.

Neste trabalho pretendeu-se obter um confronto de resultados entre animais irradiados nas mesmas condições apenas diferindo, no grupo de experiência, pela implantação prévia de um enxerto de pele alogénico. Os resultados destacam a alta frequência de tumores da mama por acção radiógena e a protecção contra estes tumores obtida nos animais com aloenxerto de pele, além de um maior número de mortes de causa não tumoral nestes animais.

c) Para comentar o resultado da protecção dada pelo aloenxerto aos ratinhos irradiados, teríamos a argumentação facilitada se dispuzéssemos de elementos de biologia molecular, imunologia e possivelmente de genética. Mas, nesta altura do trabalho, apenas dispomos de factos - os resultados - e de dados da literatura que nos poderão orientar na interpretação dos resultados sob a forma de hipótese, pela semelhança da resposta do hospedeiro ao tumor e aos tecidos alogénicos.

As células tumorais são reconhecidas pelos linfócitos TCD8 em presença dos antígenos HLA classe I^{20.21}. O crescimento das células que constituem o tumor é determinado pela genética e pelo sistema imune do hos-

pedeiro o que se traduz na histocompatibilidade. Muitas das moléculas que intervêm no processo de rejeição das células tumorais interaccionam com células, com papel específico, do conjunto diferenciado dos linfócitos T e B.

O aloenxerto de órgãos desencadeia uma reacção imunitária local^{22,23} com característica muito semelhante à que se encontra na reacção do hospedeiro às células tumorais que nele se desenvolvem²⁴. A caracterização das moléculas do sistema imunológico humoral e celular bem como a identificação celular é indispensável para definir com objectividade a justificação dos resultados. Na impossibilidade de os obter para já, resta-nos confiar que as analogias de observações feitas por outros investigadores, como os acima referidos²²⁻²⁴, sirvam de suporte para aceitar os resultados apresentados.

Finalmente, os resultados descritos, relacionados com o cancro da mama e o maior número de animais mortos sem qualquer cancro, sugerem a necessidade de utilizar aloenxertos de outros tecidos a fim de averiguar se estes induzem outras características no hospedeiro que actuem contrariando o aparecimento e/ou a evolução de outras neoplasias malignas.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho não seria possível sem a dedicada colaboração, na criação e manutenção dos animais, das Sras D. Filipa Esteves, D. Elvira Sousa, D. Maria Anália Coimbra e D. Ermezenda Guerreiro. A todas, os nossos agradecimentos. Também agradecemos a colaboração que a Sra. D. Paula Cristina Rodrigues nos prestou na apresentação gráfica do trabalho.

BIBLIOGRAFIA

- PATRÍCIO MB, CLODE WH, RICARDO JA: Estudo da incidência de tumores dependentes da irradiação com Cobalto 60 do corpo inteiro e da metade do corpo do murganho. Evidência de co-factores oncogénicos. *Med. Contemp.* 1973; 90:1-31.
- PATRÍCIO MB, CLODE WH, RICARDO JA: Carcinogénese induzida por radiação gama. Incidência, evolução e aspecto histopatológicos de tumores obtidos por irradiação com Co⁶⁰ da metade direita do murganho fêmea. *Med. Contemp.* 1970;87:33-53.
- PATRÍCIO MB, CLODE WH, RICARDO JA: Co-factores na indução radiogénica de tumores do murganho. *O Médico.* 1975;76:67-71.
- CLODE WH, PATRÍCIO MB, RICARDO JA: Ensaio experimental da vacina contra o cancro. *Jorn. Soc. Cienc. Med. Lisb.* 1973;137:375-85.
- CLODE WH: Protecção de ratinhos contra a evolução do sarcoma 37 inoculado após aloenxerto de pele ou de células de baço. *Resumos III Congresso Ibero-Americano de Oncologia, Porto, 1991.*
- LITTLE CC: The genetics of cancer in mice. *Biol. Rev.* 1947;22:315-31.
- SNELL GD: The genetics of transplantation. *J. Nat. Cancer Inst.* 1953;14:691-704.
- LAW LW: Genetic studies in experimental cancer. *Adv. Cancer Research.* 1954;2:281-352.
- GORER PA: The detection of antigenic differences in mouse erythrocytes by the employment of immune sera. *Br. J. Exp. Pathol.* 1936;17:1108-13.
- DAUSSET TJ: Le système Hu - 1. *Press Med.* 1967;75:2371-74.
- SILVA BM, PORTO MT: Expressão HLA nos tumores. *Rev. Soc. Port. Imunol.* 1996;2(3):5-10.
- MOORE FD: The history of transplantation - A lesson for our time. Chapter I, 3-15. In organ transplantation and replacement. Ed. G. James Cerilli, JB Lippincott Company Philadelphia, 1988.
- CERILLI GJ: Highlights of recent progress in transplantation. Chapter 2, 16-33. In organ transplantation and replacement. Ed. G. James Cerilli, JB Lippincott Company Philadelphia, 1988.
- PROWSE SJ, LAFFERTY KJ: The Normal Immune Response. Chapter 3, 37-66. In organ transplantation and replacement. Ed. G. James Cerilli, JB Lippincott company Philadelphia, 1988.
- LONDON NJ, FARMERY SM, GILES GR: Neoplasia in a renal transplanted population: a comprehensive survey. *Br. J. Cancer.* 1992;66 (suppl.XVII):3.
- PENN I. MALIGNANCY: *Surg Clin North Am* 1994; 74(5):1247-57.
- PENN I: Development of new tumours after transplantation. Chapter 29, 439-44. In organ transplantation and replacement. Ed. G. James Cerilli, JB Lippincott company Philadelphia, 1988.
- BISHOP GA, SUN J, DE CRUZ DJ, ROKAHR KL, SEDGWICK J, SHEIL AG, GALLGHER ND, MC CAUGHAN GW: Tolerance to rat liver allografts, III. Donor cell migration and tolerance-associated cytokine production in peripheral lymphoid tissues. *J. Immunol.* 1996; Jun 15; 156(12):4925-31.
- MONACH PA, SCHREIBER H, ROWLEY DA: CD4+ and B Lymphocytes in transplantation immunity, II. Augment rejection of tumor allografts by mice lacking B cells. *Transplantation.* 1993;55(6): 1356-61.
- BROCKER EB: What's new in the local immune response in cancer? *Pathol Res Pract* 1989; 185(4):529-32.
- SONDEL PM, HANK JA, KOHLER PC, SOSMAN JA, WEIL HG, FISCH P: The Cellular immunotherapy of cancer: current and potential uses of interleukin-2. *Crit. Rev. Oncol. Hemat.* 1989;9(2):125-47.
- LUTERMAN A, CURREN PW: Skin transplantation. Chapter 43, 630-38. In organ transplantation and replacement. Ed. G. James Cerilli, JB Lippincott Company Philadelphia, 1988.
- KRISHNAN G: Are B Lymphocytes involved in allograft/tumor rejection and GVH? *Med. Hypotheses.* 1990;32(1):63-5.
- WALDMANN TA: Clinical Immunology: past, present and future challenges and prospects. *Neth. J. Med.* 1991; 39 (3-4): 322-8.