

IMPLANTE DE CORAÇÃO NO SUBCUTÂNEO DE CAMUNDONGOS ISOGÊNICOS. ESTUDO DE UM MODELO EXPERIMENTAL

JOSÉ LUIZ LAUS

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP
Campus de Jaboticabal

RICARDO RIBEIRO SANTOS

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP

MARCOS ANTONIO ROSSI

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP

MARIA MEIRA OLIVEIRA ROSSI

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP

LAUS, J.L.; SANTOS, R.R.; ROSSI, M.A.; ROSSI, M.M.O.
Implante de coração no subcutâneo de camundongos isogênicos. Estudo de um modelo experimental. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v.28, n.2, p.191-200, 1991.

RESUMO: Objetivou-se estudar um modelo experimental de implante de coração em camundongos, segundo a exequibilidade, cinética pós-operatória, por histopatologia e aplicação prática. Foram empregados animais isogênicos das cepas BALB/c e C57BL/10, fornecidos pelo Biotério do Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da FMRP/USP. Os protocolos experimentais foram conduzidos mediante a execução dos tempos operatórios envolvidos com a técnica e se resumiram na implantação de corações obtidos de doadores recém-natos, para o subcutâneo da região dorsal da orelha externa de receptores singenéticos e não singenéticos adultos. Os resultados obtidos demonstraram, fundamentalmente, boa exequibilidade e êxito nos implantes singenéticos. Nos não singenéticos houve rejeição sistemática. A análise conjunta dos parâmetros estudados permite adiantar a grande utilidade do modelo e os subsídios que trará para estudos futuros no campo da alotransplantação.

UNITERMOS: Implantes, coração; Cirurgia experimental; Camundongos

INTRODUÇÃO

Ao iniciarmos as nossas proposições o faremos lembrando um dos mais notáveis feitos da medicina contemporânea: os transplantes de coração. Teorizados por CARREL; GUTHRIE⁷ (1905) abandonaram os bastidores da experimentação cirúrgica, ganharam os campos da aplicação terapêutica e não fossem os fenômenos de rejeição tecidual, barreiras limítrofes, constituir-se-iam em uma das mais espetaculares descobertas da humanidade.

O fato, aliado a alguns outros, culminou com o grande avanço no campo da imunopatologia, em cujo contexto basicamente se procurou investigar alternativas que minimizassem tais inconvenientes. Assim, prevenir a formação de anticorpos tornou-se uma constante. Descobertas importantes notificaram os valores da radiação ionizante como forma de terapia (HEKTON¹⁸, 1915; MURRAY et al.²⁷, 1960; HAMBURGER et al.¹⁷, 1962; HUME¹⁹, 1968). Surgiram observações sobre a atividade imunossupressora dos corticóides (BILLINGHAM et al.³, 1951; WOODRUFF⁴³, 1957; MERRILL et al.²⁶, 1969).

Drogas antimetabólicas foram igualmente estudadas (CALNE⁵, 1960; SCHWARTZ; DAMESHEK³², 1960) e resultados encorajadores foram obtidos com a azatioprina (CALNE⁶, 1961; ELION et al.¹⁰, 1961; MURRAY et al.²⁸, 1963). Medidas alternativas, baseadas na extração de massas de tecidos linfóides, foram tentadas, contudo, ineficiência e riscos técnicos motivaram seu abandono (STARZL³⁵, 1964). Investigações subseqüentes avaliaram a eficácia do soro antilinfocitário no transplante renal (STARZL et al.³⁷, 1967; TRAEGER et al.³⁹, 1968; SIMMONS et al.³³, 1972), mas dúvidas pertinentes à metodologia de administração e duração do tratamento restringiram o emprego do sal em programas de imunossupressão.

Assim, de todas as variantes tentadas com vistas a imunossuprimir pacientes transplantados, estabeleceu-se que a condição, em particular, requeria o emprego de agentes associados e não de métodos isolados (FRIEDMAN et al.^{12,13}, 1971, 1973). Modelos terapêuticos combinados passaram a ser empregados e a associação do corticóide com a azatioprina tornou-se clássica (CHATTERJEE⁸, 1973). Paradoxalmente, fenômenos reacionais, pertinentes à rejeição hiperaguda, contrapuseram-se à proposição (WILLIAMS et al.⁴¹, 1968; PATEL; TERASAKI³⁰, 1969; BERGENTZ et al.², 1970; LUCAS et al.²², 1970). Com base em tais considerações, estudos direcionados à prevenção do quadro passaram a ser conduzidos. A utilização de fragmentos de imunoglobulina (IgG) digerida pela pepsina (F(ab')₂) e doses adequadas de imunossupressores inespecíficos, mostraram algum resultado (MARTINS et al.²⁵, 1975).

Paralelamente aos fenômenos hiperagudos, quadros agudos de rejeição, incidentes entre a 1^a e 16^a semanas de pós-transplante, ou a qualquer tempo, interrompida a terapêutica imunossupressora, assumiram igual importância (HAMBURGER¹⁶, 1967; BUSCH et al.⁴, 1971). Estatisticamente avaliados, mostraram atingir cerca de 70% de pacientes com rins transplantados (WILLIAMS et al.⁴², 1967; LUCAS et al.²², 1970). Simultaneamente, outras investigações revelaram que apesar de freqüentes, revertiam-se total ou parcialmente em 75% dos casos, aumentadas as doses de corticoterapia (MURRAY et al.²⁸, 1963; STARZL et al.³⁸, 1963; STARZL et al.³⁶, 1964; KOUNTZ; COHN²¹, 1969; LUCAS et al.²², 1970; BELL et al.¹, 1971; VINEYARD et al.⁴⁰, 1974; MARTINS et al.²⁴, 1976; GRAY et al.¹⁵, 1978). Outros fármacos, tais como as actinomicinas C e D, foram propostos para o controle das crises de rejeição aguda (STARZL et al.³⁶, 1964; KOUNTZ; COHN²¹, 1969; LUCAS et al.²², 1970; CHATTERJEE⁸, 1973). Contudo, MAKINODAN et al.²³ (1970) e COLOGNA⁹ (1979) não lograram resultados que permitissem ratificar a preconização. FERRAZ et al.¹¹ (1976) avaliaram comparativamente modelos físicos, químicos e biológicos de imunossupressão e concluíram por seus inúmeros inconvenientes. Estes, por atuarem de maneira inespecífica, proporcionavam a queda não seletiva da resposta imune e dizimavam as defesas orgânicas do paciente.

Ainda que inúmeras pesquisas tenham sido realizadas no campo da imunopatologia dos transplantes, com certeza muitas delas encontraram barreiras circunstanciais quanto à complexidade técnica dos modelos experimentais empregados e, se reportados os trabalhos aqui citados, as razões básicas que justificam as presentes colocações são inequívocas. Quantos foram os que manifestaram dificuldades não apenas na interpretação, como também na discussão dos resultados obtidos no transcorrer de suas pesquisas, sem contar aqueles que, desencorajados, provavelmente abandonaram os seus projetos.

Por razões análogas muitos dos fenômenos envolvidos com as diversas formas de cardiopatia, particularmente a chagásica, em pacientes crônicos transplantados, não foram totalmente explorados. Contribuir para o estudo de tais fenômenos, entende-se, envolveria não somente modelos experimentais sólidos e igualmente fidedignos, mas sobretudo exequíveis. Razões como essas motivaram pesquisas importantes no campo da experimentação cirúrgica. Resultados encorajadores foram obtidos por FULMER et al.¹⁴ (1963) e mais tarde por JUDD; TRENTIN²⁰ (1971) ao avaliarem a técnica de transplante cardíaco em camundongo. Entretanto, o modelo que basicamente se constitui em um implante de coração em tecido

subcutâneo foi, na época, apenas e fundamentalmente empregado no estudo dos mecanismos envolvidos com a histocompatibilidade, em diferentes cepas de camundongos isogênicos quanto aos seus antígenos de Classe I e II, muito ficando por ser explorado. Paradoxalmente, métodos complexos e tecnicamente pouco exequíveis foram e são os habitualmente utilizados. É exemplo a técnica de transplante de coração em ratos proposta por ONO; LINDSEY²⁹ (1969) e exaustivamente empregada por SIMÕES³⁴ (1978) e SANTOS et al.³¹ (1981).

Com base no que foi resgatado, idealizou-se a pesquisa. Esta procura investigar, macro e microscopicamente, a cinética pós-operatória e os padrões fisiológicos e imunológicos de corações implantados, segundo o modelo proposto por FULMER et al.¹⁴ (1963). Com ela objetiva-se, ainda, padronizar e adaptar o procedimento às condições nossas e atuais, para estudos futuros no campo da imunopatologia.

MATERIAL E MÉTODO

1. ANIMAIS

Foram empregados 30 camundongos singenéticos, pertencentes às cepas BALB/c e C57BL/10, obtidos junto ao Biotério de animais isogênicos do Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

2. ESQUEMA DE EXPERIMENTAÇÃO

2.1. Grupo 1 - *Implantes singenéticos*

- Receptores BALB/c (machos) x Doadores BALB/c (machos e fêmeas)
- Receptores BALB/c (fêmeas) x Doadores BALB/c (fêmeas)

2.2. Grupo 2 - *implantes não singenéticos*

- Receptores BALB/c (machos) x Doadores C57BL/10 (machos e fêmeas)
- Receptores BALB/c (fêmeas) x Doadores C57BL/10 (fêmeas)
- Receptores C57BL/10 (machos) x Doadores BALB/c (machos e fêmeas)

Implante de coração no subcutâneo de camundongos isogênicos. ...

- Receptores C57BL/10 (fêmeas) x Doadores BALB/c (fêmeas)

3. TÉCNICA OPERATÓRIA

Animais recém-nascidos foram anestesiados com éter etílico, contidos e submetidos à toracotomia bilateral com rebatimento do gradil torácico cranialmente. Corações obtidos mediante individualização e secção em bloco dos vasos da base, após retirados, foram rapidamente banhados em solução salina estéril, tamponada com fosfato 0,1 M e pH 7,2 (PBS) e implantados em receptores adultos machos e fêmeas.

Camundongos adultos com peso médio de 20 g foram anestesiados com éter etílico, contidos e submetidos ao implante. Os tempos operatórios incluíram incisão cutânea de aproximadamente 3 mm de extensão junto à base da face dorsal de ambas as orelhas externas, com lâmina de barbear, divulsão roma do tecido celular subcutâneo, em direção à extremidade do órgão, implante do coração no leito preparado e compressão das áreas incisadas com pinça anatômica por alguns segundos. Não foram empregadas suturas e a cicatrização das feridas cutâneas se deu por "segunda intenção" (Fig. 1).

4. DELINEAMENTO

4.1. Grupo 1 - Implantes singenéticos

Macroscopia e histopatologia seqüenciais, até 30 dias de pós-operatório, de 40 implantes singenéticos entre camundongos BALB/c.

4.2. Grupo 2 - Implantes não singenéticos

Macroscopia e histopatologia seqüenciais, até 30 dias de pós-operatório, de 20 implantes não singenéticos entre camundongos C57BL/10 e BALB/c.

5. TÉCNICAS DE AVALIAÇÃO

5.1. Avaliação macroscópica

Compreendeu a observação diária de evolução do processo cicatricial junto às feridas cutâneas, aspecto externo dos corações implantados e atividade contrátil de suas miocélulas. Para tanto, eventualmente empregaram-se lupas convencionais.

5.2. Microscopia óptica

Colheita do material, conservação e técnicas de preparação das lâminas seguiram os protocolos. Assim,

conforme os períodos próprios de observação, os animais foram novamente anestesiados com éter etílico e as orelhas, contendo os implantes, amputadas, lavadas em solução isotônica de cloreto de sódio e fixadas em Bouin por 24 horas. Seguindo os procedimentos laboratoriais, após repetidas passagens em álcool com diferentes concentrações (70%, 80%, 90% e 100%), foram submetidas à inclusão em parafina, cortadas a uma espessura de 5 μ m em micrótomo convencional, coradas pelo hemalúmem-eosina e tricrômico de masson, examinadas e fotografadas em fotomicroscópio Zeiss.

RESULTADOS

1. AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

1.1. Grupo 1 - Implantes singenéticos

Nas primeiras 24 horas de pós-operatório pôde-se constatar, em todos os implantes e nas regiões circunvizinhas a eles, reação inflamatória com focos de necrose e, junto ao pavilhão auricular, sensibilidade exacerbada. Não obstante, no decurso de 3 dias, as regiões apresentaram aspecto de organização evoluindo para a normalidade e, ao final de 7 dias, os corações implantados já se encontravam integrados ao organismo receptor.

Quanto à atividade contrátil da musculatura cardíaca, esta teve início em períodos variáveis entre 7 e 21 dias após o implante e não necessariamente em ambas as orelhas. De todos os implantes avaliados nestes tempos, 70% apresentaram contrações miocárdicas. Os restantes, ou necrosaram e foram absorvidos ou mantiveram-se com aparente aspecto de integridade, porém sem atividade contrátil visualizável macroscopicamente.

Outrossim, pôde-se verificar que nos implantes em que as contrações foram notificadas, o fenômeno se manteve no decurso de todo o período de avaliação. Apenas a título de interesse pessoal, alguns animais implantados foram mantidos por até 9 meses e nestes, a contratilidade perdurou.

Embora tivessem sido realizados implantes bilaterais, o sucesso de um deles não necessariamente implicou no mesmo na face contralateral e vice-versa.

1.2. Grupo 2 - Implantes não singenéticos

Ao tempo dos 3 primeiros dias o quadro macroscópico não divergiu do grupo anterior (Implantes singenéticos). Nos subseqüentes o quadro inflamatório perpetuou culminando com a morte e absorção dos enxertos e em período nunca superior a 30 dias. Não

foram notificadas atividades contráteis e a somatória dos fenômenos compatibilizou um quadro de rejeição tecidual.

2. MICROSCOPIA ÓPTICA

2.1. Implantes singenéticos

Nos 3 primeiros dias de pós-implante verificou-se infiltrado multifocal predominantemente constituído por polimorfonucleares neutrófilos apresentando, de permeio, miocélulas normais, outras em necrose e, às vezes, micro-abscessos.

Decorridos os períodos iniciais, o infiltrado celular foi progressivamente diminuindo, com predomínio de células mononucleares e áreas de fibrose. Miocélulas iniciaram organização centrípeta entremeada por nítida neoformação vascular, já bem constituída no decurso de 15 dias (Fig. 2).

2.2. Grupo 2 - Implantes não singenéticos.

Nos 3 dias iniciais, os aspectos observados foram similares aos do grupo anterior. Não obstante, com o evoluir o infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos foi rápida e progressivamente substituído por mononucleares com proliferação fibroblástica. Miofibras encontradas em permeio ao infiltrado inflamatório passaram a exibir graus variados de degeneração, com substituição por intensa fibrose.

DISCUSSÃO

Tendo em vista os objetivos da pesquisa que fundamentalmente se voltaram ao estudo de um modelo experimental de implante de coração, serão discutidos apenas os aspectos relacionados ao proposto, razão pela qual parte da literatura introduzida, que procurou historiar assuntos relativos à alotransplantação e mecanismos de imunossupressão, não será aqui mencionada.

A opção pelo estudo da técnica de implante de coração em camundongos, proposta por FULMER et al.¹⁴ (1963), atingiu plenamente os objetivos. É fato que sofreu algumas modificações, mas estas foram imprimidas por razões próprias que passarão a ser descritas. Inicialmente, selecionaram-se os doadores e, ao contrário do modelo original propondo a utilização principalmente de fetos "a termo", sistematizou-se empregar apenas animais recém-nascidos. A decisão se deu tendo em vista estudos pilotos que demonstraram que corações obtidos de animais recém-natos: até o 4^o dia de vida, apresentavam comportamento evolutivo comparável

àqueles oriundos de fetos, encurtando os tempos cirúrgicos e mantendo vivas as matrizes.

Ainda em investigações preliminares, padronizou-se a forma de implantação. Para tanto, foram avaliados implantes não só de fragmentos de coração, mas também da massa total do mesmo. A utilização de porções fragmentadas (FULMER et al.¹⁴, 1963) foi exaustivamente avaliada por JUDD; TRENTIN²⁰ (1971) que passaram a preconizá-la, tendo em vista o sucesso obtido. Paradoxalmente, a comparação preliminar entre as duas formas possibilitou constatar que fragmentos de tecido cardíaco, nem sempre se compoem de um mesmo tamanho e diferentes quanto às qualidades de tecido atrial ou ventricular, introduziram variáveis que dificultavam a análise dos resultados. De outra forma, o emprego do coração "em bloco", que passou a ser adotado, além de excluir tais inconvenientes, facilitou a prática operatória e permitiu um curto espaço de tempo entre a retirada do órgão do animal doador e o término do implante, evitando a necessidade de perfusão do mesmo que, dadas as condições anatómicas, seria praticamente impossível.

Em todos os implantes os corações foram obtidos de doadores machos e fêmeas e implantados em receptores adultos. Quando estes eram machos não se fazia objeção quanto ao sexo dos doadores, todavia se os receptores eram fêmeas os doadores também o eram. Ainda que alguns trabalhos não tivessem demonstrado inter-relação quanto ao sexo que comprometesse o êxito da técnica JUDD; TRENTIN²⁰ (1971), a medida pretendeu excluir a possibilidade de rejeição dependente da variável de histocompatibilidade do Sistema H_Y.

Finalmente, a fim de se excluir outras variáveis, sistematizou-se realizar os implantes em ambas as orelhas, o que possibilitou duplicar a amostragem e o uso de um dos enxertos como controle do contralateral. Estes aspectos foram de grande significância e igualmente efetivos, principalmente no estudo dos aloimplantes e os padrões de rejeição. Não menos, o foram na confirmação da isogenicidade nos implantes singenéticos, possibilitando afirmar que nestes os insucessos de alguns enxertos se deram por mera condição circunstancial, pois ocorreram em apenas uma das orelhas. Não houve casos de insucesso em ambas.

A obtenção de êxito em 70% dos implantes isogênicos, resultado similar ao obtido por FULMER et al.¹⁴ (1963) e JUDD; TRENTIN²⁰ (1971) confirmou que as modificações imprimidas no modelo original não influenciaram de forma negativa. Ao contrário, não tendo elas alterado suas qualidades e ao mesmo tempo facilitado a execução das manobras, acredita-se, os objetivos foram plenamente alcançados. Da mesma forma nos implantes não singenéticos, pois possibilitaram análise comparativa dos padrões de rejeição.

Implante de coração no subcutâneo de camundongos isogênicos. ...

Quanto às atividades contráteis, estas se iniciaram precocemente, se comparadas aos implantes originais de FULMER et al. ¹⁴ (1963) e os que se seguiram de JUDD; TRENTIN ²⁰ (1971). Todavia, a apresentação temporal com que se mantiveram foi de certo modo igual. Não se pode aferir as razões determinantes.

Relativamente à apresentação macroscópica da contratilidade, a manifestação, em alguns casos, focal dos batimentos, sugere colônias de miocélulas em atividade e outras não. O fenômeno pode ser considerado como decorrente da natureza da técnica que fundamentalmente se constitui em uma cultura "in vivo" de células. Estes achados estão concordantes com os trabalhos originais.

Comparando as características do modelo com outras técnicas experimentais para o estudo "in vivo" de alotransplantes, é possível afirmar que a metodologia e a fidedignidade deste se destacaram. SIMÕES ³⁴ (1978) e SANTOS et al. ³¹ (1981) estudaram transplantes de corações em ratos e encontraram dificuldades importantes na execução. É fato que trabalharam com imunopatologia da cardiopatia chagásica e não apenas com o modelo em si, todavia é sábio que este, ainda que de grande utilidade, é oneroso, demorado e tecnicamente difícil de ser confeccionado, o que não ocorre com o modelo no camundongo.

Resta discutir as razões pelas quais os implantes não vascularizados sobreviveram e exibiram atividade. Sendo os corações obtidos de animais recém-natos, as miocélulas, ainda não bem diferenciadas, mantiveram-se temporariamente nutridas por embebição e mais tarde por neoformação vascular.

Finalmente, chama a atenção que o modelo propiciou o estudo macroscópico da sobrevivência dos implantes, o que sem dúvida o valoriza e o coloca como uma proposição experimental de grande utilidade no campo da imunopatologia.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com os protocolos experimentais permitem admitir que:

- o modelo experimental de implante de coração no camundongo é técnica exequível e não requer sofisticções;
- por tratar-se de um procedimento "in vivo" é de grande fidedignidade;

- as modificações imprimidas, relativamente à técnica original, facilitaram a execução das manobras e a interpretação dos resultados;
- os objetivos contidos nas proposições iniciais foram plenamente alcançados.

AGRADECIMENTOS

A Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

LAUS, J.L.; SANTOS, R.R.; ROSSI, M.A.; ROSSI, M.M.O. Heart implantation in subcutaneous tissue of isogenic mice. Study of an experimental model. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v.28, n.2, p.191-200, 1991.

SUMMARY: An experimental model of heart implantation in mice was studied, in accordance to the feasibility, post-surgical kinetics by histopathology and practical application. Isogenic animals from BALB/c and C57BL/10 strains were used, supplied by the Animal House of the Department of Parasitology, Microbiology and Immunology of FMRP-USP. The experimental protocols were performed according to the operatory steps of the implantation of hearts extracted from just-born donors to the subcutaneous space of the dorsal face of the ear of adult singeneic and non singeneic receptors. Obtained results showed, basically, good feasibility and success in singeneic implantation. For non singeneics, there was systematic rejection. The analysis altogether of the studied parameters allows to foresee the great utility of the model and the subsidies that will bring to further studies in the field of alotransplantation.

UNITERMS: Implantation of heart; Experimental surgery; Mice

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01-BELL, P.R.F.; CALMAN, K.C.; WOOD, R.F.M.; BRIGGS, J.D.; PATON, A.M.; MacPHERSON, S.G.; KYLE, K. Reverseal of acute clinical apud experimental organ rejection using large doses of intravenous prednisolone. *Lancet*, v.1, p.876, 1971.

Braz. J. vet. Res. anim. Sci., São Paulo, v.28, n.2, p.191-200, 1991.

- 02-BERGENTZ, S.E.; OLANDER, R.; KUSSMEYER-NIELSEN, F.; OLSEN, T.S.; HOOD, B. Hyperacute rejection of kidney allograft. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, v.4, p.143, 1970.
- 03-BILLINGHAM, R.E.; KROHN, P.L.; MEGAWAR, P.B. Effect of cortisone on survival of skin homograft in rabbits. *Brit. med. J.*, v.1, p.1157, 1951.
- 04-BUSCH, G.J.; GALVANEK, E.G.; REYNOLDS, E.S. Human renal allograft. Analysis of lesions in long-term survivors. *Hum. Path.*, v.2, p.253, 1971.
- 05-CALNE, R.Y. The rejection of renal homografts inhibition in dogs with 6MP (Preliminary communication). *Lancet*, v.1, p.417, 1960.
- 06-CALNE, R.Y. Inhibition of rejections of renal homografts in dogs by purine analogues. *Transplant. Bull.*, v.28, p.445, 1961.
- 07-CARREL, A.; GUTHRIE, C.C. The transplantation of veins and organs. *Amer. Med.*, Philadelphia, v.10, p.1101, 1905.
- 08-CHATTERJEE, S.N. Antirejection drugs and procedures. *Amer. J. Surg.*, v.126, p.678, 1973.
- 09-COLOGNA, A.J. *Influência de alguns esquemas de imunossupressão na sobrevivência de alotransplante de órgãos: estudo clínico e experimental.* Ribeirão Preto, 1979. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- 10-ELION, G.B.; CALLAHAN, S.; BIEBER, S.; HITCHINGS, G.H.; RUNDLES, R.W. A summary of investigations with 6-(1-metil-4-nitro-5-inidazolyl) thio purine (B.W. 57.322). *Cancer Chemother. Rep.*, v.14, p.93, 1961.
- 11-FERRAZ, A.S.; MARTINS, A.C.P.; BECKER, P.F.L.; MARQUES, M.M.A.; SUAID, H.J.; CICONELLI, A.J. Criptococose (torulose) disseminada pós-transplante renal. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v.18, p.120, 1976.
- 12-FRIEDMAN, E.A.; GELFOND, M.; BERNHEIMER, H.P. Effect of methylprednisolone, azathioprine, chlorambucil, and radiation of tatanus antitoxin production. *Transplantation*, v.11, p.479, 1971.
- 13-FRIEDMAN, E.A.; UENO, A.; BYER, M.M.; NICASTRI, A.D. Effect of azathioprine, cyclophosphamide, and methy-prednisolone on rabbit renal allografts. *Transplantation*, v.15, p.619, 1973.
- 14-FULMER, R.I.; CRANER, A.T.; LIEBELT, R.A.; LIEBELT, A.G. Transplantation of cardiac tissue into the mouse ear. *Amer. J. Anat.*, v.113, p.273, 1963.
- 15-GRAY, D.; SHEPHERD, H.; DAAR, A.; OLIVER, D.O. Oral versus intravenous high-dose steroid treatment of renal allograft rejection. *Lancet.*, v.1, p.117, 1978.
- 16-HAMBURGER, J. A reappraisal of the concept of organ "rejection" based on the study of homotransplanted kidneys. *Transplantation*, v.5, p.870, 1967.
- 17-HAMBURGER, J.; VAYSSE, J.; CORNIER, J.; AVVERT, J.; LALANE, C.W.; HAPPER, J. Renal homotransplantation in man after radiation of the recipient. *Amer. J. Med.*, v.32, p.854, 1962.
- 18-HEKTON, L. The influence of X-ray in the production of antibodies. *J. infect. Dis.*, v.17, p.415, 1915.
- 19-HUME, D.M. Kidney transplantation. In: RAPPAPORT, F.T.; DANSSET, J., ed. *Human transplantation.* New York, Grune and Stratton, 1968.
- 20-JUDD, K.P.; TRENTIN, J.J. Effect of continuous-immunosuppressive therapy on the survival of H-2-incompatible allografts. *Transplantation*, v.11, p.303, 1971.
- 21-KOUNTZ, S.L.; COHN, R.B. Initial treatment of renal allografts with large intra-renal doses of immunosuppressive drugs. *Lancet*, v.1, p.338, 1969.
- 22-LUCAS, Z.J.; PALMER, J.M.; PAYNE, R.; KOUNTZ, S.L.; COHN, R.B. Renal allotransplantation in humans. Systemic immunosuppressive therapy. *Arch. Surg.*, v.100, p.113, 1970.
- 23-MAKINODAN, T.; SANTOS, G.W.; QUINN, R.P. Immunosuppressive drugs. *Pharmacol. Rev.*, v.22, p.189, 1970.
- 24-MARTINS, A.C.P.; COLOGNA, A.J.; CICONELLI, A.J.; SUAID, H.J.; KIMASHI, T.; CORREIA, L.A. Rejeição de alotransplantes renais em 33 pacientes. *Rev. Ass. Med. Bras.*, v.22, p.323, 1976.
- 25-MARTINS, A.C.P.; WREN, S.F.; BUSCH, G.J.; MacPHERSON, S.G.; von HAEFEN, U.; WILSON, R.E. Prevenção de rejeição hiperaguda ativa de alotransplantes renais em primatas pelo

Implante de coração no subcutâneo de camundongos isogênicos. ...

tratamento com F(ab')₂ e imunossupressão aguda. *Rev. Ass. Med. Bras.*, v.2, p.259, 1975.

- 26-MERRIL, J.P.; MURRAY, J.E.; HARRISON, J.H.; FRIEDMAN, E.A.; DEALY JUNIOR, B.V.; DAMMIN, G.J. Successful homotransplantation of the kidney between non-identical twins. *New Engl. J. Med.*, v.262, p.1251, 1969.
- 27-MURRAY, J.E.; MERRIL, J.P.; DAMMIN, G.H.; DEALY JUNIOR, B.J.; WALTER, C.W.; BROOKE, M.S.; WILSON, R.E. Study on transplantation immunity after total body irradiation: clinical and experimental investigation. *Surgery*, v.48, p.272, 1960.
- 28-MURRAY, J.E.; MERRIL, J.P.; HARTWEL, J.; HARRISON, J.H.; WILSON, R.E.; DAMMIN, G.H. Prolonged survival of human kidney homografts by immunosuppressive drug therapy. *New Engl. J. Med.*, v.268, p.1315, 1963.
- 29-ONO, K.; LINDSEY, E.S. Improved technique of heart transplantation in rats. *J. thorac. cardiovasc. Surg.*, v.57, p.225-9, 1969.
- 30-PATEL, R.; TERASAKI, P.I. Significance of the positive cross-match test in kidney transplantation. *New Engl. J. Med.*, v.280, p.735, 1969.
- 31-SANTOS, R.R.; SIMÕES, J.C.; SILVA, J.S.; MARTINS, A.C.P. Doença de Chagas experimental: imunopatologia de corações normais transplantados em ratos isogênicos chagásicos crônicos. *Rev. goiana Med.*, v.27, p.35-51, 1981.
- 32-SCHWARTZ, R.; DAMESHEK, W. The effects of 6-mercaptopurina on homograft reaction. *J. clin. Invest.*, v.39, p.952, 1960.
- 33-SIMMONS, R.L.; MOBERG, A.W.; GEWRZ, H.; SOLL, R.; RALLENT, M.B.; NAJARIAN, J.S. Immunosuppressive assay of antilymphoblast globulin in man: effect of dose histocompatibility and serologic response to horse gamma globulin. *Surgery*, v.68, p.61, 1972.
- 34-SIMÕES, J.C. *Transplante de coração em ratos isogênicos: imunopatologia de corações normais transplantados em ratos chagásicos crônicos.* Ribeirão Preto, 1978. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- 35-STARZL, T.E. Role of excision of lymphoid masses in attenuating the rejection process. In: EXPERIENCE in renal transplantation. Philadelphia, W.B. Saunders, 1964.
- 36-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L.; HOLMES, J.H.; WADDELL, W.R. The incidence, cause and significance of immediate and delayed oliguria or anuria after human renal transplantation. *Surg. Gynec. Obstet.*, v.118, p.819, 1964.
- 37-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L.; PORTER, K.A.; IWASAKI, Y.; CERILLI, J. The use of heterologous antilymphoid agents in renal and liver homotransplantation. *Surg. Gynec. Obstet.*, v.124, p.301, 1967.
- 38-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L.; WADDELL, W.R. The reversal of rejection in human renal homografts with subsequent development of homograft tolerance. *Surg. Gynec. Obstet.*, v.117, p.385, 1963.
- 39-TRAEGER, J.; PERRIN, J.; FRIED, D.; CARRAZ, M.; SAMBIE, E.; BOUNET, P.; ARCHIBAND, J.P.; BERNHART, J.P.; BROCHIER, J.; BETUEL, H.; VEYSSERE, C.; BRYON, P.A.; PRÉVOT, J. Serum antilymphocyte: resultats cliniques obtenus dans la transplantation rénales per l'utilisation de globulines antilymphocytaires. *Presse med.*, v.76, p.151, 1968.
- 40-VINEYARD, G.C.; FADEM, S.Z.; DMOCHOWAKI, J.; CARPENTER, C.B.; WILSON, R.E. Evaluation of corticosteroid therapy for acute renal allograft rejection. *Surg. Gynec. Obstet.*, v.138, p.225, 1974.
- 41-WILLIAMS, G.M.; HUME, D.M.; HUDSON, R.P.; MORRIS, P.J.; KANO, K.; MILGRON, F. "Hyperacute" renal homograft rejection in man. *New Engl. J. Med.*, v.279, p.611, 1968.
- 42-WILLIAMS, G.M.; WHITE, H.J.; HUME, D.M. Factors influencing the long-term functional success rate of human renal allografts. *Transplantation*, v.5, p.837, 1967.
- 43-WOODRUFF, M.F.A. Post-partum induction of tolerance to homologous skin in rats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v.64, p.792, 1957.

Recebido para publicação em 12/04/91

Aprovado para publicação em 19/08/91

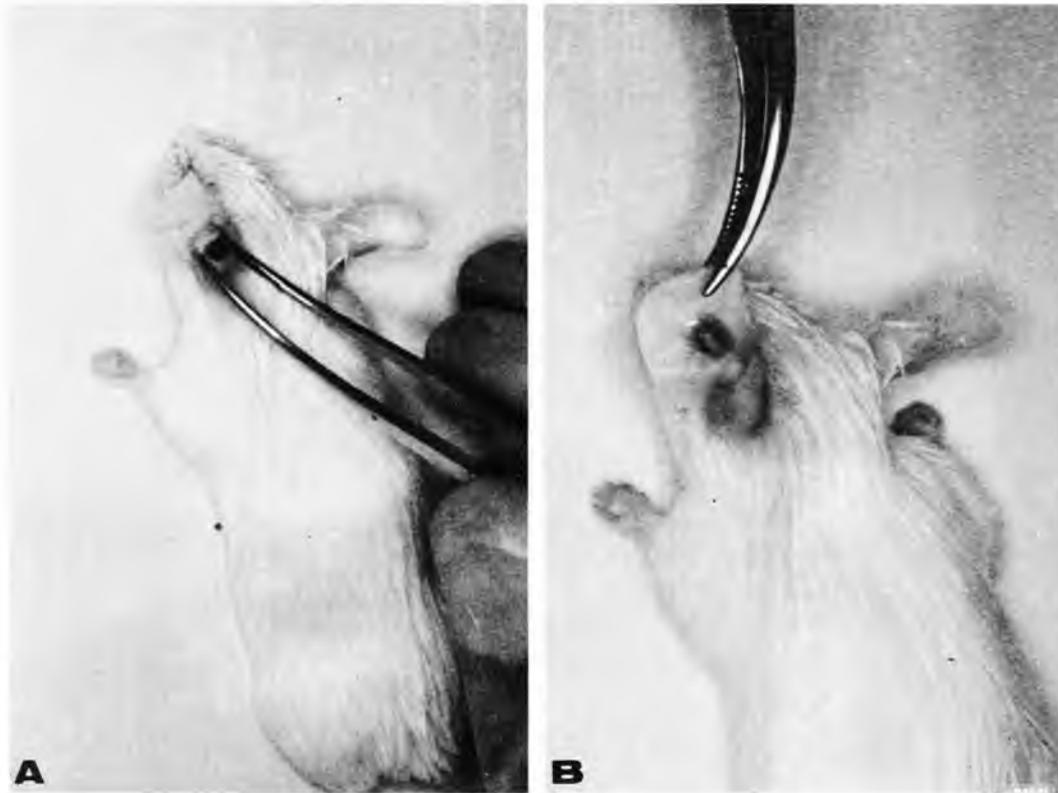


FIGURA 1 – Imagem fotográfica representativa dos tempos operatórios relativos ao modelo experimental.
A – Implante do coração junto ao leito receptor; B – Procedimentos técnicos concluídos.

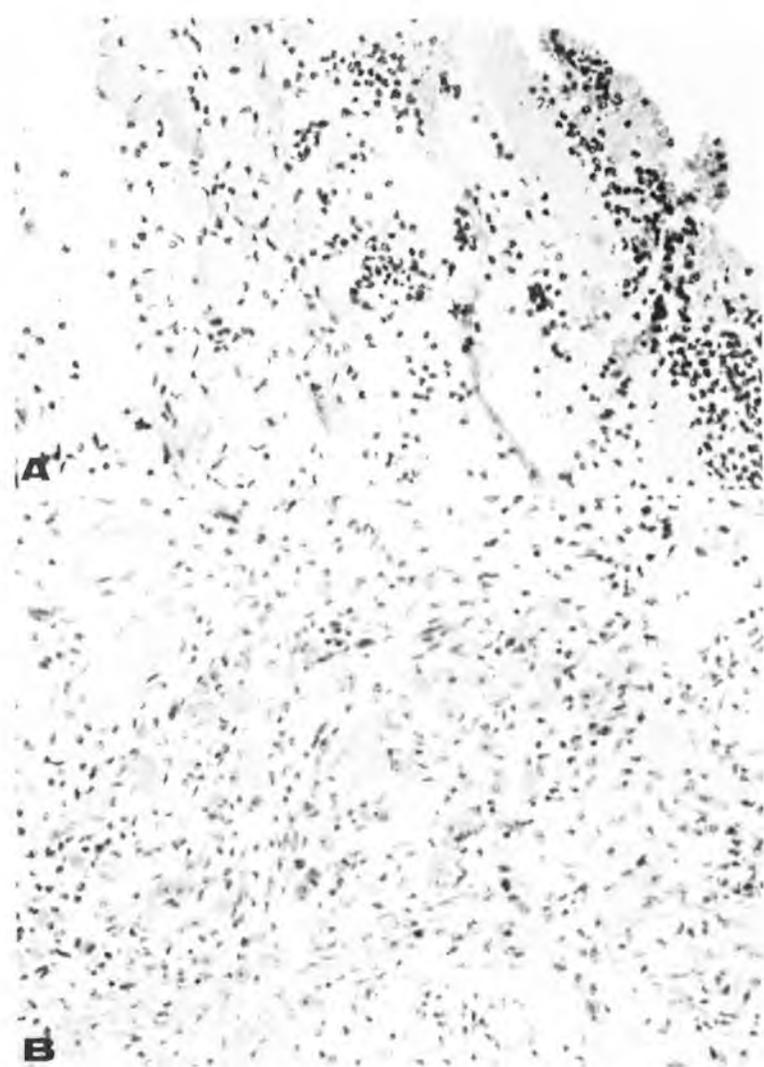


FIGURA 2 – A– Aspecto de corte de coração 24 horas após o implante, em receptor singênico normal. Infiltrado difuso de polimorfonucleares neutrófilos entremeando miofibras. Coloração pela hematoxilina e eosina (100x). B– Aspecto de corte de coração 4 dias após o implante, em receptor singênico normal. Infiltrado difuso com predomínio de células mononucleares entremeando miofibras. Coloração pela hematoxilina e eosina (100x).