

ATROFIA DO TIMO EM ANIMAIS COM TUMORES MALIGNOS * 1

I. BALLINI KERR ** ***

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

SUMÁRIO: Foi feito um estudo do timo durante a evolução de dois tumores experimentais, transplantáveis em ratos.

Verificou-se uma queda de peso do órgão, associada a um desaparecimento gradual dos linfócitos.

Foi discutida a hipótese da migração destas células para o baço e gânglios linfáticos.

O TIMO é um órgão cuja estrutura apresenta variações que dependem da idade e das condições gerais do organismo. Em condições normais, alcança seu maior tamanho na puberdade e, em seguida, sofre um processo gradativo e contínuo de involução, que se prolonga por toda a vida. Sérias doenças, porém, podem acelerar este processo.

Estudos experimentais, realizados em animais portadores de neoplasias malignas, têm revelado com certa frequência a atrofia deste órgão. Contudo, a interpretação deste fenômeno continua em discussão (4, 6, 8, 9, 11, 12, 17, 22, 23, 24, 25, 30, 32).

O presente trabalho é uma análise das modificações do timo durante a evolução de dois tumores experimentais, transplantáveis em ratos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados ratos da linhagem pura August, machos, com aproximadamente 3 meses de idade e pesando em média 130 g. Durante a experiência, os animais foram mantidos em condições normais de alimentação.

Os tumores usados foram o sarcoma de Yoshida e um hepatoma, ambos na forma sólida e implantados subcutaneamente na região posterior do tórax, pela técnica do trocar.

O sarcoma de Yoshida é um tumor inespecífico, muito virulento, tornando-se palpável já no terceiro dia após o transplante, levando o animal à morte entre o 15.^o e o 20.^o dias.

O hepatoma é um tumor isólogo, originariamente espontâneo, encontrado no fígado de um rato da linhagem August em 1957, pelo Dr. J. P. Guimarães, neste Instituto, e desde então mantido através de transplantes subcutâneos sucessivos em

1 Recebido para publicação a 1 de março de 1972.

* Seção de Fisiopatologia da Divisão de Patologia. Instituto Oswaldo Cruz. Caixa Postal 926. Rio de Janeiro. GB - Brasil.

** Bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas. Rio de Janeiro.

*** Pesquisador em Biologia do Ministério da Saúde. (I.O.C.).

animais da mesma linhagem. É um tumor de crescimento lento, tornando-se palpável entre o 10.^o e 12.^o dia após o enxerto, permitindo ao animal uma sobrevivência de aproximadamente dois meses.

O sarcoma de Yoshida foi implantado em 75 ratos, e o hepatoma em 44. Os animais portadores do sarcoma de Yoshida, foram sacrificados diariamente em grupos de 5, do primeiro ao 15.^o dia, e os que receberam o hepatoma, em grupos de 4, com intervalos de 5 dias, do 5.^o ao 55.^o dia após os transplantes.

Dias de evolução dos tumores	Peso dos Timos (mg) (Valores médios)	
	Tumores	
	S. Yoshida	Hepatoma
0 (controles)	130	130
1	132	—
2	124	—
3	119	—
4	126	—
5	137	135
6	112	—
7	98	—
8	76	—
9	55	—
10	48	140
11	42	—
12	60	—
13	59	—
14	53	—
15	57	138
20	—	113
25	—	99
30	—	78
35	—	69
40	—	53
45	—	36*
50	—	32**
55	—	27**

Fig. 1

Variação de peso dos timos durante a evolução do sarcoma de Yoshida e hepatoma

Cada asterisco (*) representa um timo atrofiado.

Para os dois grupos, foram também sacrificados ratos normais da mesma partida, servindo de testemunhas.

Cada animal, após ter sido sacrificado, foi pesado e o timo logo em seguida removido e imediatamente pesado com aproximação de 1 mg. Posteriormente, foi calculada a média aritmética dos timos de cada grupo. (Figs. 1, 2 e 3).

Para o estudo histológico, os timos depois de pesados, foram fixados em formol neutro a 10%, incluídos em parafina e cortados com 4 micra de espessura, sendo os cortes corados pela hematoxilina-eosina, e pelos métodos de Brachet (verde de metila-pironina), azul de toluidina e tricrômico de Gomori.

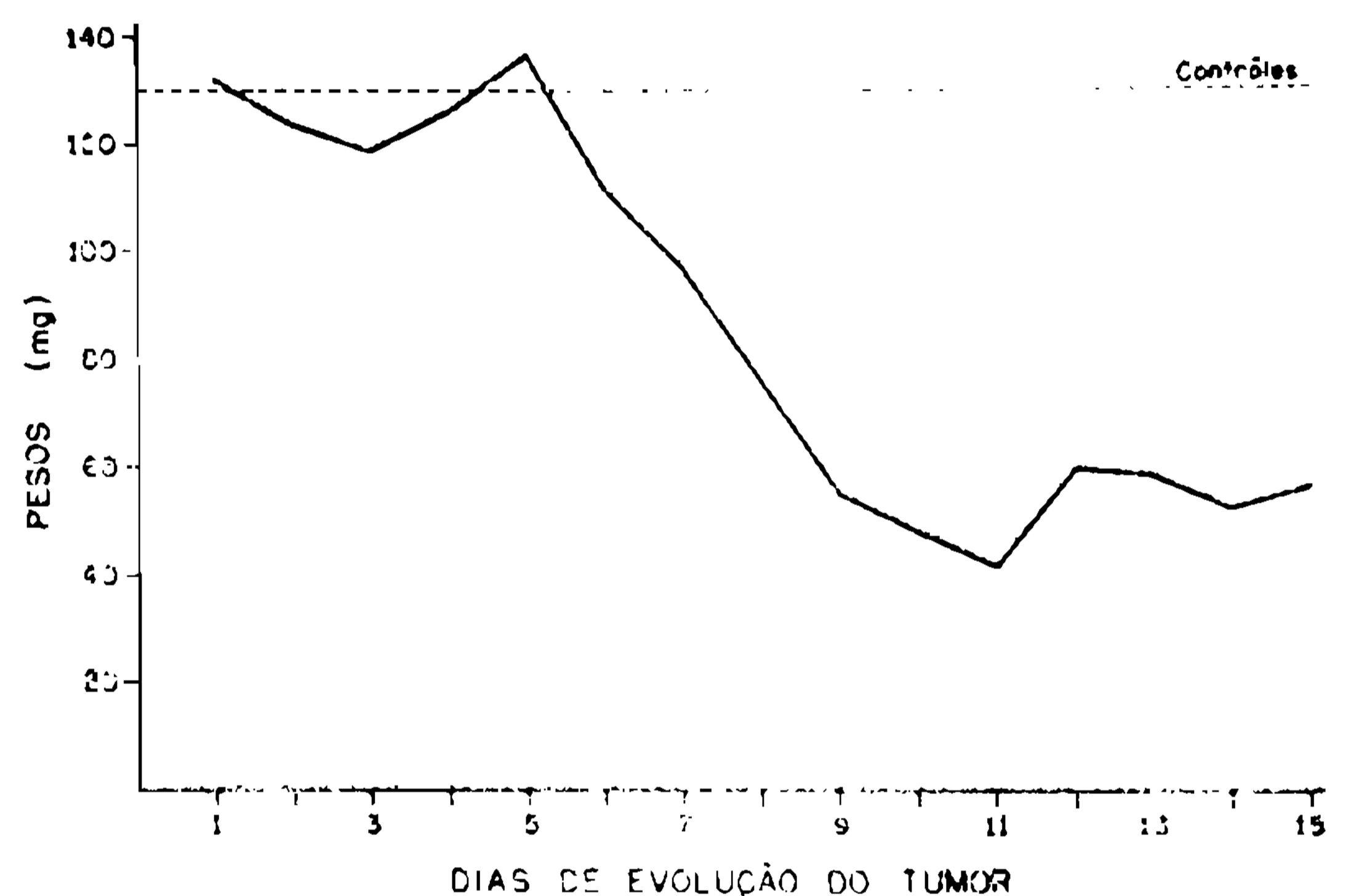


Fig. 2

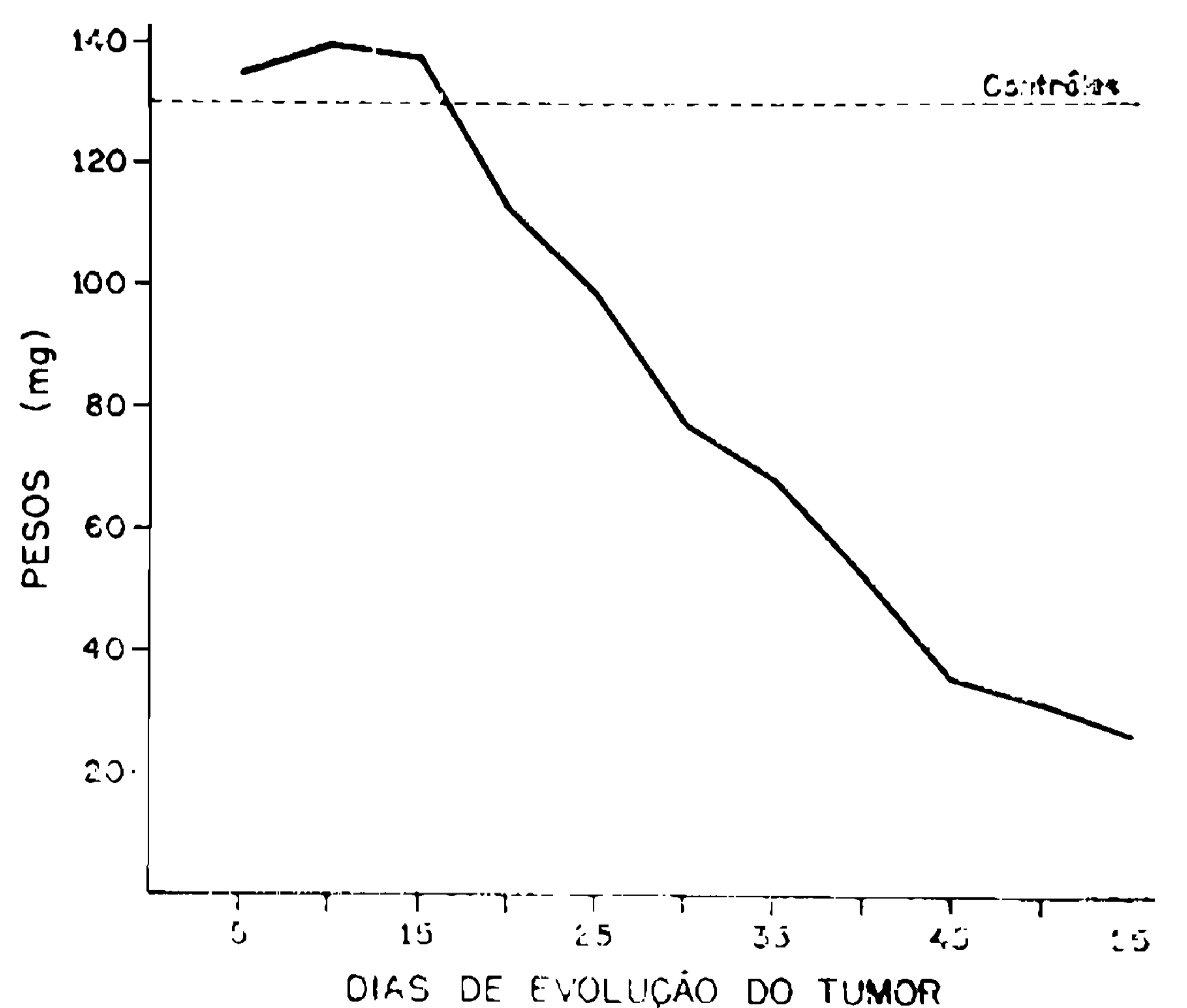


Fig. 3

Gráficos representativos da variação de peso dos timos durante a evolução do sarcoma de Yoshida (Fig. 2) e do hepatoma (Fig. 3).

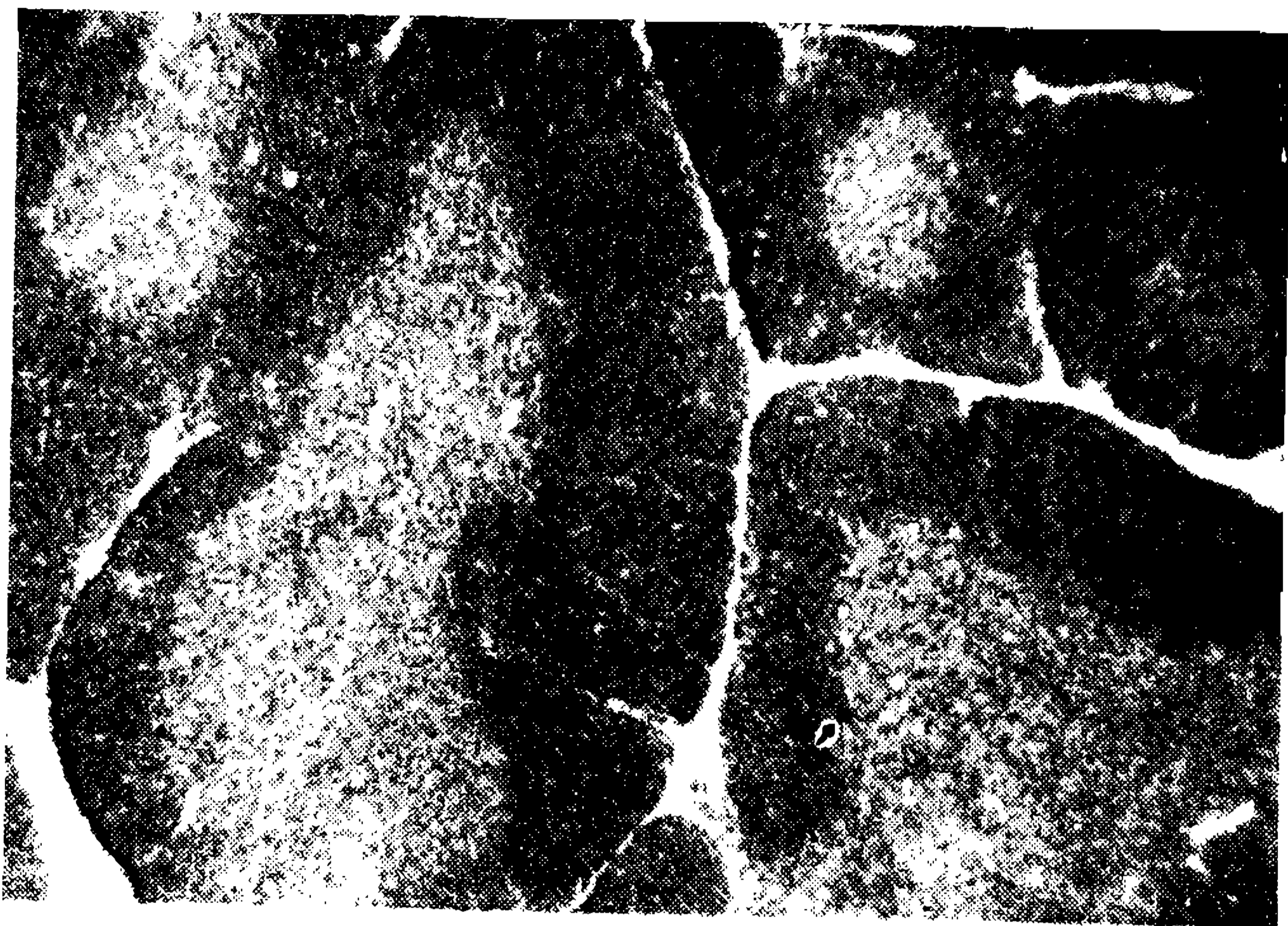


Fig. 4 — Timo de rato, um dia após o enxerto do sarcoma de Yoshida. Col. Hematoxilina-eosina (H. E.); Oc. 10× Obj. 10× (Olympus).

Fig. 5 — Detalhe da região cortical de um lobo da figura anterior, vendo-se a grande concentração de linfócitos. Col. H. E. Oc. 10× Obj. 40× (Olympus).

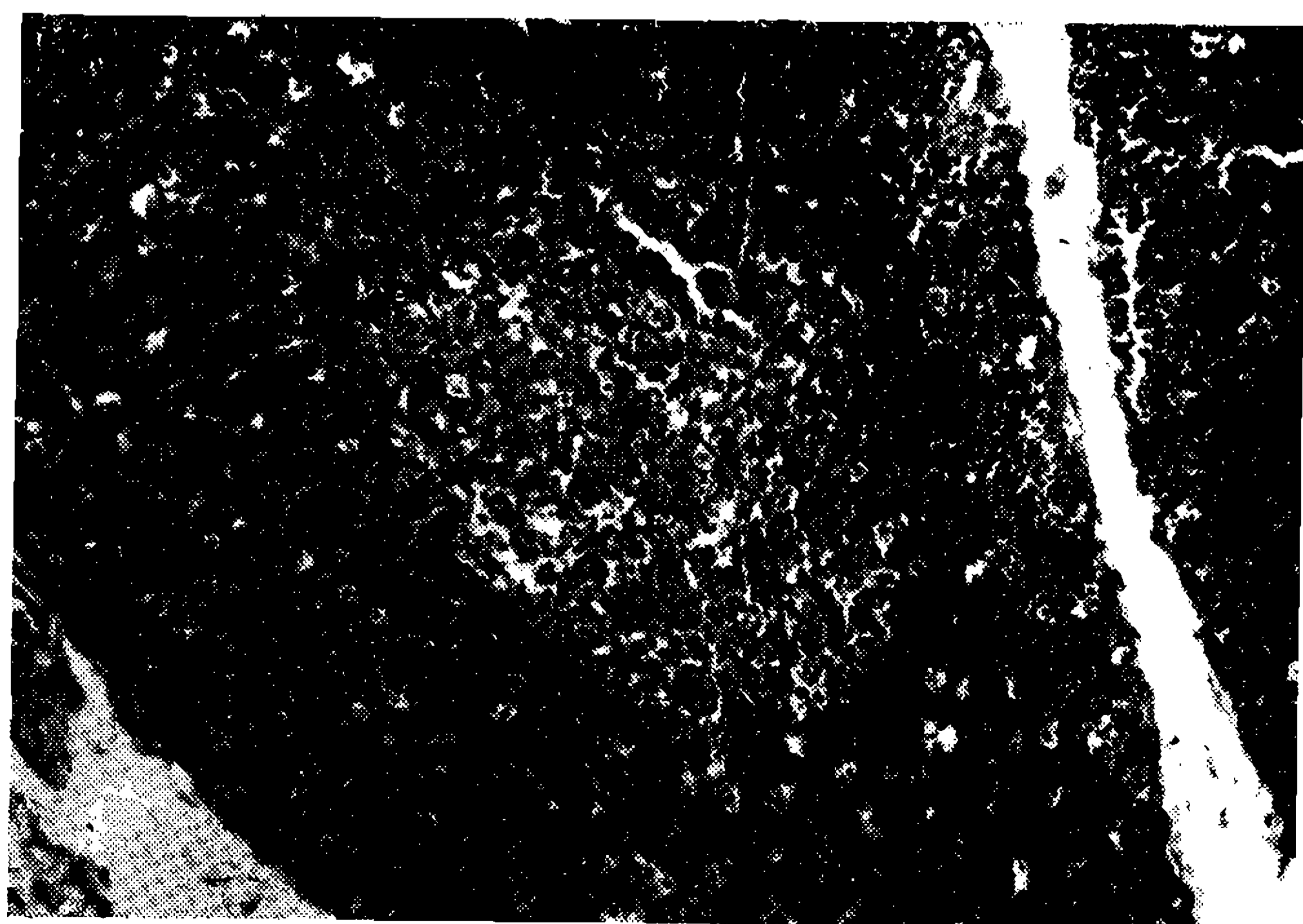
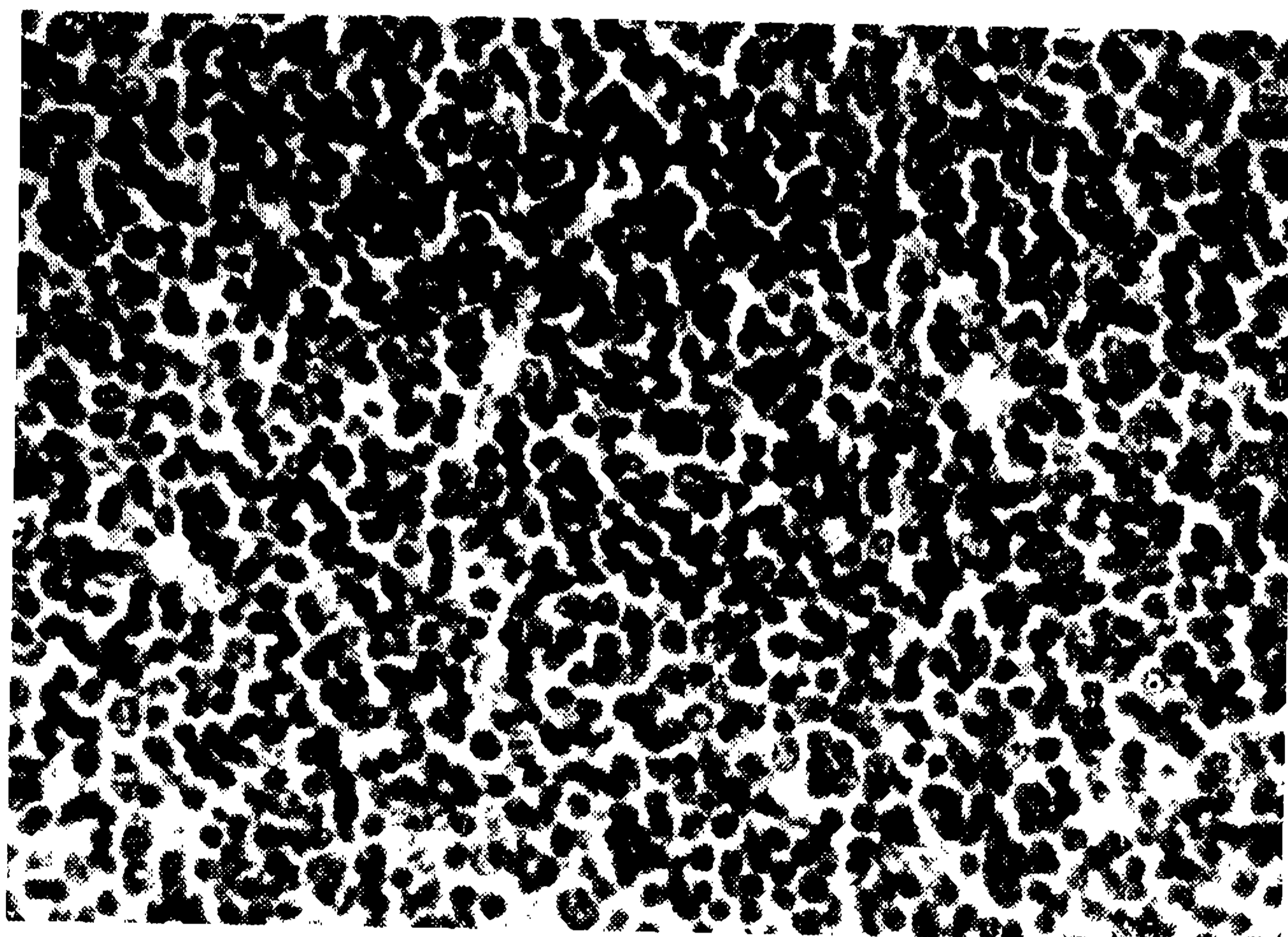


Fig. 6 — Detalhe do lobo de um timo de rato, 4 dias após o enxerto do sarcoma de Yoshida; presença de numerosos macrófagos. Col. H. E.; Oc. 10× Obj. 10× (Olympus).

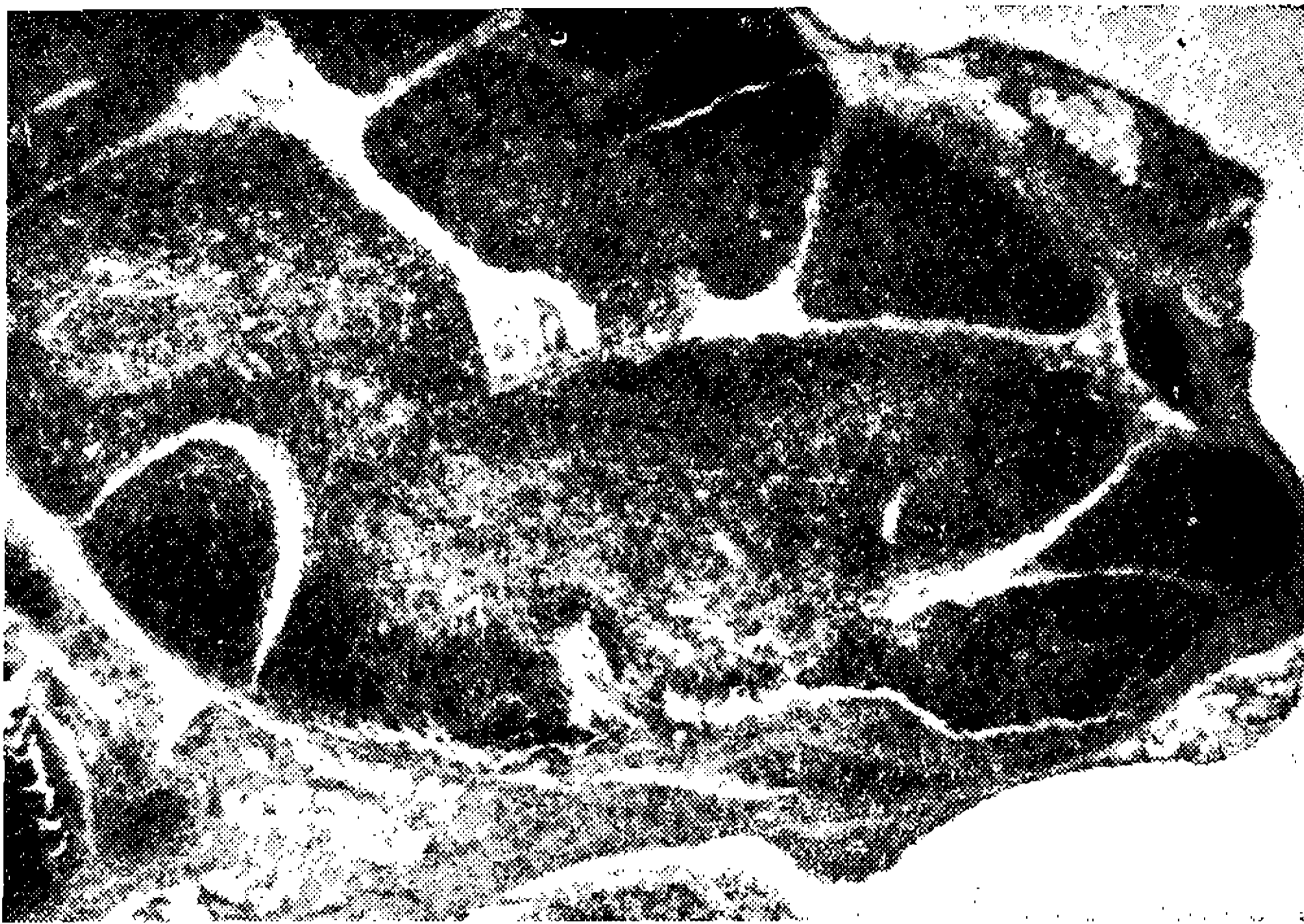


Fig. 7 — Timo de rato, 8 dias após o enxerto do sarcoma de Yoshida. Note-se que o órgão perdeu a estrutura arquitetônica. Col. H. E. Oc. 10× Obj. 4× (Olympus).

Fig. 8 — Detalhe de um lobo da fig. anterior. Observe-se a ausência de limites entre a córtex e medula, a fibrose e o tecido gorduroso. Col. H. E. Oc. 10× Obj. 10× (Olympus).

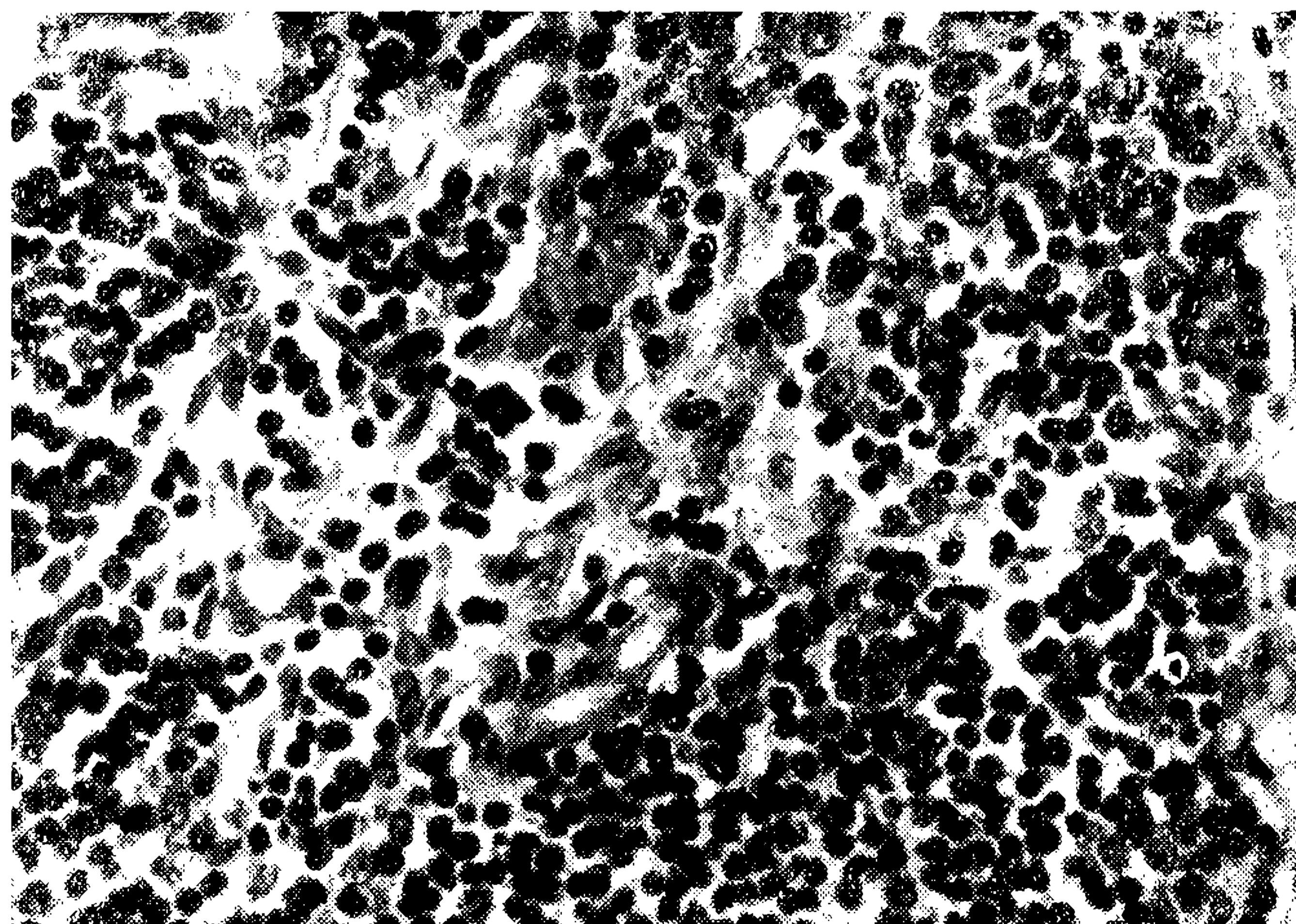
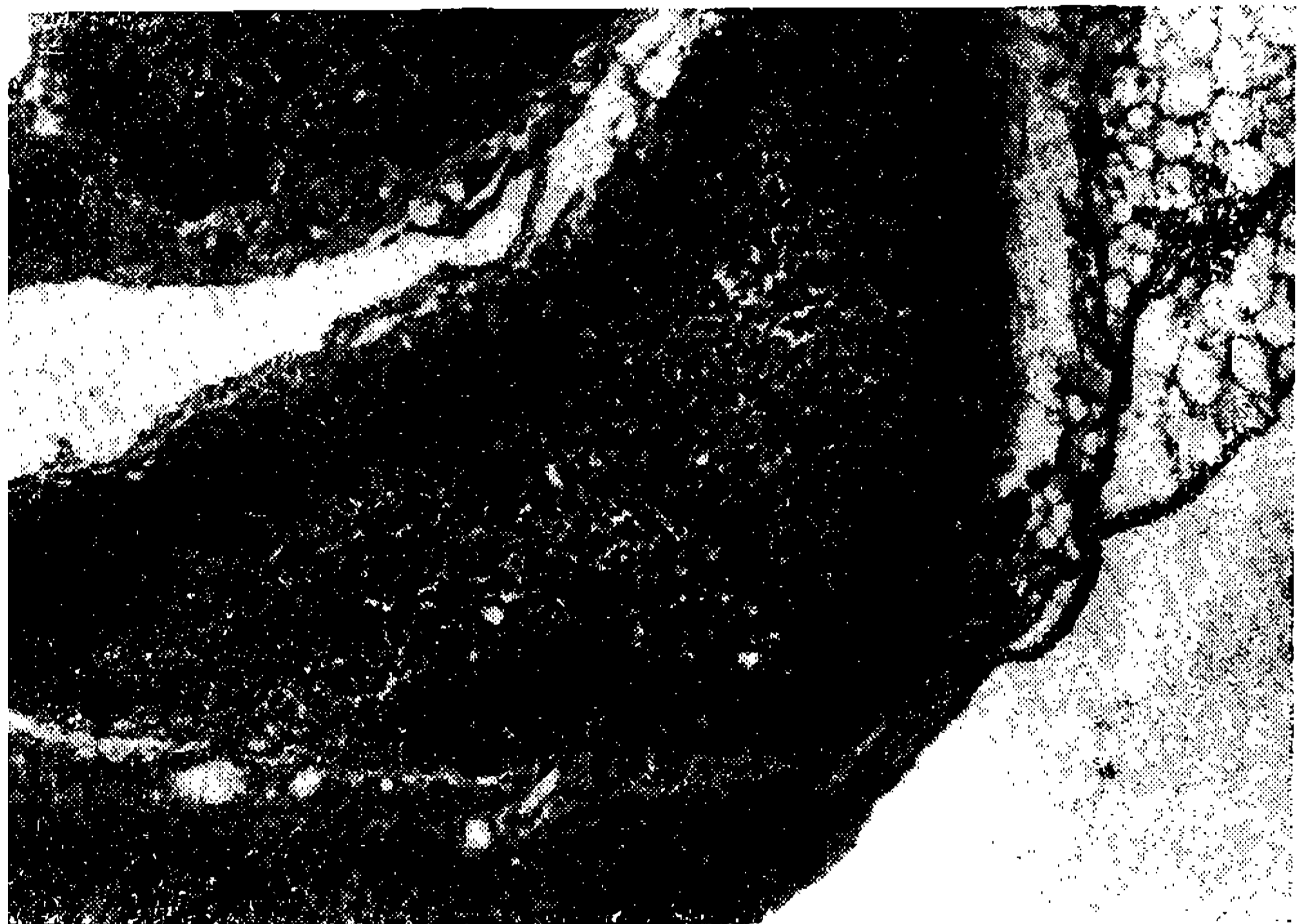


Fig. 9 — Outro detalhe, em maior aumento da fig. 7, de uma região que corresponderia à córtex. Note-se a menor quantidade de linfócitos (compare-se com a fig. 5). Col. H. E. Oc. 10× Obj. 40× (Olympus).



Fig. 10 — Aspecto panorâmico do timo atrofiado de um rato, 40 dias após o enxerto do hepatoma. Col. H. E. Oc. 10 × Obj. 4 × (Olympus).

RESULTADOS

De acordo com a tabela (Fig. 1) e os gráficos (Figs. 2 e 3), verificamos que, no decorrer da evolução dos dois tumores, houve uma queda gradativa no peso dos timos.

Contudo, esta queda foi mais acentuada nos animais que receberam o hepatoma, sendo encontrados alguns destes órgãos inteiramente atrofiados.

Nos ratos nos quais se implantou o sarcoma de Yoshida, não se constatou atrofia total, sendo que, a partir do 12.^o dia de evolução tumoral, observou-se até mesmo um ligeiro aumento de peso, que se manteve até o final da experiência (Figs. 1 e 2).

Em ambos os casos, a histologia revelou que a queda dos pesos foi acompanhada por uma diminuição gradual dos linfócitos, com aparecimento de fibroblastos, fibras colágenas e tecido gorduroso, sendo que, aos poucos, os órgãos foram perdendo sua estrutura arquitetônica. Com o desaparecimento dos linfócitos, as células reticulares tornaram-se mais facilmente identificáveis (Figs. 4, 5, 7, 8 e 9).

No início da evolução dos tumores, verificou-se a presença de grandes macrófagos contendo inclusões basófilas (Fig. 6), e também de mastócitos, localizados principalmente ao longo das regiões interlobulares.

Nos últimos estágios de evolução do hepatoma, alguns timos consistiam quase que exclusivamente de uma pequena porção de tecido conjuntivo perdido na massa adiposa do mediastino (Fig. 10).

Nos animais portadores do sarcoma de Yoshida, pelo 12.^o dia, começou a ser observada uma invasão tumoral que, algumas vezes, passou a substituir quase toda a estrutura do órgão, explicando, desta forma, o aumento de peso nos últimos dias da experiência.

DISCUSSÃO

A involução do timo em animais com tumores, tem sido considerada, em alguns trabalhos, como fenômeno decorrente de um "stress". Segundo os autôres, o processo maligno ocasionaria uma hipersecreção de hormônios corticóides, os quais provocariam

a desintegração de numerosos linfócitos, produzindo uma diminuição de volume do timo, baço e outros agregados do tecido linfático, tal como ocorre em seguida à administração de cortisona (5, 6, 8, 17, 31, 33).

Todavia, **Kiricuta** e col. ⁽²²⁾, transplantando tumores em ratos adrenalectomizados, verificaram que o timo continuava a sofrer uma involução, embora de maneira mais atenuada do que a dos animais não operados e concluíram que os hormônios corticóides não seriam os únicos responsáveis pela regressão do órgão.

Siegler e **Koprowska** ⁽³²⁾, estudando as alterações do timo em camundongos inoculados com um tumor ascítico, constataram que a involução era devida a um desaparecimento dos linfócitos, e sugeriram a possibilidade destas células terem se deslocado para a medula óssea, baço e gânglios linfáticos, a fim de serem utilizadas como elementos de resistência ao tumor.

Esta hipótese é bastante interessante e está de acordo com a teoria segundo a qual o timo participa dos fenômenos imunológicos.

Dados clínicos e experimentais têm levado diversos pesquisadores a admitirem que durante o período neonatal dos mamíferos, os linfócitos do timo migram para o baço e outros órgãos linfáticos, transformando-se, posteriormente, em células imunologicamente competentes (1, 2, 3, 7, 10, 13, 15, 16, 26, 27).

Miller e outros autores ^(14, 15, 28, 29) admitem inclusive, que esta migração continuaria a ocorrer também na vida adulta, sobretudo em condições de emergência, quando o sistema imunitário se encontrasse a caminho de uma exaustão.

Analisando nossos resultados, verificamos que a queda de peso dos timos foi acompanhada por um desaparecimento gradativo dos linfócitos e que, com exceção dos macrófagos encontrados nos primeiros dias da experiência, nenhum outro aspecto indica a presença de restos celulares que sugiram uma desintegração celular.

Por outro lado, estudos anteriormente realizados, mostraram que em condições idênticas as deste trabalho, durante a evolução dos dois tumores, os animais apresentavam um aumento de volume do baço e gânglios linfáticos. A microscopia destes órgãos revelou quadros histológicos típicos de uma reação imunológica, com a presença de numerosos linfócitos e células plasmáticas, sobretudo imaturos (18, 19, 20, 21 e dados ainda não publicados).

Tais observações mostram que a involução do timo em nossos animais, não é acompanhada pela atrofia de todo o tecido linfático e que também não é resultante da desintegração dos linfócitos, não podendo, portanto, ser atribuída exclusivamente à ação de hormônios corticóides.

Bastante tentadora é, porém, a hipótese da migração celular, principalmente se levarmos em conta que o aumento volumétrico do baço e dos gânglios é acompanhado por uma concentração de linfócitos, enquanto que a involução do timo, que se processa quase simultaneamente, é uma consequência do desaparecimento dos mesmos.

Esta migração poderia ser interpretada como um recurso do organismo para equilibrar seu sistema imunitário abalado pelo crescimento contínuo da neoplasia. A atrofia do timo

constituiria a queda deste equilíbrio e o esgotamento de todas as defesas do hospedeiro, uma vez que coincide também com o desaparecimento da hiperplasia do baço e dos gânglios linfáticos.

Acreditamos que a presença dos macrófagos no início da experiência, seja o resultado de um "stress" inicial, causado pelo ato do transplante tumoral.

Cabe-nos ainda observar que, embora o sarcoma de Yoshida e o hepatoma tenham origens genéticas diferentes, a regressão do timo apresentou-se de forma semelhante, sugerin-

do a presença de um fator estimulante, comum aos dois tumores.

SUMMARY

A study was made of the thymus during the evolution of two experimental tumors, transplantable in rats.

A weight-decrease of this organ was accompanied by a gradual disappearance of the lymphocytes. It is suggested that a migration of these thymic lymphocytes take place into the spleen and lymph nodes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — ARCHER, O. and PIERCE, J. C., 1961, Role of the thymus in development of the immune response. *Fed. Proc.* 20: 26.
- 2 — ARNASON, B. G., JANKOVIC, B. D. and WAKSMAN, B. H., 1962, A survey of the thymus and its relation to lymphocytes and immune reactions. *Blood* 20: 617.
- 3 — AUERBACH, R., 1964, Experimental analysis of mouse thymus and spleen morphogenesis. *The Thymus in Immunobiology*: 95 (Good and Gabrielson Editors, Hoeber).
- 4 — BARUAH, B. D., 1960, Cellular reactions following tumor growth with special reference to plasma-cellular response. *Cancer Res.* 20: 1.184.
- 5 — BEGG, R. W., 1951, Systemic effects of tumors in rats. *Cancer Res.* 11: 341.
- 6 — BRANCENI, M. D., 1968, Administration néonatale d'hormones corticoïdes ou de corticotrophine chez le rat, action thymolytique et retentissement sur le développement de la réactivité immunologique humorale. *Revue d'Immunologie* 32: 265.
- 7 — BURNET, F. M., and MACKAY, I. R., 1962, Lymphoepithelial structures and autoimmune disease *Lancet* 2: 1.030.
- 8 — CATAYÉE, G., et SENELAR, R., 1970, La place de la rate et du thymus au cours des modifications réactionelles de l'organisme du rat porteur de fibro-sarcome. *J. Méd. Montpellier* 5: 64.
- 9 — CHOUROULINKOV, I., GENTIL, A., LASNE, C. et GRABAR, P., 1967, Évolution du thymus et des glandes surrénales au cours de la croissance d'une greffe tumorale chez le rat. Note préliminaire. *Bulletin du Cancer* 54: 59.
- 10 — DAVIES, A. J. S., FESTENSTEIN, H., LEUCHARS, E., WALLIS, V. J. and DOENHOFF, M. J., 1968, A thymic origin for some peripheral-blood lymphocytes. *Lancet* 1: 183.
- 11 — EDWARDS, A., 1966, The response of the reticulo-endothelial system to a cancer. *Brit. J. Surg.* 53: 874.
- 12 — EL HASSAN, A. M. and STUART, A. E., 1965, Changes in the lymphoreticular tissues of mice bearing the

- Landschutz tumour. *Brit. J. Cancer* 19: 343.
- 13 — FICHTELIUS, K. E. and BRYANT, B. J., 1964, On the fate of thymocytes. *The Thymus in Immunobiology*: 274 (Good and Gabrielsen, Hoeber).
- 14 — GLOBERSON, A., FIORE-DONATI, L. and FELDMAN, M., 1962, On the role of the thymus in recovery of immunological reactivity following X-irradiation. *Exp. Cell Res.* 28: 455.
- 15 — GUARINO, M. e ZUCCHI, R., 1966, Studio sperimentale sulla possibile migrazione di cellule immunocompetenti dal timo verso la milza e i linfonodi. *Minerva Medica* 57: 1.251.
- 16 — HARRIS, J. E. and FORD, C. E., 1964, Cellular traffic of the thymus: experiments with chromosome markers. *Nature* 201: 884.
- 17 — HILF, R., BURNETT, F. F. and BORMAN, A., 1960, The effect of sarcoma 180 and other stressing agents upon adrenal and plasma corticosterone in mice. *Cancer Res.* 20: 1.389.
- 18 — KERR, B. I., 1966, Gânglios linfáticos de ratos implantados com tumor experimental. — Estudo histológico e considerações relativas ao significado das alterações. *O Hospital*, 70: 141.
- 19 — KERR, B. I., 1967, Cytoplasmic basophilia in lymphoid cells following tumor growth. (An experimental study). *Biochimica e Biologia Sperimentale* 6: 71.
- 20 — KERR, B. I., 1970, Esplenomegalia em ratos enxertados com um tumor homólogo (Sarcoma de Yoshida). *O Hospital* 77: 1.317.
- 21 — KERR, B. I., 1970, Spleen reaction following tumor growth. A study with a homotransplantable rat tumor. *Arch. Geschwulstforsch.* 35: 13.
- 22 — KIRICUTA, J., SIMU, G. and TOMA, V., 1970, Thymus involution in tumor-bearing hosts: mechanisms and possible significance. *Arch. Geschwulstforsch.* 35: 6.
- 23 — KLUG, H. und SEBOLD, A., 1967, Zur Beziehung zwischen Tumorgrosse und Thymusgewicht bei ascitestumoren. *Naturwissenschaften*, 21: 555.
- 24 — KNECHT, M., und ERTL, N., 1969, DNS-Synthese im thymus und anderen organen während der thymusinvolution bei tumor-tragenden ratten. *Z. Krebsforsch.* 73: 89.
- 25 — KRUGER, G., 1967, Morphologic studies of lymphoid tissues during the growth of an isotransplanted mouse tumour. *J. Nat. Cancer Inst.* 39: 1.
- 26 — MILLER, J. F. A. P., 1961, Immunological function of the thymus. *Lancet* 7.205: 748.
- 27 — MILLER, J. F. A. P. and MITCHELL, G. F., 1967, The thymus and the precursors of antigen reactive cells. *Nature* 216: 659.
- 28 — MILLER, J. F. A. P., 1962, Immunological significance of the thymus of the adult mouse. *Nature* 195: 1.318.
- 29 — MILLER, J. F. A. P., DOAK, S. M. A. and CROSS, A. M., 1963, Role of the thymus in recovery of the immune mechanism in the irradiated adult mouse (28.170). *A. M. Proc. Soc. Exp. Biol.* 112: 785.
- 30 — SAVARD, K., 1948, Adrenal changes in animals bearing transplanted tumors. *Science* 108: 381.
- 31 — SELYE, H., 1936, Thymus and adrenals in the response of the organism to injuries and intoxications. *Brit. J. Exp. Path.* 17: 234.
- 32 — SIEGLER, R. and KOPROWSKA, I., 1962, Host response to a transplantable "ascitic" tumor. *Cancer Res.* 22: 1.278.
- 33 — STOERK, H. C., SOLOTOROVSKY, M. and RAHWAY, N. J., 1950, Adrenal cortical activity in relation to lymphoid tissue and to immune bodies. *Am. J. Path.* 26: 708.