

Investigação do transplante heterólogo de quelóide na bolsa jugal do hamster (*Mesocricetus auratus*)¹

Bernardo Hochman²Lydia Masako Ferreira³Flaviane Cássia Vilas Bôas⁴Mario Mariano⁵

Hochman B, Ferreira LM, Vilas Bôas FC, Mariano M. Investigação do transplante heterólogo de quelóide na bolsa jugal do hamster (*Mesocricetus auratus*). Acta Cir Bras [serial online] 2003 Jul-Ago;18(4). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>.

RESUMO – Objetivo: Descrever a integração do transplante heterólogo de quelóide no subepitélio da bolsa jugal do hamster (*Mesocricetus auratus*). **Métodos:** A amostragem consiste de 18 hamsters machos, não isogênicos, com 10 a 14 semanas de idade. Fragmentos de quelóide foram obtidos de cicatrizes queiloideanas da região mamária de paciente adulta parda. Cada hamster foi enxertado em ambas as bolsas com fragmentos de quelóide, totalizando 36 fragmentos enxertados. Os animais foram distribuídos, em 6 grupos, para exame dos fragmentos enxertados com 5, 12, 21, 42, 84 e 168 dias. Uma avaliação macroscópica é realizada comparando a bolsa contendo o fragmento enxertado em cada período com a mesma bolsa no pós-operatório imediato, mediante a comparação de fotografias padronizadas. À microscopia, considera-se a presença de vasos sanguíneos no tecido conjuntivo do fragmento enxertado como critério de integração do mesmo. Outros eventos, como secreção de queratina, presença de infiltrados celulares e aspecto do epitélio e das fibras colágenas do quelóide, também são observados. **Resultados:** A macroscopia revela intensa vascularização na bolsa até 12 dias de enxertia, e a presença constante de pigmentação castanho-escura nos fragmentos de quelóide enxertados. Na microscopia constata-se a integração dos fragmentos de quelóide pela presença de capilares sanguíneos no tecido conjuntivo. Observa-se, também, a presença de intenso infiltrado celular do tipo inflamatório até 12 dias, a permanência do epitélio do quelóide até 21 dias, e o aparecimento de melanócitos a partir de 42 dias. **Conclusão:** A bolsa jugal do hamster representa, *a priori*, modelo experimental para investigação do quelóide.

DESCRITORES – *Mesocricetus*. Transplante heterólogo. Transplante de pele. Quelóide.

Introdução

Existe um consenso que o quelóide seja considerado uma neoplasia benigna, pois tem potencial de crescimento autônomo, e se desenvolve *in vitro* mesmo na ausência de fatores humorais.⁽¹⁾ Porém, ainda não

existe um consenso quanto à etiopatogenia do quelóide. Esse desconhecimento é, em grande parte, devido ao fato do *Homo sapiens* ser a única espécie onde se desenvolve o quelóide.^(1,2) Portanto, o problema chave na pesquisa experimental do quelóide seria desenvolver um modelo animal experimental apropriado.^(3,4)

1. Trabalho realizado na Disciplina de Imunologia do Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), pelo Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Plástica Reparadora da UNIFESP.
2. Mestre em Cirurgia Plástica e pós-graduando no Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Plástica Reparadora da UNIFESP.
3. Professora Titular e Chefe da Disciplina de Cirurgia Plástica do Departamento de Cirurgia da UNIFESP, e Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Plástica Reparadora da UNIFESP.
4. Acadêmica do 6º ano do curso de graduação em Medicina da UNIFESP.
5. Professor Titular do Instituto de Ciências Biomédicas do Departamento de Imunologia da Universidade de São Paulo, Professor Titular do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP e Professor Visitante da Disciplina de Imunologia do Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da UNIFESP.

O mamífero roedor da espécie *Mesocricetus auratus*, também conhecido como *hamster* sirio dourado, é um animal com sistema imune íntegro, possuindo um “Local de Privilégio Imunológico” natural nas suas bolsas jugais.⁽⁵⁾ Essas estruturas são divertículos ou invaginações bilaterais das mucosas jugais ou das bochechas, altamente distensíveis, cuja função principal seria o armazenamento de comida. A parede dessa bolsa é constituída por uma camada de epitélio, que ao ser evertida, assume um aspecto sacular. As camadas de células epiteliais apóiam-se em tecido conjuntivo areolar frouxo, naturalmente imunodeficiente, aparentemente com ausência de vasos linfáticos. Esse subepitélio permite a integração de heteroenxertos por um processo ainda não completamente elucidado.

Na literatura são citados trabalhos onde se utilizou a bolsa jugal para transplantar tecidos de várias afecções benignas e neoplasias malignas. Porém, em relação ao quelóide, foi constatado somente um trabalho⁽⁶⁾ que abordou o quelóide na bolsa jugal do *hamster*, o qual apenas observou, sucintamente, as alterações vasculares no fragmento enxertado.

O presente estudo tem como objetivo descrever a integração do enxerto heterólogo de quelóide no subepitélio da bolsa jugal do *hamster* como modelo experimental.

Métodos

Serão utilizados *hamsters* machos da espécie *Mesocricetus auratus*, não geneticamente homogêneos (*no inbred*), com 10 a 14 semanas de idade e com peso

variando de 90 a 120 gramas (Figuras 1 e 2). Os animais serão distribuídos em 6 grupos, de 3 *hamsters* em cada, para a colheita e exame da bolsa enxertada, com 5, 12, 21, 42, 84 e 168 dias (Grupo A a F). Cada *hamster* será enxertado em ambas as bolsas com fragmentos de quelóide, totalizando 36 fragmentos enxertados.

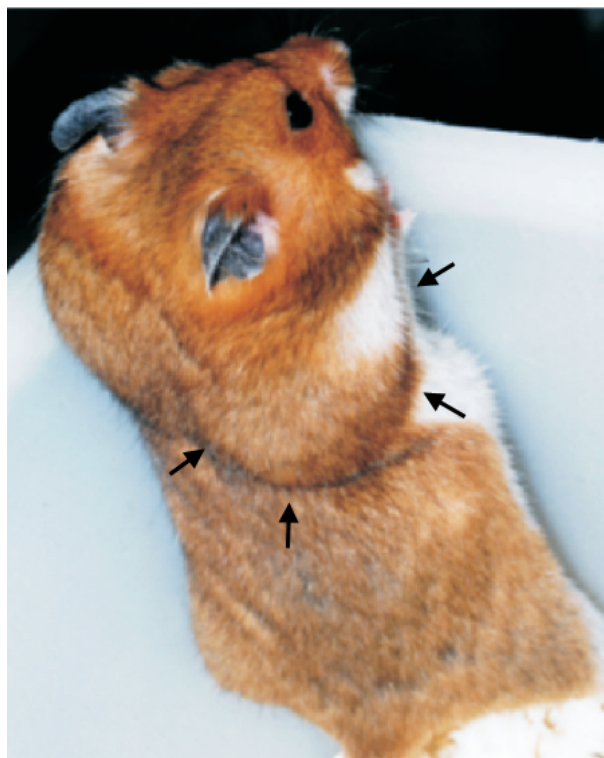


FIGURA 1 – Hamster sirio dourado (*Mesocricetus auratus*). Bolsa jugal direita aumentada de volume por estar armazenando alimento (setas).

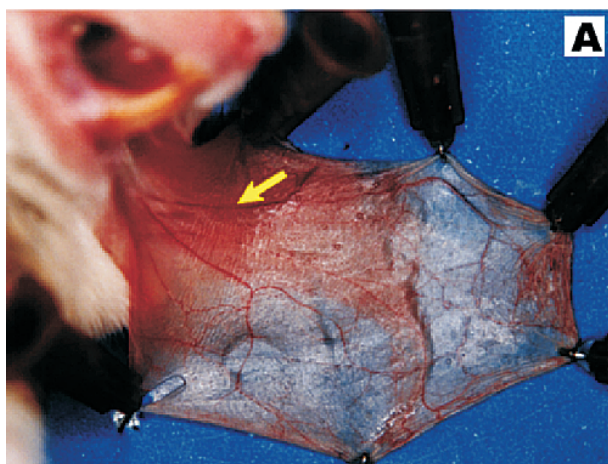


FIGURA 2 – Bolsa jugal do hamster.

A – Aspecto macroscópico da bolsa evertida e distendida por fixação por agulhas sobre o campo operatório. O músculo retrator da bolsa, na parte proximal da bolsa, está assinalado por uma seta.



B – Aspecto microscópico da bolsa. (Aumento de 100x; coloração Hematoxilina-Eosina).

O quelóide será proveniente de lesões em mamas de paciente adulta e parda. As lesões serão consideradas clinicamente ativas por ocasião da ressecção.

Os fragmentos de quelóide serão obtidos, por meio de um *punch* de 2 mm, de toda a superfície epitelizada do quelóide, após ser completado o desengorduramento no laboratório de pesquisa da Disciplina de Imunologia da UNIFESP.

As operações serão realizadas nos animais sob anestesia geral, por via intraperitoneal. Cada bolsa será evertida ficando distendida no campo operatório por meio de agulhas. Será realizada incisão de 5 mm em área avascular proximal, em relação à boca do animal,

da primeira parede ou camada epitelial da parede da bolsa, de forma a não atingir fibras do músculo retrator da bolsa que se inserem no terço proximal da mesma, com o intuito de evitar o possível contato com vasos linfáticos entre as fibras musculares. Com auxílio de uma tesoura de dissecação delicada será realizada divulsão romba, em túnel, no tecido conjuntivo em sentido oposto à boca do animal, até a extremidade mais distal da bolsa. Com uma pinça fina e longa será introduzido o fragmento de quelóide entre as duas camadas do epitélio da bolsa, no local mais distal da mesma. A seguir, será invaginada a bolsa para dentro da cavidade oral.

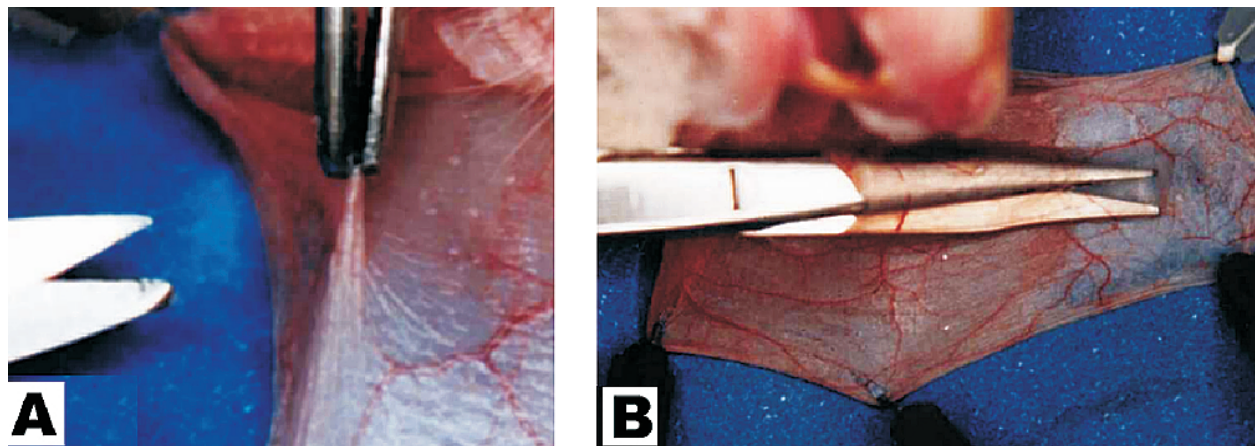


FIGURA 3 – Dissecação do subepitélio da bolsa jugal do hamster.

A – Pinçamento da primeira camada epitelial da parede da bolsa.

B – Incisão em área avascular e divulsão romba em túnel até o ponto mais distal da bolsa.

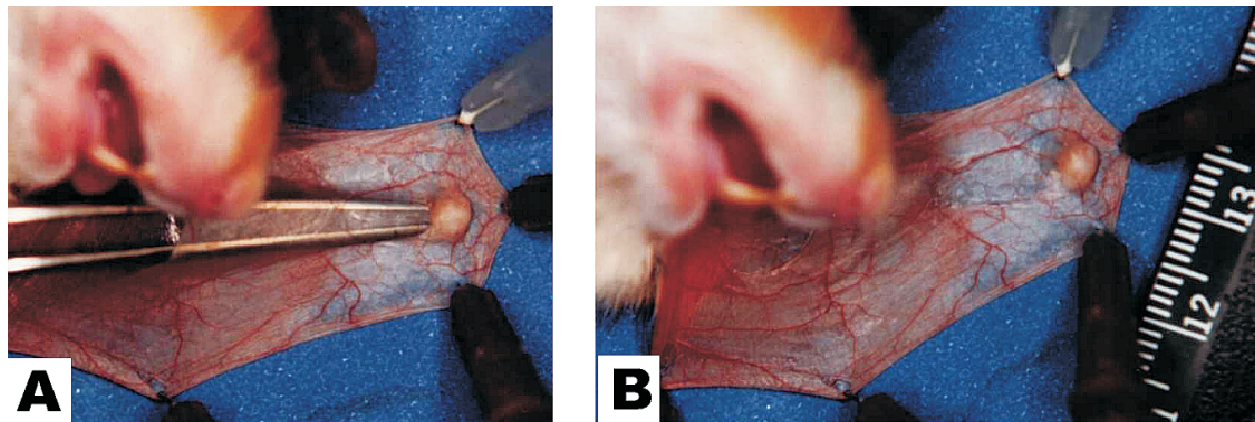


FIGURA 4 – Introdução do fragmento a ser enxertado.

A – O fragmento é introduzido, pelo túnel divulsionado, com uma pinça fina e longa.

B – Fragmento após acomodação por compressão digital do epitélio circunjacente.

Na reintervenção dos animais, por grupo, para exame dos fragmentos de quelóide enxertados, cada hamster será submetido aos mesmos procedimentos para ressecção das bolsas enxertadas, para depois serem submetidos a eutanásia. Será realizado exame macroscópico das bolsas, comparando-as com o pós-operatório imediato de cada animal, por meio de fotografias obtidas de forma padronizada. Para o exame microscópico, cada bolsa será preparada, também de forma padronizada, para ser processada no laboratório de histologia.

Será considerada a presença de vasos sanguíneos, na região periférica e central do fragmento, como critério de integração dos fragmentos de quelóide enxertados. Serão também avaliados outros aspectos como características do epitélio, presença de infiltrados celulares e aspecto do tecido conjuntivo.

Resultados

À macroscopia, observou-se nas bolsas jugais uma vascularização circunjacente ao quelóide, e a presença de ramos vasculares em direção ao fragmento enxertado no grupo até 12 dias de transplante (Figura 5).

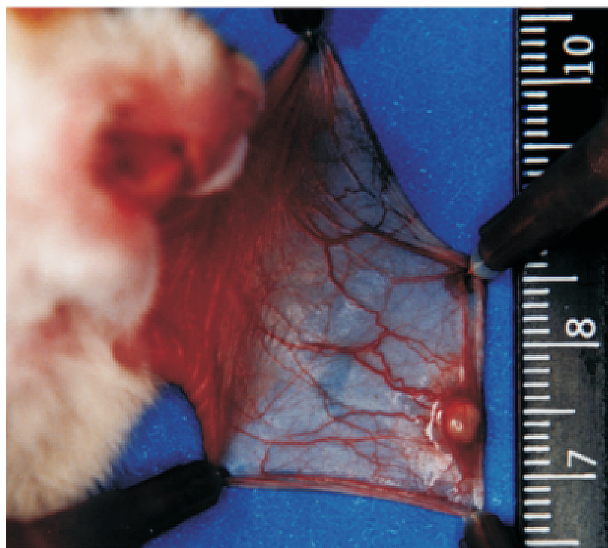


FIGURA 5 – Macroscopia do enxerto de quelóide aos 12 dias. Intensa vascularização circunjacente do quelóide enxertado, e presença de ramos vasculares em direção ao enxerto.

Ao exame microscópico, até os 12 dias, observou-se no tecido conjuntivo do quelóide vasos sanguíneos e um intenso infiltrado inflamatório misto de células mono e polimorfonucleares. Aos 21 dias (Grupo C) constatou-se nos fragmentos de quelóide integrados a manutenção do epitélio, com secreção de queratina, presença de vasos e diminuição do infiltrado inflamatório.

A partir de 42 dias (Grupo D), foram identificados melanócitos nos fragmentos de quelóide enxertados, e as fibras colágenas do tecido conjuntivo assumiram um aspecto hialinizado (Figura 6).

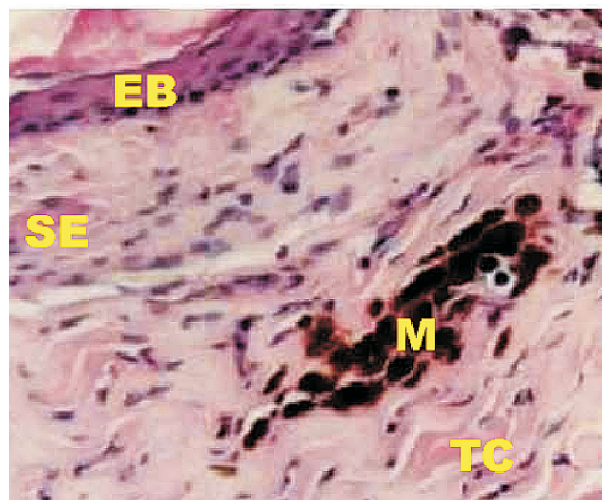


FIGURA 6 – Aspecto microscópico do enxerto de quelóide aos 84 dias. Observa-se a presença marcante de melanócitos no fragmento de quelóide, e um tecido conjuntivo com fibras colágenas de aspecto hialinizado (Coloração HE, x 200). [EB = Epitélio da bolsa; SE = Subepitélio da bolsa; M = Melanócitos; TC = Tecido conjuntivo]

Discussão

Abordou-se o tema, procurando desenvolver um modelo animal experimental, de maior facilidade operacional e de obtenção daqueles já utilizados, que pudesse tornar-se “portador” de quelóide, uma vez que apenas o ser humano pode desenvolver essa afecção.

Foram observadas reações vasculares na bolsa, traduzida por uma vascularização circunjacente ao fragmento enxertado, e a presença de um ou mais ramos vasculares em direção ao quelóide nos primeiros 12 dias de enxertia.

A presença de um infiltrado celular do tipo inflamatório misto de células mono e polimorfonucleares, também destacou-se nos exames histológicos nos grupos de 5 e 12 dias. Sendo o subepitélio da bolsa um conhecido “Local de Privilégio Imunológico”, a presença desse infiltrado também poderia ser devida a uma precoce e incipiente reação ao transplante, porém ineficaz por uma impotência funcional dos linfócitos.^(9,10)

Chamou a atenção a presença de melanócitos nos fragmentos enxertados de quelóide, uma vez que essa lesão *in natura* possui quantidade ínfima ou até ausência desse pigmento.⁽¹¹⁾ Ainda, o hamster não possui

melanina, assim como sua bolsa também é destituída de anexos e pigmentação.⁽¹²⁾ A importância do achado de melanócitos neste estudo é reforçada pelo fato de quelóide não ter sido descrito na planta do pé e na palma da mão, mesmo em pessoas de etnia negra portadoras de cicatrizes queiloideanas.⁽¹³⁾ O quelóide tampouco foi descrito em pessoas albinas.⁽¹⁾

Este estudo original permitiu que a pigmentação melânica pudesse ser ineditamente visibilizada graças a transparência do epitélio da bolsa, e ao fato do fragmento de quelóide enxertado possuir epitélio.⁽¹⁴⁾ No modelo experimental representado pelo camundongo atímico, atualmente mais utilizado, a enxertia do quelóide é realizada no plano subcutâneo, portanto devendo ser desepitelizado.

A presença inesperada de melanócitos no quelóide *ex vivo*, precisa ser mais profundamente investigada, pois pode representar uma nova e promissora senda à procura da elucidação da etiopatogenia do quelóide. Sendo o melanócito uma célula derivada, embrionariamente, do tecido neuro-ectodérmico, este estudo, portanto, também permitiu constatar a existência de células nervosas no tecido queiloideano. Por outro lado, esses melanócitos demonstraram um padrão modulatório, pois foram diferenciados, a partir de uma célula precursora, apenas na bolsa do *hamster*, portanto, somente sem a influência de fatores séricos do ser humano.

O quelóide apresenta um comportamento bizarro do ponto de vista temporal, já que um indivíduo pode desenvolvê-lo num período de sua vida e não em outro. Tampouco existe registro na literatura de quelóide em indivíduos albinos ou em áreas amelanóticas, como palma das mãos e planta dos pés, mesmo em pessoas portadoras de quelóide. Assim, *a priori*, a nova senda de investigação da etiopatogenia do quelóide deve voltar-se, além do estudo mais aprofundado dos fatores melanogênicos, a fatores neurogênicos, até hoje não abordados na pesquisa da literatura.

Ainda, a bolsa jugal do *hamster* demonstra ser um modelo experimental mais apropriado que camundongos

ou ratos, e mais conveniente do ponto de vista de custos e facilidade operacional,⁽¹⁵⁾ para realizar pesquisas relativas ao quelóide.

Referências

1. Placik OJ, Lewis VL. Immunologic associations of keloids. Surg Gynecol Obstet 1992;175:185-93.
2. Sullivan STO, Shaughnessy MO. Aetiology and management of hypertrophic scars and keloids. Ann R Coll Surg Engl 1996;78:168-75.
3. Kischer CW, Pindur J, Shetlar MR, Shetlar MS. Implants of hypertrophic scars and keloids into the nude (athymic) mouse: viability and morphology. J Trauma 1989;29(5):672-7.
4. Schierle HP, Scholz D, Lemperle G. Elevated levels of testosterone receptors in keloid tissue: an experimental investigation. Plast Reconstr Surg 1997;100(2):390-4.
5. Lemon HM, Lutz BR, Pope R, Parsons L, Handler AH, Patt DI. Survival and growth of human tissues transplanted to hamster cheek pouch. Science 1952; 115:461-4.
6. Wolf JE, Hubler WR. Tumor angiogenic factor and human skin tumors. Arch Dermatol 1975; 111:321-7.
7. Shetlar MR, Shetlar CL, Hendricks L, Kischer CW. The use of athymic nude mice for the study of human keloids. Proc Soc Exp Biol Med 1985;179:549-52.
8. Goldenberg DM, Steinborn W. Reduced lymphatic drainage from hamster cheek pouch. Proc Soc Exp Bio Med 1970; 135:724-6.
9. Cohen SN. Comparison of autologous and heterologous normal skin grafts in the hamster cheek pouch. Proc Soc Exp Bio Med 1961; 106:677-80.
10. Nishioka K, Ryan TJ. The influence of the epidermis and other tissues on blood vessel growth in the hamster cheek pouch. J Invest Dermatol 1972;58(1):33-45.
11. Canary PCV, Fillipo R, Pinto LHP, Aidar S. Papel da radioterapia no tratamento de quelóides: análise retrospectiva de 267 casos. Rev Bras Cir 1990;80(5):291-5.
12. Haller JA, Billingham RE. Studies of the origin of the vasculature in free skin grafts. Ann Surg 1967; 166(6):896-01.
13. Reis ALN. Principais características das cicatrizes queiloideanas. An Bras Dermatol 1994;69(6):495-7.
14. Hochman B. Integração do enxerto heterólogo de pele humana e quelóide no subepitélio da bolsa jugal do hamster [Tese – Mestrado]. Universidade Federal de São Paulo; 2002.
15. Ferreira LM, Borsanyi JP, Benhaim P, Anthony JP, Mathes SJ, Andrews JM, Laredo Filho J. The incidence of lethal graft-versus-host disease in rat limb allotransplantations. Rev Hosp Sao Paulo-Esc Paul Med 1995; 6(1/2):7-10.

Hochman B, Ferreira LM, Vilas Bôas FC, Mariano M. Investigation of keloid heterologous graft into hamster (*Mesocricetus auratus*) cheek pouch. Acta Cir Bras [serial online] 2003 Jul-Aug;18(4). Available from URL: <http://www.scielo.br/acb>.

ABSTRACT – Purpose: To describe the integration of keloid heterograft into hamster (*Mesocricetus auratus*) sub-epithelium. **Methods:** The sample is formed by 18 male hamsters, not isogenetic ones, aged between 10 and 14 weeks. Keloid fragments were obtained from keloid scars of the breast region of adult female mulatto patient. Each hamster received keloid fragments into both of its pouches, in a total of 36 grafted fragments. Animals were distributed into 6 groups for having their grafts assessed in the days 5, 12, 21, 42, 84, and 168. A macroscopic assessment is performed by comparing the pouch containing the grafted fragment, at each time point, with the same pouch in the immediate post surgical moment through a comparison of standardized photographs. Under microscope, the presence of blood vases is considered within the conjunctive tissue of the grafted fragment, as a criterion of its integration. Other events, as keratin secretion, the presence of cellular infiltrated, and epithelium and keloid collagen fibers aspects are also analyzed. **Results:** Macroscopy reveals intensive vascularization of the pouch up to 12 days from the transplant, and the presence of constant dark brown pigmentation on the grafted keloid fragments. In microscopy the integration of keloid fragments is found by the presence of blood capillary vases within conjunctive tissue. The presence of intensive cellular inflammatory type infiltrated up to 12 days is also observed, as well as the remaining of keloid epithelium up to 21 days, and the appearing of melanocytes from the day 42. **Conclusion:** Hamster cheek pouch represents, *a priori*, an experimental model for the investigation of keloid.

KEY WORDS – *Mesocricetus*. Transplantation, heterologous. Skin transplantation. Keloid.

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: CAPES

Correspondência:

Dr. Bernardo Hochman

Disciplina de Cirurgia Plástica / Departamento de Cirurgia

Universidade Federal de São Paulo

Rua Napoleão de Barros, 715/4º andar

04024-900 São Paulo – SP

Tel: (11) 5576-4118

bernardohochman@uol.com.br

Data do recebimento: 25/03/2003

Data da revisão: 08/04/2003

Data da aprovação: 12/04/2003