

Sub-área 4.01.05 – Anatomia Patológica e Patologia Clínica.

ANÁLISE DE EXPRESSÃO *IN SITU* DE TNF- α e IL-10 EM LESÕES DE QUELOIDES HUMANAS

Pedro Carvalho Furtado^{1*}, Isabela Rios da Silva¹, Luciana Colombo Rodrigues da Cunha Tiveron³, Marcos Vinícius da Silva¹, Alberto Borges Peixoto^{3,4}, Carla Aparecida Xavier Carneiro⁴, Bárbara Rocha Rodrigues⁴, Virmondos Rodrigues Júnior¹, Denise Bertulucci Rocha Rodrigues^{1,2,4}

1. Laboratório de Imunologia Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM;
2. Cefores/ Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM
3. Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM
4. Universidade de Uberaba – UNIUBE

Resumo:

Queloides são alterações cicatriciais exclusivas de humanos. Clinicamente, apresentam flogose, prurido e endurecimento, ocorrendo principalmente em jovens.

No presente estudo foi realizado. A expressão *in situ* de citocinas IL-10 (anti-inflamatória) e TNF- α (pró-inflamatória) em queloides comparadas com cicatrizes normais.

Foram coletados 23 fragmentos de cicatrizes queloidianas em tratamento e 8 fragmentos de cicatrizes normais de cesarianas como grupo controle. Após confecção de qRT-PCR, quantificou-se as concentrações relativas de citocinas e realizou-se análise estatística.

Comparando a concentração relativa de TNF- α entre o grupo em estudo e o grupo controle não houve diferença significativa. Já a concentração relativa de IL-10 foi significativamente maior nos pacientes com queleide.

Os níveis elevados de IL-10 podem estar relacionados ao uso do corticoide intralesional nos pacientes. Sugere-se também que o corticoide tenha função de inibir os níveis aumentados de TNF- α , normalizando-os.

Autorização legal: Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro sob o protocolo CAAE nº: 45647315.4.0000.5154.

Palavras-chave: Queleide; Citocinas; Inflamação.

Apoio financeiro: FAPEMIG.

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: UFTM.

Introdução:

O processo cicatricial é recorrente em humanos, devido a inúmeros processos lesivos à pele aos quais somos expostos. Envolve uma fase inflamatória, proliferativa e de remodelação (CLARK, 1996). Estas etapas constituem uma complexa interação entre células, mediadores, fatores de crescimento e citocinas, que interagem com o desenvolvimento da inflamação, proliferação celular, deposição, contração e remodelação da matriz extracelular. As cicatrizes hipertróficas e queloides são consequência de anormalidades e interrupções nesta sequência de eventos (MUKHOPADHYAY et al., 2007). Queloides são uma alteração cicatricial exclusiva de humanos, e sua principal característica é a capacidade de invadir o tecido adjacente ao local inicial da lesão, enquanto a cicatriz hipertrófica limita-se à configuração original da ferida (TUAN; NICTER, 1998). Clinicamente, o queleide apresenta calor, rubor, consistência firme, prurido e esfoliações. É comumente encontrado nas costas, peito, coxas e quadris, ocorrendo majoritariamente em jovens (CARANTINO et al., 2010). Cicatrizes hipertróficas e queloides são consequentes de traumas ou alterações inflamatórias na pele e alguns tratamentos descritos são injeções intralesionais, excisões, crioterapia e radiação, porém nenhum deles apresenta-se totalmente eficaz (MUTALIK, 2005). De 15 a 20% de negros, espanhóis e orientais sofrem com queloides, indicando um provável caráter genético (TUAN; NICTER, 1998). Até o momento não há uma explicação plausível para o desenvolvimento do queleide e causas da sua formação, acarretando a descrição de várias hipóteses na literatura. Acerca disso, há um aumento do colágeno em queloides, seja por maior produção ou menor degradação (TUAN; NICTER, 1998), além do prolongamento do período inflamatório e desequilíbrio entre produção e deposição de

matriz extracelular (GAUGLITZ, 2011; BROWN; BAYAT, 2009). Assim, foi realizada a análise da expressão *in situ* de citocinas IL-10 (anti-inflamatória) e TNF- α (pró-inflamatória) em lesões de queloides e cicatrizes hipertróficas humanas através da técnica de PCR em tempo real quantitativo (qRT-PCR) em lesões de queloides e cicatrizes hipertróficas humanas e controles.

Metodologia:

Foram coletados 23 fragmentos de pele de cicatrizes queloidianas em tratamentos com corticoide (triancinolona 2mg/mL) foram obtidos em procedimentos cirúrgicos realizados pela equipe de Cirurgia Plástica do HC-UFTM, bem como fragmentos de cicatrizes normais de secundíparas ou múltiparas que já haviam passado por cirurgia cesariana, através do serviço de Obstetria do HC-UFTM. Desses fragmentos, foi extraído o RNA total e posteriormente confeccionado o DNA complementar através de protocolos específicos. Em seguida, foi realizada a reação de PCR em tempo real, que através do CT (cycle threshold) quantificou as concentrações relativas de TNF- α e IL-10. Foi utilizado o método CT comparativo ($\Delta\Delta CT$), por meio de fórmulas aritméticas para alcançar o resultado da quantificação relativa de RNA mensageiro. Os resultados foram analisados e os valores foram considerados estatisticamente significativos com $p < 0,05$.

Resultados e Discussão:

Ao comparar a concentração relativa de RNA para o TNF- α entre os pacientes com queloide e sem queloide não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,51$; Mann-Whitney). No entanto, a concentração relativa de RNA para a IL-10 foi significativamente maior nos pacientes com queloide quando comparados com os pacientes sem queloide ($p=0,023$; Mann-Whitney). Não houve correlação significativa entre a concentração de RNA de TNF- α e IL-10 (Correlação de Spearman). O TNF- α , no processo cicatricial, promove inflamação e fibrose e inibe tanto as vias fagocíticas dos fibroblastos quanto a quebra de colágeno e glicosaminoglicanas (BERMAN, 2008). É encontrado na literatura um aumento na produção de TNF- α em pacientes com queloide quando comparados ao grupo controle (McCAULEY, 1992). No presente estudo o TNF- α não apresentou diferença significativa nas amostras de pele com queloide quando comparados com o grupo controle e a esse resultado pode-se inferir que está relacionado às aplicações de corticoide intralesional como tratamento

adotado a estes pacientes. Esta medicação atua na supressão do fator de crescimento vascular endotelial e dos efeitos do processo inflamatório, inibe a proliferação de fibroblastos, induz a regressão da lesão, reduz a síntese de colágeno e glicosaminoglicanas e inibe o crescimento dos fibroblastos (WU et al., 2006; BOYADJIEV; POPCHRISTOVA; MAZGALOVA, 1995). Acredita-se que o efeito do corticoide module a atuação do TNF- α reduzindo-o aos níveis basais, por isto não houve diferença significativa entre seus valores nos grupos estudados. A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória que reduz a síntese de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1, IL-6 e IL-8 e TNF- α , e atua na redução da síntese de colágeno (MOORE et al., 1993; WANGO et al., 1997). Foi demonstrado que esta citocina tem um efeito protetivo contra a deposição excessiva de colágeno associado a formação da cicatriz quando estimulada por agentes pró-fibróticos (SHI et al., 2013). Pode-se inferir que sua expressão está aumentada em fragmentos de lesões de queloide em relação aos controles devido a atuação do corticoide na lesão.

Conclusões:

Os níveis aumentados de IL-10 encontrados neste estudo podem estar relacionados ao uso do corticoide intralesional aplicado nos pacientes. Sugere-se também que o corticoide tenha função de inibir os níveis aumentados de TNF- α , levando-o aos níveis basais.

Referências bibliográficas

1. BERMAN, B. *et al.* Evaluating the tolerability and efficacy of etanercept compared to triamcinolone acetonide for the intralesional treatment of keloids. **J Drugs Dermatol**, v.7, p. 757-61, 2008.
2. BOYADJIEV, C., POPCHRISTOVA, E., MAZGALOVA, J. Histomorphologic changes in keloids treated with Kenacort. **J Trauma**, v. 38, p. 299-302, 1995.
3. BROWN, J. J.; BAYAT, A. Genetic susceptibility to raised dermal scarring. **The British Journal of Dermatology**, v. 161, n. 1, p. 8-18, 2009.
4. CARANTINO, I. *et al.* Overview about keloid scars and the elaboration of a non-invasive, unconventional treatment. **Journal of Medicine and Life**, v. 3, n. 2, p. 122-7, 2010.
5. CLARK, R.A.F. Wound repair. Overview and general considerations. In: **The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair** (2nd ed.), edited by Clark RAF. New York: Plenum, 1996, p. 3-50.
6. GAUGLITZ, G. G. *et al.* Hypertrophic scarring and keloids: Pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. **Molecular Medicine**, v. 17, n. 1-2, p. 113-25, 2011.
7. McCAULEY, R. L. *et al.* Altered cytokine production in black patients with keloids. **Journal of Clinical Immunology**, v. 12, n. 4, p. 300-8, 1992.
8. MOORE, K.W. *et al.* Interleukin-10. **Annu Rev Immunol**, v. 11, p. 165-190, 1993.
9. MUKHOPADHYAY, A. *et al.* The role of the activin system in keloid pathogenesis. **American Journal of Physiology**, v. 292, n. 4, p. 1331-8, 2007.
10. MUTALIK, S. Treatment of keloids and hypertrophic scars. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v. 72, n. 1, p. 3-8, 2005.
11. SHI, J.H. *et al.* Protection against TGF- β 1-induced fibrosis effects of IL-10 on dermal fibroblasts and its potential therapeutics for the reduction of skin scarring. **Arch Dermatol Res**, v. 3, n. 4, p. 315-323, 2013.
12. TUAN, T.; NICHTER, L. The molecular basis of keloid and hypertrophic scar formation.

Molecular Medicine Today, v. 4, n. 1, p. 19-24, 1998.

13. WANGOO, A. *et al.* Interleukin-10- and corticosteroid induced reduction in type 1 procollagen in a human ex vivo scar culture. **Int J Exp Pathol**, v. 78, p. 33-41, 1997.

14. Wu, W.S. *et al.* Dexamethasone induction of keloid regression through effective suppression of VEGF expression and keloid fibroblast proliferation. **J Invest Dermatol**, v.126, p. 1264-71, 2006.