

ASPECTOS MORFOLÓGICOS DOS AUTOTRANSPLANTES DE TIREÓIDE DA RATA

MORPHOLOGIC ASPECTS OF THYROID AUTOTRANSPLANTION IN THE FEMALE RAT

José Carlos Nunes Mota, TCBC-BA¹

Alcino Lázaro da Silva, TCBC-MG²

Zilton de Araujo Andrade³

Aryon de Almeida Barbosa Jr⁴

RESUMO: Foram operadas cinquenta ratas Wistar, adultas, separadas em seis grupos: 1, 2, 3, grupos isolado 1 e 2 e um grupo piloto. O lobo esquerdo da tireóide da rata foi dividido em três fragmentos similares e implantados no músculo esternocleidomastóideo, na raiz do mesentério e no ovário. Os tecidos implantados foram examinados histologicamente após dez, vinte e trinta dias. No grupo isolado 1, depois de trinta dias a porção restante da tireóide *in situ* foi removida, passando a viver somente com os implantes. Para verificar aspectos funcionais, foram implantados três fragmentos da tireóide em um grupo isolado na raiz do mesentério. T₃, T₄ e TSH foram dosados no soro antes e após a retirada da tireóide. O exame histológico mostrou que o tecido tireóideo implantado sofria inicialmente discreta hipotrofia, retornando em seguida para os limites da normalidade. Os melhores resultados foram obtidos com o implante no mesentério. Os valores de T₃ e T₄ eram baixos e os de TSH altos. Apoiado nos resultados histológicos e hormonais, concluiu-se que no período estudado, a tireóide autotransplantada manteve sua arquitetura folicular, cumprindo a função de produzir os hormônios.

Unitermos: Tireóide; Tireoidectomia; Autotransplante de tireóide.

INTRODUÇÃO

O autotransplante da tireóide é uma operação alternativa, que pode ser usada como terapêutica nos pacientes submetidos à tireoidectomia total, laringectomia alargada, no trauma da tireóide e em radicalizações técnicas para o carcinoma da tireóide, em tumores com variável grau de agressividade, para os quais o tratamento de escolha é a cirurgia, tanto em adultos quanto em crianças.¹ O presente trabalho se propõe ao estudo de auto-implante de tireóide, experimentalmente em ratas, verificando-se o que ocorre com um pequeno fragmento de tireóide implantado em locais diferentes do organismo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas cinquenta ratas Wistar, com peso variável entre 130g e 400g, divididas em seis grupos: grupo piloto constituído de cinco ratas, serviu como teste positivo

para os implantes colocados no músculo esternocleidomastóideo, raiz do mesentério e ovário direito; grupo 1, formado de dez ratas, nas quais foram deixados os implantes por dez dias; grupo 2, constituído por dez ratas, ficando os enxertos por vinte dias; grupo 3, com dez ratas, onde os implantes permaneceram por trinta dias; grupo isolado 1, com dez ratas, onde os implantes foram colocados somente na raiz do mesentério; e o grupo isolado 2, com cinco ratas submetidas à tireoidectomia total e implante imediato na raiz do mesentério. Foram realizadas as operações sob anestesia com tiopental sódico administrado por via intraperitoneal na dose de 30mg/kg de peso corporal. A anti-sepsia foi feita com álcool a 70%, utilizando-se campos esterilizados. A porção da tireóide retirada foi recortada com bisturi em três pedaços aproximadamente iguais (1,5cmx1,7cmx1,8cm nas maiores dimensões) (Figura 1).

Um fragmento foi implantado imediatamente no músculo esternocleidomastóideo, após divulsão suave do mesmo. Em

1. Mestre, doutorando em Cirurgia pela FMUFMG. Professor Auxiliar do Departamento de Cirurgia da UFBA. Professor Auxiliar de Anatomia Topográfica da Escola Bahiana de Medicina. Chefe do Serviço de Coloproctologia e Preceptor de Cirurgia Geral do Hospital Santo Antônio.
2. Professor Titular de Cirurgia do Aparelho Digestivo e Coordenador do Curso de Pós-Graduação de Cirurgia Abdominal da FMUFMG.
3. SBP-BA. Patologista, Professor Emérito da UFBA. Pesquisador Titular da Fundação Oswaldo Cruz (Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz).
4. SBP-BA. Patologista, Mestre, Doutor em Medicina. Pesquisador Titular da Fundação Oswaldo Cruz (Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz).

Recebido em 2/7/98

Aceito para publicação em 1/2/99

Trabalho realizado no Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da FMUFMG, Centro de Pesquisa Gonçalo Muniz (FIOCRUZ-BA). Tese de mestrado.

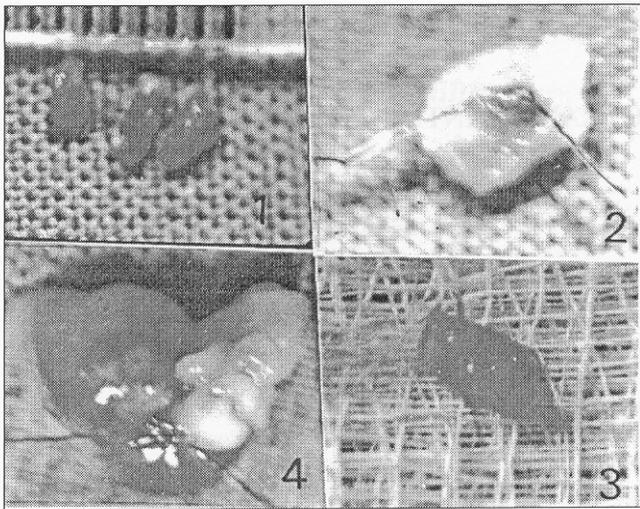


Figura 1 – 1. Três fragmentos para autotransplante. 2. Autotransplante na raiz do mesentério. 3. Autotransplante no músculo esternocleidomastóideo. 4. Autotransplante no ovário

seguida, pela laparotomia, implantaram-se os dois fragmentos restantes na raiz do mesentério e no ovário direito. Na implantação aplicou-se um ponto de mononáilon 6-0 para fixar os fragmentos nos locais já definidos, deixando as extremidades do fio longas para identificação no momento da retirada dos implantes. A síntese das regiões cervical e abdominal foi realizada por planos com pontos contínuos simples e fio de mononáilon 6-0 preto. O exame dos autotransplantes foi feito em três fases: no décimo, vigésimo e trigésimo dias após o implante, sendo dez ratas sacrificadas de cada vez. O implante foi retirado, incluindo o tecido circunjacente, fixando-se em líquido de Bouin (Figuras 1.2, 1.3 e 1.4). Os fragmentos depois de fixados foram desidratados em álcool, clareados em xilol e incluídos em parafina. As secções de 5mm de espessura foram coradas pela hematoxilina e eosina (HE), ácido-periódico de Schiff (PAS) para a demonstração de glicogênio e pela técnica de Picro-Sírius Vermelho para o colágeno. O estudo morfométrico do fragmento autotransplantado da tireóide foi feito através de um sistema de morfometria digital semi-automática, usando-se o Software Sigma-Scan Measurement System.

As estruturas consideradas foram os folículos tireóideos, as células epiteliais do revestimento e o material colóide. Todas as estruturas foliculares, representadas nos cortes histológicos escolhidos, foram analisadas. Para efeito de cálculo estereológico, os folículos tireóideos foram considerados como estruturas esféricas, com distribuição normal de tamanho. Calcularam-se os seguintes parâmetros: densidade de volume folicular, densidade de volume do epitélio de revestimento folicular, densidade de volume do colóide, densidade numérica dos folículos de acordo com Weibel² e índice de ativação da tireóide de acordo com Kalinsnik.³ O nível de significância aceito foi de 0,05 ou 5%, usando-se Software Graphad-Instat.

Um grupo isolado 1, com dez ratas, foi destacado para estudo funcional. Os animais foram submetidos aos transplantes de fragmentos do lobo esquerdo da tireóide em três pontos distintos na raiz do mesentério (RM) com equidistância de 0,5cm. No início da operação, antes da tireoidectomia do lobo esquerdo, foi retirado sangue de cada uma das ratas para dosagem de hormônios tireóideos, caracterizando a primeira coleta. Trinta dias depois da realização dos autotransplantes na raiz do mesentério, fez-se a ressecção do lobo direito da tireóide, que ainda restava *in situ*, tendo as ratas ficado apenas com a tireóide e paratireóides dos fragmentos transplantados na raiz do mesentério. Dez dias após esta última operação, foi tomada outra amostra de sangue de cada uma das ratas para dosagem dos hormônios na segunda coleta.

No grupo isolado 2 fez-se a coleta de sangue para dosagem dos hormônios e tireoparatiroidectomia total. O lobo esquerdo foi dividido como no grupo isolado 1, implantando-se-o na raiz do mesentério. Vinte e quatro horas após a operação, os animais morreram.

O volume de sangue colhido variou de 0,9cm³ a 1,3cm³ para dosagem de triiodotironina (T₃), tetraiodotironina (T₄) e o hormônio estimulante da tireóide (TSH). Foi colocado em frascos de laboratório etiquetados com identificação do animal e seu grupo. O método usado para as dosagens hormonais foi a da quimioluminescência, utilizando-se o aparelho Ciba Corning Magic Lite, de grande sensibilidade e alta resolução, o qual requer menos de 100 microlitros de soro sangüíneo: 25 microlitros para se ter os valores de T₃; 12,5 microlitros para T₄ e 50 microlitros para se determinar o TSH.

RESULTADOS

Histologia – A tireóide e eventualmente a paratireóide, conservaram a sua estrutura com variações discretas do normal, quando suas porções foram implantadas em outros sítios no mesmo animal e examinadas, após intervalos de dez, vinte e trinta dias (Figura 2). Nos transplantes que duraram apenas

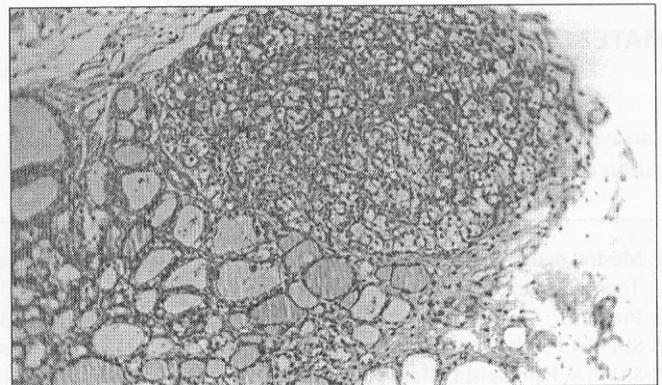


Figura 2 – 10° DPO. Tireóide e paratireóide no local de implantação, mostrando uma boa conservação de suas estruturas histológicas. HE, 160X

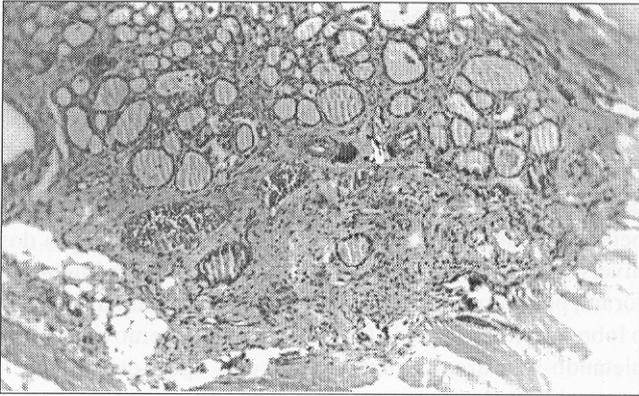


Figura 3 – 10^o DPO. Tireóide implantada no músculo esternocleidomastóideo, mostrando espessamento fibroso na periferia (cápsula) e discreto infiltrado inflamatório mononuclear no interstício. HE, 160X

dez dias, notava-se uma quantidade maior de células descamadas para o interior dos folículos, um maior grau de vacuolização e tumefação das células epiteliais, com edema do conjuntivo intersticial. De um modo geral, não foram notadas; todavia, alterações de monta, que pudessem definir por si só a idade do transplante em cada um dos três pontos biológicos estudados. Apenas em uns poucos casos, quando apareciam fibrose e atrofia, estas últimas alterações foram progressivamente mais acentuadas com o passar do tempo. Quando ocorria fibrose intersticial e atrofia folicular nos implantes, estas alterações eram exclusivas ou predominantes na zona mais central. A cápsula fibrosa nos limites entre o músculo e o tecido tireóideo, por vezes era bem espessa e se intrometia como finas faixas para o interior da glândula (Figura 3). Alterações deste tipo foram vistas em poucos casos. Ocasionalmente, surgia uma ilhota apenas de tecido tireóideo atrofiado no seio de um transplante em excelentes condições.

Mais comumente ocorria um espessamento discreto do tecido conjuntivo estromal, mas sem infiltração de células inflamatórias e sem evidente proliferação fibroblástica ou vascular. Foi visto apenas um caso, em que o tecido transplantado apareceu circundado por um abundante tecido densamente fibroso (Figura 4).

A presença de folículos maiores na periferia e menores no centro foi vista também nas tireóides controles. Isto aparecia mais evidente nas tireóides transplantadas no músculo, do que em outros sítios, mesmo nos casos em que o tecido se apresentava mais conservado. Além do mais, os folículos periféricos se exibiam cheios de colóide, enquanto os mais centrais mostravam-se vazios (Figura 5). Muitas vezes os limites entre a tireóide implantada e o músculo eram demarcados apenas por uma delgada lâmina de tecido fibroso frouxo e de um lado e do outro, tanto a estrutura da glândula, como a do músculo, apareciam inteiramente normais.

Os transplantes feitos no mesentério foram os que apareceram, em geral, mais bem preservados histologicamente, mas vários focos de fibrose e inflamação puderam ser notados na

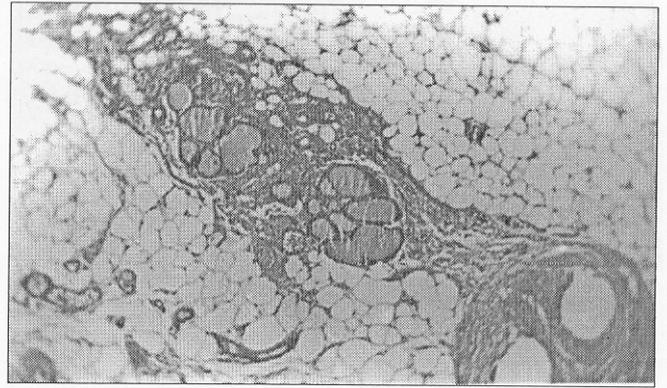


Figura 4 – 10^o DPO. Folículos tireóideos cheios de material colóide e situados no tecido adiposo do mesentério, do qual estão separados por uma cápsula fibrosa. HE, 100X

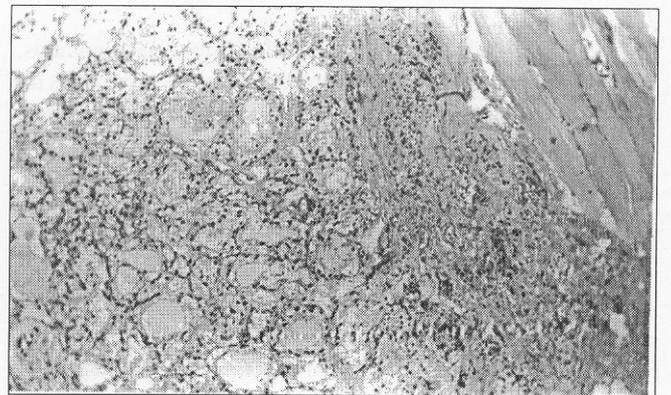


Figura 5 – 10^o DPO. Aspecto da tireóide implantada no músculo esternocleidomastóideo. Folículos mais centrais aparecem atrofiados. HE, 100X

periferia do implante, bem como em torno do fio de sutura. Uma revascularização foi notada em torno dos implantes. Os animais, após a tireoidectomia total, sobreviveram durante dez dias com os implantes realizados no mesentério.

No ovário direito, o implante da tireóide, excepcionalmente ficou retido no interior do hilo ou da região cortical do órgão. O mais das vezes, o tecido implantado ficava no exterior do ovário, aderido à sua superfície. Nestes casos, a conservação da estrutura histológica da tireóide (e por vezes da paratireóide) era muito boa, em que pese algumas zonas de atrofia e fibrose na parte central do transplante (Figura 6). Nas raras oportunidades em que o tecido implantado ficou no interior do ovário, apenas alguns folículos isolados foram vistos no seio de um tecido fibroso denso em um caso.

Morfometria – A comparação entre os grupos, em relação ao tamanho dos folículos mostrou diferença estatisticamente significativa. Os folículos da glândula tireóide transplantada nos vários sítios foram menores do que os folículos da glândula tireóide *in situ*. A comparação entre o tamanho dos folículos transplantados nos vários sítios não mostrou diferença estatisticamente significativa nos pontos biológicos



Figura 6 – 10^o DPO. Implante da tireóide no ovário, vendo-se a parte central da glândula com fibrose e atrofia. Ao lado, estrutura do ovário, com folículo em crescimento. HE, 63X

observados dez, vinte, trinta dias. Os folículos transplantados, independentemente do local, apresentaram nas condições do experimento diminuição do tamanho, que se mostrou estatisticamente significativa, comparado ao tamanho do folículo da glândula *in situ*.

DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que a tireóide da rata pode ser auto-implantada com relativa facilidade. A capacidade regenerativa da glândula e sua resistência à privação de oxigênio parecem muito grandes, a ponto de permitir o tempo necessário entre a retirada do lobo da glândula e a sua implantação em locais distantes do mesmo organismo, onde vai ficar dependente do tempo para a difusão de nutrientes e do surgimento de um suprimento vascular neoformado.

O estudo histológico revelou que cerca de 40% a 80% da glândula implantada sofrem processo degenerativo inicial, por vezes com liberação do material colóide e conseqüente inflamação, mas logo há uma estabilização, seguida de regeneração. Sabe-se que células tireóideas isoladas podem ser implantadas.⁴ Elas logo proliferam e se diferenciam em folículos, reconstituindo a estrutura normal ou próximo do normal da glândula.⁵ Este fato atesta a extraordinária capacidade da tireóide para se regenerar e se diferenciar. Todavia, para uma abordagem de sentido mais prático, valeria a pena saber se uma pequena porção da tireóide também se comportaria da mesma maneira. Isto porque, numa coleção de células, com estroma, com folículos contendo colóide, a situação poderia ser ainda mais fácil do que no simples implante de células isoladas. Por outro lado, a obtenção de células isoladas, aptas para serem implantadas, requer uma tecnologia muito mais complexa, delicada e precisa. As células do implante de um fragmento tireóideo mais profundamente situadas poderiam sofrer necrose isquêmica e liberarem mediadores inflamatórios que poderiam inviabilizar o implante. No presente trabalho esta hipótese foi testada. Os resultados mostraram que

a glândula ficou preservada e logo manteve uma estrutura com apenas ligeiros sinais de sofrimento celular, compensados por alterações regenerativas em outros locais do tecido implantado. Não só a estrutura foi bem mantida, mas também a sua função, o que ficou provado com os testes de dosagens hormonais. Houve uma diminuição significativa de T₃ e T₄ dez dias após remoção do lobo tireóideo restante, aumento bem nítido de TSH, o que levou mais tarde à elevação dos níveis de T₃ e T₄ com tendência à normalização. Os implantes foram, portanto, capazes de manter a vida do animal, quando o lobo direito da tireóide foi cirurgicamente removido, completando-se a tireoidectomia trinta dias após, que passou a ser total (Tabela).

Tabela

Dosagens hormonais obtidas antes (A) e depois (D) da tireoidectomia total completada trinta dias após a tireoidectomia esquerda

Rata	T3/ng/dl		T4/μ /dl		TSH/μU/ml	
	A	D	A	D	A	D
1	89	43	3,6	2,2	0,75	10,6
2	87	48	3,9	1,7	0,25	6,5
3	84	38	3,5	2,0	0,36	7,0
4	88	40	4,0	1,9	0,25	8,1
5	86	36	3,7	2,3	1,00	3,9
6	89	25	4,0	1,8	0,26	8,6
7	74	35	2,5	1,5	0,39	6,3
8	74	13	4,0	1,4	0,28	8,1
9	57	09	2,7	1,5	1,10	6,8
10	56	17	2,6	2,0	0,80	7,5

No estudo histológico, foi notado que os implantes da tireóide foram feitos juntamente com as paratireóides, e estas últimas conservaram-se aparentemente ainda em melhores condições do que a tireóide. O aspecto histológico da paratireóide evidenciou que, também, esta glândula é facilmente implantável nos locais referidos. O implante conjunto com a tireóide contribuiu para a sobrevivência dos animais, que foram submetidos à ablação cirúrgica do lobo restante da tireóide, onde deveriam estar as paratireóides restantes.

Quanto aos locais em que a tireóide foi implantada, o melhor deles foi na raiz do mesentério. Aí, mostraram-se maiores e mais conservados. É possível que o tecido gorduroso e o mesentério tenham oferecido melhor meio nutricional. Foi observada uma maior abundância de vasos nas proximidades dos autoenxertos. Este dado pode ter uma importância crucial para a melhor sobrevivência do implante livre. Resta saber se no local foram liberadas maiores quantidades de fatores angiogênicos. Os numerosos vasos neoformados devem ter contribuído para uma melhor nutrição das células do tecido implantado.

O perfil hormonal revelou a capacidade dos fragmentos da tireóide autotransplantadas de cumprir o funcionamento qualitativo e quantitativo glandular, sugerindo retroalimentação na produção do TSH, aumentado para regularizar os valores de T₃ e T₄ no soro.

Nos autoenxertos colocados no ovário, o tecido tireóideo cresceu dentro do próprio órgão (região hilar, com pequena parte na região cortical), mas sem aspectos histológicos especiais. A idéia de se fazer implantação no ovário foi para tentar verificar se este local forneceria condições especiais, tal como o tumor teratóide no *struma ovarii*, devido às condições peculiares do tecido ovariano. Todavia, nenhuma tendência a mostrar algo diferente do comportamento dos implantes de tireóide em outros sítios foi notada. Apenas as alterações degenerativas foram mais acentuadas e os implantes tinham pequenas dimensões e maior quantidade de fibrose intersticial, quando situados dentro do próprio tecido ovariano. A região do músculo esternocleidomastóideo poderia ser considerada como o *habitat* da tireóide. Contudo, aí, o implante não foi tão satisfatório como aconteceu no ovário e mesentério.

Não foram observados aspectos de atipias citológicas ou histológicas no presente material estudado. Algumas estruturas glandulares apareceram com certa variação de tamanho, aspecto e cromatismo dos núcleos e uma certa irregularidade de tamanho e aspecto do citoplasma. Estas alterações ocorreram em áreas focais e estavam dentro dos limites das reações regenerativas, não parecendo com tendências a exibir atipias celulares e muito menos caráter invasivo. A possibilidade de tecido implantado, mercê de estímulos dege-

nerativos e regenerativos constantemente recebidos, poder evoluir para uma neoplasia, não está totalmente afastada.

Outro aspecto importante, para a maior clareza de nossos resultados, foi o tempo de observação dos transplantes livres. Não podemos, com o tempo observado, provar ou negar que, além de quarenta dias, o transplante pode hiperplasiar-se, manter-se inalterado ou até ser reabsorvido.

Os resultados dos estudos morfológicos deste experimento mostraram que dos sítios testados, o mesentério e o ovário são mais favoráveis ao sucesso dos autotransplantes livres, do que o músculo esternocleidomastóideo. Este estudo, levanta a possibilidade de se realizarem autotransplantes da tireóide e paratireóide, diante da facilidade dos autoenxertos ectópicos.^{6,7} Os fragmentos implantados em locais de topografia diferente mostraram-se viáveis. A glândula tireóide teve a capacidade, nas condições experimentais desta investigação, mesmo sem revascularização, de sobreviver quando autotransplantada, na raiz do mesentério, no ovário direito e no músculo esternocleidomastóideo da rata. O autoenxerto da tireóide apresentou alterações morfológicas mínimas, traduzidas por fibrose, áreas de necrose e atrofia tecidual, que não comprometeram a sua função, embora nos primeiros dias após a operação tenha ocorrido uma diminuição dos níveis séricos de T_3 , T_4 e aumento importante do TSH.

ABSTRACT

The left thyroid lobe of Wistar rats were separated into three fragments and implanted on the sternocleidomastoid muscle, mesentery and right ovary. The implanted tissues were removed after 10, 20 and 30 days and examined histologically. For each time period of transplantation ten rats were used. After 30 days the remaining thyroid tissue was removed. The animals subsequently lived with the transplants only. To verify implant function, three thyroid fragments were implanted on the mesentery in group one. The levels of T_3 , T_4 and TSH were measured in serum before and after the surgery. Histologic examination showed mild atrophy in the beginning which subsequently returned to normality. The best results of transplantation were obtained with the implant on the mesentery. There were low T_3 and T_4 levels and high TSH levels. In conclusion, the autotransplanted thyroid gland sustained its follicular architecture and its endocrinological function, in the studied period.

Key Words: *Thyroid; Thyroidectomy; Autotransplantation of thyroid.*

REFERÊNCIAS

1. Dvorak J, Neumann J – Surgical therapy of carcinoma of the thyroid gland. *Caslek Cesk* 1995;134:374-377.
2. Weibel R – Stereological principles for morphometry in electron microscopy cytology. *Int Rev Cytol* 1969;26:235-302.
3. Kalisnik M – A histometry thyroid gland activation index:(preliminary report). *J Microsc* 1972;95:345-348.
4. Watanabe H, Gould MN, Rose DP, Clifton KH – The effect of thyrotropin (TSH) levels on follicular cluster formation from grafted mono-dispersed rat thyroid cells. *Soc Exp Biol Med* 1983; 173:21-26.
5. Domann FE, Mitchen JM, Clifton KH – Restoration of thyroid function after total thyroidectomy and quantitative thyroid cell transplantation. *Endocrinology* 1990;127:2.673-2.678.
6. Rezende AM – *Enxerto autólogo de Baço - Estudo Comparativo e experimental no abdome*. Belo Horizonte, tese de mestrado do Dep. de Cir.FMUFMG, 1989, 131p.
7. Henning K, Muller C, Franke F, Becker H, Schwemmler K – Follow-up of heterotopic autotransplantation of splenic tissue after traumatic splenic rupture in childhood. *Chirurg* 1994; 65:457-468.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

José Carlos Nunes Mota
Rua Oliveira Salazar,162/601
Ed. Santa Cruz, Barra
40150-030 – Salvador-BA