

Formação de cisto epidermóide (colesteatoma) com implantação de tecido epitelial junto ao osso femural de ratos

Epidermoid cyst formation with epithelial tissue implant in femur bone of mice

Sandra Lira Bastos de Magalães¹,
Olga Maria Rojas Reforme², Raquel Liriano
Guzmán³, Yotaka Fukuda⁴, Flávia Barbosa⁵

Palavras-chave: colesteatoma, cisto epidermóide, otite média crônica.
Key words: cholesteatoma, epidermoid cyst, middle ear otitis.

Resumo / Summary

O colesteatoma é um cisto epidermóide, caracterizado por tecido epidérmico queratinizado, com capacidade de migração e erosão de estruturas adjacentes. **Objetivo:** Verificar o crescimento do cisto epidermóide (colesteatoma) quando se implanta fragmento de pele do pavilhão auricular junto ao osso femoral de ratos. **Forma de estudo:** experimental. **Material e Método:** Foram selecionados 10 ratos, os quais foram submetidos à implantação de fragmento de pele do pavilhão auricular na coxa e mantidos por 3 meses, seguido de remoção do tecido implantado após este período. Cada fragmento ressecado dos animais foi incluso em parafina, corado em hematoxilina-eosina e preparado em lâminas para efetivação de estudo anatomopatológico. **Resultado:** Aspecto macroscópico: aspecto granulomatoso, de coloração amarelada, de forma arredondada e amolecida. Aspecto microscópico: estrutura cística com revestimento constituído por epitélio escamoso estratificado. O cisto apresenta camada mais interna córnea, com descamação de queratina, seguida da camada granulosa e camadas escamosa e basal mais externamente. **Conclusão:** O cisto epidermóide (colesteatoma) pode se desenvolver a partir de tecido epitelial transplantado junto ao osso femoral de ratos.

Cholesteatoma is a well-known affection resembling like a pearl. Its histological aspect is of an epidermoid cyst formation characterized by epidermic keratinized tissue in the middle ear and mastoid with capacity of migration and erosion of near-by structures. **Aim:** Check epidermoid cyst (cholesteatoma) growth by implantation of rat ear auricular skin next to his femur bone. **Study design:** experimental. **Material and method:** Ten healthy rats, aged two to five month both sex underwent to implantation of ear auricular skin to the femur bone for three month. With the obtained material paraffin sections were stained with haematoxylin and eosin for pathology investigation. **Results:** macro view: rounded soft yellow granulation tissue and micro view: squamous keratinizing epithelium cystic formation **Conclusions:** We conclude that the exposed debris plays an important role in epidermoid cyst formation.

¹Médica otorrinolaringologista.

²Médica Residente do serviço de Anatomia-Patológica do Hospital do Servidor Público Estadual (Médica patologista).

³Médica Pós-Graduada do programa de Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina- UNIFESP - EPM/SP (Médica otorrinolaringologista).

⁴Professor Associado, Livre Docente da Disciplina de Otorrinolaringologia da Universidade Federal de São Paulo-Escola Paulista de Medicina - UNIFESP-EPM/SP e Médico Otorrinolaringologista do Hospital IGESP (Professor Associado, Livre Docente da Disciplina de Otorrinolaringologia da Universidade Federal de São Paulo-Escola Paulista de Medicina).

⁵Médica Residente da Disciplina de Otorrinolaringologia do Hospital do Servidor Público Estadual (Médica otorrinolaringologista) UNIFESP - Escola Paulista de Medicina - São Paulo

Endereço para correspondência: Sandra Lira Bastos de Magalhães - Av. Pavão, 355 ap. 141 Moema São Paulo SP 04516-010
Tel (0xx11) 5092-3160/ (0xx11) 8183-6593 - E-mail: slbmagalhaes@uol.com.br

Artigo recebido em 11 de março de 2005. Artigo aceito em 28 de março de 2005.

INTRODUÇÃO

O colesteatoma é uma afecção muito conhecida, tendo sido relatada pela primeira vez por Curveilhier em 1829 e denominada tumor perolado. Na verdade, o colesteatoma é um cisto epidermóide, caracterizado por tecido epidérmico queratinizado, com capacidade de migração e erosão de estruturas adjacentes, freqüentemente encontrados em ossos temporais, com história de otite média crônica^{1,2}.

O cisto epidermóide apresenta uma matriz externa formada por epitélio escamoso estratificado queratinizado, sobre uma perimatriz de tecido fibroconectivo (tecido conjuntivo contendo fibras colágenas, elásticas, fibras de reticulina, fibroblastos, linfócitos, histiócitos e plasmócitos, além de vasos neoformados). O epitélio, histologicamente, é semelhante à epiderme e pode-se observar as suas quatro camadas clássicas (basal, escamosa, granulosa e córnea). Essa matriz descama em lamelas de queratina para dentro do espaço por ela delimitado, preenchendo-o e distendendo-o³.

O cisto epidermóide (colesteatoma) tem características líticas e de migração, podendo, portanto, causar destruição tanto da cadeia ossicular, quanto do arcabouço ósseo da mastóide e levar a complicações intra e extracranianas.

O colesteatoma é tradicionalmente classificado como congênito e adquirido (primário e secundário), dependendo de sua gênese. A patogênese do colesteatoma adquirido está diretamente relacionada às afecções da orelha média, quer por disfunções da tuba auditiva, quer por infecções por ela oriundas, causando uma perfuração da membrana timpânica, o que não é observado no colesteatoma congênito.

Estudos recentes demonstram que o aparecimento e evolução do colesteatoma parecem ser multifatoriais e estão relacionados às características genéticas e ambientais, envolvendo aspectos de biologia molecular, por citoqueratinas presentes em células epiteliais com características latentes de proliferação e migração, assim como da atuação em cascata de citocinas, proteínas produzidas pelas células em resposta ao processo inflamatório, que atuam modificando as características das próprias células e as de tecidos próximos⁴. Esta interação entre as citocinas acaba sendo, ao mesmo tempo, causa e efeito desta característica agressiva do colesteatoma³.

O colesteatoma, por ser tecido epidérmico, possui as citoqueratinas 1, 2, 10 (típicas de epitélios estratificados queratinizados) e as citoqueratinas 5 e 14 (típicas de epitélios estratificados, queratinizados ou não)³.

O diagnóstico do colesteatoma é feito por uma adequada anamnese, sendo a história da doença fundamental por suas características peculiares. No exame otorrinolaringológico a otoscopia deve ser realizada microscopicamente. Se houver secreção no meato e na caixa do tímpano, deve ser cuidadosa e completamente aspirada. Deve-se observar o aspecto da membrana do tímpano, especialmente a *pars flácida*. O estudo de imagem que se pode fazer uso

é o raio-X simples, a tomografia computadorizada (exame de escolha), e a ressonância magnética (exame não usual). Seu tratamento é cirúrgico, via de regra.

Estudos experimentais evidenciaram a formação do cisto epidermóide quando se implanta o epitélio queratinizado em ossos⁵.

A injeção de propilenoglicol na bula timpânica de cobaia induz à formação de colesteatoma, provavelmente pela migração da camada basal do epitélio timpânico⁶.

A possibilidade de se reproduzir o cisto epidermóide em regiões de mais fácil acesso, nos permite um estudo detalhado de como o cisto epidermóide inicia e desenvolve a sua formação, envolvendo os diversos aspectos moleculares. A coxa de ratos foi escolhida por ter osso de dimensões de possíveis de manuseios e de fácil acesso e não envolver estruturas vitais, propiciando fácil recuperação do animal após o procedimento.

O objetivo deste estudo foi verificar o crescimento do cisto epidermóide (colesteatoma) quando se implanta fragmento de pele do pavilhão auricular junto ao osso femoral de ratos.

MATERIAL E MÉTODO

Foram selecionados 10 ratos sadios entre 2 e 5 meses de idade, de ambos os sexos, os quais foram submetidos à implantação de fragmento de pele do pavilhão auricular na coxa. Nos três primeiros animais foi implantada em apenas uma pata e nos demais em ambas as patas, totalizando 17 patas.

Os animais foram mantidos em gaiolas do laboratório de Embriologia do Departamento de Morfologia da Universidade Federal de São Paulo, com alimentação, hidratação e temperatura adequadas, sob os cuidados do funcionário do setor e supervisão dos pesquisadores.

A manipulação dos animais foi iniciada realizando-se anestesia geral com éter.

Foi removido fragmento da pele de $\pm 4 \times 4$ mm de área sem pêlo do pavilhão auricular. Realizada incisão no terço médio de coxa e divulgada a musculatura até fêmur. Uma vez no fêmur, foi realizada remoção do periosteio e colocada parte do fragmento sobre ele. Após esta etapa, realizou-se sutura na pele, utilizando-se fio mononylon 0-4.

Para critério de comparação, ficou definido que na coxa direita a face do epitélio seria colocada em contato com o fêmur e na coxa esquerda a face do subcutâneo é que ficaria em contato com o osso, a partir do quarto animal.

Feitos os procedimentos, os animais foram colocados de volta às suas gaiolas e mantidos no mesmo ambiente por 3 meses. Após este período, o animal foi sacrificado e retirado o tecido implantado. Cada fragmento foi submetido separadamente a procedimento de fixação de BOUIN. Em seguida foi incluso em parafina, corado em hematoxilina-eosina (H-E), e preparado em lâminas para efetivação de estudo anatomopatológico.

RESULTADO

Aspecto Macroscópico

Das 17 patas, 16 apresentaram o tecido epitelial junto ao músculo, evidenciando a migração do tecido do osso em direção às camadas mais superficiais.

Em 1 pata não conseguimos encontrar o tecido implantado.

O aspecto dos tecidos era granulomatoso, de coloração amarelada, de forma arredondada e amolecida, com cerca de 3 mm de diâmetro.

Aspecto Microscópico

Os cortes histológicos em H-E mostram estrutura cística com revestimento constituído por epitélio escamoso estratificado (Figura 1, 2). A camada mais interna do cisto é formada pela camada córnea com descamação de queratina disposta em lamelas na cavidade cística, seguida da camada granulosa e ainda mais externa as camadas escamosa e basal.

DISCUSSÃO

O colesteatoma é uma lesão destrutiva do osso temporal que gradualmente se expande e causa complicações pela erosão das estruturas ósseas adjacentes. A reabsorção óssea pode resultar na destruição da cadeia ossicular e da cápsula ótica com consecutiva perda auditiva, disfunção vestibular, paralisia facial e complicações intracranianas. Cirurgia é o tratamento de escolha. A patogenia do colesteatoma, no entanto, ainda é controversa¹.

Estudo indica que o tecido epidermóide no ouvido médio se origina na epiderme do canal auditivo externo⁴.

A formação epidermóide foi reinvestigada em fragmentos de ossos temporais, para verificar a relação com colesteatoma congênito. Os achados afirmam que o tecido epidermóide é precursor do colesteatoma congênito⁷.

Estudo similar ao nosso foi realizado em ratos, sendo a implantação de pele do meato acústico externo transplantada para ouvido médio. O resultado foi formação de cisto epitelial ou transição gradual no epitélio do ouvido médio e quando ocorreu infecção superposta, houve um crescimento epitelial expressivo⁸.

Um outro estudo, com características semelhantes ao nosso, teve como resultado a mesma formação de cistos epidermóides (colesteatoma) em parte dos animais estudados, sendo observada reação inflamatória na presença dos fragmentos, o que estaria associada com a formação do colesteatoma⁵.

Procedimentos otológicos têm sido descritos como fatores etiológicos do desenvolvimento de cisto epidermóides no ouvido médio, assim como na membrana do tímpano. Relatos de caso mostram histórias de cirurgias otológicas no mesmo lado dos cistos, presumindo terem sido originados de elementos epidérmicos no momento da cirurgia⁹, em que provavelmente ocorreu implantação de epitélio queratinizado na orelha média.

Experimentalmente, a patogenia do colesteatoma também foi associada predominantemente à reabsorção óssea causada por um cisto, mediada por atividade osteoclástica, que ocorreria na intimidade da orelha média, sendo a atividade osteoclástica um critério na compreensão do colesteatoma^{10,11}. Para verificar esta patogenia, um implante de pele foi realizado em ratos. O resultado foi um expressivo aumento das citocinas M-CSF, OPG e OPGL demonstradas por imunohistoquímica. O estudo revelou eventos básicos de atividade osteoclástica com reabsorção óssea localizada e promoveu novas descobertas na compreensão na reabsorção induzida pela colesteatoma¹¹.

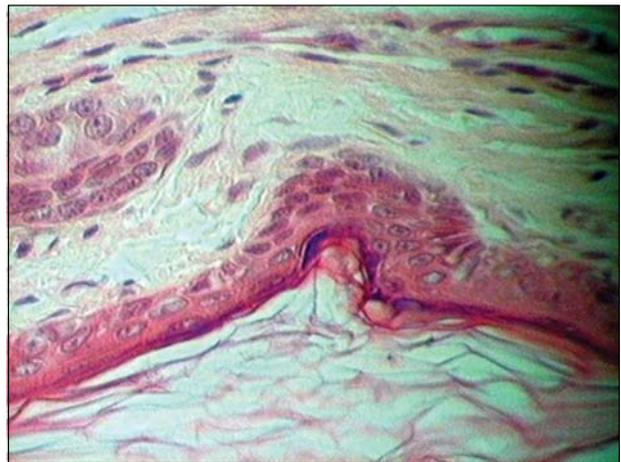


Figura 1. Cisto epidermóide - A camada mais interna (inferior da figura) é a camada córnea seguida da camada granulosa, escamosa e basal.

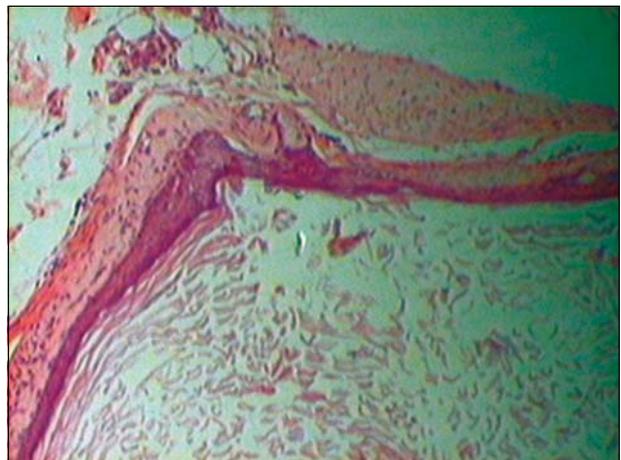


Figura 2. Cisto epidermóide - estrutura cística com revestimento constituído por epitélio escamoso estratificado. A camada mais interna (inferior da figura) é a camada córnea com descamação de queratina disposta em lamelas seguida da camada granulosa e ainda mais externa as camadas escamosa e basal.

No estudo realizado por Antunes⁶, houve crescimento de colesteatoma pela injeção de propilenoglicol na bula timpânica de cobaias, sem perfuração da membrana do tímpano. Este fato evidencia que o cisto epidermóide pode ser induzido à formação, possivelmente pela migração de camadas mais profundas do epitélio da membrana do tímpano para o interior da bula.

No mesmo estudo, o autor usou nestes animais o ácido trans-retinóico em uma das orelhas, mantendo o outro lado como controle. Observou-se no lado que se aplicou o ácido trans-retinóico que o crescimento do colesteatoma foi bem inferior, indicando que esta droga deve inibir o processo de crescimento do colesteatoma⁶.

No nosso estudo, de 17 patas, apenas em uma não foi observado o cisto, que pode ter sido absorvido ou migrado para região mais distante do fêmur, não tendo sido localizado. Nas 16 patas em que foi encontrado o cisto epidermóide, ele se encontrava arredondado, amolecido e de coloração amarelada. O material encontrado não se encontrava junto ao fêmur e nem havia erosão óssea pelo cisto, mas se encontrava mais superficialmente, na camada muscular, indicando que o organismo estava tentando exteriorizar o cisto. Quanto à face do epitélio em contato com o osso, não houve diferença no comportamento entre pele ou tecido superficial subcutâneo, formando-se o cisto da mesma maneira, sem lesão óssea. O fato do fragmento de pele se encistar com a sua camada mais externa no interior do cisto mostra que o organismo procura isolar a queratina do meio, como se fosse um corpo estranho.

Na última década, foi bastante discutida a atividade osteoclástica, como fator principal indutor da destruição óssea, na otite média crônica por colesteatoma. Fatores inflamatórios celulares, como citocinas, poderiam ser o gatilho para a atividade osteoclástica. Em seqüência a isto, concentração local de lipopolissacarídeo seria capaz de disponibilizar as citocinas no local. Isto torna a concentração local de lipopolissacarídeo um importante fator desencadeante da reabsorção óssea no colesteatoma¹².

Estudo realizado em relação à expressão e distribuição do fator transformador alfa de crescimento (TGF) na orelha média sugere que a estimulação autócrina e parácrina desse, no epitélio escamoso do colesteatoma, pode ser a contribuição para a sua proliferação¹³.

Com a possibilidade de reproduzir o cisto epidermóide em local de fácil acesso, experimentalmente, aspectos moleculares na formação e no crescimento do colesteatoma poderão ser investigados.

CONCLUSÃO

Concluimos que o cisto epidermóide (colesteatoma) pode se desenvolver a partir de tecido epitelial transplantado junto ao osso femoral de ratos. Este estudo em modelos experimentais evidencia que a internalização do epitélio queratinizado (pele) mobiliza mecanismo de defesa do organismo que procura isolar o tecido estranho ao meio, encistando-o e exteriorizando-o.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodríguez Verdugo M, Gámez Caba E, Castro Serrano A, Arana Ortega M. Giant cholesteatoma with intact tympanic membrane. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2001 Mar; 52(2): 147-9.
2. Mafee MF, Kumar A, Heffner DK. Epidermoid cyst (cholesteatoma) and cholesterol granuloma of the temporal bone and epidermoid cysts affecting the brain. *Neuroimaging Clin N Am* 1994 Aug; 4(3): 561-78.
3. Ribeiro FAQ, Pereira CSB. Tratado de Otorrinolaringologia. Volume 2, capítulo 10; Otite Média Colesteatomatosa.
4. Liang J, Michaels L, Wright A. Immunohistochemical characterization of the epidermoid formation in the middle ear. *Laryngoscope* 2003 Jun; 113(6): 1007-14.
5. Hinohira Y, Gyo K, Yanagihara N. Experimental cholesteatomas arising from autologous free skin grafting in the middle ear cavity. *Acta Otolaryngol* 1994 Sep; 114(5): 533-8.
6. Antunes M A. Efeitos do Ácido Trans-retinóico na Inibição do Colesteatoma de Cobaias. Tese de Doutorado, UNIFESP; 2003.
7. Lee TS, Liang JN, Michaels L, Wright A. The epidermoid formation and its affinity to congenital cholesteatoma. *Clin Otolaryngol* 1998 Oct; 23(5): 449-54.
8. Vennix PP, Kuijpers W, Peters TA, Tonnaer EL, Ramaekers FC. Growth and differentiation of meatal skin grafts in the middle ear of the rat. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994 Oct; 120(10): 1102-11.
9. Tovi F, Bartal N, Zirkin C. Epidermal cysts of temporal fossa: an unusual complication of ear surgery. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1985 Mar-Apr; 94(2 Pt 1):162-4.
10. Olszewska E, Wagner M, Bernal-Sprekelsen M, Ebmeyer J, Dazert S, Hildmann H, Sudhoff H. Etiopathogenesis of cholesteatoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2004 Jan; 261 (1): 6-24.
11. Sudhoff H, Liebehens Y, Aschenbrenner J, Euteneuer S, Ebmeyer J, Bernal-Sprekelsen M, Stark T, Dazert S. Expression of osteoclast stimulating and differentiating factors in a murine model of localized inflammatory bone resorption. *Laryngorhinootologie* 2004 Jan ; 83(1): 14-9.
12. Sudhoff H, Liebehens Y, Aschenbrenner J, Euteneuer S, Ebmeyer J, Bernal-Sprekelsen M, Stark T, Dazert S. Expression of osteoclast stimulating and differentiating factors in a murine model of localized inflammatory bone resorption. *Laryngorhinootologie* 2004 Jan; 83(1): 14-9.
13. Xu Y, Wu Z, Tao Z, Hua Q, Jin K. Possible role of transforming growth factor alpha on the cholesteatoma growth regulation. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi* 2003 Jan; 17(1): 32-4.
14. Peek FA, Huisman MA, Berckmans RJ, Sturk A, Van Loon J, Grote JJ. Lipopolysaccharide concentration and bone resorption in cholesteatoma. *Otol Neurotol* 2003 Sep; 24(5): 709-13.