

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Faculdade de Medicina**

**João Márcio Prazeres dos Santos**

**EFEITO DA TRIANCINOLONA NA APOPTOSE CELULAR  
E NAS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM QUELOIDES**

**Belo Horizonte**

**2014**

**João Márcio Prazeres dos Santos**

**EFEITO DA TRIANCINOLONA NA APOPTOSE CELULAR  
E NAS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM QUELOIDES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e Oftalmologia da Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

**Área de concentração:** Cicatrização.

**Linha de pesquisa:** Fatores intervenientes na cicatrização tecidual.

**Orientador:** Professor Doutor Tarcizo Afonso Nunes.

**Coorientador:** Professor Doutor Cláudio de Souza.

**Belo Horizonte**  
**Faculdade de Medicina - UFMG**

**2014**

Santos, João Márcio Prazeres dos.  
S237e Efeito da triancinolona na apoptose celular e nas alterações morfológicas em  
queloides [manuscrito]. / João Márcio Prazeres  
dos Santos. - - Belo Horizonte: 20014.  
52 f. il.  
Orientador: Tarcizo Afonso Nunes.  
Coorientador: Cláudio de Souza.  
Área de concentração: Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia.  
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais.  
Faculdade de Medicina.

1. Apoptose. 2. Queloide/terapia. 3. Triancinolona. 4. Dissertações.  
Acadêmicas. I. Nunes. Tarcizo Afonso. II. Souza. Cláudio de. III.  
Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WR 143

# **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Reitor:** Prof. Dr. Jaime Arturo Ramírez

**Vice-Reitora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Regina Goulart Almeida

**Pró-Reitor de Pós-Graduação:** Prof. Dr. Rodrigo Antônio de Paiva Duarte

**Pró-Reitora de Pesquisa:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adelina Martha dos Reis

**Diretor da Faculdade de Medicina:** Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

**Vice-Diretor da Faculdade de Medicina:** Prof. Dr. Humberto José Alves

**Coordenador do Centro de Pós-Graduação:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandhi Maria Barreto

**Subcoordenadora do Centro de Pós-Graduação:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Cortes Gama

**Chefe do Departamento de Cirurgia:** Prof. Dr. Marcelo Eller Miranda

**Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia:** Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches

**Subcoordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ivana Duval de Araújo

**Colegiado Coordenador do Programa de Pós Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia**

Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ivana Duval Araújo

Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches

Prof. Dr. Marcio Bittar Nehemy

Prof. Dr. Renato Santiago Gomez

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

**Representante discente**

José Carlos Souza Vilela



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À  
OFTALMOLOGIA

**UFMG**

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**EFEITO DA TRIANCINOLONA NA APOPTOSE CELULAR E NAS ALTERAÇÕES  
MORFOLÓGICAS EM QUELOIDES**

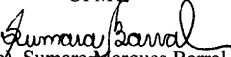
**JOÃO MARCIO PRAZERES DOS SANTOS**

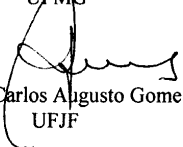
Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA, área de concentração CICATRIZAÇÃO.

Aprovada em 16 de junho de 2014, pela banca constituída pelos membros:

  
Prof(a). Tarcizo Afonso Nunes - Orientador

UFMG  
  
Prof (a) Claudio de Souza

UFMG  
  
Prof(a). Sumara Marques Barral

UFMG  
  
Prof(a). Carlos Augusto Gomes  
UFJF

Belo Horizonte, 16 de junho de 2014.

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, José Luiz e Marize,  
e às minhas irmãs, Márcia e Ana Lúcia,  
primordialmente pela vida  
e pela constante presença na minha formação  
pessoal e profissional.

À minha amada esposa, Patricia,  
pelo amor e apoio diários.

Aos meus filhos, Amanda e Philippe,  
por me oferecerem a fundamental esperança no futuro.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Doutor Tarcizo Afonso Nunes, pela orientação providencial e experiente.

Ao Professor Doutor Cláudio de Souza, pela orientação tanto científica quanto humana. Presença essencial, serena, mas segura.

Ao Professor Doutor Anílton César Vasconcelos, responsável pelo Laboratório de Apoptose do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), profissional que apoiou a pesquisa desde seu início, com conhecimentos indispensáveis e disponibilidade, e que facilitou sobremaneira as atividades em laboratório.

À Professora Núbia Pereira Braga, pela disponibilidade e grande ajuda na preparação das reações laboratoriais e fotografias digitais.

Aos demais técnicos dos laboratórios do ICB da UFMG, pela eficiência no preparo das lâminas para a análise laboratorial.

Aos profissionais do ambulatório do Centro de Especialidades Médicas (CEMED) - Barbacena, Gilma e Frank -, onde foi realizada a atividade clínica da pesquisa, pelo apoio incondicional para agendamentos e encaminhamento dos pacientes.

Ao Professor Doutor José de Bessa Júnior, pela orientação e supervisão na análise estatística.

À Professora Magda Barbosa Roquette de Pinho Taranto, pela correção e formatação do texto final.

À minha amada esposa, Patricia, e aos meus filhos, Amanda e Philippe, por terem suportado as ausências necessárias à execução e conclusão da pesquisa.

“A ciência exercita a capacidade, não o saber. – O valor de praticar com rigor, por algum tempo, uma ciência rigorosa não está propriamente em seus resultados: pois eles sempre serão uma gota ínfima, ante o mar das coisas dignas de saber. Mas isso produz um aumento de energia, de capacidade dedutiva, de tenacidade; aprende-se a alcançar um fim de modo pertinente. Neste sentido é valioso, em vista de tudo o que se fará depois, ter sido homem de ciência”.

**Friedrich Nietzsche (1844-1900).**



## RESUMO

**Introdução:** a cicatriz é o produto final de um conjunto de eventos ordenados para a reparação dos tecidos, porém pode ser insatisfatória e gerar deformidades como os queloides. Em vista do esclarecimento incompleto de sua etiologia, bem como da participação da apoptose celular nessa gênese, os queloides são tratados com índices de sucesso variáveis, como verificado com o uso de corticoide injetável. **Objetivo:** comparar o efeito da triancinolona injetável em cicatrizes queloidianas quanto ao número de células em apoptose e avaliara o efeito da triancinolona injetável na alteração do comprimento, da altura e da espessura dessas cicatrizes. **Casística e método:** foi realizado ensaio clínico longitudinal, prospectivo, controlado, aleatorizado, unicego, com 15 pacientes portadores de queloides de orelha distribuídos em dois grupos: grupo 1, sete pacientes submetidos apenas às exéreses dos queloides; e grupo 2, com oito pacientes submetidos às exéreses das lesões após três sessões de infiltração de 1 mL de hexacetonida de triancinolona (20 mg/mL), com intervalos de três semanas entre elas, assim como entre a última sessão e a operação. Os dois grupos foram homogêneos quanto a: idade ( $p=0,867$ ), gênero ( $p=0,782$ ) e tempo de evolução da cicatriz queloidiana ( $p=0,779$ ). As cicatrizes queloidianas dos pacientes do grupo 2 foram medidas quanto ao comprimento, altura e espessura antes da injeção da triancinolona e antes do procedimento cirúrgico, usando-se paquímetro da marca Rhosse<sup>®</sup>. As peças cirúrgicas foram coradas com hematoxilina-eosina para detalhamento morfológico e quantificação das células por observador mascarado. O índice apoptótico foi determinado pela razão entre o número de células apoptóticas e o número de células totais, multiplicada por 100. Para a quantificação desse índice consideraram-se células apoptóticas as que apresentaram pelo menos três características destas: anoiquia, condensação de citoplasma, condensação nuclear, fragmentação nuclear e fragmentação celular. **Resultado:** o índice apoptótico no grupo 1 foi de 56,82 e no grupo 2, de 68,55, sem diferença ( $p=0,0971$ ). Houve redução do tamanho dos queloides submetidos à infiltração de triancinolona, porém sem significância. As reduções foram 10,12% para o comprimento ( $p=0,6598$ ), 11,94% para a altura ( $p=0,4981$ ) e 15,62% para a espessura ( $p=0,4027$ ). **Conclusão:** nas condições da realização desta pesquisa, pôde-se concluir que a infiltração de triancinolona nas cicatrizes queloidianas não aumentou o número de apoptoses e não houve redução das dimensões, comprimento, altura e espessura dos queloides.

**Palavras-chave:** Apoptose. Queloides. Triancinolona.

## ABSTRACT

**Introduction:** Scar is the end product of ordained events for the tissues repair; however it may be unsatisfactory and can generate deformities like keloids. In perspective of the incomplete elucidation of keloid's etiology, as well as the involvement of apoptosis in this genesis, they are poorly treated with variable rates of success, as seen with injectable corticosteroids. **Objective:** To compare the effect of injectable triamcinolone in keloid scars on the number of cells undergoing apoptosis and to evaluate the effect of injectable Triamcinolone in change the length, height and thickness. **Methods:** This study consists in a prospective, controlled, randomized, single-masked clinical trial, conducted with fifteen patients with ear keloids divided into two groups: group 1 - seven patients underwent excisions of keloids and group 2 - eight patients underwent excisions of lesions after three sessions of infiltration with one mL of Triamcinolone acetonide (20mg/mL) with three week intervals between them and between the last session and surgery. The two groups were homogeneous regarding age, gender and evolution of keloid scar. The keloid scars of patients in group 2 were measured for the length, height and thickness before injection of triamcinolone and before surgery, using a Rhosse<sup>®</sup> caliper rule. The specimens were stained with hematoxylin-eosin for morphologic detailing and manually cell quantification by a masked observer. The apoptotic index was defined by the ratio of number of apoptotic cells by total cell number, multiplied by one hundred. To quantifying the apoptotic index we considered apoptotic cells if they presented at least three characteristics as anoiquia, cytoplasmatic condensation, nuclear condensation, nuclear fragmentation and cell fragmentation. **Results:** The apoptotic index in group 1 was 56.82 and 68.55 in group 2, showing no significant difference in apoptosis ( $p = 0.0971$ ). There was reduction in the size of triamcinolone infiltrated keloids, but it was not significant. The reduction was 10.12% on the length ( $p = 0.6598$ ), 11.94% on the height ( $p = 0.4981$ ) and 15.62% on the thickness ( $p = 0.4027$ ). **Conclusion:** This study, in its conditions, concluded that the infiltration of triamcinolone in keloid scars has not increased the number of apoptosis and has not reduced the size, length, height and thickness of keloid.

**Key Words:** Apoptosis. Keloid. Triamcinolone.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Estrutura química da triancinolona.....	21
FIGURAS 2a e 2b – Fotomicrografia de corte histológico contendo células normais .....	28
FIGURAS 3a e 3b - Fotomicrografia de corte histológico contendo células apoptóticas.....	29
FIGURAS 4a e 4b – Fotomicrografia de corte histológico contendo células apoptóticas.....	30

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Características dos indivíduos nos dois grupos quanto à idade e ao tempo de evolução da cicatriz queloidiana.....	24
TABELA 2 - Distribuição dos indivíduos nos dois grupos quanto ao gênero .....	24
TABELA 3 - Distribuição dos indivíduos nos dois grupos quanto à etnia.....	24
TABELA 4 - Dimensões iniciais e finais das cicatrizes queloidianas dos indivíduos do grupo 2 .....	32
TABELA 5 - Comparação do índice apoptótico entre os indivíduos dos dois grupos. ....	33

# SUMÁRIO<sup>1</sup>

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVO .....	15
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1 Apoptose .....	16
3.2 Queloides.....	17
3.3 Tratamento dos queloides.....	19
4 CASUÍSTICA E MÉTODO.....	22
4.1 Critérios de inclusão e não-inclusão .....	22
4.2 Avaliação dos indivíduos e casuística.....	23
4.3 Composição dos grupos.....	23
4.4 Características dos grupos de pacientes .....	23
4.5 Tratamento da cicatriz queloidiana .....	24
4.5.1 Procedimentos pré-operatórios.....	25
4.5.2 Procedimento cirúrgico.....	25
4.6 Pós-cirúrgico .....	26
4.7 Análise laboratorial.....	26
4.8 Variáveis e análise estatística .....	30
5 RESULTADOS.....	32
5.1 Variações das dimensões das cicatrizes queloidianas .....	32
5.2 Apoptose celular .....	32
6 DISCUSSÃO .....	34
7 CONCLUSÃO .....	38
REFERÊNCIAS.....	39
APÊNDICES E ANEXOS .....	44

---

<sup>1</sup> Este trabalho foi revisado de acordo com as novas regras ortográficas aprovadas pelo Acordo Ortográfico assinado entre os países que integram a Comunidade de Países de Língua Portuguesa (CPLP), em vigor no Brasil desde 2009. E foi formatado de acordo com a ABNT NBR 14724 de 17.04.2011.

## 1 INTRODUÇÃO

A cicatrização consiste em ordenados eventos celulares, moleculares, bioquímicos, sendo o ponto final ideal o reparo completo, formando tecidos com estrutura estética e funcional igual à normal, independentemente do agente causador do trauma (BAYAT; MCGROUTHER; FERGUNSON, 2005).

Influenciados por fatores locais e sistêmicos (BAYAT; MCGROUTHER; WILLOUGHBY, 2005), o reparo tecidual pode apresentar cicatrização inestética, com repercussões psicológicas e disfuncionais. As mais comuns formas de cicatrizes inadequadas são as hipertróficas e os queloides (AKASAKA *et al.*, 2001), que são considerados afecções fibroproliferativas (TREDGET *et al.*, 1997) com ocorrência em 5 a 15% das cicatrizes, independentemente do gênero (ČEOVIĆ *et al.*, 2010; DE FELICE *et al.*, 2009).

As pesquisas não obtiveram êxito completo em elucidar as causas dos queloides e, como consequências disso, os tratamentos são diversos e nem sempre apresentam bons resultados (ČEOVIĆ *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2001), sendo necessárias investigações para a evolução do conhecimento sobre a cicatrização insatisfatória. O aparecimento dos queloides e das cicatrizes hipertróficas pode estar ligado à incapacidade do organismo em interromper o processo de cicatrização, mas o que se pode afirmar é que o resultado final é o excesso de proliferação celular e produção aumentada de colágeno (SHIH *et al.*, 2010).

Na tentativa de elucidar as causas dos queloides, as pesquisas sobre as células que participam do processo de cicatrização ressaltam que a participação da apoptose como fenômeno de controle da celularidade local e formação final da cicatriz (DESMOULIERE *et al.*, 1995).

No processo de cicatrização, inicialmente as células multiplicam-se, inclusive os fibroblastos, e na medida em que a cicatrização se aproxima do seu término, ocorre redução dessa população celular (GREENHALGH, 1998; MESSADI *et al.*, 1999).

A apoptose é a forma mais adequada de ajustar a quantidade de fibroblastos e de outras células, por não apresentar inflamação e ser um processo

regulado (FERRARI, 2009). Como evento fisiológico, a apoptose participa da embriogênese, da involução de tecidos hormônio-dependentes como no endométrio no ciclo menstrual, na perda de populações celulares proliferativas e nos linfócitos do timo e também na morte celular de neutrófilos na inflamação aguda. Durante a apoptose, as células apresentam alterações morfológicas decorrentes do processo definido de morte, que culminarão com a eliminação celular. A alteração mais característica da apoptose ocorre no núcleo celular, que é a condensação da cromatina e fragmentação nuclear (GRIVICIH; BRONDARI, 2007).

A abordagem terapêutica atualmente adotada para o tratamento dos queloides é composta de várias opções e suas respectivas variações. Entre elas encontram-se a ressecção cirúrgica e a infiltração de corticoide intralesional (CARROLL *et al.*, 2002; MUNEUCHI *et al.*, 2006; WIGEROW *et al.*, 2009), que visam a cessar ou até mesmo a retroceder o acúmulo de colágeno. Os glicocorticoides são empregados há pelo menos cinco décadas (MUNEUCHI *et al.*, 2006). Esses fármacos atuam diminuindo o processo inflamatório, o que poderia ser um dos causadores dos queloides, entretanto, essa pode ser apenas uma das ações (JUCKETT; HARTMAN-ADAMS, 2009).

Algumas investigações (DAROUGHEH; ASILAN; SHARIATI, 2007; DURANI; BAYAT, 2008) foram realizadas com o objetivo de elucidar a ação dos corticoides, assim como o efeito dos mesmos no aumento de apoptoses, mas esses estudos foram realizados somente com culturas de fibroblastos *in vitro*. Esse fato nos motivou a pesquisar o efeito da triancinolona na cicatriz queloidiana, *in vivo* e, assim, contribuir para o avanço do conhecimento nessa área.

## 2 OBJETIVO

- Comparar o efeito da triancinolona injetável em cicatrizes queloidianas quanto ao número de células em apoptose,
- Avaliar o efeito da triancinolona injetável quanto as alterações no comprimento, altura e espessura das cicatrizes.



## 3 REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1 Apoptose

A apoptose é um processo biológico de morte celular programada, que depende do envolvimento de várias moléculas, sendo a maior parte delas as proteínas. Apresenta uma série de características próprias que levou à utilização do termo grego “*αποτοσις*” do prefixo “*απο*”, separação, e do sufixo “*τοσις*”, ptose (queda), pois foi comparada à queda das folhas das árvores ou pétalas das flores (KERR; WYLLIE; CURRIE, 1972).

De acordo com Lucinda (2009), além da participação fisiológica, a apoptose elimina células que estão lesadas nas doenças, limitando, assim, a lesão tecidual, sejam elas decorrentes da desintegração do ácido desoxirribonucleico (DNA) por radiação, do uso de fármacos citotóxicos anticâncer ou da hipóxia. Ocorre ainda em casos de morte celular nas infecções virais, como na síndrome de imunodeficiência adquirida e na hepatite viral.

Kerr, Wyllie e Currie (1972) e Grivich e Brondari (2007) relatam que as células apoptóticas apresentam forma ovalada ou redonda, por condensação do citoplasma, com compactação de organelas, brotamento do retículo endoplasmático e posterior formação de corpos apoptóticos (bolhas citoplasmáticas) e núcleo denso e fragmentado.

Na superfície celular, segundo Ferrari (2009), ocorre a expressão de receptores e exteriorização da proteína fosfatidil serina, essencial para tornar essas células reconhecíveis pelos fagócitos que irão efetuar sua eliminação por meio da fagocitose, enquanto na membrana celular verificam-se espessamento e perda de estrutura especializada. As células apoptóticas apresentam, ainda, alterações como a perda de aderência com a matriz extracelular (GRIVICIH; BRONDARI, 2007; SPENCER NETTO; FERRAZ, 2001). Mas, a principal alteração bioquímica da apoptose é a ativação das caspases, enzimas (proteases) com o aminoácido cisteína no sítio ativo (LAMKANFI *et al.*, 2007), que são capazes de clivar o ácido aspártico (HÄCKER, 2000).

Em 1999, Budihardjo *et al.* estabeleceram que as caspases, em número de 14, identificadas a partir de homólogos dos nematódeos *Caenorhabditis elegans*, são divididas em três grupos: as iniciadoras, as executoras e as mediadoras do processo inflamatório. Hengartner (2000) definiu que as caspases são secretadas como proenzimas e precisam ser ativadas para desencadear o processo de morte por apoptose, que culmina nas alterações morfológicas de formação dos corpos apoptóticos e sua fagocitose. Essas caspases são ainda capazes de amplificar seus efeitos por ativação de outras enzimas iguais, em cascata, depois de desencadeada sua ativação.

A apoptose pode ser dividida em fases de iniciação e execução. A primeira, caracterizada pelas alterações bioquímicas de ativação das caspases, ocorre por duas vias, extrínseca e intrínseca, culminando em uma via final comum. A segunda é caracterizada pela apoptose propriamente dita e fagocitose celular (GESKE; GERSCENSON, 2001; LAMKANFI *et al.*, 2007).

A demonstração das alterações morfológicas das células em apoptose serve como método de estudo da mesma, bem como a detecção dessas alterações por meio da reação de *terminal deoxynucleotide transferase-mediated dUTP Nick-end Labeling* (TUNEL) (GRAVIELI; SHERMAN; BEN-SASSON, 1992). Na apoptose há ativação das endonucleases dependentes de cálcio e magnésio e subsequente quebra do DNA, gerando compostos com um radical terminal 3'OH, que é o local onde se fará a ligação e reação de TUNEL e marcação do DNA fragmentado (ALLEN; HUNTER; AGRAWAL, 1997).

### 3.2 Queloides

Niessen *et al.* (1999) descrevem os queloides como aberrações cicatriciais que acontecem de forma aleatória, porém com predominância em negros, hispânicos e asiáticos. Akasaka *et al.* (2001) definem os queloides clinicamente como massas elevadas, hiperemiadas ou não, que ultrapassam as margens da lesão primária, não apresentando tendência à regressão espontânea, como proposto por Gupta e Sharman (2011). Para Lu *et al.* (2007a), os queloides, à microscopia, são vistos como acúmulos desorganizados de colágeno tipos I e III.

Em 2009, Juckett e Hartman-Adams e posteriormente, em 2010, Čeović *et al.* (2010) identificaram os locais mais comuns de aparecimento dos queloides, como esterno, ombro, membros superiores e lobo de orelha.

Wolfram *et al.* (2009) reportam a predisposição genética e/ou hormonal, além dos fatores etiológicos dos queloides, sendo eles: endócrinos, presença de corpos estranhos na ferida, infecção, tensão, retardo na cicatrização, inflamação prolongada e interação anormal entre epitélio e mesênquima. Entretanto, como descrito por Shih *et al.* (2010), todas essas etiologias oferecem pouco suporte científico.

A formação da matriz extracelular exagerada por aumento de fibronectina, colágeno tipo I, elastina e diminuição da degradação do fibrinogênio também é característica nos queloides (ROBLES; BERG, 2007; SHIH *et al.*, 2010).

Os fibroblastos são as células mais estudadas no processo de cicatrização, porém não se pode afirmar que são os únicos causadores de cicatrização inadequada, pois são modulados por outras células, como os queratinócitos e os macrófagos (BLAŽIĆ; BRAJAC, 2006; FUNAYAMA *et al.*, 2003; SHIH *et al.*, 2010). Ueda *et al.* (1999) mostram que essas células têm expressiva atividade metabólica e, além disso, comportam-se de forma diferente de acordo com o local, seja nas cicatrizes inadequadas ou na pele e cicatrizes consideradas normais, como comprovado em trabalhos com culturas (APPLETON; BROWN; WILLOUGHBY, 1996; BETTINGER; YAGER; DIEGELMANN, 1996; CHIPEV; SIMON, 2002; LUO *et al.*, 2001; NIRODI *et al.*, 2000).

Lu *et al.* (2007b), avaliaram os fibroblastos de queloides também foram investigados em suas características biológicas, observando que eles apresentaram maior capacidade de proliferação, em função da menor necessidade do estímulo de fatores de crescimento e da maior resiliência aos inibidores. Essas células possuem mais capacidade de migração, que realizam de forma mais rápida que as células normais (NILAND *et al.*, 2001; SHIH *et al.*, 2010; WITT *et al.*, 2008). Wolfram *et al.* (2009) afirmam que nos queloides a síntese de colágeno é 20 vezes maior que na cicatriz normal e três vezes maior que na cicatriz hipertrófica.

A apoptose aumenta quando a ferida se aproxima da fase final da cicatrização e as células, principalmente os fibroblastos, mantêm-se na fase proliferativa, levando ao maior acúmulo de colágeno (DESMOULIÈRE *et al.*,

1995). Isso é corroborado pela pesquisa de Ueda *et al.* (1999), a qual mostrou que o trifosfato de adenosina (ATP), combustível essencial para a atividade celular e sinalizador da mesma, mantém-se elevado nos fibroblastos dos queloides, evidenciando alta taxa metabólica dessas células. Ishihara *et al.* (2000) comprovaram que os fibroblastos dos queloides são mais resistentes à apoptose e, por isso, podem permanecer por mais tempo ativos, levando à formação do queloide. Segundo Landin *et al.* (1998), nos queloides a apoptose é 22% menor que na pele normal.

Alguns autores sugerem outras teorias para explicar a ocorrência dos queloides, como o aumento da resistência do fibroblasto, a ativação das caspases e, conseqüentemente, a apoptose (ABDO FILHO, 2006; CHODON *et al.*, 2000; SEIFERT *et al.*, 2008).

Estudos comprovam que queloides representam a expressão de diferentes fenótipos dos fibroblastos e que estes reagiriam a diversos estímulos de forma diferente, até no mesmo indivíduo (CHODON *et al.*, 2000; GUPTA; SHARMA, 2011; LU, *et al.* 2007b; WITT *et al.*, 2008).

Como proposto por Al-Attar *et al.* (2006), as operações são empregadas para o tratamento do queloides, porém com indicações relativas, pois a formação de nova cicatriz será fator desencadeante de novo processo cicatricial, o qual poderá gerar estímulo à formação do queloide. Wolfram *et al.* (2009) recomendam a excisão simples intramarginal, com a finalidade de não estimular a produção de colágeno, visto que os fibroblastos do queloide já estariam estabilizados. Essa estratégia é fundamentada no trabalho de Lu *et al.* (em 2007b), que evidenciaram que os fibroblastos do centro do queloide são metabolicamente mais ativos que os fibroblastos da periferia.

### **3.3 Tratamento dos queloides**

Vários são os fármacos injetados nos queloides com o intuito de cessar seu crescimento. A maior parte é composta de substâncias antimitóticas como 5-fluouracil (AL-ATTAR *et al.*, 2006; WOLFRAN *et al.*, 2009), bleomicina (JUCKETT; HARTMAN-ADAMS, 2009), interferon (AL-ATTAR *et al.*, 2006) e outros, como

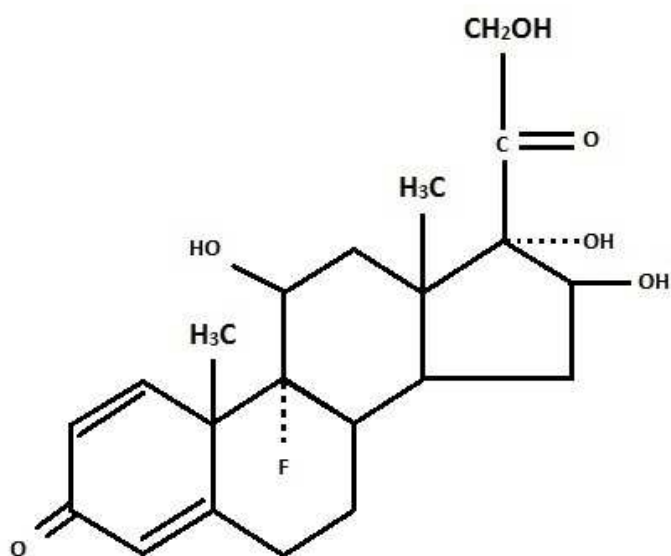
verapamil (GUPTA; SHARMA, 2011), sendo o corticoide o composto mais utilizado para infiltração intralesional.

As primeiras pesquisas com o uso dos corticosteroides intralesionais para tratamento de cicatrizes hipertróficas e queloides iniciaram-se na década de 1960 com os trabalhos de Ketchum *et al.* (1966) e Griffith, Monroe e Mckinney (1970). Desde então, os pesquisadores tentam elucidar os mecanismos de ação dos mesmos. Durani e Bayat (2008) e depois Wolfram *et al.* (2009) orientam que o corticoide deva ser injetado com o objetivo de diminuir a proliferação de fibroblastos e, conseqüentemente, a síntese de colágeno e supressão dos mediadores pró-inflamatórios (DURANI; BAYAT, 2008; WOLFRAN *et al.*, 2009). Essa ação antiproliferativa e pró-apoptótica ocorre à custa de consumo de energia celular (ATP), por meio de mudanças mitocondriais (LONGUI *et al.*, 2005; WANG *et al.*, 2009).

Al-Attar *et al.* (2006) descreveram as alterações efetuadas nas estruturas dos corticoides sintéticos com o intuito de obter-se mais ação anti-inflamatória e menos efeitos colaterais. Com essas modificações, obtêm-se conjuntamente mais potência e duração de ação.

A triancinolona é um corticosteroide com 21 átomos de carbono e diferencia-se da hidrocortisona por apresentar fluoração na posição 9 $\alpha$  do anel B, dupla ligação 1,2 no anel A, o que confere mais intensidade de ação. Além disso, apresenta outra substituição na posição 16 do anel D, que praticamente suprime sua atividade mineralocorticoide (AL-ATTAR *et al.*, 2006; WOLFF *et al.*, 1996) (FIG. 1).

FIGURA 1 - Estrutura química da triancinolona



Fonte: Wolff et al. (1996).

Cada procedimento terapêutico vem acompanhado de estatísticas de sucesso e fracasso, sendo que a recorrência pode acontecer, inclusive, na totalidade dos casos tratados. Desse modo, as pesquisas revelam que associações de terapias são mais efetivas, visto que nenhuma delas, isoladamente, poderá cursar com completo sucesso terapêutico (BOUTLIKASAPIDOU *et al.*, 2005; MUSTOE *et al.*, 2002; NIESSEN *et al.*, 1999; OLIVEIRA *et al.*, 2001; WIGEROW *et al.*, 2009).

Ćeović *et al.* (2010) defendem que não existe um único tratamento definitivo ideal para o tratamento dos queloides e que o método mais efetivo é a prevenção.

## 4 CASUÍSTICA E MÉTODO

Trata-se de um ensaio clínico longitudinal, prospectivo, controlado, aleatorizado, unicego (HOCHMAN *et al.*, 2005), realizado com indivíduos com cicatrizes queloidianas na orelha. A investigação foi realizada no ambulatório de cirurgia do Hospital Escola da Faculdade de Medicina de Barbacena (Centro de Especialidades Médicas - CEMED) e no Laboratório de Apoptose do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG.

A pesquisa iniciou-se após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, parecer número 0601.0.203.000-11, com liberação em 10 de janeiro de 2012 (ANEXO A), bem como pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Presidente Antônio Carlos (UNIPAC), parecer número 911/2011, com liberação em 08 de março de 2012 (ANEXO B).

Todos os sujeitos da pesquisa autorizaram sua participação, assinando termo de consentimento livre e informado específico para cada grupo (APÊNDICES A e B), sendo que os menores de idade foram representados por seus responsáveis legais.

### 4.1 Critérios de inclusão e não-inclusão

Os indivíduos do estudo apresentaram-se por livre demanda ao referido ambulatório de cirurgia para o tratamento da cicatriz inadequada.

Critérios de inclusão: cicatriz queloidiana localizada no lobo da orelha, região posterior, decorrente de perfuração para uso de brinco.

Critérios de não-inclusão: tratamento prévio da cicatriz; uso de medicações antimetabólicas ou imunomoduladoras; e recusa do indivíduo em participar da pesquisa.

## 4.2 Avaliação dos indivíduos e casuística

Os indivíduos foram submetidos à anamnese geral para pesquisa de doenças associadas, com ênfase na cicatriz queloidiana.

A casuística foi composta de 15 indivíduos, sendo sete (46,67%) do gênero masculino e oito (53,33%) do gênero feminino, três brancos, sete pardos e cinco negros. A idade variou entre 12 e 35 anos.

## 4.3 Composição dos grupos

Os indivíduos do estudo tiveram seus dados coletados em formulário criado para a pesquisa (APÊNDICE C) e, posteriormente, foram organizados em tabela no programa *Microsoft Office Excel*® 2007. Foi utilizado o comando ALEATORIO (,), no qual foram definidos dois números atribuídos de forma randomizada a cada registro, assim constituindo dois grupos:

- Grupo 1 - composto de sete (46,67%) indivíduos que se submeteram à ressecção dos queloides sem infiltração intralesional prévia de corticoide;
- Grupo 2 - composto de oito (53,33%) indivíduos que receberam infiltração de corticoide intralesional previamente à ressecção cirúrgica.

## 4.4 Características dos grupos de pacientes

A comparação entre os dois grupos de indivíduos quanto à idade média não mostrou diferença, no teste do qui-quadrado ( $p=0,867$ ), assim como o tempo de evolução da cicatriz queloidiana, compreendido entre a percepção e a procura por tratamento ( $p=0,779$ ) (TAB. 1).



TABELA 1 - Características dos indivíduos nos dois grupos quanto à idade e ao tempo de evolução da cicatriz queloidiana

	<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>	<b>p*</b>
	$\bar{x} \pm dp$	$\bar{x} \pm dp$	
<b>Idade<sup>a</sup></b>	19,29 ± 4,645	20,75 ± 6,902	0,867
<b>Evolução<sup>m</sup></b>	25,14 ± 12,536	35,38 ± 30,336	0,779

$\bar{x}$ : média; dp: desvio-padrão; a: anos; m: evolução em meses; \*: análise estatística: teste de Mann – Whitney.

Fonte: dados da pesquisa

Em relação ao gênero, os dois grupos de pacientes apresentaram-se homogêneos e sem diferença entre eles (p=0,782) (TAB. 2).

TABELA 2 – Distribuição dos indivíduos nos dois grupos quanto ao gênero

<b>Gênero</b>	<b>Grupo 1 (%)</b>	<b>Grupo 2 (%)</b>	<b>Total (%)</b>	<b><math>\chi^2</math>*</b>
<b>Masculino</b>	3 (42,9)	4 (50,0)	7 (46,67)	0,782
<b>Feminino</b>	4 (57,1)	4 (50,0)	8 (53,33)	
<b>Total</b>	<b>7 (100)</b>	<b>8 (100)</b>	<b>15 (100)</b>	

\*: Análise estatística: teste do qui-quadrado

Fonte: dados da pesquisa

Houve predominância, quanto à etnia, de pardos e negros nos dois grupos, sendo seis indivíduos em cada grupo, o que correspondeu a 85,8% no grupo 1 e 75% no grupo 2 do total da amostra (TAB. 3).

TABELA 3 – Distribuição dos indivíduos nos dois grupos quanto à etnia

<b>Etnia</b>	<b>Grupo 1 (%)</b>	<b>Grupo 2 (%)</b>	<b>Total (%)</b>
<b>Branca</b>	1 (14,3)	2 (25,0)	3 (20,0)
<b>Parda</b>	3 (42,9)	4 (50,0)	7 (46,7)
<b>Negra</b>	3 (42,9)	2 (25,0)	5 (33,3)
<b>Total</b>	<b>7 (100)</b>	<b>8 (100)</b>	<b>15 (100)</b>

Fonte: dados da pesquisa

## 4.5 Tratamento da cicatriz queloidiana

### 4.5.1 Procedimentos pré-operatórios

As cicatrizes queloidianas dos pacientes do grupo 2 foram medidas, em centímetros, quanto ao comprimento, altura e espessura, com auxílio de paquímetro milimetrado (Rhosse<sup>®</sup>, São Paulo). Essas medidas foram realizadas antes de se iniciar o tratamento e após três semanas da última infiltração. As cicatrizes foram fotografadas com máquina digital SONY<sup>®</sup> DSC-H2, 6.0 *megapixels*, como fonte de documentação pré-operatória.

Nos pacientes do grupo 2 foram realizadas três sessões de infiltração de 1 mL de hexacetonida de triancinolona na concentração de 20 mg/mL (miligrama por mililitro), com intervalos de três semanas entre elas (DAROUGHEH; ASILIAN; SHARIATI, 2007; DURANI; BAYAT, 2008). A infiltração de triancinolona foi realizada com seringa de 3 mL e agulha 26 G (Gauge) ½ (13 X 4,5 mm) (BD<sup>®</sup>, São Paulo) com injeção retrógrada única na região central da cicatriz queloidiana.

### 4.5.2 Procedimento cirúrgico

Todos os pacientes foram submetidos à ressecção cirúrgica da cicatriz queloidiana. A extirpação da lesão foi o único procedimento nos indivíduos do grupo 1. Nos do grupo 2, a operação foi realizada três semanas após a última sessão da aplicação de triancinolona.

O material cirúrgico estéril utilizado foi composto de: cabo de bisturi número 3 com lâmina número 15, pinças hemostáticas, pinça de dissecação anatômica com dente e uso de pinça de anergia monopolar (Loktal<sup>®</sup>, São Paulo) para a hemostasia. O procedimento foi realizado na sala de cirurgia do ambulatório, com o paciente em decúbito dorsal e a cabeça girada para o lado oposto para a exposição da orelha que foi submetida à operação. A antisepsia de orelha, face e parte do couro cabeludo e do pescoço foi feita com clorexidina a 2% (Rioquímica<sup>®</sup>, São José do Rio Preto, São Paulo). Em seguida, foram colocados campos cirúrgicos estéreis e aplicada anestesia local com 1 a 2 mL de xilocaína a

2% (Cristália<sup>®</sup>, Itapira, São Paulo), sem vasoconstritor, empregando-se seringa de 3 mL e agulha 26 G ½ (13 X 4,5 mm) (BD<sup>®</sup>, São Paulo).

Em todos os pacientes foi realizada a excisão total da cicatriz queloidiana, seguida de hemostasia com eletrocautério, sutura com pontos separados com fio monofilamentado de *nylon*<sup>®</sup> 6-0 (Techinofio<sup>®</sup>, Goiânia, Goiás) e curativo com fita microporosa (Nexcare<sup>®</sup>, São Paulo). Foram prescritos analgésicos de uso comum para o pós-operatório de cirurgia.

As peças cirúrgicas foram divididas em três fragmentos de até 0,5 cm de espessura por seção longitudinal, incluindo o centro e a borda da lesão. Todos os fragmentos foram enviados ao Laboratório de Apoptose da UFMG. Um fragmento foi acondicionado em formol a 10% tamponado com fosfato 0,01 Mol e potencial hidrogeniônico (pH) 7,4 para análises e os outros dois fragmentos foram acondicionadas em frascos com glutaraldeído (Rioquímica<sup>®</sup>, São José do Rio Preto, São Paulo) e nitrogênio líquido (Airlíquide<sup>®</sup>, São Paulo) para a realização de outra pesquisa.

#### **4.6 Pós-operatório**

Os pontos cirúrgicos foram retirados com 10 dias de pós-operatório. Os indivíduos retornaram para avaliação com uma semana, 10 dias, 15 dias, um mês, três meses e seis meses. Alta ambulatorial foi dada com seis meses e recomendado retorno em caso de necessidade.

#### **4.7 Análise laboratorial**

No Laboratório de Apoptose do ICB da UFMG, os espécimes fixados em formol foram processados segundo técnicas de rotina, cortados a 5 µm e corados com hematoxilina-eosina (HE), para realização de detalhamentos morfológicos. Empregou-se o microscópio de luz Olympus<sup>®</sup> CH 300 (Olympus<sup>®</sup>, São Paulo), com objetiva planocromática com 40 vezes de aumento e

foram ainda obtidas fotografias digitalizadas por meio de câmera JVC® TK 720V (JVC®, Tóquio, Japão) acoplada ao microscópio para captura pelo analisador de imagens Honestech TVR® (Honest Technology®, Austin, Estados Unidos da América) versão 2.5 para Windows®

A quantificação das células foi realizada manualmente em imagens digitalizadas obtidas dos campos histológicos e analisadas no programa *Image-Pro Plus*® (Media Cybernetics®, Rockvile, Estados Unidos da América) versão 4.5.0.29 para Windows®.

Na quantificação do índice apoptótico, consideraram-se as células com morfologia sugestiva de apoptose, no mínimo representativo de cinco campos obtidos para cada lâmina, e determinada média entre essas quantificações. Essa avaliação foi feita por um único observador mascarado, que considerou como células apoptóticas as que apresentaram três ou mais das características que se seguem:

- a) Anoiquia (retração celular e perda de adesões entre as células e a membrana basal);
- b) condensação do citoplasma;
- c) condensação nuclear (compactação da cromatina nuclear em massas densas uniformes, alinhadas no lado interno da membrana nuclear, às vezes em imagem de crescente);
- d) fragmentação nuclear (convolução e fragmentação da membrana nuclear - sem cariorexe ou ruptura);
- e) fragmentação celular (com formação dos corpos apoptóticos).

O índice apoptótico (IA) foi determinado pela seguinte fórmula:

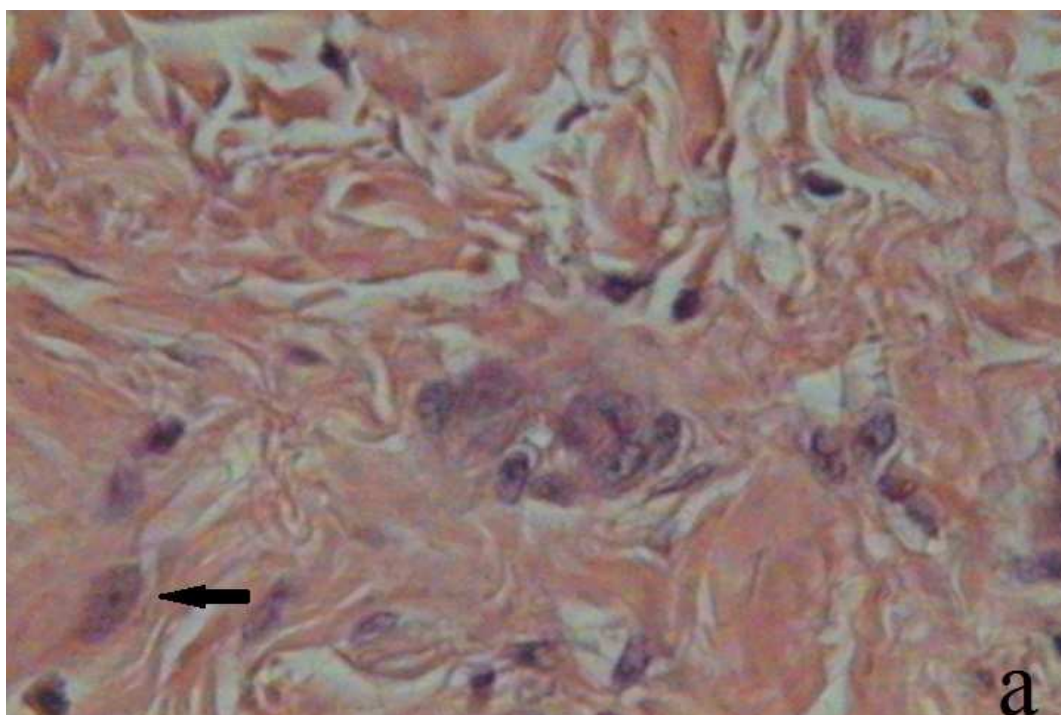
$$IA = \frac{\text{número de células apoptóticas}}{\text{número de células totais}} \times 100$$

Células normais são exemplificadas nas FIG. 2a e 2b.

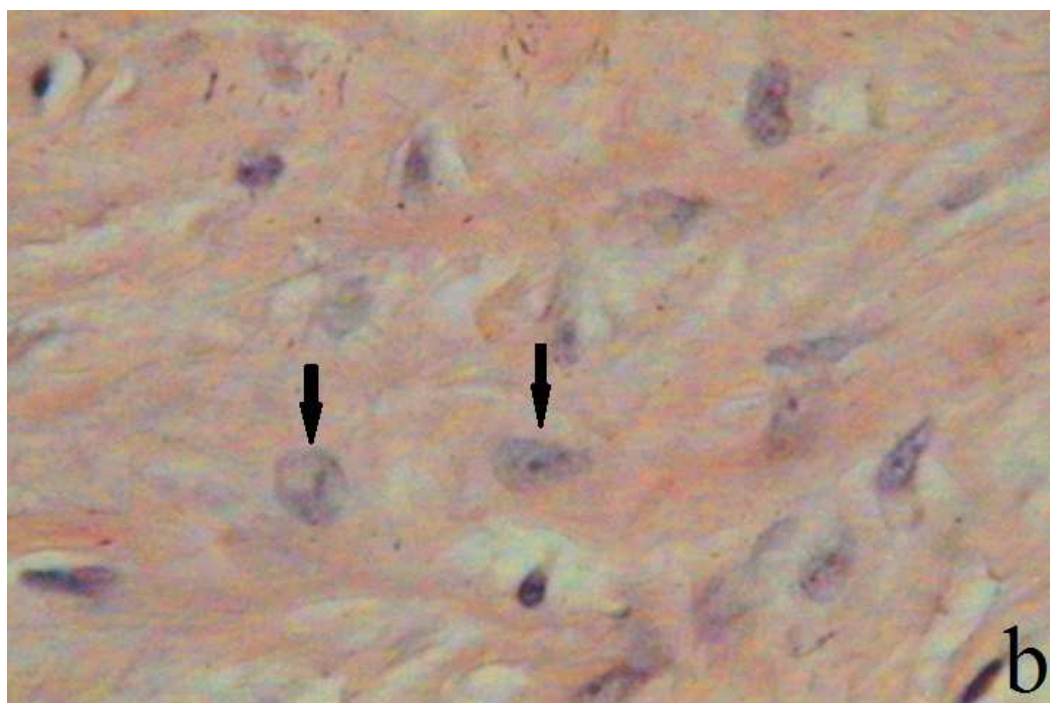
Algumas células apoptóticas são representadas nas setas das FIG. 3a e 3 b.

Foram realizadas reações de TUNEL para confirmar a presença de células apoptóticas evidenciadas na análise morfológica (*TdT-FragEL™ DNA Fragmentation Detection Kit*®, Calbiochem).

FIGURAS 2a e 2b – Fotomicrografia de corte histológico contendo células

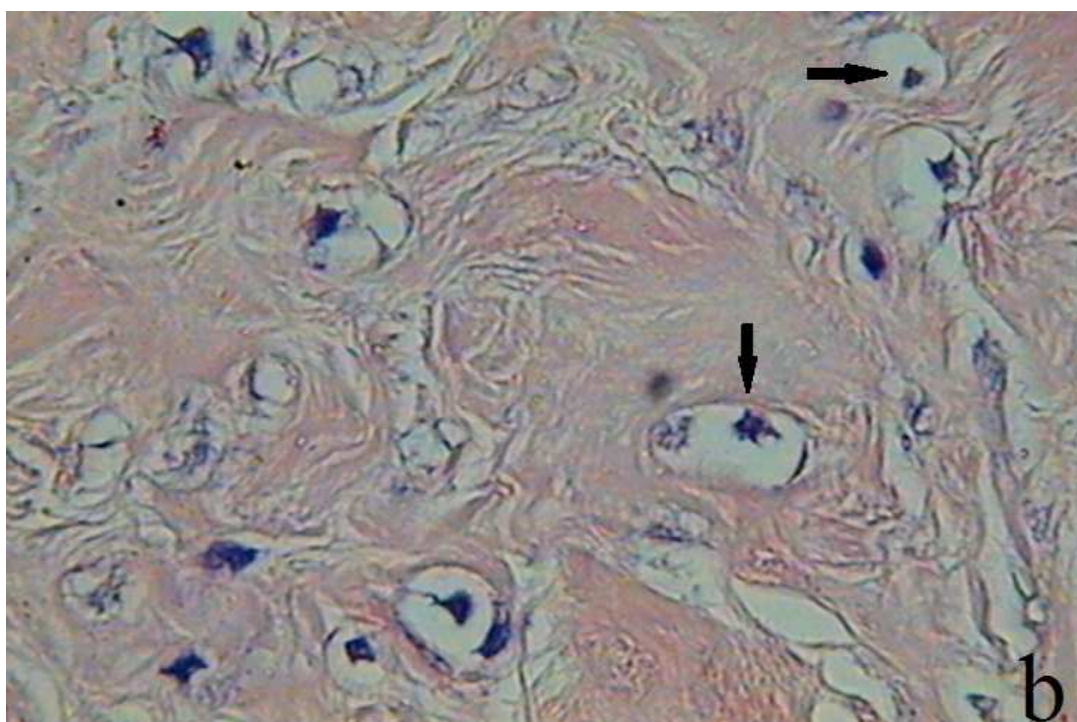
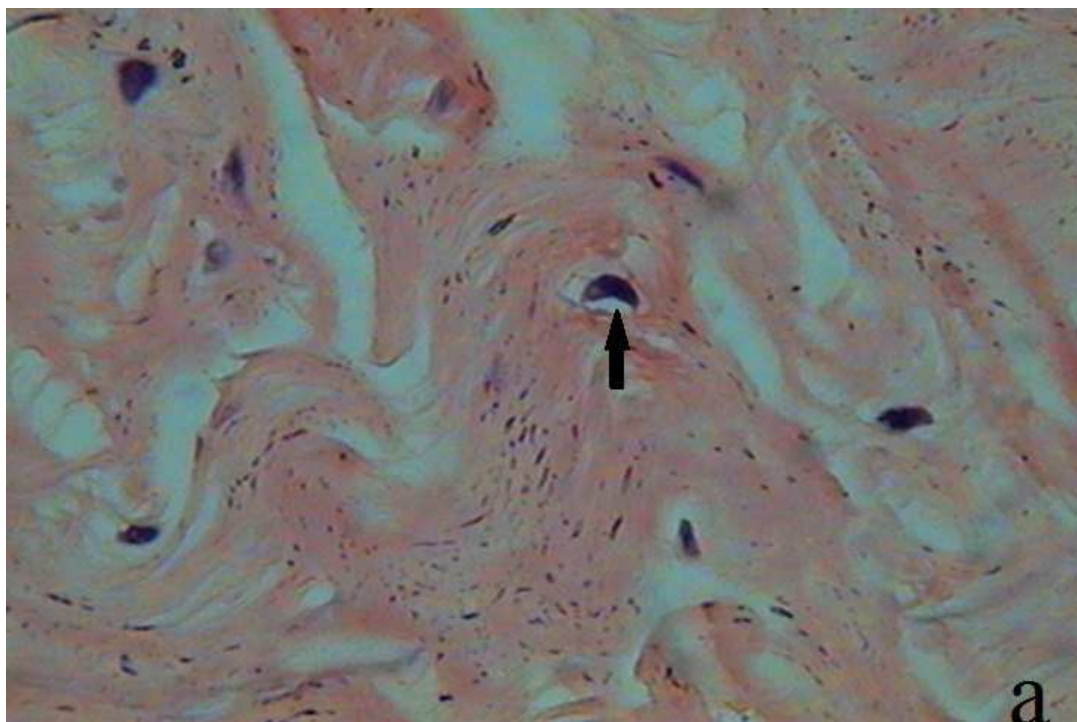


normais



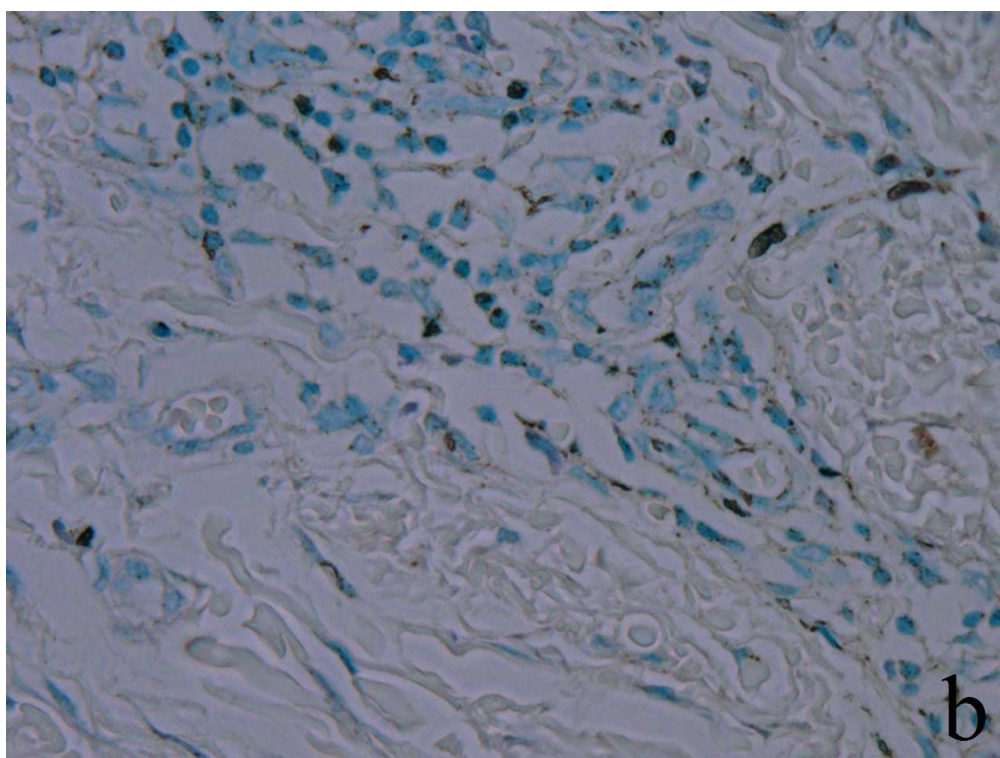
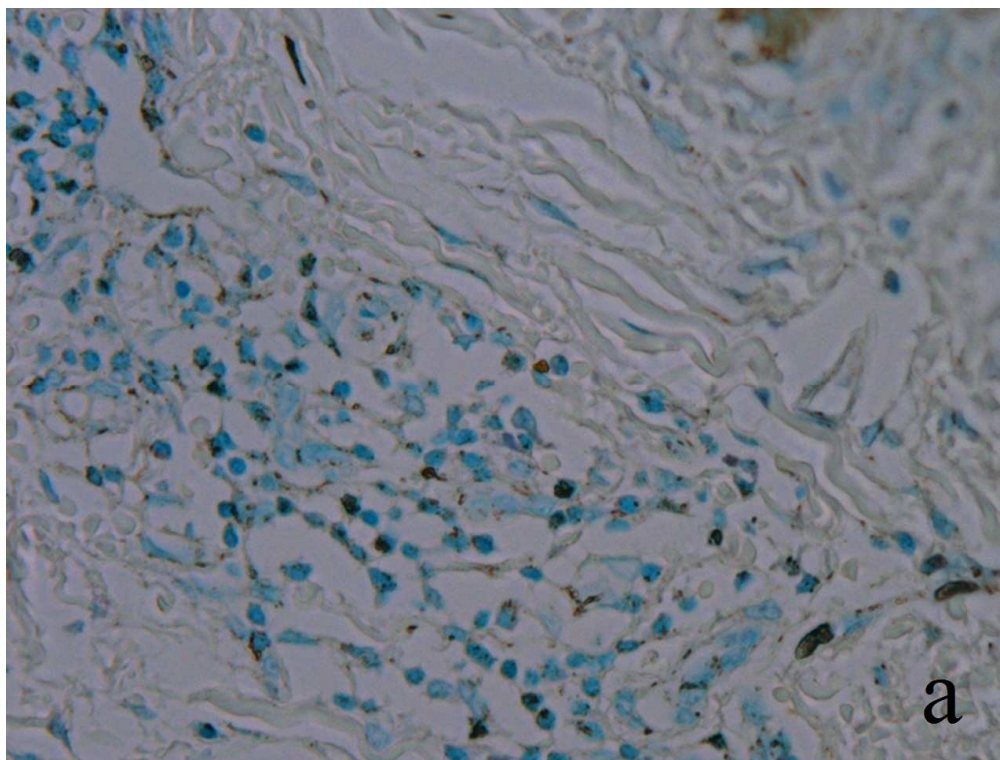
Hematoxilina e eosina, aumento 40X.  
Fonte: dados da pesquisa

FIGURAS 3a e 3b - Fotomicrografia de corte histológico contendo células apoptóticas



Hematoxilina e eosina, aumento 40 X.  
Fonte: dados da pesquisa

FIGURAS 4a e 4b – Fotomicrografia de corte histológico contendo células apoptóticas (células com núcleos condensados e hiperconcorados)



Reação de Tunel, aumento 40 X.  
Fonte: dados da pesquisa

#### 4.8 Variáveis e análise estatística

As variáveis estudadas foram as dimensões da cicatriz queloidiana (comprimento, altura e espessura) e o índice de apoptose das células. A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa *International Business Machines (IBM)® Statistical Package for Social Sciences (SPSS)® Statistics*, versão 19.0.0 e foi adotado o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). Empregaram-se testes não paramétricos (teste de Mann-Whitney), pois os grupos apresentaram distribuição assimétrica e reduzido número de indivíduos (SIQUEIRA; TIBÚRCIO, 2011; TRIOLA, 2013).



## 5 RESULTADOS

Não houve complicações, assim como efeitos colaterais referentes à aplicação do corticoide nos indivíduos do grupo 2, até o sexto mês de pós-operatório.

### 5.1 Variações das dimensões das cicatrizes queloidianas

Nos indivíduos do grupo 2, quando comparadas as medidas iniciais e finais, após as infiltrações de corticoide as cicatrizes queloidianas apresentaram média de redução das suas dimensões, 10,12% no comprimento, 11,94% na altura e 15,62% na espessura, sem diferença ( $p > 0,05$ ) (TAB. 4).

TABELA 4 – Dimensões iniciais e finais das cicatrizes queloidianas dos indivíduos do grupo 2 (n = 8)

	Inicial	Final	p*
	$\bar{x} \pm dp$	$\bar{x} \pm dp$	
<b>Comprimento<sup>a</sup></b>	1,363 ± 0,6413	1,225 ± 0,5800	0,6598
<b>Altura<sup>a</sup></b>	0,8375 ± 0,3114	0,7375 ± 0,2615	0,4981
<b>Espessura<sup>a</sup></b>	0,8000 ± 0,3071	0,6750 ± 0,2712	0,4027

a: medida em centímetros;  $\bar{x}$ : média; dp: desvio-padrão; \*: análise estatística: teste de Mann-Whitney.

### 5.2 Apoptose celular

Nos indivíduos do grupo 1 sem a infiltração de triancinolona nas cicatrizes queloidianas, o índice apoptótico foi de 56,82, enquanto nos indivíduos do grupo 2 esse índice foi de 68,55, sem diferença ( $p = 0,0971$ ) (TAB. 5 e GRÁF. 3 e 4).

TABELA 5 – Comparação do índice apoptótico entre os indivíduos dos dois grupos

	<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>	<b>p*</b>
	$\bar{x} \pm \text{d.p.}$	$\bar{x} \pm \text{d.p.}$	
<b>IA</b>	56,82 ± 15,82	68,55 ± 9,32	0,0971

$\bar{x}$ : média; dp: desvio-padrão; \*: análise estatística: teste de Mann – Whitney.

## 6 DISCUSSÃO

O estudo da cicatrização é multidisciplinar e envolve o médico de forma direta, sendo o grande objetivo reparar os tecidos, evitando, assim, complicações como os queloides.

A diferenciação entre queloides e cicatrizes hipertróficas é impositiva, o que nem sempre ocorre em trabalhos publicados, pois, apesar de mesma provável etiologia, representam desafios diferentes na apresentação clínica e tratamento.

As cicatrizes hipertróficas, apesar de elevadas como os queloides, não ultrapassam as margens da lesão. Nessa cicatrizes, o colágeno é depositado em feixes paralelos à superfície, não apresentam relação com a pigmentação da pele e, principalmente, tendem à regressão (GUPTA; SHARMA, 2011; WOLFRAM *et al.*, 2009).

Os sujeitos da presente pesquisa apresentaram-se por livre demanda, solicitando tratamento ambulatorial dos queloides devido aos transtornos estéticos e psicológicos gerados. Restringiu-se a inclusão na pesquisa aos indivíduos que apresentavam queloides em lobo de orelha como forma da homogeneizar a amostra, pois a diversidade de locais de ocorrência dessas lesões é grande (ČEOVIĆ *et al.*, 2010; JUCKETT; HARTMAN-ADAMS, 2009).

Foi sugerido que os queloides possam acontecer espontaneamente, mas o que se verifica realmente é um trauma leve, não relatado, tipo picadas de inseto, como proposto por Juckett e Hartman-Adams (2009), ou acne, como proposto por Shih *et al.* (2010). As incisões cirúrgicas também são descritas como precipitantes do processo de formação dos queloides (AL-ATTAR *et al.*, 2006).

Neste trabalho todos os indivíduos apresentaram queloides decorrentes de perfurações para utilização de brincos, o que não difere da literatura, pois as perfurações do lobo da orelha são citadas como as mais comuns causadoras dos queloides nessa região, sendo o trauma essencial para a sua gênese como descrito por Robles e Berg (2005) e Shih *et al.* (2010).

Nesta pesquisa a média de idade dos participantes foi de 19,29 anos ( $\pm$  4,645) para o grupo 1 e 20,75 anos ( $\pm$  6,902) para o grupo 2, o que é compatível com a literatura consultada com predominância do queleide na segunda e terceira

décadas de vida (JUCKETT; HARTMAN-ADAMS, 2009; MUSTOE *et al.*, 2002; WOLFRAM *et al.*, 2009).

O tempo de início de crescimento dos queloides é alvo de pesquisas e são encontrados relatos de aparecimento após 10 anos do trauma original (AKASAKA *et al.*, 2001). Porém, na pesquisa, o que foi verificado não foi o tempo decorrido entre o trauma e o aparecimento do queleide, mas o tempo após instalação do queleide e/ou percepção do indivíduo até o momento do procedimento, seja a operação no grupo 1 ou o início das infiltrações do corticoide no grupo 2. No presente estudo não se obteve diferença significativa entre os dois grupos de indivíduos quanto ao tempo de evolução dos queloides até o início do tratamento, o que também serviu para homogeneizar a amostra. Com isso, evitou-se que os resultados fossem influenciados por mais resistência de lesões maduras (UEDA *et al.*, 1999; WANG *et al.*, 2009). Os gêneros apresentaram distribuição sem diferença ( $p=0,782$ ) em ambos os grupos, como na literatura consultada (AL-ATTAR *et al.*, 2006).

Conforme avaliações prévias, os queloides predominam nos indivíduos de pele mais pigmentada (BAYAT; MCROUTHER; FERGUNSON, 2005; JUCKETT; HARTMAN-ADAMS, 2009; MUSTOE *et al.*, 2002; WOLFRAM *et al.*, 2009), o que não foi diferente na pesquisa, com predominância de indivíduos com pele negra e parda, ou seja, 12 indivíduos (80% do total) se somados os integrantes dos dois grupos.

As infiltrações de triancinolona foram realizadas na região central dos queloides, uma vez que os fibroblastos dessa região são metabolicamente mais ativos, com o objetivo de causar mais efeito. Ao contrário, os fibroblastos da periferia são menos ativos (LU *et al.*, 2007b). Na literatura não há consenso sobre a dose de corticoide a ser utilizada e a concentração de 20 mg/mL é uma das comercialmente disponíveis. A opção de realizar as injeções com intervalos de três semanas baseou-se na farmacocinética, pois o fármaco forma depósito local e produz efeito por 21 dias, em média.

Os glicocorticoides estão envolvidos em processos fisiológicos do organismo, portanto, seus efeitos terapêuticos podem ser acompanhados de efeitos colaterais (RHEN; CIDLOWSKI, 2005), tais como atrofia, despigmentação, telangiectasia (AL-ATTAR *et al.*, 2006; MUSTOE *et al.*, 2002), necrose, ulceração (ĆEOVIĆ *et al.*, 2010) e síndrome de Cushing (AL-ATTAR *et al.*, 2006). A

ausência de efeitos colaterais neste estudo pode ser devida ao tratamento não ter sido prolongado por mais de três sessões e por ter sido utilizada concentração de 20 mg/mL de triancinolona. Isso sugere a possibilidade de novas investigações desses efeitos quando da utilização por mais sessões ou concentrações maiores de corticoide, apesar do aumento de dose poder levar a aumento de proliferação celular (CARROLL *et al.*, 2002).

A aplicação clínica do corticoide para diminuição das massas queloidianas é um recurso terapêutico (MUNEUCHI *et al.*, 2006; MUSTOE *et al.*, 2002; WIGEROW *et al.*, 2009) e pode ser corroborada pela diminuição das dimensões dos queloides nesta pesquisa, que foi de 12,56%, em média, quando considerados comprimento, altura e espessura conjuntamente.

Akasaka *et al.* (2001) afirmaram que o papel da apoptose celular na formação do queloide é incerto, pois é esperado que ela não ocorra para gerar mais cicatriz, o que não é corroborado pela análise laboratorial, em que foram encontradas células apoptóticas, como na FIG. 3. O aumento de apoptoses em queloides infiltrados com triancinolona foi percebido na análise histológica e pelo índice apoptótico encontrado, entretanto, não houve significância ( $p=0,0971$ ). Esse aumento é digno de atenção, pois os fibroblastos dos queloides são mais resistentes à apoptose e apresentam baixas taxas quando comparados com fibroblastos de pele normal ou cicatrizes consideradas normais (CHODON *et al.*, 2000; LANDIN *et al.*, 1998; LU *et al.*, 2007b; LUO *et al.*, 2001; SHIH *et al.*, 2010; WOLFRAM *et al.*, 2009).

Os indivíduos do grupo 1, com queloides não tratados, tiveram índice apoptótico de 56,82 e nos do grupo 2, com queloides infiltrados com triancinolona, esse índice foi de 68,55, cujo aumento não exibiu significância ( $p=0,0971$ ). Esse fato pode ser explicado por várias razões: amostra com número insuficiente para essa análise; rapidez com que a apoptose ocorre, podendo durar apenas 24 horas, como descrito por Kerr, Wyllie e Currie (1972); e o fato de que os queloides apresentam tecidos heterogêneos, como descrito por Akasaka *et al.* (2001), a despeito de todas as tentativas de homogeneizar a amostra.

A reação de TUNEL é um ensaio para detecção da fragmentação do DNA e, apesar de não ser específica para apoptose celular, pois a necrose também pode exibir essa fragmentação, essa reação vem sendo amplamente utilizada para a quantificação de apoptoses (HUERTA *et al.*, 2007). As contagens são

realizadas em termos de núcleos positivos, pois é o local que apresenta maior concentração de DNA. Huerta *et al.* (2007) relataram que uma vantagem da reação de TUNEL é a sua utilização tanto em cultura de células, quanto em tecidos conservados congelados, em formol ou parafina. E como desvantagem citaram que essa reação necessita de processos laboratoriais mais elaborados e com custo mais alto. A reação de TUNEL é método confiável para detecção de apoptoses, sobretudo quando confirmada por outro método, como a análise morfológica (HUERTA *et al.*, 2007).

É importante diferenciar a apoptose das demais formas de morte celular, como autofagia, mitose catastrófica, senescência e, principalmente, da necrose. Na apoptose ocorre preservação das organelas e manutenção da integridade citoplasmática até que a célula, em processo de morte, seja fagocitada, sem extravasamento de seu conteúdo citoplasmático e sem reação do hospedeiro; em síntese, sem processo inflamatório exagerado (AKASAKA *et al.*, 2001; GREENHALGH, 1998; GRIVICIH; BRONDARI, 2007; KERR; WYLLIE; CURRIE, 1972). Ferri e Kroemer (2001) evidenciaram que as organelas, mesmo sem sofrerem alterações estruturais, sofrem alterações bioquímicas como proteólise e permeabilização de sua membrana.

Para a análise de comparação foram adotados testes não paramétricos, pois as amostras são assimétricas, como mostram as FIG. 4, 5 e 7. A necessidade da utilização desses testes possui desvantagens, pois para que os valores sejam significativos,  $p < 0,05$ , as amostras devem ser maiores ou a diferença apresentada entre elas deve ser a maior possível (TRIOLA, 2013). Essas duas condições não foram atingidas nesta pesquisa.

O presente trabalho faz parte da linha de pesquisa dos fatores intervenientes na cicatrização tecidual. Outros estudos poderão ser propostos no sentido de avaliar o uso de concentrações diferentes de triancinolona em face de sua interferência na apoptose, assim como investigações de outros mecanismos de ação desse fármaco sobre as cicatrizes queloidianas com maior número de pacientes e em cicatrizes em outras regiões do corpo. Outra proposta viável é a pesquisa das alterações morfológicas, induzidas ou não pela triancinolona, com microscopia eletrônica e extração de DNA para análise por eletroforese nas frações de tecido queloidiano conservados em glutaraldeído e em congelamento.

## **7 CONCLUSÃO**

Nas condições da realização desta pesquisa, pode-se concluir que a infiltração de triancinolona nas cicatrizes queloidianas não aumentou o número de apoptoses e não houve redução das dimensões, comprimento, altura e espessura dos queloides infiltrados.

## REFERÊNCIAS

ABDO FILHO, D. **Avaliação da expressão dos receptores de interleucina-8, CXCR1 e CXCR2 e da atividade proliferativa em fibroblastos de queloides e de pele normal.** 2006, 129 f. Tese (Doutorado em Ciências. Área de concentração Clínica Cirúrgica) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo.

AKASAKA, Y. *et al.* Detection of apoptosis in keloids and a comparative study on apoptosis between keloids, hypertrophic scars, normal healed flat scars, and dermatofibroma. **Wound Repair and Regeneration**, Saint Louis, v. 9, n. 6, p. 501-506, 2001.

AL-ATTAR, A. *et al.* Keloid pathogenesis and treatment. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v. 117, n. 1, p. 286-300, 2006.

ALLEN, R.T.; HUNTER, W.J.; AGRAWAL, D.K. Morphological and biochemical characterization and analysis of apoptosis. **Journal of Pharmacological and toxicological methods**, New York, v. 37, n. 4, p. 215-218, 1997.

APPLETON, I.; BROWN, N.J.; WILLOUGHBY, D.A. Apoptosis, necrosis, and proliferation: possible implications in the etiology of keloids. **The American Journal of Pathology**, New York, v. 149, n. 5, p. 1441-1447, 1996.

BAYAT, A.; MCGROUTHER, D. A.; FERGUSON, M.W. Skin scarring. **British Medical Journal**, London, v. 326, n. 7380, p. 88-92, 2005.

BETTINGER, D.A.; YAGER, D.R.; DIEGELMANN, R.F. The effect of TGF- $\beta$  on keloid fibroblasts proliferation and collagen synthesis. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v. 98, n. 5, p. 827-833, 1996.

BLAŽIĆ, T.M.; BRAJAC, I. Detective Induction of senescence during wound healing is a possible mechanism of keloid formation. **Medical Hypotheses**, Edinburgh, v. 66, n. 3, p. 649-652, 2006.

BOUTLI-KASAPIDOU, F. *et al.* Hypertrophic and keloid scars: an approach to polytherapy. **International Journal of Dermatology**, Philadelphia, v. 44, n. 4, p. 324-327, 2005.

BUDIHardjo, I. *et al.* Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, Palo Alto, v. 15, p. 269-290, 1999.

CARROLL, L.A. *et al.* Triamcinolone stimulates bFGF production and inhibits TGF-beta1 production by human dermal fibroblasts. **Dermatologic Surgery**, New York, v. 28, n. 8, p. 704-709, 2002.

ČEOVIĆ, R. *et al.* Why don't we have more effective treatment for keloids? **Acta dermatovenerologica Croatica**, Zagreb, v. 18, n. 3, p. 195-200, 2010.



CHIPEV, C.C.; SIMON, M. Phenotypic differences between dermal fibroblasts from different body sites determine their responses to tension and TGFbeta1. **BMC Dermatology**, London, v. 2, n. 13, p. 13, 2002.

CHODON, T. *et al.* Keloid-derived fibroblasts are refractory to Fas-mediated apoptosis and neutralization of autocrine transforming growth factor-beta1 can abrogate this resistance. **The American Journal of Pathology**, New York, v. 157, n. 5, p. 1661-1669, 2000.

DAROUGHEH, A.; ASILIAN, A.; SHARIATI, F. Intralesional Triamcinolone alone or in combination with 5-fluouracil for treatment of keloid and hypertrophic scars. **Clinical and Experimental Dermatology**, Oxford, v. 34, n. 2, p. 219-223, 2007.

DE FELICE, B. *et al.* Differential apoptosis markers in human keloids and hypertrophic scars fibroblasts. **Molecular and Cellular biochemistry**. The Hauge, v. 327, n. 1-2, p. 191-201, 2009.

DESMOULIERE, A. *et al.* Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar. **The American Journal of Pathology**, New York, v. 146, n. 1, p. 56-66, 1995.

DURANI, P.; BAYAT, A. Levels of evidence for the treatment of keloid disease. **Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery**, Oxford, v. 61, n. 1, p. 4-17, 2008.

FERRARI, C.K.B. Apoptose: a importância da maquinaria de morte celular no controle e na patogênese das doenças. **Revista Ciências Médicas**, Campinas, v. 9, n. 3, p. 6, 2009.

FERRI, K.F.; KROEMER, G. Organelle-specific initiation of cell death pathways. **Nature Cell Biology**, London, v. 3, n. 11, p. 255-263, 2001.

FUNAYAMA, E. *et al.* Keratinocytes promote proliferation and inhibit apoptosis of the underlying fibroblasts: an important role in the pathogenesis of keloid. **The Journal of investigative dermatology**, Baltimore, v. 121, n. 6, p. 1326-1331, 2003.

GESKE, F.J.; GERSCENSON, L.E. The biology of apoptosis. **Human Pathology**, Philadelphia, v. 32, n. 10, p. 1029-1038, 2001.

GRAVIELI, Y.; SHERMAN, Y.; BEN-SASSON, S.A. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 119, n. 3, p. 493-501, 1992.

GREENHALGH, D.G. The role of apoptosis in wound healing. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, Oxford, v. 30, n. 9, p. 1019-1030, 1998.

GRIFFITH, H.B.; MONROE, C.W.; MCKINNEY, P. A follow-up study on the treatment of keloids with triamcinolone acetonide. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v. 46, n. 2, p. 145-150, 1970.

GRIVICIH, I.A.; BRONDARI, A.R. Morte celular por apoptose. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 53, n. 3, p. 9, 2007.

GUPTA, S.; SHARMA, V. K. Standard guidelines of care: Keloids and hypertrophic scars. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, Vellore, v. 77, n. 1, p. 94-100, 2011.

HÄCKER, G. The morphology of apoptosis. **Cell and tissue research**, Berlin, v. 301, n. 1, p. 5-17, 2000.

HENGARTNER, M.O. The biochemistry of apoptosis. **Nature**, London, v. 407, n. 6805, p. 770-776, 2000.

HOCHMAN, B. *et al.* Desenhos de pesquisa. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 20, supl. 2, p. 2-9, 2005.

HUERTA, S. *et al.* Screening and detection of apoptosis. **Journal of surgical research**, New York, v. 139, n. 1, p. 143-155, 2007.

ISHIHARA, H. *et al.* Keloid fibroblasts resist ceramide-induced overexpression of insulin-like growth factor I receptor. **Journal of Investigative Dermatology**, Baltimore, v. 115, n. 6, p. 1065-1071, 2000.

JUCKETT, G.; HARTMAN-ADAMS, H. Management of keloids and hypertrophic scars. **American Family Physician**, Kansas City v. 1, n. 80, p. 253-260, 2009.

KERR, J.F.; WYLLIE, A.H.; CURRIE, A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. **British Journal of Cancer**, London, v. 26, n. 4, p. 239-257, 1972.

KETCHUM, L.D. *et al.* The treatment of hipertrophic scar, Keloid and scar contracture by triamcinolone acetone. **Plastic and Reconstructive Surgery**. v. 38, n. 3, p. 209-218, 1966.

LANDIN, D.A. *et al.* p53 and apoptosis alterations in keloids and keloid fibroblasts. **Wound Repair and Regeneration**, Saint Louis, v. 6, n. 1, p. 28-37, 1998.

LAMKANFI, M. *et al.* Caspases in cell survival, proliferation and differentiation. **Cell death and differentiation**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 44-55, 2007.

LONGUI, A.C.S. *et al.* Antiproliferative and apoptotic potencies of glucocorticoids: nonacordance with their anti-inflammatory and immunosupressive properties. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 49, n. 3, p. 6, 2005.

LUCINDA, L.M.F. **Mecanismo de indução da apoptose por glicocorticoides e seus efeitos na câncer**. 2009. Monografia (Curso de especialização em parasitologia e microbiologia e imunologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.

LU, F. *et al.* Fas-mediated apoptotic signal transduction in keloid and hypertrophic scar. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v. 119, n. 6, p. 1714-1721, 2007a.

LU, F. *et al.* Biological differences between fibroblasts derived from peripheral and central areas of keloid tissues. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v. 120, n. 3, p. 625-30, 2007b.

LUO, S. *et al.* Abnormal balance between proliferation and apoptotic cell death in fibroblasts derived from keloid lesions. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v. 107, n. 1, p. 87-96, 2001.

MESSADI, D.V. *et al.* Expression of apoptosis-associated genes by human dermal scar fibroblasts. **Wound Repair and Regeneration**, Saint Louis, v. 7, n. 6, p. 511-517, 1999.

MUNEUCHI, G. *et al.* Long-term outcome intralesional injection of triamcinolone acetonide for the treatment of keloids scars in Asian patients. **Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery**, v. 40, p. 111-116, 2006.

MUSTOE, T.A. *et al.* International clinical recommendations on scar management. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v. 110, n. 2, p. 560-571, 2002.

NIESSEN, F.B. *et al.* On the nature of hypertrophic scars and keloids: a review. **Plastic and reconstructive surgery**, Baltimore, v. 104, n. 5, p. 1435-1458, 1999.

NILAND, S. *et al.* Contraction-dependent apoptosis of normal dermal fibroblasts. **The Journal of Investigative Dermatology**, Baltimore, v. 116, n. 5, p. 686-692, 2001.

NIRODI, C.S. *et al.* Chemokine and chemokine receptor expression in keloid and normal fibroblasts. **Wound Repair and Regeneration**, Saint Louis, v. 8, n. 5, p. 371-382, 2000.

OLIVEIRA, G.V. *et al.* Silicone versus nonsilicone gell dressings: a controlled trial. **Dermatologic Surgery**, New York, v. 27, n. 8, p. 721-726, 2001.

RHEN, T.; CIDLOWSKI, J.A. Antiinflammatory action of glucocorticoids--new mechanisms for old drugs. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 353, n. 16, p. 1711-1723, 2005.

ROBLES, D.T.; BERG, D. Abnormal wound healing: keloids. **Clinics in Dermatology**, Philadelphia, v. 25, n. 1, p. 26-32, 2007.

SEIFERT, O. *et al.* Identification of unique gene expression patterns within different lesional sites of keloids. **Wound Repair and Regeneration**, Saint Louis, v. 16, n. 2, p. 254-265, 2008.

SHIH, B. *et al.* Molecular dissection of abnormal wound healing processes resulting in keloid disease. **Wound repair and Regeneration**, Saint Louis, v. 18, n. 2, p. 139-153, 2010.

SIQUEIRA, A.L.; TIBÚRCIO, J.D. **Estatística na Área de Saúde: conceitos, metodologia, aplicações e prática computacional**. 1 ed. Belo Horizonte: COOPMED, 2011.

SPENCER NETTO, A.C.; FERRAZ, E.M. Apoptose, neutrófilos e o cirurgião. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgões**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 1, p. 6, 2001.

TREDGET, E.E. *et al.* Hypertrophic scars, keloids, and contractures. The cellular and molecular basis for therapy. **The Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v. 77, n. 3, p. 701-730, 1997.

TRIOLA, M. F. **Introdução à Estatística**. 11 ed. Tradução de Ana Maria Lima de Freitas e Vera Regina Lima de Farias e Flores. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2013. Título original: Elementary Statistics.

UEDA, K. *et al.* Keloids have continuous high metabolic activity. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v. 104, n. 3, p. 694-698, 1999.

WANG, X.Q. *et al.* A review of the effectiveness of antimetabolic drug injections for hypertrophic scars and keloids. **Annals of plastic surgery**, Boston, v. 63, n. 6, p. 688-692, 2009.

WIGEROW, A.D. *et al.* Multimodality scar management program. **Aesthetic Plastic Surgery**, New York, v. 33, n. 4, p. 533-543, 2009.

WITT, E. *et al.* RAC activity in keloid disease: comparative analysis of fibroblasts from margin of keloid to its surrounding normal skin. **Eplasty**, Springfield, v. 8, p. 19, 2008.

WOLFF, M.P. *et al.* Position 16 of steroid nucleus modulates glucocorticoids-induced apoptosis at the transcriptional level in murine T-lymphocytes. **Biochemical Pharmacology**, Oxford, v. 52, n. 9, p. 1469-1476, 1996.

WOLFRAN, D. *et al.* Hypertrophic scars and keloids-a review of their pathophysiology, risk factors, and therapeutic management. **Dermatologic Surgery**, New York, v. 35, n. 2, p. 171-181, 2009.

## APÊNDICES E ANEXOS

### Apêndice A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - GRUPO 1 (queloides sem tratamento prévio)

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa “**Estudo estrutural de queloides: o corticoide injetável altera o número de apoptoses?**”.

Pesquisador: Dr. João Márcio Prazeres dos Santos

Orientador: Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Coorientador: Dr. Cláudio de Souza

**Objetivo:** Neste estudo pretendemos identificar a associação entre o uso de corticosteróide (triancinolona) e o tratamento de queloides.

**Método:** para este estudo serão selecionados pacientes que apresentam queloides, que serão submetidos à cirurgia, um grupo sem tratamento prévio (**este é o seu grupo**) e outro grupo com tratamento prévio com injeção intralesional de corticoide (triancinolona) e as peças cirúrgicas serão enviadas ao laboratório de patologia para análise e avaliação. E serão também retiradas fotografias das lesões para acompanhamento dos casos.

É importante, ainda, que você não tenha recebido algum tratamento anterior para o queleide a ser operado.

Os autores querem deixar claro, também, que o procedimento cirúrgico não é garantia de cura, não é isento de gerar cicatrizes novas e que a qualidade dessa cicatriz pode não ser satisfatória, pois é resultado de diversos processos biológicos que ocorrem no seu organismo durante a cicatrização. Porém, todas as medidas possíveis de serem tomadas pela equipe, como tentativa de minimizar qualquer resultado ruim, serão executadas.

Para participar deste estudo você não terá qualquer custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido(a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a

qualquer momento. Inclusive tendo acesso ao pesquisador no telefone (32)3232-3314.

Sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma como é atendido(a) pelo pesquisador. O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Você não será identificado em qualquer publicação que possa resultar deste estudo.

Como resultado da cirurgia poderão acontecer sangramentos, inchaços, acúmulos de secreções, bem como perda de sensibilidade ou manchas no local, além da formação de cicatrizes. Apesar disso, você tem assegurado o direito a ressarcimento ou indenização no caso de quaisquer danos eventualmente produzidos pela pesquisa.

Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável pelo período de cinco anos e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você.

Eu, \_\_\_\_\_, portador (a) do documento de Identidade \_\_\_\_\_, fui informado(a) dos objetivos do presente estudo de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar. Declaro que concordo em participar deste estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_.

Assinatura do(a) participante Dr. João Márcio Prazeres dos Santos

Dr. João Márcio Prazeres dos Santos - Faculdade de Medicina de Barbacena  
R. Antônio Carlos, 8, Barbacena, Minas Gerais, CEP: 36202-336, Telefone: (32)3339-2950.  
Comitê de Ética em Pesquisa:  
Av. Pres. Antônio Carlos, 6.627 - Unidade Administrativa II - 2º andar, sala 2005 - CEP: 31270-901  
- BH - MG Telefax: (31) 3409-4592 - e-mail: coep@prpq.ufmg.br

## **Apêndice B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - GRUPO 2 (queloides com corticoide prévio)**

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa **“Estudo estrutural de queloides: o corticoide injetável altera o número de apoptoses?”**.

Pesquisador: Dr. João Márcio Prazeres dos Santos

Orientador: Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Coorientador: Dr. Cláudio de Souza

**Objetivo:** neste estudo pretendemos identificar a associação entre o uso de corticosteróide (triancinolona) e o tratamento de queloides.

**Método:** para este estudo serão selecionados pacientes que apresentam queloides, que serão submetidos à cirurgia, um grupo sem tratamento prévio e outro grupo com tratamento prévio com injeção intralesional de corticoide - triancinolona (**este é o seu grupo**) e as peças cirúrgicas serão enviadas ao laboratório de patologia para análise e avaliação. E serão retiradas também fotografias das lesões para acompanhamento dos casos.

Os autores querem deixar claro, ainda, que o procedimento cirúrgico não é garantia de cura, não é isento de gerar cicatrizes novas e a qualidade dessa cicatriz pode não ser satisfatória, pois é resultado de diversos processos biológicos que ocorrem no seu organismo durante a cicatrização. Porém, todas as medidas possíveis de serem tomadas pela equipe, como tentativa de minimizar qualquer resultado ruim, serão executadas.

Os autores querem deixar claro, também, que o tratamento com corticoide (triancinolona) injetável não é garantia de cura e que não é isento de possíveis complicações como afundamento, descoloração e outras. Para participar deste estudo você não terá qualquer custo nem receberá qualquer vantagem financeira.

Você será esclarecido(a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. Inclusive tendo acesso ao pesquisador no telefone (32)3232-3314.

Sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma como é atendido(a) pelo pesquisador. O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais

de sigilo. Você não será identificado em qualquer publicação que possa resultar deste estudo.

Como resultado da cirurgia poderão acontecer sangramentos, inchaços, acúmulos de secreções, bem como perda de sensibilidade ou manchas no local, além da formação de cicatrizes. Apesar disso, você tem assegurado o direito a ressarcimento ou indenização no caso de quaisquer danos eventualmente produzidos pela pesquisa.

Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável pelo período de cinco anos e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você.

Eu, \_\_\_\_\_, portador(a) do documento de Identidade \_\_\_\_\_, fui informado(a) dos objetivos do presente estudo de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar. Declaro que concordo em participar deste estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_.

Assinatura do(a) participante

Dr. João Márcio Prazeres dos Santos

Dr. João Márcio Prazeres dos Santos - Faculdade de Medicina de Barbacena  
R. Antônio Carlos, 8, Barbacena, Minas Gerais, CEP: 36202-336, Telefone: (32)3339-2950.  
Comitê de Ética em Pesquisa  
Av. Pres. Antônio Carlos, 6.627 - Unidade Administrativa II - 2º andar - sala 2005, CEP: 31270-901  
- BH - MG Telefax: (31) 3409-4592 - e-mail: coep@prpq.ufmg.br.



## Apêndice C - Protocolo de Apoptose e Queloides

### Dados Pessoais:

Nome: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ meses

Gênero: ( ) Masculino ( ) Feminino Etnia ( ) Branco ( ) Pardo ( ) Negro

Endereço Completo: \_\_\_\_\_

Telefones: \_\_\_\_\_

*e-mail:* \_\_\_\_\_

### Dados sobre queleide:

Localização: ( ) Orelha (D, E) Local \_\_\_\_\_

“Espontâneo” ( ) Induzido ( ) Como: \_\_\_\_\_

Tamanho inicial: \_\_\_\_ cm X \_\_\_\_ cm X \_\_\_\_ cm tempo de evolução: \_\_\_\_ meses

Doenças e medicações associadas: \_\_\_\_\_

Tratamento prévio: ( ) Não ( ) Sim - Qual: \_\_\_\_\_ Quando: \_\_\_\_\_

Data das infiltrações: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Tamanho após infiltrações: \_\_\_\_ cm X \_\_\_\_ cm X \_\_\_\_ cm

\_\_\_\_ cm X \_\_\_\_ cm X \_\_\_\_ cm

\_\_\_\_ cm X \_\_\_\_ cm X \_\_\_\_ cm

Procedimento cirúrgico: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Qual: ( ) Excisão completa

Observações da evolução: \_\_\_\_\_

**Anexo A – Parecer ético UFMG**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

**Projeto: CAAE – 0601.0.203.000-11**

**Interessado(a): Prof. Cláudio de Souza  
Departamento de Cirurgia  
Faculdade de Medicina - UFMG**

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 10 de janeiro de 2012, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Estudo estrutural dos quelóides: o corticóide injetável altera o número de apoptoses**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Maria Teresa Marques Amaral', written in a cursive style.

**Profa. Maria Teresa Marques Amaral  
Coordenadora do COEP-UFMG**

**Anexo B – Parecer ético UNIPAC**

**UNIPAC**  
**Universidade Presidente Antônio Carlos**  
**Comitê de Ética em Pesquisa - CEP**

Ofício 008/2012

Barbacena, 9.03.2012

Senhor(a) Pesquisador(a)

Comunicamos a Vossa Senhoria que o projeto de pesquisa **Estudo estrutural de quelóides: o corticóide altera o número de apoptoses? (protocolo nº 911/2011)** após reavaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIPAC – CEP –, no dia 08.03.2012, **foi aprovado**.

O Pesquisador deverá apresentar relatórios semestralmente ao CEP a partir da data de aprovação.

Para maiores esclarecimentos favor entrar em contato com o CEP – UNIPAC –, cuja função é orientar os pesquisadores, esclarecendo-lhes as dúvidas.

Ciente de sua atenção, antecipadamente agradecemos.

Prof. Dr. Sebastião Rogério Gois Moreira  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa  
CEP – UNIPAC –

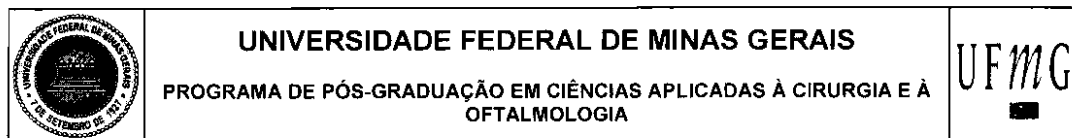
Ilmo(a) Sr(a).

Prof(a). **João Márcio Prazeres dos Santos**

---

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP - UNIPAC  
Praça Presidente Antônio Carlos, 8 – São Sebastião.  
Barbacena – MG – CEP: 36202-336  
Fone: (0XX32) 3693-8884 - 33392950  
cep@unipac.br <http://www.unipac.br>

## Anexo C – Ata de Defesa



## ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DO ALUNO JOÃO MARCIO PRAZERES DOS SANTOS

Realizou-se, no dia 16 de junho de 2014, às 09:00 horas, 034, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada *EFEITO DA TRIANCINOLONA NA APOPTOSE CELULAR E NAS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM QUELOIDES*, apresentada por JOÃO MARCIO PRAZERES DOS SANTOS, número de registro 2012654970, graduado no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Tarcizo Afonso Nunes - Orientador (UFMG), Prof. Claudio de Souza – Coorientador (UFMG), Prof(a). Sumara Marques Barral (UFMG), Prof(a). Carlos Augusto Gomes (UFJF).

A Comissão considerou a dissertação:

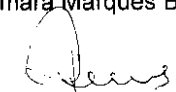
- Aprovada
- Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.  
Belo Horizonte, 16 de junho de 2014.

  
Prof(a). Tarcizo Afonso Nunes ( Doutor )

  
Prof (a) Claudio de Souza ( Doutor)

  
Prof(a). Sumara Marques Barral ( Doutora )

  
Prof(a). Carlos Augusto Gomes ( Doutor )