A circuncisão e o reaproveitamento dos queratinócitos de prepúcio humano

Antonio Thomaz de Oliveira^{1*}, Ilana Mara², Valécia Carvalho³, Victor Marinho³, Karla Uchôa¹, Aluýdio Bessa², Daniel Fernando Pereira Vasconcelos²

¹Laboratório de Genética Humana e Médica (GEHMED), Universidade Federal do Piauí (UFPI), Av. São Sebastião, 2819 - São Benedito, Parnaíba - PI, 64202-020; thomaz159@gmail.com;

²Departamento de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, Brasil;

³Laboratório de Mapeamento e Plasticidade Cerebral, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, Brasil

RESUMO

A circuncisão é a remoção parcial ou completa do prepúcio, um tecido cutâneo-mucoso que cobre e protege a glândula. Estima-se que mundialmente 1 a cada 3 homens passou pelo este procedimento. Desta forma, a pele removida durante a cirurgia é um material de grande disponibilidade, do qual podem ser isolados vários tipos celulares, em especial os queratinócitos. Neste contexto, a presente revisão bibliográfica consiste em uma pesquisa de caráter exploratório-descritivo que tem como objetivo obter uma visão ampla sobre a circuncisão e as possíveis aplicações dos queratinócitos obtidos do prepúcio. Para determinar e descrever tais aplicações, foram utilizados 58 trabalhos, os quais forneceram dados suficientes para se atingir o objetivo proposto. A circuncisão é um dos procedimentos cirúrgicos mais realizados, principalmente por motivações religiosas e étnicas, mas também por razões terapêuticas e profiláticas. Têm sido determinadas diferentes aplicações médicas e laboratoriais da cultura celular de queratinócitos de prepúcio humano (QPH): cultura viral (em especial do papilomavírus humano); estudo do funcionamento da pele; efeito cutâneo de substâncias; e obtenção de folhetos epidérmicos cultiváveis e suspensões de células para tratamentos de lesões cutâneas. Assim, diante do fato de a circuncisão ser um procedimento comum, os QPH mostram-se como modelos acessíveis de células para cultura com variadas aplicações, demonstrando como o material prepucial pode ser reaproveitado e deixando abertas as possibilidades para determinação de novas aplicações.

Palavras-chaves: prepúcio, circuncisão, cultura celular, queratinócitos.

ABSTRACT

Circumcision is the partial or complete removal of the foreskin, a cutaneous-mucosal tissue that covers and protects the glans. It is estimated that worldwide 1 in 3 men went through this procedure. In this way, the skin removed during surgery is a material of great availability, from which various types of cells, especially keratinocytes, can be isolated. In this context, the present literature review consists of an exploratory-descriptive research that aims to obtain a comprehensive view on circumcision and the possible applications of keratinocytes obtained from the foreskin. To determine and describe such applications, 58 papers were used, which provided sufficient data to reach the proposed goal. Circumcision is one of the most accomplished surgical procedures, mainly for religious and ethnic motivations, but also for therapeutic and prophylactic reasons. In addition, different medical and laboratory applications of the human foreskin keratinocyte (HFK) cell culture have been determined: viral culture (especially human papillomavirus); study of the functioning of the skin; substance effect; and obtaining epidermal leaflets and cell suspensions for treatment of cutaneous lesions. Thus, in view of the fact that circumcision is a common procedure, the HFK are shown as accessible models of cells for culture with various applications, demonstrating how the preputial material can be reused and leaving open the possibilities for determination of new applications.

Key-words: foreskin, circumcision, cell culture, keratinocytes.

INTRODUÇÃO

A circuncisão é um procedimento cirúrgico que consiste na remoção do prepúcio, um tecido cutâneo-mucoso retrátil, especializado e inervado, que cobre e protege a glândula (FAVORITO et al. 2012). A prevalência global da circuncisão varia de 36,7% a 38,7%, sendo realizada por 3 motivos principais: como uma prática religiosa, como medida profilática ou para tratar doenças (MORRIS et al. 2016). Diante da evidente prevalência da circuncisão em todo o mundo, a pele prepucial removida durante a cirurgia apresenta-se como um material frequentemente disponível e que geralmente é descartado como resíduo biológico (KORKES et al., 2012). Outros materiais biológicos que costumavam ser descartados após procedimentos cirúrgicos mostraram sua relevância com importantes aplicações, como a obtenção de células-tronco adultas da polpa dentária, utilização de membrana amniótica como suporte para substitutos da pele em lesões e obtenção de células-tronco hematopoéticas de sangue de cordão umbilical (ARTHUR et al. 2008, MAHMOUDI-RAD et al. 2013). O prepúcio já é conhecido por fornecer um bom enxerto autólogo de pele em várias condições incluindo reparação de hipospádias, reconstrução da pálpebra, reparação de sindactilia e uretroplastia (D'ALESSIO et al. 2010, ZAROO et al. 2011). No entanto, a aplicabilidade de suas células, em especial os queratinócitos, que são as células mais abundantes da epiderme, acabam passando despercebidas (AASEN e BELMONTE 2010).

Dada a capacidade de isolar queratinócitos de uma amostra de pele, o prepúcio humano removido durante a circuncisão apresenta-se como uma fonte viável e não invasiva para obtenção de células cutâneas para cultura (AASEN e BELMONTE 2010). A cultura de queratinócitos destaca-se como um modelo de estudo muito útil em várias áreas de investigação das ciências da saúde, incluindo o tratamento de lesões cutâneas e estudo de alterações cutâneas (JACOB 2011). Diante da prevalência da circuncisão e da importância dos queratinócitos isolados da pele, o presente trabalho objetivou apontar e descrever o contexto da circuncisão e as principais

aplicações para as culturas celulares de queratinócitos de prepúcio humano (QPH). Desta forma, procuramos contribuir com o conhecimento sobre como a pele prepucial removida durante a cirurgia pode ser reaproveitada, o que também permitiria diminuir as implicações éticas e as técnicas invasivas para obtenção de células humanas normais.

METODOLOGIA

Este estudo consistiu em uma revisão da literatura que envolveu artigos de pesquisa que envolviam: circuncisão, queratinócitos de prepúcio humano e aplicações biomédicas dos queratinócitos de prepúcio humano. Ensaio clínicos, estudos pré-clínicos, análises e estudos experimentais foram incluídos nesta revisão integrativa. Os resultados foram analisados e os documentos considerados relevantes e de qualidade global aceitável foram incluídos na análise. As pesquisas foram realizadas online nos bancos de dados Pubmed/Medline, Scielo, Lilacs, HighWire e Bireme. Foram utilizadas a combinação das palavras-chaves *circumcision*, *foreskin* e *keratinocytes*. Ao todo, foram incluídos 58 trabalhos na presente revisão, incluindo 54 trabalhos na língua inglesa e 4 em português.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O prepúcio humano e a circuncisão

A formação do pênis começa a partir da 7ª semana de gestação e se completa por volta da 17ª semana (YIEE e BASKIN 2010). O tegumento do pênis dobra-se sobre si mesmo na extremidade para formar o prepúcio, um tecido cutâneo-mucoso proveniente de uma continuação da pele a partir do eixo do pênis, cobrindo e protegendo a glândula. Ele é ligado à glândula pelo frênulo prepucial, um tecido altamente vascularizado que forma a interface entre as camadas exterior e interior do prepúcio. Há um debate sobre o papel do prepúcio, tais como a manutenção da umidade da glândula, proteção durante o desenvolvimento uterino do pênis e o papel erógeno, devido à intensa inervação sensorial (FAVORITO et al. 2012).

A circuncisão é a remoção parcial ou completa do prepúcio do pênis. A palavra "circuncisão" vem do latim *circumcidere*, que significa "cortar ao redor" (ABDULWAHAB-AHMED e MUNGADI 2013). Ela é um dos

procedimentos cirúrgicos mais antigos e mais comuns em todo o mundo, com motivações que podem ser religiosas, culturais, sociais ou médicas (AUVERT et al., 2006, DRAIN et al., 2006, KORKES et al., 2012; ABDULWAHAB-AHMED e MUNGADI, 2013). A circuncisão era praticada entre os povos semitas antigos, incluindo egípcios e judeus e os primeiros registros que descrevem a prática em pinturas egípcias datam de cerca de 2300 a. C. (AUVERT et al., 2006).

A circuncisão masculina é principalmente associada com variáveis religiosas (Drain et al. 2006). Os muçulmanos são os maiores praticantes da circuncisão, a qual representa para eles uma forma de confirmação de sua relação com Deus. Em segundo lugar, em relação à prevalência da circuncisão por razões religiosas, estão os judeus. No entanto, a circuncisão tem sido praticada por razões não religiosas durante milhares de anos em muitos grupos étnicos ao redor do mundo, como os astecas e maias nas Américas e os aborígenes na Austrália (ABDULWAHAB-AHMED e MUNGADI 2013). Estima-se que aproximadamente 37% dos homens do mundo com idade igual ou superior a 15 anos sejam circuncidados. Destes, cerca de 70% são muçulmanos, 0,8% judeus e 13% são homens não muçulmanos. No entanto, esses números são subestimados, pois não leva em conta os homens não judeus e não muçulmanos que vivem em países densamente povoados como Brasil, China, Índia e Japão (MORRIS et al., 2016).

Nas sociedades ocidentais, a circuncisão é realizada principalmente por motivos médicos, o mais comum dos quais é a fimose, um estreitamento do prepúcio que impede sua retraída sobre a glândula do pênis (KORKES et al., 2012, LEE e LEE 2013). A fimose dificulta a adequada higiene peniana e favorece infecções no prepúcio, infecções urinárias repetidas, Doenças Sexualmente Transmissíveis (DSTs) e o carcinoma de pênis (FAVORITO et al., 2012). Outras indicações médicas comuns para a realização da circuncisão incluem parafimose, balanopostite crônica ou recorrente, balanite xerótica obliterante, neoplasias de prepúcio e lacerações no frênulo (Korkes et al., 2012). Um dos fatores determinantes de condução na disseminação da prática da circuncisão no mundo industrializado foi a percepção de que

ela resulta em uma melhor assepsia peniana e menor risco de infecções, considerando que a área sob o prepúcio é um ambiente propício para alguns patógenos persistirem e se multiplicarem, especialmente quando a higiene peniana é precária (MORRIS et al., 2016). Assim, a circuncisão reduz o acúmulo de bactérias que favorecem o surgimento de infecções do trato urinário e, no homem adulto, pode ser um reservatório para as bactérias que causam DSTs (BLANK, 2012). Além disso, evidências a partir de três ensaios clínicos randomizados demonstraram que a circuncisão reduz a transmissão do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) em homens heterossexuais em cerca de 60% (AUVERT et al. 2006, BAILEY et al. 2007, GRAY et al. 2007).

No Brasil, a circuncisão profilática ou por motivos religiosos não é uma prática disseminada e, no sistema público de saúde as circuncisões são realizadas exclusivamente por razões médicas. Durante um período de 27 anos, 1,3% da população masculina atendida pelo Serviço Único de Saúde (SUS) necessitou de circuncisão por razões terapêuticas (688.818 cirurgias), apontando nesse período que 1,2% dos homens no Brasil foram circuncidados por motivos médicos. Também se constatou que o número total de circuncisões e a taxa de circuncisão aumentam na infância e diminuem progressivamente depois de cinco anos de idade, e crescem novamente após a sexta década de vida em consequência do aumento de doenças do prepúcio relacionadas ao envelhecimento e doenças crônicas (KORKES et al., 2012).

Durante o procedimento da circuncisão deve ser considerada uma correta assepsia, excisão adequada de camadas exteriores e interiores da pele prepucial, hemostasia e proteção da glândula e uretra. Geralmente a cirurgia é feita em período neonatal, mas pode ser realizada em qualquer idade (ABDULWAHAB-AHMED e MUNGADI 2013). A circuncisão neonatal é um procedimento mais simples do que a circuncisão de adultos e as complicações agudas significativas são raras, ocorrendo em cerca de uma a cada 500 circuncisões em recém-nascidos. (BLANK, 2012). No Brasil, de 1992 a 2010, ocorreram 63 mortes durante as internações hospitalares para circuncisão,

uma taxa de mortalidade de 0,013% (KORKES et al., 2012).

Pele e os queratinócitos de prepúcio humano (QPH)

A pele é um órgão dinâmico em um estado constante de mudança e, embora estruturalmente consistente através do corpo, ela varia de espessura de acordo com a anatomia local e idade do indivíduo (BENSOUILAH e BUCK 2006). A pele é constituída principalmente por uma porção epitelial de origem ectodérmica, a epiderme, e uma porção conjuntiva de origem mesodérmica, a derme (ZHOU et al., 2014, CHOI et al., 2017). A pele é composta de muitos tipos celulares, entre os quais queratinócitos, melanócitos e fibroblastos são considerados os mais abundantes e funcionalmente importantes (LEE et al. 2013). A camada mais externa da pele, a epiderme, é uma camada fina sem vascularização que consiste principalmente de queratinócitos epiteliais estratificados (AASEN e BELMONTE 2010, BENSOUILAH e BUCK 2006, SLOMINSKI et al. 2012). Estas células sofrem proliferações contínuas e rápidas e são continuamente regeneradas a partir de um pool de células-tronco (ou células estaminais) multipotentes. Os queratinócitos deixam a camada basal e se movem para a superfície sofrendo uma diferenciação terminal com a formação de uma barreira protetora produzida continuamente na superfície epitelial. A diferenciação dos queratinócitos é um tipo específico de morte celular conhecido como queratinização ou corneificação, que difere da apoptose clássica, uma vez que não apresenta a fragmentação da célula em corpos apoptóticos característicos seguido da fagocitose (CHAMCHEU et al. 2013). Estas células são inestimáveis para muitos estudos de biologia celular, incluindo desenvolvimento de complexos modelos tridimensionais de tecido e para enxertos na terapia de ferimentos em pacientes com queimaduras graves (AASEN e BELMONTE, 2010).

A cultura primária de queratinócitos epidérmicos humanos é um importante objeto de diversos estudos, incluindo os efeitos promovidos pelo estresse oxidativo, por mediadores inflamatórios, por agentes

cancerígenos ambientais e pela queratinização anômala (CHAMCHEU et al., 2013). Comparado com alguns tipos de células, como os fibroblastos, os queratinócitos em cultura tendem a exigir mais cuidado em questões como apoptose em baixa densidade e senescência (AASEN e BELMONTE, 2010). Com a finalidade de aumentar a capacidade de sobrevivência dos queratinócitos, relata-se a utilização de substâncias como inibidor da Rho-quinase (CHAPMAN et al., 2010) e Y-27632 (TERUNUMA et al., 2010). Os queratinócitos também exibem um comportamento de proliferação/diferenciação fortemente regulada, sendo um dos gatilhos de diferenciação o contato célula-a-célula (CORTE et al., 2012).

Os queratinócitos de prepúcio humano (QPH) têm sido utilizados para o estudo da patogênese de doenças relacionadas à pele e avaliação da toxicidade de vários agentes cosméticos. Em geral, a cultura primária QPH tem capacidade de suportar 15 a 20 passagens in vitro em meios de cultura típicos sem soro. Uma vez que atingem o limite de proliferação celular, eles entram em um estado celular de senescência. Neste estágio, os QPH param de responder aos estímulos mitogênicos exógenos e aumentam a adesão celular à matriz extracelular. Outras mudanças induzidas pela senescência incluem morfologia celular maior e achatada, formação de núcleos múltiplos e geração de focos heterocromáticos (HARDEN et al., 2017). Desta forma, muitas vezes o tempo de vida curto dos QPH primários pode impedir sua utilização como um sistema modelo para estudar biologia da pele in vitro. Para evitar estes problemas, várias linhagens de QPH têm sido imortalizadas e amplamente utilizadas. Os oncogenes (E6 e E7) de papilomavírus humano (HPV) são os oncogenes virais mais utilizados para fins de imortalização devido às suas atividades de supressão de p53 e pRb (CHOI e LEE, 2015).

Aplicações dos QPH na microbiologia

Os vírus, sendo parasitas intracelulares obrigatórios, requerem a replicação dentro de uma célula viva para produzir cópias de si mesmos. Com isso, a virologia tem uma estreita relação com o desenvolvimento de culturas de células, tendo no cultivo celular um papel crucial para o

isolamento e estudo dos mecanismos da patogênese viral (LELAND e GINOCCHIO, 2007; LEDNICKY e WYATT, 2012). O prepúcio humano também pode ser fonte de queratinócitos que também podem ser aplicados na cultura viral, em especial do papilomavírus humano (HPV). O HPV infecta, persiste e causa lesões proliferativas nas células, sendo seu ciclo intimamente ligado à diferenciação dos queratinócitos. A infecção ocorre nas células basais em proliferação do epitélio escamoso, enquanto que a produção de vírus está associada com as camadas terminalmente diferenciadas. Mais de 100 tipos de HPV foram identificados até a atualidade e quanto ao potencial de malignidade, classificam-se em tipos: HPV de baixo risco (tipos 6, 11, 13, 32, 34, 40, 42, 44, 53, 54, 55 e 63) e de alto risco oncogênico (tipos 16, 18, 31, 33 e 35), sendo o potencial oncogênico do vírus a principal relevância do seu estudo nas últimas décadas (XAVIER et al., 2007; LACE et al., 2009; REIS et al., 2010; GYÖNGYÖSI et al., 2012). Muitos aspectos do ciclo de vida do HPV foram caracterizados nas linhagens celulares cervicais e nos QPH imortalizados pelo HPV (EVANS et al. 2017).

Diante da necessidade de um meio de cultura que permita o estabelecimento e replicação do vírus, os QPH têm sido bem documentados para esta aplicação, em especial pela capacidade dos genomas de HPV de alto risco oncogênico estabelecerem a replicação persistente nestas células. Em condições ótimas, os QPH que abrigam os plasmídeos extracromossômicos de HPV, exibem um tempo de vida prolongado *in vitro*, sofrem diferenciação displásica em culturas organotípicas e têm sido usados para analisar eventos precoces e tardios do ciclo viral, incluindo a capacidade proliferativa, expressão de genes virais, replicação do DNA viral vegetativo e síntese de vírions (PYEON 2013, XU et al. 2013, MCKENNA, PATEL e MCCANCE 2014, WANG et al. 2014, HARDEN et al. 2017). Além do HPV, também é relatado o uso de QPH para cultivo e estudo do vírus Epstein-Barr (FOTHERINGHAM, COALSON e RAAB-TRAUB 2012) e herpes simples tipo 1 (SCHELHAAS et al. 2003).

A cultura de QPH também vem sendo aplicada para avaliar a resposta de

defesa inata destas células mediante contato com substâncias derivadas de micro-organismos, como β -glucanas de fungos, em especial *Candida albicans* (Hau et al. 2011), e sobrenadante de cultura de *Escherichia coli* (ABTIN et al. 2008). Com isso, a avaliação da resposta destas células a substâncias microbianas pode ser utilizada como padrão para avaliação da contaminação de alimentos e outros materiais por micro-organismos (NISHIMURA, KATO e HASHIZUME 2003). Os QPH também podem ser utilizados para estudar a interação de patógenos com a queratina. Foi demonstrado, por exemplo, que o *Staphylococcus epidermidis*, por meio da proteína de superfície SdrF, podem se aderir aos QPH. Este mecanismo poderia explicar como ocorre a colonização da pele por estes patógenos (TRIVEDI et al. 2017). Também por meio de QPH, foi possível confirmar que a sinapse viral do HIV-1 com os QPH sinaliza a secreção de linfopietina tímica estromal, que promove a redistribuição epidérmica das células de Langerhans e formação de conjugados com células T, o que facilita a entrada do HIV-1 no prepúcio. Isso ajuda a elaborar possíveis estratégias para impedir a entrada do vírus pelo epitélio do pênis (ZHOU et al. 2017).

Utilização de cultura de QPH para enxertos epiteliais cultivados e testes de substâncias

A integridade da barreira epidérmica é um dos meios pelos quais a pele protege o corpo. Nas situações em que essa barreira é comprometida, como em grandes queimaduras ou ulcerações, tornam-se necessários meios para fechar essas feridas (SOBRAL et al. 2007, CHOI et al. 2017). Vários procedimentos reconstrutivos para condições como trauma, infecção, anomalias congênitas, câncer e queimaduras exigem pele adicional para a cobertura (LADD et al. 2009). Entre elas, as queimaduras estão entre as principais causas externas de morte registradas no Brasil, perdendo apenas para outras causas violentas, que incluem acidentes de transporte e homicídios. Sua importância decorre não apenas da grande incidência, mas, sobretudo, de sua capacidade de produzir sequelas funcionais, estéticas e psicológicas, e da alta taxa de mortalidade (ARAGÃO et al. 2012). Apesar dos progressos no atendimento de queimaduras pediátricas, o sucesso de um

tratamento cirúrgico de queimaduras graves em crianças permanece um desafio (MCHEIK et al. 2010).

O tratamento de queimaduras graves é convencionalmente obtido com o uso de autoenxertos de pele de espessura parcial para a cobertura, o que representa o padrão-ouro para a terapia. No entanto, as desvantagens com enxertos de pele incluem áreas doadoras limitadas em caso de queimaduras extensas e morbidade do sítio doador (LADD et al. 2009, MCHEIK et al. 2009, MCHEIK et al. 2010). Uma das tecnologias desenvolvidas para resolver estes problemas é a utilização de autoenxertos epiteliais cultivados (MCHEIK et al. 2009). Vários tipos de células foram investigados no compartimento cutâneos, dentre eles os queratinócitos e fibroblastos têm sido bem estudados visando a possibilidade de desenvolver biomateriais para a substituição de pele (KEIRA et al. 2004). Das terapias de engenharia de tecidos que são razoavelmente bem estabelecidas, a utilização de queratinócitos autólogos cultivados para beneficiar pacientes com queimaduras extensas tem liderado o caminho (HERNON et al. 2006). Assim, o estabelecimento de um protocolo eficiente possibilitou a aplicação de cultura de queratinócitos para a formação de folhetos epiteliais cultivadas para o tratamento de queimaduras (SOBRAL et al. 2007). Neste contexto, produtos de pele alogênicos disponíveis para o uso terapêutico são na sua maioria desenvolvidos com a cultura de células que foram isoladas especialmente de prepúcio neonatal (HIRT-BURRI et al. 2008).

Os enxertos de cultura apresentam dificuldade de manter resultados de forma confiável, além de outras desvantagens como o custo elevado, longo tempo de expansão *in vitro*, a sensibilidade à infecção e fragilidade mecânica. Existe, portanto, uma demanda clínica para outras opções para cobrir grandes áreas de queimaduras na ausência de áreas doadoras viáveis (HERNON et al. 2006, MCHEIK et al. 2010). Uma alternativa é a pulverização de queratinócitos em feridas usando dispositivos de aerossol, sendo descrita uma cura mais rápida e de melhor qualidade das células. As principais vantagens na utilização da suspensão de queratinócitos são uma redução drástica do tempo de preparação, manuseio mais fácil em

comparação com as folhas de queratinócitos (MCHEIK et al. 2009).

A utilização do tecido prepucial oferece uma oportunidade de se obter uma quantidade maior de células da pele de alto potencial, pois os QPH têm uma grande capacidade de divisão e diferenciação (MCHEIK et al. 2009, MCHEIK et al. 2010). Estas células podem se dividir em grande número antes de entrar em diferenciação (CORTE et al. 2012, MCHEIK et al. 2009). Além disso, queratinócitos isolados podem ser aplicados como um modelo para o estudo das interações destas células com vários fatores de crescimento envolvidos no processo da queimadura (SOBRAL et al. 2007). Diante de tais aplicações, Corte et al. (2012) sugerem a formação de bancos de células alogênicos habilitados com extensos testes de segurança e caracterização de QPH neonatal, além de testes obrigatórios nos doadores autólogos e alogênicos.

Os QPH associados com cultura de células dérmicas do couro cabeludo fetal ou adultas também foram utilizados eficientemente para induzir a tricogenicidade, ou seja, a geração capilar, o que pode ser um meio potencial para recuperação de pelos e/ou cabelos em situações de alopecia e ferimentos (ZHANG et al. 2017). Os QPH expressam marcadores específicos de linhagem epidérmica tais como K14 e p63, importantes marcadores para diferenciação das células estaminais em células epidérmicas. Ao cultivar QPH com células estaminais obtidas de sangue menstrual, foi possível induzir a diferenciação das células para a linhagem epidérmica. Deste modo, tanto as células estaminais de sangue menstrual quanto os QPH são células de grande acessibilidade, o que pode ser promissor para terapias baseadas em células-tronco para acometimentos cutâneos (AKHAVAN-TAVAKOLI et al. 2017).

Os QPH também podem ser aplicados para analisar os efeitos de interferentes físicos ou químicos em células normais da pele. Utilizando QPH de recém-nascidos, Huang et al. (2017) constataram que a radiação ultravioleta pode afetar negativamente a reparação de quebras da dupla fita de DNA por meio da expressão positiva de progerina (HUANG et al. 2017). Para estudar funções diferenciadoras de

tecidos epiteliais de uma pele normal in vitro, os QPH primários podem ser projetados para crescer em cima de um substituto dérmico, mantendo a interface ar-líquido, o que promove uma diferenciação e estratificação epitelial eficiente. Várias empresas desenvolveram diferentes tipos de sistemas de cultura de pele tridimensionais (3D) e aplicaram-no ao teste de irritabilidade e corrosividade de materiais cosméticos na configuração livre de animais. Para superar a limitação endógena de multiplicação das células primárias, os QPH primários podem ser imortalizados por expressão viral de E6 e E7 de HPV. Isso confere uma capacidade de resposta robusta a vários estímulos exógenos, aplicabilidade comparável à avaliação da citotoxicidade e capacidade de diferenciação superior, o que pode ser uma ferramenta valiosa para estudar muitos aspectos da biologia da pele in vitro. Assim, QPH imortalizados cultivados in vitro são ferramentas valiosas não só para a geração de modelos de doenças de pele in vitro, mas também para a previsão de toxicidades potenciais de vários produtos químicos cosméticos (CHOI et al. 2017).

O prepúcio humano removido após a circuncisão, apresenta-se como uma fonte valiosa de queratinócitos (primários ou imortalizados) que podem ter importantes aplicações terapêuticas, no diagnóstico e na pesquisa, o que deve ser melhor explorado. Assim, as culturas celulares de QPH têm sido aplicadas em variados segmentos de pesquisa por se tratar de um eficiente modelo-padrão de células humanas normais. Os QPH funcionam como um modelo importante para estudo da patogênese e diagnósticos de micro-organismos, teste de substâncias e como alternativa para tratamento de lesões cutâneas. Isso é importante para apontar como esse tecido prepucial removido durante a circuncisão pode ser reaproveitado em benefício à comunidade, para que possa ter encaminhamento adequado e possa contribuir para o desenvolvimento científico. Diante disso, o material prepucial encontra-se disponível às aplicações biomédicas em virtude da alta prevalência da circuncisão e é necessário traçar ainda mais caminhos de como as células prepuciais podem ser aplicadas, seja nas áreas abordadas no presente trabalho ou em novas áreas.

REFERÊNCIAS

- AASEN, T.; BELMONTE, J. C. I. Isolation and cultivation of human keratinocytes from skin or plucked hair for the generation of induced pluripotent stem cells. **Nature protocols**, v.5, n.2, p.371, 2010.
- ABDULWAHAB-AHMED, A.; MUNGADI, I. A. Techniques of male circumcision. **Journal of surgical technique and case report**, v.5, n.1, p.1-7, 2013.
- ABTIN, A., ECKHART, L., MILDNER, M., GRUBER, F., SCHRÖDER, J. M.; TSCHACHLER, E. Flagellin is the principal inducer of the antimicrobial peptide S100A7c (psoriasin) in human epidermal keratinocytes exposed to *Escherichia coli*. **The FASEB Journal**, v.22, n.7, p.2168-2176, 2008.
- AKHAVAN-TAVAKOLI, M., FARD, M., KHANJANI, S., ZARE, S., EDALATKHAH, H., MEHRABANI, D.; KAZEMNEJAD, S. **In vitro differentiation of menstrual blood stem cells into keratinocytes: A potential approach for management of wound healing**. *Biologicals*. 2017
- ARAGÃO, J. A., ARAGÃO, M. E. C. D. S., FILGUEIRA, D. M., TEIXEIRA, R. M. P.; REIS, F. P. Estudo epidemiológico de crianças vítimas de queimaduras internadas na Unidade de Tratamento de Queimados do Hospital de Urgência de Sergipe. **Rev. bras. cir. plást.**, v.27, n.3, p.379-382, 2012.
- ARTHUR, A., RYCHKOV, G., SHI, S., KOBLAR, S. A.; GRONTHOS, S. Adult human dental pulp stem cells differentiate toward functionally active neurons under appropriate environmental cues. **Stem cells**, v.26, n.7, p.1787-1795, 2008.
- AUVERT, B., TALJAARD, D., LAGARDE, E., SOBNGWI-TAMBEKOU, J., SITTA, R.; PUREN, A. Randomized, controlled intervention trial of male circumcision for reduction of HIV infection risk: the ANRS 1265 Trial. **PLoS medicine**, v.2, n.11, p.e298, 2005.
- BAILEY, R. C., MOSES, S., PARKER, C. B., AGOT, K., MACLEAN, I., KRIEGER, J. N.; NDINYA-ACHOLA, J. O. Male circumcision for HIV prevention in young men in Kisumu, Kenya: a randomised controlled trial. **The lancet**, v.369, n.9562, p.643-656, 2007.
- BENSOUILAH, J. & BUCK, P. **Aromadermatology: aromatherapy in the treatment and care of common skin conditions**. Radcliffe Publishing. 2006.
- BLANK, S. Circumcision, M. Male circumcision : Task force on circumcision. **Pediatrics**, v.130, p.e756, 2012.
- CHAMCHEU, J. C., AFAQ, F., SYED, D. N., SIDDIQUI, I. A., ADHAMI, V. M., KHAN, N.; MUKHTAR, H. Delphinidin, a dietary antioxidant, induces human epidermal keratinocyte differentiation but not apoptosis: studies in submerged and three-dimensional epidermal equivalent models. **Experimental dermatology**, v.22, n.5, p.342-348, 2013.
- CHAPMAN, S., LIU, X., MEYERS, C., SCHLEGEL, R.; MCBRIDE, A. A. Human keratinocytes are efficiently immortalized by a Rho kinase inhibitor. **The Journal of clinical investigation**, v.120, n.7, p.2619, 2010.

- CHOI, M.; LEE, C. Immortalization of primary keratinocytes and its application to skin research. **Biomolecules & therapeutics**, v.23, n.5, p.391, 2015.
- CHOI, M., PARK, M., LEE, S., LEE, J. W., CHO, M. C., NOH, M.; LEE, C. Establishment of Immortalized Primary Human Foreskin Keratinocytes and Their Application to Toxicity Assessment and Three Dimensional Skin Culture Construction. **Biomolecules & therapeutics**, v.25, n.3, p.296, 2017.
- CHOI, M., PARK, M., LEE, S., LEE, J. W., CHO, M. C., NOH, M.; LEE, C. Establishment of Immortalized Primary Human Foreskin Keratinocytes and Their Application to Toxicity Assessment and Three Dimensional Skin Culture Construction. **Biomolecules & therapeutics**, v.25, n.3, p.296, 2017.
- D'ALESSIO, A., PIRO, E., BRUGNONI, M. & ABATI, L. Use of preputial skin as cutaneous graft after nevus excision. **International journal of pediatrics**, 2010.
- DRAIN, P. K., HALPERIN, D. T., HUGHES, J. P., KLAUSNER, J. D.; BAILEY, R. C. Male circumcision, religion, and infectious diseases: an ecologic analysis of 118 developing countries. **BMC infectious diseases**, v.6, n.1, p.172, 2006.
- EVANS, M. R., JAMES, C. D., LOUGHRAN, O., NULTON, T. J., WANG, X., BRISTOL, M. L.; MORGAN, I. M. An oral keratinocyte life cycle model identifies novel host genome regulation by human papillomavirus 16 relevant to HPV positive head and neck cancer. **Oncotarget**. 2017.
- FAVORITO, L. A., BALASSIANO, C. M., ROSADO, J. P., CARDOSO, L. E. M., COSTA, W. S.; SAMPAIO, F. J. B. Structural analysis of the phimotic prepuce in patients with failed topical treatment compared with untreated phimosis. **International braz j urol**, v.38, n.6, p.802-808, 2012.
- FOTHERINGHAM, J. A., COALSON, N. E.; RAAB-TRAUB, N. Epstein-Barr virus latent membrane protein-2A induces ITAM/Syk-and Akt-dependent epithelial migration through α v-integrin membrane translocation. **Journal of virology**, v.86, n.19, p.10308-10320, 2012.
- GRAY, R. H., SERWADDA, D., KONG, X., MAKUMBI, F., KIGOZI, G., GRAVITT, P. E.; KIWANUKA, N. Male circumcision decreases acquisition and increases clearance of high-risk human papillomavirus in HIV-negative men: a randomized trial in Rakai, Uganda. **The Journal of infectious diseases**, v.201, n.10, p.1455-1462, 2010.
- GYÖNGYÖSI, E., SZALMÁS, A., FERENCZI, A., KÓNYA, J., GERGELY, L.; VERESS, G. Effects of human papillomavirus (HPV) type 16 oncoproteins on the expression of involucrin in human keratinocytes. **Virology journal**, v.9, n.1, p.36, 2012.
- HARDEN, M. E., PRASAD, N., GRIFFITHS, A.; MUNGER, K. Modulation of microRNA-mRNA Target Pairs by Human Papillomavirus 16 Oncoproteins. **MBio**, v.8, n.1, p.e02170-16, 2017.
- HAU, C. S., TADA, Y., SHIBATA, S., URATSUJI, H., ASANO, Y., SUGAYA, M.; SATO, S. High calcium, ATP, and poly (I: C) augment the immune response to β -glucan in normal human epidermal keratinocytes. **Journal of Investigative Dermatology**, v.131, n.11, p.2255-2262, 2011.
- HERNON, C. A., DAWSON, R. A., FREEDLANDER, E., SHORT, R., HADDOW, D. B., BROTHURSTON, M.; MACNEIL, S. **Clinical experience using cultured epithelial autografts leads to an alternative methodology for transferring skin cells from the laboratory to the patient**. 2006.
- HIRT-BURRI, N., SCALETTA, C., GERBER, S., PIOLETTI, D. P.; APPLGATE, L. A. Wound-healing Gene Family Expression Differences Between Fetal and Foreskin Cells Used for Bioengineered Skin Substitutes. **Artificial organs**, v.32, n.7, p.509-518, 2008.
- HUANG, H. I., CHEN, S. K., WANG, R. Y. L., SHEN, C. R.; CHENG, Y. C. Human foreskin fibroblast-like stromal cells can differentiate into functional hepatocytic cells. **Cell biology international**, v.37, n.12, p.1308-1319, 2013.
- JACOB, V. P. **Estudo da influência da idade dos fibroblastos em cultura na resposta ao 17 β -estradiol** (Dissertação de doutorado) - Universidade da Beira Interior. 2011.
- KEIRA, S. M., FERREIRA, L. M., GRAGNANI, A., DUARTE, I. D. S.; SANTOS, I. A. N. D. Experimental model for fibroblast culture. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.19, p.11-16, 2004.
- KORKES, F., SILVA, I. I., LUCIO, J.; LIMA POMPEO, A. C. Circuncisão por motivos médicos no sistema público de saúde do Brasil: epidemiologia e tendências. **Einstein** (16794508), 10, n.3, 2012.
- LACE, M. J., ANSON, J. R., KLINGELHUTZ, A. J., LEE, J. H., BOSSLER, A. D., HAUGEN, T. H.; TUREK, L. P. Human papillomavirus (HPV) type 18 induces extended growth in primary human cervical, tonsillar, or foreskin keratinocytes more effectively than other high-risk mucosal HPVs. **Journal of virology**, v.83, n.22, p.11784-11794, 2009.
- LADD, M. R., LEE, S. J., ATALA, A.; YOO, J. J. Bioreactor maintained living skin matrix. **Tissue Engineering Part A**, v.15, n.4, p.861-868, 2008.
- LEDNICKY, J. A.; WYATT, D. E. **The art of animal cell culture for virus isolation**. In Biomedical tissue culture. InTech. 2012.
- LEE, C. H.; LEE, S. D. Effect of topical steroid (0.05% Clobetasol Propionate) treatment in children with severe phimosis. **Korean journal of urology**, v.54, n.9, p.624-630, 2013.
- LEE, J. S., KIM, D. H., CHOI, D. K., KIM, C. D., AHN, G. B., YOON, T. Y.; LEE, J. Y. Comparison of gene expression profiles between keratinocytes, melanocytes and fibroblasts. **Annals of dermatology**, v.25, n.1, p.36-45, 2013.
- LELAND, D. S.; GINOCCHIO, C. C. Role of cell culture for virus detection in the age of technology. **Clinical Microbiology Reviews**, v.20, n.1, p.49-78, 2007.
- MAHMOUDI-RAD, M., ABOLHASANI, E., MORAVVEJ, H., MAHMOUDI-RAD, N.; MIRDAMADI, Y. Acellular amniotic membrane: an appropriate scaffold for fibroblast proliferation. **Clinical and experimental dermatology**, v.38, n.6, p.646-651, 2013.
- MCHEIK, J. N., BARRAULT, C., VINCENT, G., GRAMMATICO, F., PECI, S., GARNIER, J.; LEVARD, G. Modèles de cultures cellulaires kératinocytaires de prépuce.

Possibilité d'application chez les enfants brûlés. **In Annales de chirurgie plastique esthétique**, v.54, n.6, p.528-532, Elsevier Masson. 2009.

MCHEIK, J. N., BARRAULT, C., BERNARD, F. X.; LEVARD, G. Quantitative and qualitative study in keratinocytes from foreskin in children: **Perspective application in paediatric burns**. v.36, n.8, p.1277-1282, 2010.

MCKENNA, D. J., PATEL, D.; MCCANCE, D. J. miR-24 and miR-205 expression is dependent on HPV onco-protein expression in keratinocytes. **Virology**, v.448, p.210-216, 2014.

MORRIS, B. J., WAMAI, R. G., HENEBENG, E. B., TOBIAN, A. A., KLAUSNER, J. D., BANERJEE, J.; HANKINS, C. A. Estimation of country-specific and global prevalence of male circumcision. **Population health metrics**, v.14, n.1, p.4, 2016.

NISHIMURA, E., KATO, M. & HASHIZUME, S. 2003. Human β -defensin-2 induction in human foreskin keratinocyte by synergetic stimulation with foods and Escherichia coli. **Cytotechnology**, 43(1), 135-144.

GRIFFIN, L. M., CICCHINI, L., XU, T.; PYEON, D. Human keratinocyte cultures in the investigation of early steps of human papillomavirus infection. **Epidermal Cells: Methods and Protocols**, p.219-238, 2014.

REIS, A. A. D. S., MONTEIRO, C. D., PAULA, L. B. D., SANTOS, R. D. S., SADDI, V. A.; CRUZ, A. D. D. Papilomavírus humano e saúde pública: prevenção ao carcinoma de cérvix uterina. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.15(suppl 1), p.1055-1060, 2010.

SCHELHAAS, M., JANSEN, M., HAASE, I.; KNEBEL-MÖRS DORF, D. Herpes simplex virus type 1 exhibits a tropism for basal entry in polarized epithelial cells. **Journal of general virology**, v.84, n.9, p.2473-2484, 2003.

SLOMINSKI, A. T., ZMIJEWSKI, M. A., SKOBOWIAT, C., ZBYTEK, B., SLOMINSKI, R. M.; STEKETEE, J. D. Introduction. In **Sensing the Environment: Regulation of Local and Global Homeostasis by the Skin's Neuroendocrine System** (pp. 1-6). Springer Berlin Heidelberg, 2012.

SOBRAL, C. S., GRAGNANI, A., CAO, X., MORGAN, J. R.; FERREIRA, L. M. Human keratinocytes cultured on collagen matrix used as an experimental burn model. **Journal of burns and wounds**, v.7, 2007.

TERUNUMA, A., LIMGALA, R. P., PARK, C. J., CHOUDHARY, I.; VOGEL, J. C. Efficient procurement of epithelial stem cells from human tissue specimens using a Rho-associated protein kinase inhibitor Y-27632. **Tissue engineering Part A**, v.16, n.4, p.1363-1368, 2010.

TRIVEDI, S., UHLEMANN, A. C., HERMAN-BAUSIER, P., SULLIVAN, S. B., SOWASH, M. G., FLORES, E.; LOWY, F. D. The Surface Protein SdrF Mediates Staphylococcus epidermidis Adherence to Keratin. **The Journal of Infectious Diseases**, jix213, 2017.

WANG, X., WANG, H. K., LI, Y., HAFNER, M., BANERJEE, N. S., TANG, S.; TUSCHL, T. microRNAs are biomarkers of oncogenic human papillomavirus infections. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.111, n.11, p.4262-4267, 2014.

XAVIER, S. D., FILHO, I. B., DE CARVALHO, J. M., DE SOUZA FRAMIL, V. M.; CASTRO, T. M. P. P. G. Frequency of Appearance of Human Papillomavirus (HPV) in Oral Mucosa of Men with Anogenital HPV by a Molecular Technique. **Arq Int Otorrinolaringol**, p.36-44, 2007.

XU, M., KATZENELLENBOGEN, R. A., GRANDORI, C.; GALLOWAY, D. A. An unbiased in vivo screen reveals multiple transcription factors that control HPV E6-regulated hTERT in keratinocytes. **Virology**, v.446, n.1, p.17-24, 2013.

YIEE, J. H.; BASKIN, L. S. Penile embryology and anatomy. **The Scientific World Journal**, v.10, p.1174-1179, 2010.

ZAROO, M. I., SHEIKH B. A., WANI, A. H., DARZI, M. A., MIR, M., DAR, H.; ZARGAR, H. R. Use of preputial skin for coverage of post-burn contractures of fingers in children. **Indian journal of plastic surgery: official publication of the Association of Plastic Surgeons of India**, v.44, n.1, p.68, 2011.

ZHANG, Q., ZU, T., ZHOU, Q., WEN, J., LENG, X.; WU, X. **The patch assay reconstitutes mature hair follicles by culture-expanded human cells**. *Regen Med.*, 2017.

ZHOU, Z., XU, L., SENNEPIN, A., FEDERICI, C., GANOR, Y., TUDOR, D. & BOMSEL, M. The HIV-1 viral synapse signals human foreskin keratinocytes to secrete thymic stromal lymphopoietin facilitating HIV-1 foreskin entry. **Mucosal Immunol**. 2017.

ZHOU, J., SONG, J., PING, F. & SHANG, J. 2014. Enhancement of the p38 MAPK and PKA signaling pathways is associated with the pro-melanogenic activity of Interleukin 33 in primary melanocytes. **Journal of dermatological science**, v.73, n.2, p.110-116, 2014

ZHOU, J., SHANG, J., SONG, J.; PING, F. Interleukin-18 augments growth ability of primary human melanocytes by PTEN inactivation through the AKT/NF- κ B pathway. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v.45, n.2, 308-316, 2013.