

CARACTERIZAÇÃO DA MATRIZ EXTRACELULAR PLACENTÁRIA DE CAMUNDONGO *Mus musculus* ATRAVÉS DA MICROSCOPIA DE LUZ

MATHEUS GUILHERME DE SOUZA ARAÚJO¹, ANA LÍDIA JACINTHO DELGADO¹, CELINA ALMEIDA FURLANETTO MANÇANARES², JÉSSICA BORGHESI³, PHELPE DE OLIVEIRA FAVARON³

¹ Discente do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos - UNIFEOB

² Docente do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos – UNIFEOB

³ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, Brasil

RESUMO: A placenta é uma importante estrutura para os mamíferos, sendo ela responsável por fazer trocas gasosas, de excretas e de metabólitos entre o feto e a mãe. Humanos e roedores compartilham do mesmo tipo placentário, uma placenta discoide hemocorial. Avanços no campo da bioengenharia tecidual tem sido feito utilizando a matriz extracelular da placenta humana como *scaffolds*, acreditando-se que assim como a placenta humana a placenta do camundongo também pode ser utilizada como material biológico para enxertos e recuperação de tecidos. Esta pesquisa tem como objetivo fazer uma análise morfológica da matriz extracelular da placenta do camundongo, a fim de entender melhor esta estrutura e sua função.

PALAVRAS-CHAVE: colágeno, matriz extracelular, placenta

INTRODUÇÃO

O camundongo *Mus musculus* (Rodentia, Muridae) é uma das espécies animais mais utilizadas como modelo experimental, devido as características morfo-fisiológicas que compartilham com os humanos, inclusive a similaridade gênica (JUNQUEIRA, 2006). Dentre as varias características reprodutivas comuns entre camundongos e humanos, há uma estrutura muito importante no desenvolvimento placentário destes mamíferos: a matriz extracelular placentária (ROZARIO T. et al 2010). A matriz é a massa tecidual que une as células, esta complexa estrutura é composta de proteínas estruturais como a fibronectina, laminina, elastina, diferentes tipos de colágeno e também por proteínas funcionalmente especializadas como proteoglicanos, integrinas e citocinas (DAWE G, et al., 2008). É uma importante estrutura e tem varias funções no tecido, não só de estruturação, mas também dá suporte para vários órgãos e tecidos, além de participar da organização e coordenação das funções celulares teciduais. Dessa forma, através da matriz extracelular é que ocorrem processos celulares como: adesão, migração e processos de transdução de sinal, estes tendo como função a expressão gênica nas células de um determinado tecido, além disso, a matriz regula a proliferação celular (CHRISTOPHER S. et al., 2009).

OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi estudar a matriz extracelular da placenta de camundongos com base em análises histológicas com o intuito de conhecer sua estrutura e composição, a fim de viabilizar seu uso como um *scaffold* biológico, o qual possa ser utilizado na medicina regenerativa para resolver problemas relacionados com a falta de órgãos e tecidos para transplantes.

REVISÃO DE LITERATURA

A placenta é uma importante estrutura para os mamíferos, sendo ela responsável por fazer trocas gasosas, de excretas e de metabólitos entre o feto e a mãe (LEISER e KAUFFAMN, 1994).

Dentre as varias características reprodutivas comuns entre camundongos e humanos, o tipo placentário chama atenção, ambos possuem uma placenta do tipo discoide hemocorial. Este tipo de placenta se caracteriza pela invasão do endométrio e capilares sanguíneos maternos pelos tecidos fetais, fazendo com que o trofoblasto seja banhado diretamente pelo

sangue materno, uma característica que torna este tipo de placenta o mais invasivo (LEISER e KAUFFAMN, 1994).

A placenta dos roedores murinos é dividida em três regiões: zona labiríntica, zona juncional e decídua. Cada área possui um tipo celular e desempenha funções específicas durante a gestação. Na zona labiríntica, três camadas trofoblásticas interpõem-se entre os espaços sanguíneos maternos e os capilares fetais, esta área da placenta é composta principalmente por citotrofoblasto e células trofoblásticas gigantes (FURUKAWA S. et al., 2014). A zona juncional por sua vez, é composta por diferentes tipos de células trofoblásticas, inclusive aquelas de depósito de glicogênio (RAMPON C. et al, 2012). Essa região apresenta grandes espaços de sangue materno que se extravasa direcionando-se para o labirinto (DAWE G. et al 2007). A decídua por sua vez, se desenvolve em resposta as modificações do endométrio uterino durante a implantação e é composta por células decíduas e artérias maternas espiraladas (MORI M. et al., 2016).

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Para esta pesquisa foram utilizadas 8 placentas de camundongos (*Mus musculus*) em fase de final de gestação, aproximadamente 18-20 dias gestacionais. As amostras foram coletadas na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP). A nomenclatura utilizada foi referida conforme estabelecido pelo International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature e International Committee on Veterinary Histological Nomenclature, 2005. O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética de uso de animais (FMVZ-USP) sobre o número de protocolo (nº 13.045).

Microscopia de luz

Fragmentos das placentas fixados previamente em solução de paraformaldeído 4% foram lavados em tampão fosfato (PBS), seguido de desidratação em uma série de etanóis em concentrações crescentes (de 70 a 100%), seguido de diafanização em xilol, para então serem embebidos em similar de parafina (Histosec®) (TOLOSA et al., 2003). Os blocos de parafina foram cortados em micrótomo automático (Leica, RM2165, Germany) obtendo-se cortes de 5 µm, os quais foram aderidos em lâminas histológicas e deixados em estufa a 60°C. Após serem desparafinizados os cortes, foram corados seguindo-se técnicas rotineiras de coloração de tecido, usando para tanto a coloração de Hematoxilina e Eosina, Tricrômico de Masson, Picrosírius e reação histoquímica de P.A.S. (ácido periódico de Schiff) com fundo de hematoxilina. Em seguida as lâminas foram analisadas e as características morfológicas encontradas fotodocumentadas, em microscópio de luz (Olympus BX40, Zeiss KS400).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Microscopicamente a placenta de camundongo pode ser dividida em três regiões, a zona labiríntica, a zona juncional e a zona decídua. A zona labiríntica fica localizada no lado fetal da placenta e caracteriza-se por ser uma área onde a região materna e fetal coexistem a circulação sanguínea e ocorre a troca de metabólitos (DAVIES J. et al., 1968), encontramos nessa região células trofoblásticas e células de glicogênio, assim como descrito por Dawe G. 2008. Os trofoblastos são os principais tipos de células dessa região e são encontrados em grande quantidade nessa área da placenta separando os vasos sanguíneos e os vasos fetais.

O colágeno e as glicoproteínas laminina e fibronectina são macromoléculas que constituem a matriz extracelular, cada uma possui uma função, que em conjunto resultam na matriz extracelular, o colágeno é um sistema elástico e estrutural e as glicoproteínas funcionam como moléculas de adesão no substrato intracelular (BALBERTS B. et al, 2002).

CONCLUSÕES

Conclui-se que apesar da estrutura placentária dos camundongos *Mus musculus* ser parecida com a dos humanos, elas se divergem em alguns aspectos, tendo funcionalidades diferentes de estruturas como o saco vitelino e de algumas células como as células

trofoblásticas gigantes. Sendo assim podemos observar diferenças marcantes durante todo o processo desde seu início quando ocorre a implantação, diferenças estas que podem facilitar a compreensão até do processo evolutivo da placenta.

Além dessa divergência de características podemos notar também os vários problemas gerados por conta de alterações hormonais e genéticas ocorridos na placenta durante o desenvolvimento do feto, portanto concluímos que o avanço das pesquisas podem melhorar muito a qualidade de vida e garantir uma gestação mais saudável, para isto só devemos continuar a estudar esta estrutura tão importante para nos mamíferos.

REFERÊNCIAS

ALBERTS B, JOHNSON A, LEWIS J, et al. **Molecular Biology of the Cell. 4th edition.** New York: Garland Science; 2002. The Extracellular Matrix of Animals. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26810/>

CHRISTOPHER S. CHEN et al., Control of Stem Cell Fate by Physical Interactions with the Extracellular Matrix. **Cell Stem Cell.** 2009 Jul 2; 5(1): 17–26.

DAWE G.; WEI T.; XIAO Z.; Cell migration from baby to Mother. **Cell AdhMigr.** 2007 Jan-Mar; 1(1): 19–27.

J. DAVIES AND S. R. GLASER. Histological and fine structural observations on the placenta of the rat. **Acta Anat**(Basel) 69 (4), 542-608. 1968.

JUNQUEIRA, LF; Espécies de Animais empregadas em experimentação laboratorial. **Ciências Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 28, n.1, p.11-23, 2007.

LEISER R.; KAUFMANN P.; Placental Structure: In a Comparative Aspect. **Exp. ClinEndocrinol.** 1994; 102(3):122-34.

MORI M.; BOGDAN A.; BALASSA T.; CSABAI T.; SZEKERES J.; The decidua—the maternal bed embracing the embryo maintains the pregnancy. **SeminImmunopathol Springe.** 2016 Nov; 38(6):635-649.

RAMPON C.; BOUILLOT S.; CLIMESCU A.; PRANDINI M.; CAND F.; VANDENBROUCK Y.; HUBER P. Protocadherin 12 deficiency alters morphogenesis and transcriptional profile of the placenta. **PhysiolGenomics.** 2008 July; 34(2): 193–204. 2007. 2012.

ROZARIO T.; SIMONE D.; DOUGLAS W.; The extracellular matrix in development and morphogenesis dynamic view. **Dev Biol.** 2010 May 1;341(1):126-40.

SATOSHI FURUKAWA.; YUSUKE KURODA.; AKIHIKO SUGIYAMA.; A Comparison of the Histological Structure of the Placenta in Experimental Animals. **Journal of Toxicologic Pathology** Vol. 27 (2014) No. 1 p. 11-18.