

DETERMINAÇÃO DOS TIPOS DE ANGIOGÊNESE NO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS: UM ESTUDO EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

BORDIGNON, Eveline¹; BAMPI, Vinícius F. ²; GONÇALVES, Reggiani V. ³; RHEINGANTZ, Maria Gabriela Tavares³; De OLIVEIRA, Laura Beatriz O.³

¹*Faculdade de Medicina – Universidade Federal de Pelotas.*
 evelinebordignon@gmail.com

²*Faculdade de Medicina – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.*
 vini_bampi@terra.com.br

³Departamento de Morfologia – Instituto de Biologia - Universidade Federal de Pelotas (reggys vilela@yahoo.com.br; mgrheing@yahoo.com.br; botafogooliveira@uol.com.br)

INTRODUÇÃO

Podem ser descritos dois mecanismos distintos de angiogênese: brotamento ou *sprout* (Risau, 1997) e intussuscepção (AI) (Caduff, Fischer *et al.*, 1986) TABELA 1. A angiogênese por brotamento, ou *sprout*, consiste na proliferação das células endoteliais e a formação de um broto de células endoteliais conectado ao vaso de origem (Caduff, Fischer *et al.*, 1986). A intussuscepção refere-se ao processo pelo qual um único capilar divide-se longitudinalmente em dois pela formação de um septo (Caduff, Fischer *et al.*, 1986). O objetivo do trabalho foi identificar e descrever, através da técnica de corrosão vascular seguida de MEV, as formas de angiogênese: *sprout* e intussuscepção, nos 55^o e 90^o dia de indução tumoral na bolsa jugal de hamster sírio dourado.

Angiogênese por brotamento	Angiogênese por intussuscepção
Invasivo	Não invasivo
Processo relativamente lento	Processo rápido (horas ou minutos)
Depende da proliferação celular	Não depende primariamente de proliferação celular
Crescimento da árvore vascular	Remodelamento da árvore vascular
Maior gasto de energia	Menor gasto de energia

Tabela 1 – Diferenças entre os mecanismos de angiogênese por brotamento e por intussuscepção.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos realizados nesse estudo foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - (CEUA-PUCRS), ofício nº 055/08. Oito hamsters sírios dourados machos (*Mesocricetus auratus*) com 4 semanas de vida e peso aproximado de 70 gramas, provenientes do Biotério Central da UFPel, foram randomizados em dois grupos, os quais receberam tratamento em suas bolsas jugais direitas por um período respectivo de 55 e 90 dias. A solução de DMBA diluído em acetona à 0,5% e o peróxido de carbamida a 10% (Opalescence® PF 10%), foram aplicados, respectivamente e alternadamente, três e duas vezes por semana, somente na bolsa jugal direita. A bolsa esquerda foi considerada como controle. Nos dias 55 e

90, os animais foram anestesiados com quetamina (0,2 mg/g) e xilazina (0,01 mg/g), e destinados à moldagem de suas redes vasculares com a resina Mercocox®. Após uma semana de polimerização, as bolsas foram dissecadas, corroídas com uma solução de NaOH a 5% e preparadas para análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV). A análise das micrografias eletrônicas consistiu na descrição (Konerding, 1991) dos dois tipos de angiogênese, intussuscepção e *sprout*, nos dois diferentes tempos de indução do tumor.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período de 55 dias de indução tumoral, o sistema vascular proliferou basicamente por *sprout*, o que pode ser evidenciado pela visualização de vasos neoformados com fundo cego (Fig. 1). Esta característica é consequência da intensa proliferação vascular que acaba por formar vasos com paredes imaturas (Konerding, Malkusch *et al.*, 1999). Porém, aos 90 dias de indução tumoral, foram observados inúmeros pequenos orifícios na parede dos vasos (Fig. 2). Estes pequenos orifícios foram obtidos pela moldagem dos pilares transvasculares, indicando AI (Fig. 3). Uma função da AI é expandir a base capilar em tamanho e complexidade, levando posteriormente a formação de uma nova rede de capilares, como foi visualizado aos 90 dias de indução tumoral (Fig. 4). Em ambos os períodos de indução tumoral, foram constatadas zonas avasculares e nas bordas dessas zonas foram observados *sprouts*, o que pode ser explicado pelo estímulo angiogênico devido a resposta inflamatória desencadeada com a morte celular por isquemia (Fig. 5) (Amar, Giovanni *et al.*, 2001).



Figura 1 – MEV de um molde vascular de corrosão de uma bolsa jugal após 55 dias de indução tumoral. As pontas das setas destacam os vasos neoformados por angiogênese (MEV – 140x).

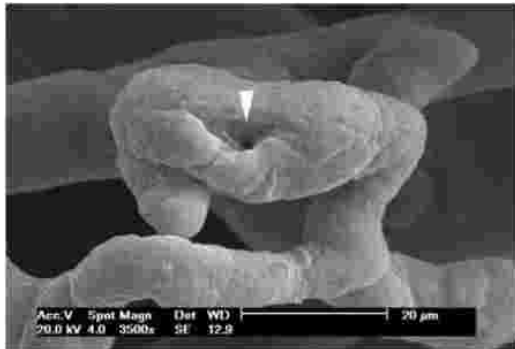


Figura 2 – Observa-se a superfície interna de um orifício encontrado num vaso de um molde vascular de corrosão de uma bolsa jugal após 90 dias de indução tumoral. (MEV – 3500x).

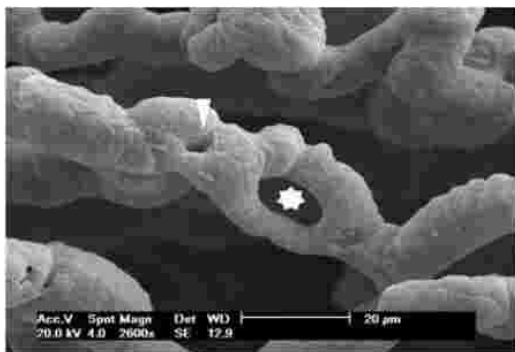


Figura 3 – Molde vascular de corrosão de uma bolsa jugal após 90 dias de indução tumoral mostrando uma pequena depressão na parede do vaso (ponta da seta) e um pequeno orifício (asterisco) que representam o progresso do crescimento vascular por intussuscepção (MEV – 2600x).

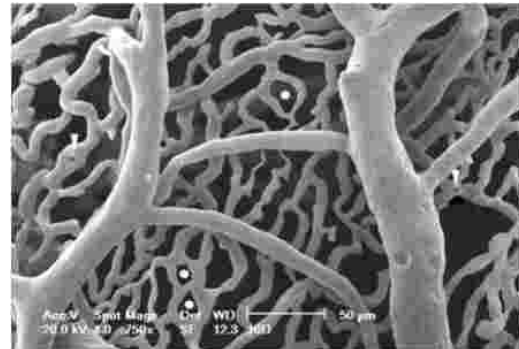


Figura 4 – Observa-se a rede vascular de um tumor de 90 dias destacando imagens de crescimento intussusceptivo (pontas de setas e asteriscos). As análises das micrografias nos permitiu propor que essa rede capilar foi desenvolvida por crescimento microvascular intussusceptivo (MEV – 750x).



Figura 5 – Observa-se uma zona avascular (linha pontilhada) com imagens de sprouts contornando suas bordas (pontas de setas). A presença de sprouts pode ser compreendida como um estímulo angiogênico desencadeado pela morte celular por isquemia (MEV – 200x).

CONCLUSÃO

Este trabalho permitiu verificar que, aos 55 dias de indução tumoral, ocorreu crescimento do sistema vascular através de *sprout*. Porém, aos 90 dias de indução tumoral o crescimento da rede vascular foi devido a uma expansão por AI. A vascularização dos tumores depende de ambos os mecanismos, *sprout* e intussuscepção; negligenciar um ou outro obscureceria o entendimento do processo de angiogênese tumoral, dificultando a descoberta de quais drogas antiangiogênicas poderiam auxiliar no tratamento do câncer.

REFERÊNCIAS

- AMAR, A. et al. Densidade microvascular no carcinoma de língua. **Rev Assoc Med Bras**, v. 48, n. 3, p. 204-208, 2001. ISSN 0104-4230.
- CADUFF, J. H.; FISCHER, L. C.; BURRI, P. H. Scanning electron microscope study of the developing microvasculature in the postnatal rat lung. **Anat Rec**, v. 216, n. 2, p. 154-64, Oct 1986. ISSN 0003-276X (Print)
- KONERDING, M. A. Scanning electron microscopy of corrosion casting in medicine. **Scanning Microsc**, v. 5, n. 3, p. 851-65, Sep 1991. ISSN 0891-7035 (Print)
- KONERDING, M. A. et al. Evidence for characteristic vascular patterns in solid tumours: quantitative studies using corrosion casts. **Br J Cancer**, v. 80, n. 5-6, p. 724-32, May 1999. ISSN 0007-0920 (Print)
- RISAU, W. Mechanisms of angiogenesis. **Nature**, v. 386, n. 6626, p. 671-4, Apr 17 1997. ISSN 0028-0836 (Print)