

MICROSCOPIA ELETRONICA DE VARREDURA NO ESTUDO DA VASCULARIZAÇÃO TUMORAL EM MODELO DE CORROSÃO

THAIS FIGUEIREDO RODEGHIERO¹; MARIA GABRIELA T. RHEINGANTZ²;
LAURA BEATRIZ OLIVEIRA DE OLIVEIRA²

¹*Curso de Farmácia - Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos - Universidade Federal de Pelotas - thaisfigueiredor@gmail.com*

²*Departamento de Morfologia – Instituto de Biologia - Universidade Federal de Pelotas - mgrheing@yahoo.com.br; botafogooliveira@uol.com.br*

1. INTRODUÇÃO

A execução da técnica de modelo de corrosão vascular (TMCV) requer o emprego de um modelo animal (KRONKA *et al.* 2001). A moldagem é realizada injetando nos vasos resina à base de metilmetacrilato. Após é realizada a corrosão, que é a dissolução dos tecidos circunjacentes à moldagem, utilizando soluções de hidróxido de sódio (NaOH) e hidróxido de potássio (KOH) (LAMETSCHWANDTNER *et al.*, 1990). Após a corrosão os espécimes são revestidos com uma camada metálica que permite a condução de elétrons com capacidade para a formação da imagem em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (BELZ; AUCHTERLONIE, 1995).

O modelo de corrosão vascular fornece a angioarquitetura da estrutura anatômica (AHARINEJAD; BÖCK, 1994). As eletromicrografias de varredura permitem observar alguns aspectos morfológicos como: o arranjo tridimensional da vascularização, o diâmetro vascular, a impressão dos núcleos das células endoteliais na superfície do modelo vascular, bem como o trajeto das arteríolas e vênulas que compõem a estrutura avaliada (HOSSLER; DOUGLAS, 2001). A análise dos modelos de corrosão vascular é principalmente descritiva (KONERDING, 1991).

A morfologia da microcirculação tem um papel importante na compreensão dos fenômenos fisiológicos e patológicos dos órgãos. Os tumores recrutam o seu próprio aporte sanguíneo através da produção e liberação de moléculas estimuladoras da formação de novos vasos sanguíneos (McDONNELL *et al.*, 2000).

Em pesquisas de tumores com modelos animais, a TMCV/MEV foi empregada para estudar o padrão vascular de tumores de rim, cavidade oral, olho, ovário, glioma, bexiga e outros. Como a TMCV/MEV contribui de forma considerável no entendimento da arquitetura vascular dos tumores, este trabalho tem como objetivo discutir suas vantagens, bem como sua aplicação em pesquisa de tumores.

2. METODOLOGIA

Utilização do método de Mapeamento Sistemático de Literatura que prima por: (I) Localizar referências; (II) Selecionar as referências; (III) Avaliar o conteúdo das referências selecionadas; (IV) Extração de informações e entendimentos das referências e (V) Validação crítica do conteúdo das referências.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No estudo dos tumores, a TMCV pode ser aplicada para investigações da trama vascular neoformada. Seus vasos se tornam intensamente tortuosos e as características de organização do padrão inicial dos diferentes órgãos desaparecem. As diferentes imagens de angiogênese podem ser observadas durante o desenvolvimento do tumor. Com esta técnica é possível analisar a disposição 3D dos leitos microvasculares de diferentes tipos de tumores.

A angioarquitetura dos órgãos normais é caracteristicamente dependente do órgão. Os tumores desenvolvem uma rede vascular desorganizada, ao invés de um suprimento vascular sistemático com um arranjo vascular hierárquico (SCHOENFELD *et al.*, 1994). A arquitetura da rede neoformada perde sua hierarquia sequencial, o que fica evidente durante a evolução tumoral possibilitando a investigação da relação entre a histologia do tumor e sua angioarquitetura. Nesse aspecto a TMCV/MEV contribui para revelar a falta de hierarquia vascular na trama neoformada. Essa é uma vantagem específica da corrosão seguida de MEV.

Segundo Konerding (1991), os modelos vasculares de artérias e veias podem ser caracterizados pelas impressões de suas células endoteliais, cujos núcleos se mostram ovoides e orientados ao longo do vaso nas artérias, ao passo que nas veias podem estar ausentes. Todavia, nos tumores, as marcas endoteliais das artérias e veias podem ser menos evidentes como relacionado por estudos de Lametschwandner *et al.*, 1990; Ohtani e Ohtani, 2000.

No ovário, onde a angiogênese fisiológica é ativa e rápida, *sprouting* (brotamento) difusos não são observados, sugerindo que existe correlação entre as figuras de *sprouting* e a malignidade ou agressividade do tumor (FORSMAN e McCORMACK, 1992). Os modelos de corrosão junto com a MEV de tumores proporcionaram observar regiões onde ocorre *sprouting* da rede vascular.

As estruturas com forma que lembram uma cesta de basquete (*basketlike*) podem representar uma angioarquitetura específica do padrão de crescimento do tecido do tumor. Estruturas similares as “alças glomerulares”, foram descritas no carcinoma das células escamosas humanas da laringe (MIODONSKI *et al.*, 1980), na hemangiomatose humana (ARASHIRO *et al.*, 1995), e no tumor mamário do rato (KAIDOH *et al.*, 1991). Essas figuras são perfeitamente moldadas pela técnica de corrosão.

Na arquitetura vascular do glioma induzido no rato, vasos mais tortuosos e as estruturas glomerulares apareceram com a progressão do tumor (ZAMA *et al.*, 1991). O aspecto tortuoso dos vasos, da mesma forma que as outras alterações na rede neoformada, também foram reproduzidos de forma evidente nos modelos, confirmando a excelência do produto injetado durante a execução da técnica (TATEMATSU *et al.*, 1978).

Os espécimes obtidos são formados por uma trama de modelos vasculares sem o tecido de sustentação, o que constitui uma desvantagem da técnica. No entanto, esse revés pode ser compensado com o emprego de cortes histológicos analisados em microscopia de luz ou em microscopia eletrônica de transmissão (SUGIOKA e IKE, 1993). Assim, as demais técnicas histológicas disponíveis podem complementar a análise das estruturas circunjacentes que foram corroídas. Desse modo, a perda das relações anatômicas com estruturas próximas ao órgão estudado pode ser resolvida ampliando-se o tamanho do espécime a ser corroído. A maceração de um espécime de maior volume também auxilia no tratamento do tecido injetado.

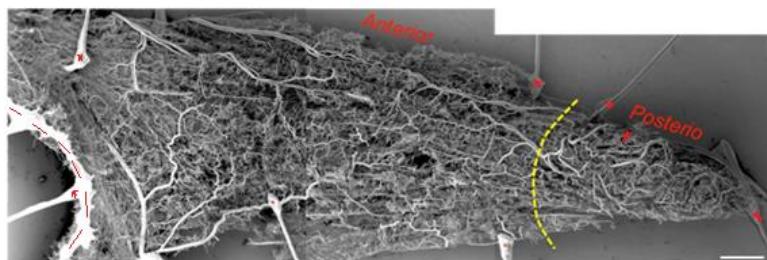


Figura 1. Face lateral de uma réplica vascular da bolsa jugal do hamster. Observe a forma cônica do órgão e note as diferenças na angioarquitetura entre região anterior e posterior da camada adluminal da bolsa. A linha tracejada amarela demarca o limite entre essas duas regiões, a linha tracejada vermelha identifica a comissura labial e os asteriscos sinalizam as pontes condutivas. Microscopia Eletrônica de Varredura, Barra de escala: 2mm.

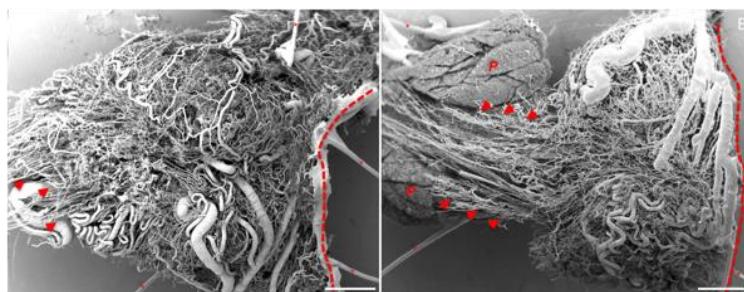


Figura 2. Face lateral de dois moldes de corrosão de bolsas jugais direitas do grupo controle. A linha pontilhada demarca a comissura labial, as cabeças das setas apontam para os vasos do músculo retrator e os asteriscos vermelhos sinalizam as pontes condutivas. Em (B) a glândula salivar parótida (P), normalmente posicionada posteriormente à bolsa, tornou-se evidente devido à redução do comprimento desse órgão. Microscopia Eletrônica de Varredura, Barra de escala: 2mm.

4. CONCLUSÃO

A Técnica de Modelo de Corrosão associada ao MEV é adequada para o estudo da angioarquitetura, sendo importante para anatomistas que pretendam atualizar os seus conhecimentos da morfologia do leito microvascular de tumores. Esses modelos vasculares se constituem em uma fonte complementar para estudos experimentais de tumores.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHARINEJAD, S.; BÖCK, P. Different forms of corrosion casts. **Scanning Microscopy**, Chicago, v.8, n.2, p.403-414, 1994.
- ARASHIRO, K.; OHTSUKA, H.; MIKI, Y. Three-dimensional architecture of human cutaneous vascular lesions: a scanning electron microscopic study of corrosion casts. **Acta Dermato-Venereologica**, Uppsala, v.75, n.4, p.257-263, 1995.
- BELZ, G. T.; AUCHTERLONIE, G. J. An investigation of the use of chromium, platinum and gold coating for scanning electron microscopy of casts of lymphoid tissues. **Micron**, Oxford, v.26, n.2, p.141-144, 1995.

- FORSMAN, A.D.; MCCORMACK, J.T. Microcorrosion casts of hamster luteal and follicular vasculature throughout the estrous cycle. **The Anatomical Record**, Medford, v.233, n.4, p.515-520, 1992.
- HOSSLER, F.E.; DOUGLAS, J.E. Vascular corrosion casting: review of advantages and limitations in the application of some simple quantitative methods. **Microscopy and Microanalysis**, New York, v.7, n.3, p.253-264, 2001.
- KAIDOH, T.; YASUGI, T.; UEHARA, Y. The microvasculature of the 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)-induced rat mammary tumour. I. Vascular patterns as visualized by scanning electron microscopy of corrosion casts. **Virchows Archiv. A, Pathological Anatomy and Histopathology**, New York, v.418, n.2, p. 111-117, 1991.
- KONERDING, M.A. Scanning electron microscopy of corrosion casting in medicine. **Scanning Microscopy**, Chicago, v.5, n.3, p.851-865, 1991.
- KRONKA, M.C.; WATANABE, I.S.; SILVA, M.C.P. Scanning electron microscopy of angioarchitecture of palatine gingival in young rabbits. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v.12, n.3, p.163-166, 2001.
- LAMETSCHWANDTNER, A.; LAMETSCHWANDTNER, U.; WEIGER, T. Scanning electron microscopy of vascular corrosion casts-technique and applications: updated review. **Scanning Microscopy**, Chicago, v.4, n.4, p.889-941, 1990.
- McDONNELL, C.O.; HILL, A.D.; McNAMARA, D.A.; WALSH, T.N.; BOUCHIER-HAYES, D.J. Tumour micrometastases: the influence of angiogenesis. **European Journal of Surgical Oncology**, London, v.26, n.2, p.105-115, 2000.
- MIODOŃSKI, A.; KUŚ, J.; OLSZEWSKI, E.; TYRANKIEWICZ, R. Scanning electron microscopic studies on blood vessels in cancer of the larynx. **Archives Otolaryngology**, Chicago, v.106, n.6, p.321-332, 1980.
- OHTANI, O.; OHTANI, Y. A corrosion casting/scanning electron microscope method that simultaneously demonstrates clear outlines of endothelial cells and three-dimensional vascular organization. **Archives of Histology and Cytology**, Tokyo, v.63, n.5, p.425-429, 2000.
- SCHOENFELD, A.; LEVAVI, H.; BRESLAVSKI, D.; AMIR, R.; OVADIA, J. Three-dimensional modelling of tumor-induced ovarian angiogenesis. **Cancer Letters**, Heidelberg, v.87, n.1, p.79-84, 1994.
- SUGIOKA, S.; IKE, H. Scanning electron microscopic studies of the palatine mucosa and its microvascular architecture in the rat. **Scanning Microscopy**, Chicago, v.7, n.4, p.1321-1332, 1993.
- TATEMATSU, M.; COHEN, S.M.; FUKUSHIMA, S.; SHIRAI, T.; SHINOHARA, Y.; ITO, N. Neovascularization in benign and malignant urinary bladder epithelial proliferative lesions of the rat observed in situ by scanning electron microscopy and autoradiography. **Cancer Research**, Philadelphia, v.38, n.6, p.1792-800, 1978.
- ZAMA, A.; TAMURA, M.; INOUE, H.K. Three-dimensional observations on microvascular growth in rat glioma using a vascular casting method. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, Heidelberg, v.117, n.5, p.396-402, 1991.