

Castelucci, B. G.<sup>1,2</sup>; Consonni, S. R.<sup>2</sup>; Rosa, V. S.<sup>1</sup>; Joazeiro, P. P.<sup>1</sup>;


<sup>1</sup> Departamento de Histologia e Embriologia, Instituto de Biologia, Universidade de Campinas, Campinas, Brasil.

Palavras-Chave: camundongo, sínfise púbica, cartilagem, remodelação; <sup>2</sup>email: biancastelucci@gmail.com

## Introdução


Em modelos animais como cobaias e camundongos a fibrocartilagem conhecida como “sínfise púbica” (SP) sofre remodelação durante a prenhez e dá origem a um ligamento interpúbico (Lip) que facilita a passagem do feto durante o parto. Aproximadamente dez dias após o parto ocorre a reconstituição da SP, composta de um disco fibrocartilaginoso interposto a coxins de cartilagem hialina. Muitos estudos sobre a remodelação da SP tiveram como alvo a compreensão da formação do Lip, no entanto, a reconstrução de estruturas cartilaginosas a partir da *enthesis*, junção osteoligamentosa, da SP são pouco abordadas. Dentre os fatores necessários à formação de peças cartilaginosas, tanto durante a embriogênese quanto em tecidos adultos, estão o Sox 9, fator de transcrição responsável por comprometer as células precursoras a linhagem condrogênica, o Colágeno II (Col II), principal componente de matriz extracelular cartilaginosa e o Doublecortin(DCX), proteína estabilizadora de microtúbulos que participa de eventos de migração celular e expressa seletivamente em células de cartilagens articulares. Tendo em vista que as cartilagens possuem baixa capacidade regenerativa e que a SP é capaz de recapitular etapas da embriogênese, propusemos este trabalho com objetivo de caracterizar os fenótipos celulares da enthesis da SP assim como verificar a imunolocalização de marcadores sensíveis a diferenciação de células condrocíticas neste processo de remodelação.

## Material e Métodos



Camundongos fêmea C57Bl/06 :

- Virgens (VG);
- 19 dias de gestação (19ddg);
- Um dia pós parto (1dpp);
- 3 dias pós parto (3dpp);
- 5 dias pós parto (5dpp);
- 10 dias pós parto (10dpp).



Consonni, S.R.

Coleta

Processamento Histológico

1. Microscopia de Luz;
  - Rosenfeld
2. Microscopia eletrônica de Transmissão;
3. Imunohistoquímica:
  - SOX9
  - DCX
  - Colágeno II

Os experimentos foram aprovados pelo Comitê Institucional de Ética em Experimentos com Animais (CEE/IB/Unicamp, protocolo no. 2430-1).

## Resultados e Discussão

### Morfologia: Microscopia de Luz e Microscopia Eletrônica de Transmissão

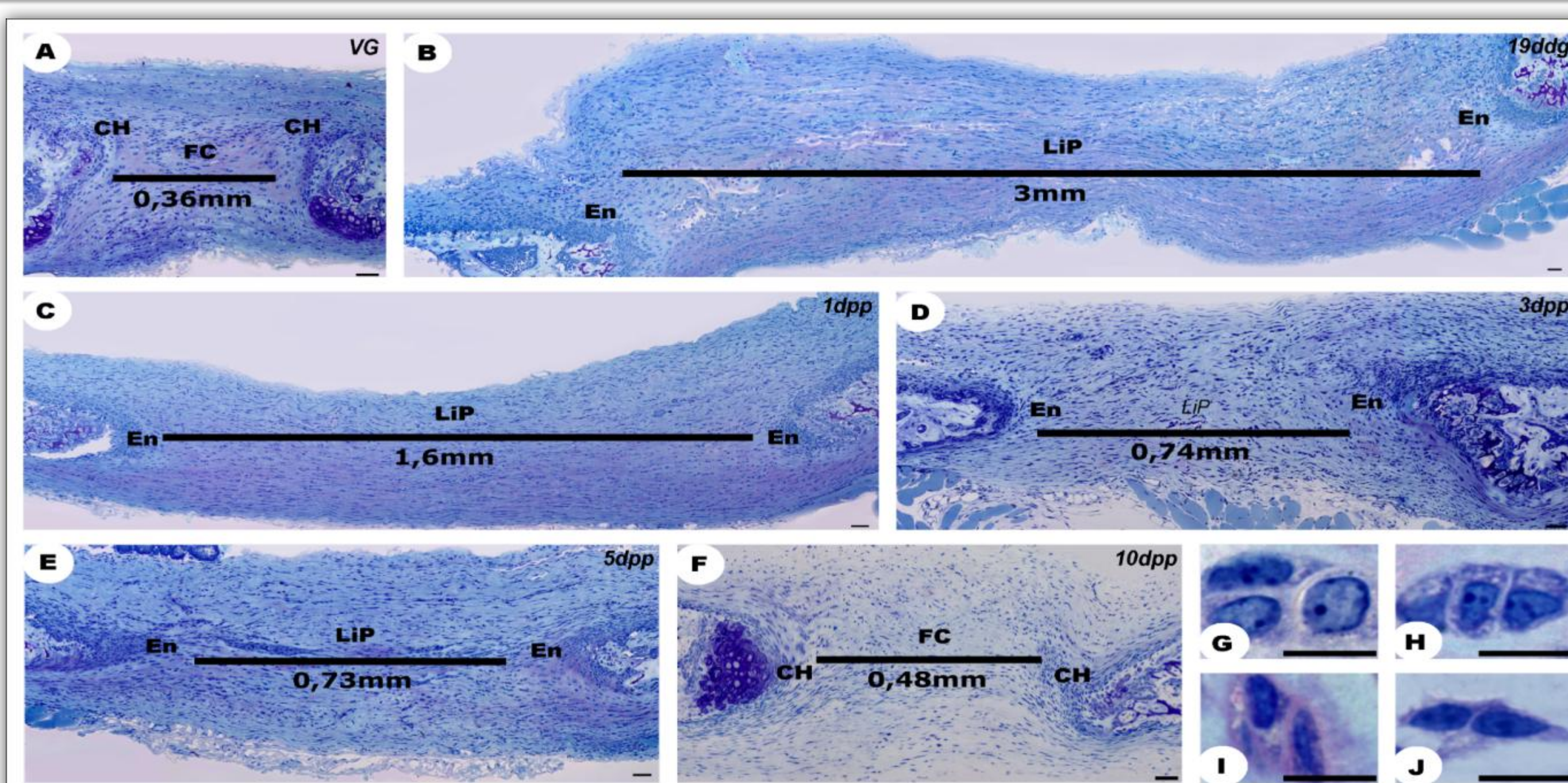


Figura 1. Fotomicrografia da SP (A, F) e LiP (B-E) demonstrando a remodelação que ocorre na articulação púbica durante a prenhez e no pós-parto. A SP é composta por um disco fibrocartilaginoso (FC) interposto entre dois coxins de cartilagem hialina (CH). Durante a prenhez a SP remodela e dá origem ao ligamento interpúbico (LiP). Detalhes dos componentes celulares da CH (G, I) e da FC (H, J) de camundongos VGs e com 10dpp. En - Enthesis. (A-F) Barras = 50µm. (G-J) Barras = 10 µm.

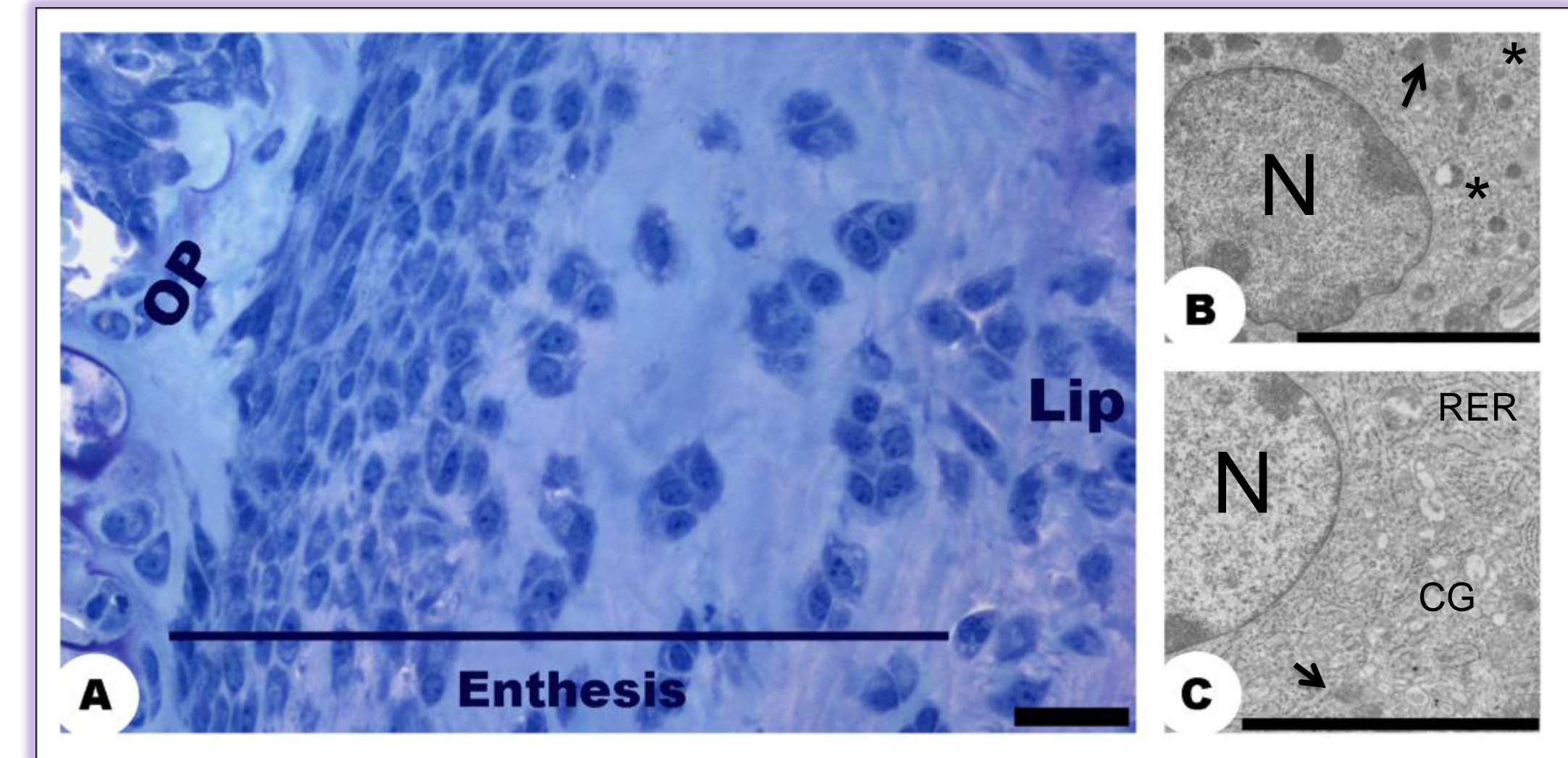


Figura 2. Fotomicrografia delimitando a região da enthesis da articulação interpúbica (A) e eletromicrografias detalhando os principais fenótipos celulares desta estrutura durante a prenhez e o pós-parto (B, C). (A) Histologicamente, a enthesis é a inserção cartilaginosa entre os ossos púbicos (OP) e o LiP. (B) Células condrocíticas precursoras contendo várias mitocôndrias (seta) e RER e CG pouco desenvolvidos (\*). (C) Condrocitos maduros caracterizados pela presença de RER e CG bem desenvolvidos e menor número de mitocôndrias (setas). (A) Barra= 20µm. (B-C) Barra = 5 µm.

## Imunohistoquímica

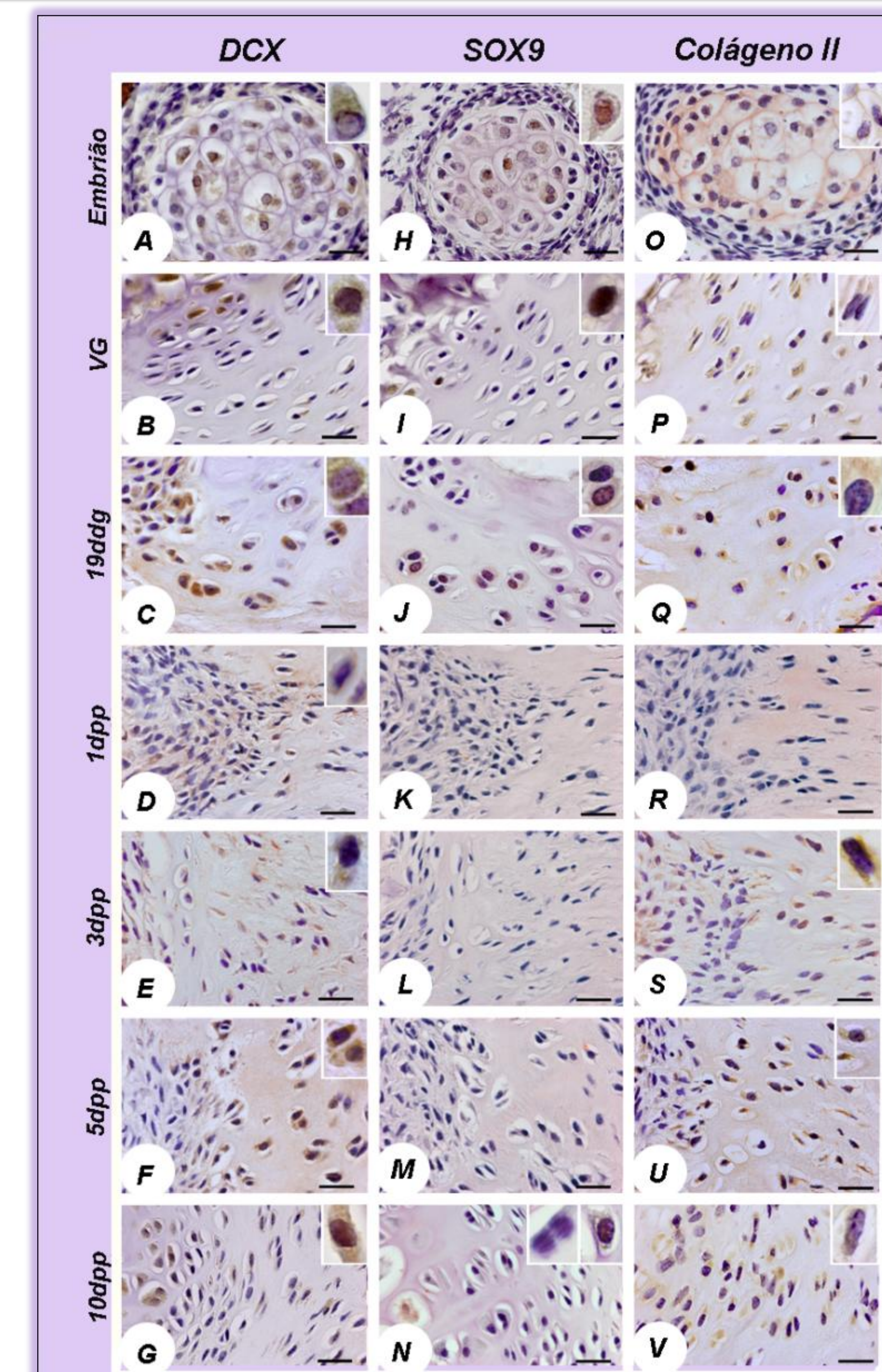


Figura 3. Fotomicrografias representando a imunohistoquímica em primórdios cartilaginosos de embriões de camundongos no estágio 14,5 do desenvolvimento (A, H, O) e na enthesis (B-G, I-N, P-V) da articulação púbica de camundongos nos diferentes dias de estudo. DCX (1:200 - Santa Cruz), SOX9 (1:50 - Santa Cruz) e Colágeno II (1:200 LifeSpan). DCX foi observado no núcleo ou no citoplasma de células do primórdio cartilaginoso e na enthesis de VG, 19ddg e 10dpp, onde podem ser observadas células em divisão mitótica. Colágeno II pode ser observado no citoplasma de células do primórdio cartilaginoso e das enthesis dos dias VG, 19ddg, 3dpp, 5dpp e 10dpp. A matriz extracelular dos primórdios e da enthesis dos grupos VG, 19ddg, 5dpp e 10dpp também apresentou marcação para Colágeno II, indicando matriz tipicamente cartilaginosa nestes dias. Barras = 20µm.

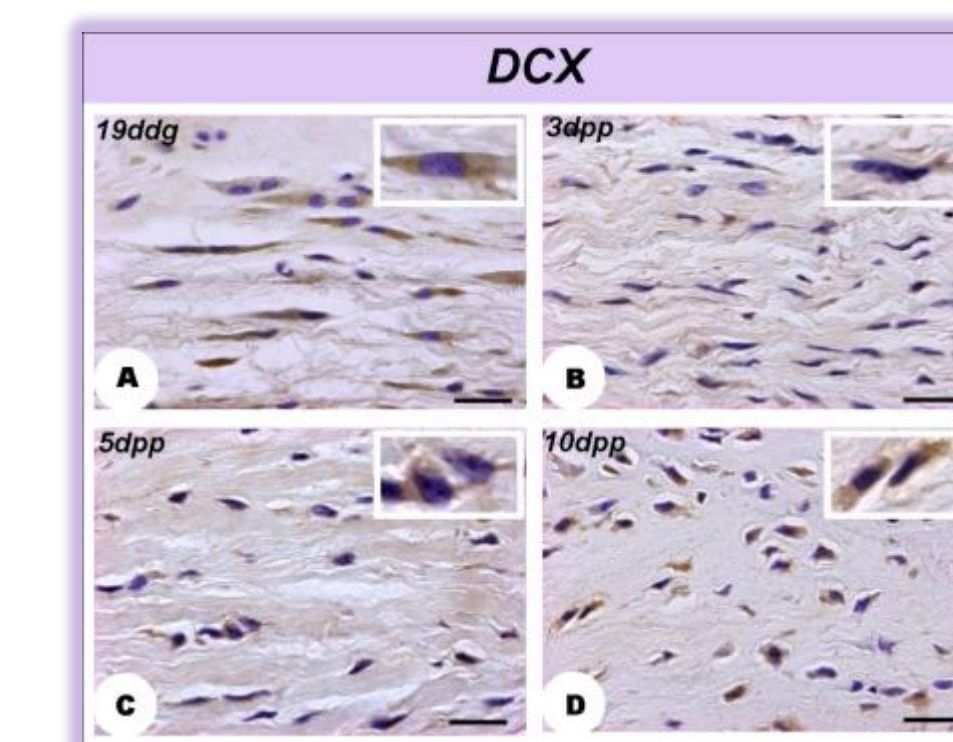


Figura 4. Fotomicrografias representando a imunohistoquímica para DCX no Lip (A-C) e FC (D) de camundongos. O DCX foi observado no citoplasma de células em todos estes grupos, incluindo células com fenótipo de fibroblastos (A, B) ou similares a condrocitos (C, D). Barras = 20µm.

## Conclusões

- A SP retorna a uma estrutura semelhante, porém não idêntica a de VGs em 10 dias após o parto;
- Na enthesis da SP existem células comprometidas com a reorganização e produção de estruturas cartilaginosa no pós-parto;
- Existem precursores cartilaginosos na enthesis da SP que podem ser evidenciados morfologicamente, porém principalmente expressão de SOX9;
- O DCX pode indicar tanto a existência de condrocitos articulares quanto a de migração celular.