



Grupo usa chip que mimetiza o endométrio bovino para estudar fatores que podem comprometer a gestação

15 de junho de 2021

Karina Ninni | Agência FAPESP – Com o objetivo de investigar fatores que podem comprometer o sucesso gestacional em bovinos, pesquisadores da Universidade

de São Paulo (USP) usaram uma espécie de chip para mimetizar o ambiente do endométrio – tecido que reveste a parte interna do útero.

O trabalho foi conduzido pelo biólogo [Tiago Henrique Camara De Bem](#), pós-doutorando na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA-USP), e por mais quatro cientistas da Universidade de Leeds, no Reino Unido. Os resultados foram [divulgados](#) na revista *Endocrinology*.

A equipe focou em investigar alteração das concentrações de insulina e glicose nas células maternas (epiteliais e estromais) e as possíveis consequências para o desenvolvimento gestacional inicial. As células epiteliais são as mais externas do endométrio e, portanto, estão em contato direto com o embrião. Já as estromais estão na parte interna do endométrio, são células de suporte que têm entre suas funções guiar o crescimento, a diferenciação e o desenvolvimento das células epiteliais.

O grupo descobriu que altas concentrações de glicose alteraram 21 genes codificadores de proteínas em células epiteliais e 191 em células estromais, com mudanças quantitativas também no secretoma das proteínas (conjunto de proteínas secretadas no meio de cultivo que, nesse caso, mimetiza o fluido do endométrio). “Conforme alteramos a quantidade de glicose e de insulina no meio de cultivo, estressando as células, podemos ativar ou desativar os genes.”

A alteração das concentrações de insulina modificou a secreção quantitativa de 196 proteínas, embora tenha resultado em mudanças limitadas no tocante à transcrição gênica. “Trata-se de uma possível

composição proteica do fluido uterino, ou seja, do que essas células estariam secretando de proteína para o embrião. Vimos que esse conjunto de moléculas está relacionado com vias de sinalização bastante importantes para o sucesso inicial da gestação em bovinos, relacionadas ao metabolismo, à matriz celular e outros determinantes. Todas essas descobertas evidenciam um mecanismo pelo qual as alterações na glicose e na insulina maternas podem alterar a função uterina.”

De Bem teve o apoio da FAPESP por meio de **Bolsa** de Pós-Doutorado, projeto desenvolvido no Laboratório de Morfofisiologia Molecular e Desenvolvimento sob a supervisão do professor Flávio Vieira Meirelles. Também contou com Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior (**BEPE**).

Estresse

De acordo com o biólogo, o Brasil é referência na produção de embriões de bovinos no mundo, mas as taxas de perdas de gestações ainda são altas. “Aqui, grande parte dos embriões é produzida por fecundação *in vitro*. Os oócitos [gameta feminino] são coletados, maturados, fecundados, cultivados e transferidos para receptoras sincronizadas. Mas em 40% dos casos a gestação se perde na terceira ou quarta semana”, afirma, lembrando que os bovinos têm período gestacional de aproximadamente nove meses, como os humanos.

Ele explica que o sucesso reprodutivo está atrelado a várias condições. “A gestação é uma relação de interação entre a mãe e o embrião que está se desenvolvendo no útero materno. Há ali um *crossstalk* entre as células do embrião e as da mãe, influenciado por múltiplos aspectos. Quando não há uma comunicação correta – ou o embrião não consegue sinalizar sua presença, ou a mãe não reconhece o embrião em desenvolvimento –, pode ocorrer perda gestacional.”

O estresse provocado por diversos fatores (ambientais, nutricionais, de processo produtivo, entre outros) pode gerar instabilidade na comunicação entre a mãe e o embrião e, conseqüentemente, na gestação. Ele revela que o problema maior, no caso dos bovinos, acontece com as vacas leiteiras de alta produção. Nessa categoria, o período pós-parto inicial é frequentemente associado ao estresse metabólico resultante do balanço energético negativo que acomete as fêmeas nesta fase.

“A glicose, por exemplo, é um substrato básico para o metabolismo celular e a célula precisa dela para desempenhar suas funções. As vacas em lactação estão sob desafio metabólico, produzindo leite. O consumo de energia delas é grande, pois precisam manter as funções básicas do organismo, além de todas as funções da produção de leite. E o status do metabolismo da mãe interfere muito na

reprodução. Daí nossa preocupação em entender esses fatores causadores de estresse metabólico para o ambiente que receberá o embrião.”

Endométrio no chip

De Bem ressalta que a pesquisa foi uma parceria com a equipe da professora Niamh Forde, da Faculdade de Medicina da Universidade de Leeds, que também assina o artigo. “Ela investiga o reconhecimento materno da gestação em bovinos. Eu estou interessado em investigar os sinais que o embrião manda para a mãe. Achamos que seria uma boa colaboração e tivemos essa ideia de desenvolver um ‘endométrio no chip’ que permitisse um cultivo multicelular, ou seja, de mais de um tipo de célula do endométrio.”

O chip é como se fosse uma lâmina histológica, mas dividido em câmaras, que são compartimentos em que os cientistas fizeram a sementeira de dois tipos celulares. A divisão é constituída de uma membrana porosa que permite a troca de informações entre os dois tipos celulares cultivados nas diferentes câmaras, mas não permite que um tipo passe para baixo e o outro para cima. Trata-se de um chip comercial adaptado para simular um endométrio.

“Na câmara superior foram colocadas as células epiteliais. Na inferior, as células estromais. São dois tipos de célula fartamente encontradas no endométrio. O meio da câmara superior ficará enriquecido com fatores que as células epiteliais estão produzindo e secretando, representando o secretoma do endométrio”, explica o pesquisador.

O chip permitiu que fosse feita uma infusão constante do meio de cultivo. “Cultivamos as células por três dias, injetando meio de cultivo durante as 72 horas [um microlitro por minuto], contendo três diferentes concentrações de glicose ou duas diferentes concentrações de insulina. Ou seja, fomos mandando nutrientes bem devagarinho, em um fluxo que mimetiza a melhor fisiologia do meio. Isso nos garantiu que as células fossem expostas às mesmas concentrações de insulina e glicose durante todo o período do experimento”, conta.

Futuro

O método, que nunca havia sido usado para mimetizar um endométrio de bovino, é inovador, levando-se em conta o cultivo celular tradicional, ainda muito simples, pois não simula todas as condições do organismo. “O endométrio é tridimensional, com vários tipos de células e glândulas produzindo fatores e nutrientes para suprir essa gestação. Quando cultivamos um embrião *in vitro* pelo método tradicional, fazemos um cultivo estático, com um único tipo de célula, em um ambiente que não reflete a riqueza do

ambiente original. Somos capazes de produzir as células, de transferir os embriões para uma receptora e eles geram animais saudáveis. Mas a intenção é fazer esse cultivo o mais próximo possível da realidade, no sentido da fisiologia.”

De Bem revela que os parceiros na Universidade de Leeds estão desenvolvendo outros tipos de chip para tentar inserir também o embrião. “A metodologia nos abre um leque e, no futuro, esperamos ter a possibilidade de fazer esse cultivo em conjunto com os embriões, para saber exatamente o que acontece em casos de alterações no meio e na comunicação com as células da mãe. É uma possibilidade de pesquisa mais aplicada.”

O trabalho do grupo também proporciona mais um modelo potencial para o estudo da gestação em mamíferos, incluindo seres humanos, e da endometriose (doença caracterizada pelo crescimento anormal do endométrio fora do útero).

“Com exceção dos primatas não humanos, o camundongo é o principal modelo de estudo para humanos. No camundongo, a formação da placenta é mais parecida com a humana. Por outro lado, a prole é numerosa, diferente da nossa. Nos bovinos, a placentação é bem diferente da humana, mas o período gestacional é mais próximo e eles têm apenas um filhote por gestação. Nunca existirá o modelo ideal, porque há diferenças entre as espécies. Mas este pode ser mais uma opção.”

O artigo *Endometrium On-a-Chip Reveals Insulin- and Glucose-induced Alterations in the Transcriptome and Proteomic Secretome* pode ser lido em

<https://academic.oup.com/endo/article/162/6/bqab054/6167824>.