

DESCELULARIZAÇÃO DE PLACENTA DE GATAS DOMÉSTICAS (*FELIS CATUS*): AVALIAÇÃO DA MATRIZ EXTRACELULAR DESCELULARIZADA

Aluna: Camila Mika Iashima / **Orientador:** Profa. Dra. Maria Angelica Miglino / **Supervisão:** MSc. Gustavo de Sá Schiavo Matias

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP)

Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

caa.mikaa@gmail.com / miglino@usp.br

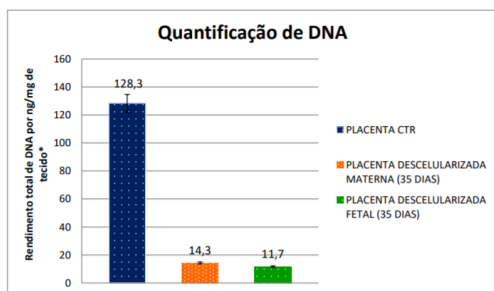
OBJETIVOS

Placentas de gatas (*Felis catus*) possuem grande interesse na bioengenharia de tecidos visto que são descartadas após o parto, possuem grande volume de matriz extracelular (MEC) e podem contribuir para medicina regenerativa como uma ferramenta para transplantes de órgãos e tecidos. Nosso objetivo é estabelecer o protocolo de descелularização de placentas de gatas para utilização como ferramenta na criação de *scaffolds* biológicos visando a aplicação na medicina regenerativa tecidual.

MÉTODOS E PROCEDIMENTOS

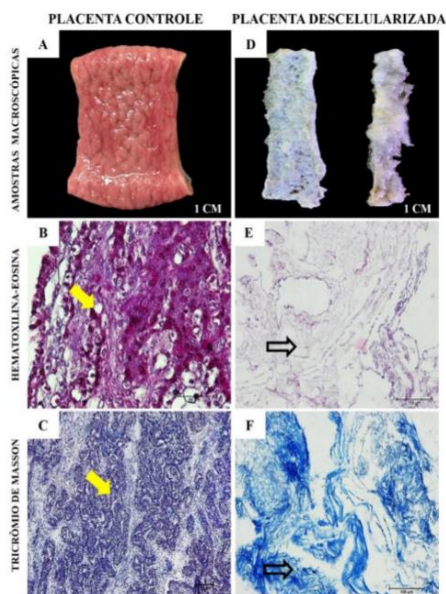
1. Coleta / 2. Método para descелularização das placentas de gatas domésticas (*Felis catus*) / 3. Análises histológicas / 4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) / 5. Imunohistoquímica / 6. Quantificação de DNA

RESULTADOS



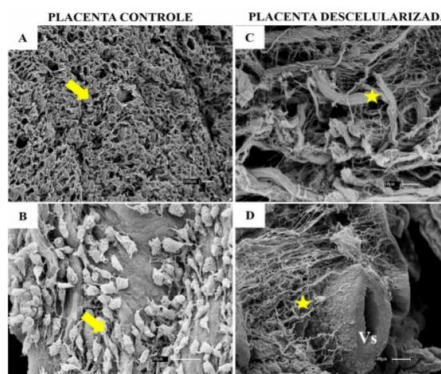
IASHIMA,2020

Figura 1. Quantificação de DNA genômico da placenta de gatas controle (CTR) e placentas descелularizadas a uma concentração de 0,1% de detergente SDS. **Legenda:** Concentração das placentas descелularizadas de 35 dias de gestação da face materna (14,3%) e fetal (11,7%), demonstram valores adequados para um *scaffolds* biológico descелularizado quando comparados com o tecido CTR (128,3%), de acordo com Crapo et al. (2011), demonstrando eficácia no processo de remoção das células do tecido.



IASHIMA,2020

Figura 2. Análise histológica das placentas de gatas controle e descелularizadas com 35 dias de gestação. **Legenda:** (A) parte fetal da placenta de gatas antes do processo de descелularização. (B) Presença de núcleos celulares no controle da placenta não descелularizada (seta amarela). (C) Núcleos celulares em placentas não descелularizadas e vilosidades placentárias ricas em proteoglicanos, responsáveis pela adesão placentária no útero materno. (D) MEC placentária descелularizada (E) Preservação da MEC descелularizada sem a presença de núcleos celulares. (F) Presença de colágenos na MEC descелularizada.



IASHIMA,2020

Figura 3. Microscopia Eletrônica de Varredura das placentas controle e descелularizadas de 35 dias de gestação. **Legenda:** No controle de 35 dias da placenta de gatas A e B, foi observada a presença de células (seta). Nas placentas descелularizadas de 35 dias C e D há presença de estrutura de fibras colágenas com a preservação da estrutura tridimensional do tecido após a remoção da célula (estrela).

CONCLUSÕES

Concluímos assim, que foi possível a padronização das placentas de gatas descелularizadas (35 dias de gestação) obtendo valores de DNA genômico abaixo dos valores estabelecidos demonstrando assim ser um *scaffolds* biológico acélular com proteínas matriciais e estrutura tridimensional da MEC preservadas, tornando-se uma promissora ferramenta imunogênica para utilização como biomaterial acélular para interação com células/MEC (adesão celular) no processo de recelularização com e futura aplicação na medicina regenerativa tecidual.

REFERENCES

- BADYLAK, S. F. The extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruction. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2002.
- BARRETO, R. S. N. et al. Decellularized bovine cotyledons may serve as biological scaffolds with preserved vascular arrangement. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, v. 12, n. 4, p. e1880-e1888, 13 abr. 2018.
- CRAPPO, P. M.; GILBERT, T. W.; BADYLAK, S. F. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*, v. 32, n. 12, p. 3233-3243, abr. 2011.
- MATIAS, G. de S. S. et al. Optimization of Canine Placenta Decellularization: An Alternative Source of Biological Scaffolds for Regenerative Medicine. *Cells Tissues Organs*, v. 205, n. 4, p. 217-225, 2-225, 2018.

DOMESTIC CATS PLACENTA DECELLULARIZATION (*FELIS CATUS*): EVALUATION OF THE EXTRACELLULAR MATRIX

Student: Camila Mika Iashima / **Advisor:** Profa. Dra. Maria Angelica Miglino / **Supervision:** MSc. Gustavo de Sá Schiavo Matias

Faculty of Veterinary Medicine and Zootecnics of the University of São Paulo (FMVZ-USP)

Pos graduate program in anatomy of domestic and wild animals

caa.mikaa@gmail.com / miglino@usp.br

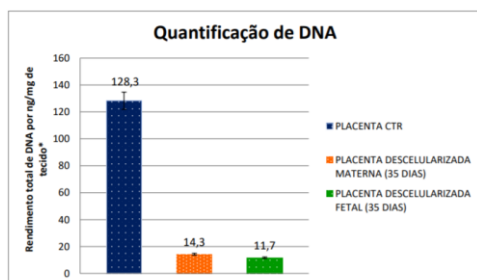
OBJECTIVES

Cats placentas (*Felis catus*) have great interest in tissue bioengineering since they are discarded after delivery, have a large volume of extracellular matrix (ECM) and can contribute to regenerative medicine as a tool for organ and tissue transplants. Our goal is to establish the protocol for decellularization of cat placentas for use as a tool in the creation of biological scaffolds for application in tissue regenerative medicine.

METHODS AND PROCEDURES

1. Collection / 2. Method for decellularizing the placentas of domestic cats (*Felis Catus*) / 3. Histological analysis / 4. Scanning electron microscopy (SEM) / 5. Immunohistochemistry / 6. DNA quantification

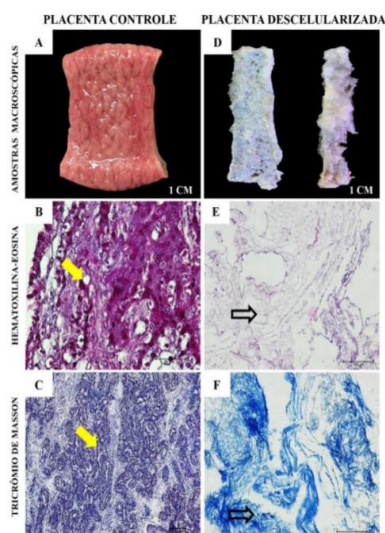
RESULTS



IASHIMA,2020

Figure 1. Quantification of genomic DNA from control cat placenta (CTR) and decellularized placentas at a concentration of 0.1% detergent SDS

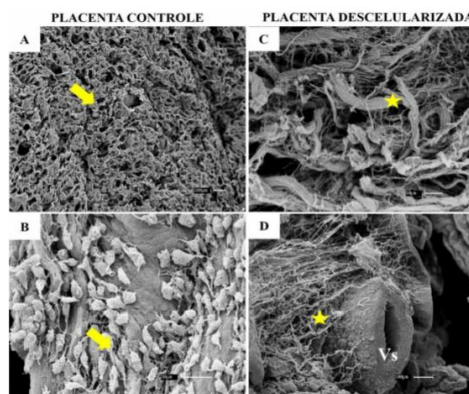
Legend: Concentration of decellularized placentas from 35 days of gestation of the maternal face (14.3%) and fetal (11.7%), demonstrate adequate values for a decellularized biological scaffolds when compared with the CTR tissue (128.3%), according to Crapo et al. (2011), demonstrating effectiveness in the process of removing cells from tissue.



IASHIMA,2020

Figure 2. Histological analysis of the placentas of control and decellularized cats at 35 days of gestation.

Legenda: (A) fetal part of the placenta of cats before the decellularization process. (B) Presence of cell nuclei in the control of the non-decellularized placenta (yellow arrow). (C) Cell nuclei in non-decellularized placentas and placental villi rich in proteoglycans, responsible for placental adhesion in the maternal uterus. (D) Decellularized placental ECM (E) Preservation of decellularized ECM without the presence of cell nuclei. (F) Presence of collagen in the decellularized MEC.



IASHIMA,2020

Figure 3. Scanning Electron Microscopy of the control and decellularized placentas of 35 days of gestation.

Legend: In the 35-day control of the placenta of cats A and B, the presence of cells was observed (arrow). In the decellularized placentas of 35 days C and D there is the presence of collagen fiber structure with the preservation of the three-dimensional structure of the tissue after removal of the cell (star).

CONCLUSION

We concluded that it was possible to standardize the decellularization of cats placenta (35 days of gestation) obtaining genomic DNA below the established values, thus demonstrating to be an acellular biological scaffold with preserved matrix proteins and three-dimensional ECM structure, becoming a promising immunogenic tool for use as an acellular biomaterial for interaction with cells / ECM (cell adhesion) in the recellularization process with and future application in tissue regenerative medicine.

REFERENCES

- BADYLA, S. F. The extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruction. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2002.
- BARRETO, R. S. N. et al. Decellularized bovine cotyledons may serve as biological scaffolds with preserved vascular arrangement. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, v. 12, n. 4, p. e1880-e1888, 13 abr. 2018.
- CRAPO, P. M.; GILBERT, T. W.; BADYLA, S. F. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*, v. 32, n. 12, p. 3233-3243, abr. 2011.
- MATIAS, G. de S. S. et al. Optimization of Canine Placenta Decellularization: An Alternative Source of Biological Scaffolds for Regenerative Medicine. *Cells Tissues Organs*, v. 205, n. 4, p. 217-225, 2-225, 2018.