MARIA AMÉLIA ZOGNO

**ASPECTOS REPRODUTIVOS DA FÊMEA DE MOCÓ
(*Kerodon rupestris*): ANÁLISE BIOQUÍMICA DOS LÍQUIDOS
FETAIS E CARACTERIZAÇÃO COLPOCITOLÓGICA DO
CICLO ESTRAL**

**SÃO PAULO
2002**

MARIA AMÉLIA ZOGNO

**ASPECTOS REPRODUTIVOS DA FÊMEA DE MOCÓ
(*Kerodon rupestris*): ANÁLISE BIOQUÍMICA DOS LÍQUIDOS
FETAIS E CARACTERIZAÇÃO COLPOCITOLÓGICA DO
CICLO ESTRAL**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor, junto à Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da Universidade de
São Paulo

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos

Orientador:

Profa. Dra. Maria Angélica Miglino

São Paulo

2002

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citado a fonte

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1165
FMVZ

Zogno, Maria Amélia

Aspectos reprodutivos da fêmea de Mocó (*Kerodon rupestris*): análise bioquímica dos líquidos fetais e caracterização colpocitológica do ciclo estral / Maria Amélia Zogno : M. A. Zogno, 2002.
64 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2002.

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos.

Orientador: Profa. Dra. Maria Angélica Miglino.

1. *Kerodon rupestris*. 2. Ciclo estral animal. 3. Líquido fetal animal. 4. Bioquímica. 5. Citologia vaginal.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"

PARECER

Interessado: Maria Amélia Zogno

Assunto: Protocolo de experimentação adotado em experimento já
concluído

A Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, em reunião de 30/10/2002, após analisar o projeto sob o número 195/2002, intitulado: "Características bioquímicas dos líquidos fetais e avaliação do ciclo estral de mocós criados em cativeiro", sob responsabilidade da Prof^a Dr^a Maria Angélica Miglino, constatou que o mesmo foi realizado empregando protocolo de experimentação compatível com os princípios de bioética, adotados por esta Comissão.

Prof^a Dr^a *Julia Maria Matera*

Presidente da Comissão de Bioética

FMVZ/USP

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: ZOGNO, Maria Amélia

Título: Aspectos reprodutivos da fêmea de mocó (*Kerodon rupestris*): análise bioquímica dos líquidos fetais e caracterização colpocitológica do ciclo estral

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Anatomia dos Animais Domésticos

Aprovada em 9/12/2002

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Dedico,

Às pessoas que me amaram, compreenderam, incentivaram e sem esperar nada em troca, não mediram esforços para me ajudar a crescer como pessoa e como profissional.

Aos meus pais **Silvio e Mirtes**, exemplos de integridade moral, respeito e honestidade. Meus agradecimentos pelo apoio e por tudo que fizeram, e fazem, pela minha filha.

À minha amada filha **Ana Carolina**, pela compreensão, incentivo e ajuda nos esclarecimentos das atuais regras gramaticais.

Ao **Miguel**, meu companheiro de muitos e eternos momentos, pelo amor, compreensão, paciência e lealdade, que me ajudaram a vencer todas as dificuldades durante a realização deste trabalho. Sem você este sonho não seria possível.

A todos aqueles que são da minha família, pelo carinho que a mim dispensaram, dedico este trabalho.

Ofereço,

À Professora MARIA ANGÉLICA MIGLIANO, pelo exemplo de persistência e otimismo, sempre em busca de uma Medicina Veterinária dinâmica e atuante.

Agradeço-lhe por ter acreditado na minha força de trabalho, orientando-me na concretização desta tão almejada meta.

À Professora VALQUIRIA HYPPOLITO BARNABE não só pela co-orientação, mas também pela amizade, confiança e inestimável colaboração, sempre de boa vontade e pronta a me ajudar quando precisei. Obrigada pela permissão de cursar a pós-graduação, mesmo tendo vínculo empregatício com o Departamento de Reprodução Animal. Minha eterna gratidão.

Ao Professor RENATO CAMPANARUT BARNABE pelo incentivo, apoio e empenho na revisão do trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao professor PEDRO PRIMO BOMBONATO, meu orientador pró-tempore, pelos valiosos ensinamentos.

Ao professor JOSÉ ANTONIO VISINTIN, chefe do Departamento de Reprodução Animal, pelo empréstimo de equipamentos necessários à execução do projeto.

À professora CLAIR MOTOS DE OLIVEIRA, pela amizade e ajuda na parte de literatura.

Ao professor CLAUDIO ALVARENGA DE OLIVEIRA, pela orientação na procura de profissionais que trabalham com assunto relacionado ao meu projeto.

Ao professor JOSÉ ROBERTO KFOURY JR., pela amizade, confiança e informações de inestimável valia.

Ao professor WILSON GONÇALVES VIANA, grande amigo, que com conselhos e sabedoria, acompanhou-me e corrigiu, pacientemente, meu trabalho.

À professora MARCIA RITA FERNADES MACHADO, pelo carinho e amizade.

Ao professor LAUDINOR DE VUONO, pelo convívio alegre e valiosas informações.

À MARIA CLÁUDIA PESTANA bibliotecária que, incansável e pacientemente, corrigiu várias vezes as citações da literatura. Também meus agradecimentos à bibliotecária ROSA MARIA FISCHI ZANI, pela gentileza e cordialidade com que sempre me atendeu. À MARGARETE, ELENA, DIRCE, MARA, ANA CRISTINA e a todas as pessoas que, de alguma maneira atendem ao público, meus agradecimentos pela cortesia e boa vontade que sempre reinaram na biblioteca da FMVZ.

Às servidoras da seção de pós-graduação, CLAUDIA, SANDRA e DAYSE, pela colaboração e cordial atendimento.

Ao MARCÍLIO NICHI, pelo inestimável auxílio nos testes e interpretação estatística das amostras.

À REGINA MIEKO S. MIRANDOLA, pela ajuda nas determinações bioquímicas no laboratório.

À LUCIANA KEIKO HATAMOTO, pela paciente colaboração nas determinações físico-químicas.

À TATIANA, DOMINIQUE, CRISTIANE, pelo companheirismo e colaboração nas aulas de qualificação.

À KAZUE TAKIISHI, JAQUELINE SANTANA e ÍNDIO (Edinaldo Ribas), pela amizade e inestimável colaboração.

Às secretárias da Reprodução Animal, DAURA e THAIS, pela prestatividade e ajuda.

Aos amigos CARLOS EDUARDO, ASSIS, DANILO, LILIAN e MARTA, pelo apoio e companheirismo que sempre compartilhamos.

Ao amigo WHIRTON (e família) pela acolhida e apoio ao chegarmos na cidade de Mossoró-RN.

Ao amigo e irmão “postiço” MOACIR FRANCO DE OLIVEIRA e esposa, pela amizade, lealdade, recepção carinhosa e agradável convivência quando fomos à Mossoró-RN.

À FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA, através de seu Diretor Prof. Dr. MASAO IWASAKI pela oportunidade de realizar os estudos da pós-graduação.

Aos professores, residentes, colegas de pós-graduação e amigos, pelo apoio e companheirismo constantes.

Ao pessoal do CEMAS: Srs. CAUBY, ANTONIO, ALMEIDA e VALÉRIA, pelo inestimável auxílio. Minha gratidão e saudades.

Aos maravilhosos animais silvestres, que participaram e participam da minha felicidade, sem os quais seria impossível este trabalho, meu respeito e gratidão.

A todos que cruzaram os mesmos caminhos traçados pela Energia Divina, e que porventura não citei,

Meu muito obrigada

O MOCÓ (*Kerodon rupestris*) Wied (1820)

Fonte: fotografado por Moacir Franco de Oliveira, CEMAS, ESAM, RN – Brasil - 2001

“É escuro e frio o mundo em que ficamos, quando não abrimos os olhos íntimos do espírito para a flama íntima da natureza”.

Fechner

RESUMO

ZOGNO, M. A. **Aspectos reprodutivos da fêmea de mocó (*Kerodon rupestris*): análise bioquímica dos líquidos fetais e caracterização colpocitológica do ciclo estral.** (Reproductive aspects of the mocó female (*Kerodon rupestris*): fetal fluids biochemistry and characterization of the estrous cycle by vaginal cytology). 2002. 64 f. Tese (Doutorado em Anatomia dos Animais Domésticos) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

Foram utilizados 10 sistemas genitais femininos de mocós (*Kerodon rupestris*) para estabelecer parâmetros de referência relativos à osmolaridade, pH, cálcio, fósforo, uréia, creatinina, glicose e proteínas totais. Os animais foram criados em cativeiro no CEMAS (Centro de Criação de Animais Silvestres), Mossoró – RN. As fêmeas estavam da metade (30-45 dias) para o final da gestação (65-70 dias). As bolsas amnióticas e alantoideanas foram punccionadas individualmente para colheita dos líquidos fetais, que foram centrifugados e analisados posteriormente. Para o líquido amniótico, as concentrações médias em mg/dl foram: glicose = $45,87 \pm 22,38$; cálcio = $6,31 \pm 1,24$; fósforo = $1,64 \pm 0,72$; creatinina = $0,45 \pm 0,12$; uréia = $34,03 \pm 5,96$; proteínas totais = $31,24 \pm 16,67$. Para o líquido alantoideano, as concentrações médias em mg/dl foram: glicose = $59,17 \pm 10,85$; cálcio = $5,58 \pm 0,59$; fósforo = $1,27 \pm 0,73$; creatinina = $0,38 \pm 0,38$; uréia = $31,49 \pm 2,28$; proteínas totais = $30,70 \pm 18,39$. Foram observadas pequenas oscilações entre as concentrações dos parâmetros bioquímicos do fluido amniótico e alantoideano. Estas concentrações são determinadas, provavelmente, pela atividade metabólica materno-fetal. Para os estudos colpocitológicos foram utilizadas 8 fêmeas, sexualmente maduras, mantidas em cativeiro sob condições climáticas tropicais. Foram realizados esfregaços vaginais a cada 72 horas, durante 40 dias. Os animais mostraram ciclo poliestral contínuo, com duração média de $24,25 \pm 3,99$ dias, não havendo portanto sazonalidade. Durante o proestro houve prevalência de células superficiais anudeadas, intermediárias e parabasais. A fase de estro apresentou índices significativamente mais altos de células superficiais anudeadas e ausência de leucócitos. Alto índice de células intermediárias foi observado no metaestro, com abundância de leucócitos e vacúolos citoplasmáticos (células de Foam). O anestro mostrou índices significativamente mais altos de células parabasais quando comparados com as outras fases do ciclo. Os leucócitos apareceram em número reduzido.

Palavras-chave: *Kerodon rupestris*. Ciclo estral animal. Líquido fetal animal. Bioquímica. Citologia vaginal.

ABSTRACT

ZOGNO, M. A **Reproductive aspects of the mocó female (*Kerodon rupestris*)**: fetal fluids biochemistry and characterization of the estrous cycle by vaginal cytology. (Aspectos reprodutivos da fêmea de mocó (*Kerodon rupestris*): análise bioquímica dos líquidos fetais e caracterização colpocitológica do ciclo estral). 2002. 64 f. Tese (Doutorado em Anatomia dos Animais Domésticos) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

The aim of the present work was to study some reproductive aspects of mocó female (*Kerodon rupestris*), by assesment of the following parameters: certain biochemical characteristics of fetal fluids and characterization of the estrous cycle by exfoliative colpocytology. In order to establish the levels of the following parameters: osmolarity, pH, calcium, phosphorous, total protein, urea, creatinina, glucose, presents in the amniotic and allantoic fetal fluids, 10 genital systems of mocós were sampled (gestation = 30-45 and 65-70 days). The amniotic and allantoic sacs were punctured and the fetal fluid obtained for posterior analysis. It was observed the following concentrations (mg/ml) in the amniotic fluid: glycose= $45,87 \pm 22,38$; calcium = $6,31 \pm 1,24$; phosphorus = $1,64 \pm 0,72$; creatinine = $0,45 \pm 0,12$; urea = $34,03 \pm 5,96$; total protein = $31,24 \pm 16,67$. In the allantoic fluid the concentrations were: : glycose = $59,17 \pm 10,85$; calcium = $5,58 \pm 0,59$; phosphorous = $1,27 \pm 0,73$; creatine = $0,38 \pm 0,38$; urea = $31,49 \pm 2,28$; total protein = $30,70 \pm 18,39$. Results obtained from the analisys of the composition of fetal fluids showed small oscillations between the amniotic and the allantoic fluids. Their concentrations, probably, are determined by the materno-fetal metabolic activity. Colpocytology studies were realized using 8 adult females kept in captivity, in dimatologic conditions of humid tropic. Vaginal smears, prepared by means of swabs, were made each 72 hours, during 40 days. Animals showed a polyestrus continuos cycle (on an average $24,25 \pm 3,99$ days), so no sazonality was observed. During proestrus phase the exfoliative arrangement showed high frequency of anucleated superficial, intermediate and parabasal cells, respectively. Oestrus phase had elevated rates of superficial cells (both anucleated and nucleated) and absence of leukocytes. In the metestrus phase it was found highest indices of intermediate cells and increase of leukocytes. During the anestrus phase the predominant cells type was parabasal, and leukocytes were reduced.

Key words: *Kerodon rupestris*. Estrous cycle. Fetal fluids. Biochemistry. Vaginal cytology.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\mu\text{M}/\text{ml}$ – micromolar por mililitro

ATP - adenosina trifosfato

CEAH – células epiteliais amnióticas humanas

CEMAS - Centro de Multiplicação de Animais Silvestres

ESAM – Escola Superior de Agricultura de Mossoró

FA - fluido amniótico

FAL - fluido alantoideano

mg/dl - miligramas por decilitro (100 mililitros)

mOsm/L - miliosmol por litro

RN – Rio Grande do Norte

TGF α – fator de crescimento transformado (transforming growth factor)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	SISTEMÁTICA DO MOCÓ (<i>Kerodon rupestris</i>).....	14
1.2	DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA.....	15
2	REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1	BIOLOGIA DO MOCÓ (<i>Kerodon rupestris</i>) Wied (1820).....	15
2.1.1	Padrões de Comportamento Sexual	18
2.1.2	Padrão de Reprodução	19
2.1.3	Papel Ecológico	20
2.2	OS LÍQUIDOS FETAIS.....	21
2.2.1	Formação dos Fluidos Fetais	23
2.2.2	Características dos Fluidos Fetais	25
2.2.3	Funções dos Fluidos Fetais	26
2.2.4	Composição dos Fluidos Fetais	28
2.2.5	Importância de Alguns Parâmetros Físico-Químicos nos Fluidos Fetais ...	28
2.2.6	Funções de Alguns Parâmetros Bioquímicos nos Líquidos Fetais	29
2.2.7	Aplicações dos Estudos nos Fluidos Fetais	34
2.3	O CICLO ESTRAL.....	36
3	OBJETIVOS	39
4	MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1	COLHEITA DE AMOSTRAS DOS LÍQUIDOS FETAIS.....	40
4.1.1	Procedimento Anestésico-Cirúrgico	40
4.2	DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DOS FLUIDOS FETAIS.....	42
4.3	AVALIAÇÃO CITOLÓGICA DO FLUIDO AMNIÓTICO.....	42
4.4	DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS DOS FLUIDOS FETAIS.....	43
4.5	CICLO ESTRAL.....	43
4.5.1	Animais e Viveiros	43
4.5.2	Exame Externo	44

4.5.3	Colheita de Amostras de Células Vaginais	44
4.5.4	Análise das Amostras de Citologia Vaginal	45
4.5.5	Determinação dos Estágios do Ciclo Estral	45
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	45
5	RESULTADOS	47
5.1	AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	47
5.2	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DOS FLUIDOS FETAIS	47
5.3	ANÁLISE CITOOLÓGICA DO FLUIDO AMNIÓTICO	48
5.4	CICLO ESTRAL	49
6	DISCUSSÃO	54
7	CONCLUSÕES	59
	REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

A utilização de fontes renováveis de alimentação desempenham importante papel no sustento de uma população em crescimento contínuo, principalmente no mundo atual com limitados recursos. Nas regiões tropicais e sub-tropicais do nosso planeta, animais silvestres constituem uma fonte natural e renovável de alimentos, que é usada pelas populações locais de baixa renda, e por indígenas (VON RICHTER, 1979).

Os seres humanos tornaram-se incrivelmente dependentes de plantas e animais domesticados como fontes de alimentação. Esta dependência tem levado, particularmente o mundo desenvolvido, a ignorar a importância que as espécies silvestres desempenham na nutrição humana, em especial nas populações menos desenvolvidas. Em muitas partes da América Latina os animais silvestres são a maior fonte de alimentos para populações locais. Parece evidente que os velhos padrões de interações entre humanos e a vida silvestre, não podem continuar através deste século sem que sejam desenvolvidos novos caminhos de conservação, colheita e uso de animais silvestres. Caso contrário, a população da América Latina será privada de sua rica fauna (REDFORD; ROBINSON, 1991).

No planeta existem cerca de 1,4 milhão de organismos já descritos, dos quais mais de 10% vivem no Brasil. Este importante acervo em diversidade constitui-se em patrimônio único no mundo (MITTERMEIR, 1992).

Assim sendo, o meio ambiente e os seres vivos têm sido alvo de preocupações dos pesquisadores que desenvolvem seus trabalhos no sentido de preservar e evitar que muitas espécies caminhem para a extinção. O uso inadequado dos recursos naturais pelo homem altera o ecossistema, e geralmente é a causa de ameaças à fauna selvagem das florestas tropicais. A criação de alguns animais silvestres em cativeiro visa, não só, a reposição dos animais em seus habitats naturais procurando uma alternativa para conservação de espécies, mas também vislumbra a possibilidade de exploração destes roedores como fonte de proteína animal para populações de baixa renda (GIANNONI, 1992).

Os **roedores** representam cerca de um terço do número total das espécies de mamíferos (WEIR; ROWLANDS, 1973). Largamente distribuídos com sucesso em vários ambientes do planeta, nesta ordem de animais são conhecidas mais formas (cerca de 6.400) do que em qualquer outra dos mamíferos (EISEMBERG, 1989).

1.1 SISTEMÁTICA DO MOCÓ (*Kerodon rupestris*)

Segundo Carleton (1984), a recente distribuição dos roedores no planeta é virtualmente cosmopolita, com exceção da Antártica, Nova Zelândia e algumas ilhas árticas e oceânicas. Algumas espécies, por serem comensais com humanos, foram introduzidas pelo mundo de acordo com a migração do homem.

Os mocós pertencem à seguinte classificação zoológica:

(STORER; USINGER, 1971)

FILO	- Chordata
SUBFILO	- Vertebrata (animais com coluna vertebral)
SUPERCLASSE	- Gnathostomata (vertebrados com mandíbulas)
CLASSE	- Mammalia (mamíferos)
SUBCLASSE	- Theria (mamíferos avançados)
INFRACLASSE	- Eutheria (mamíferos placentários)
ORDEM	- Rodentia (roedores)

(CARLETON, 1984)

SUBORDEM	- Hystriognathi
INFRAORDEM	- Caviomorpha
SUPERFAMÍLIA	- Caviioidea

(MOOJEN, 1952)

FAMÍLIA	- Caviidae
SUBFAMÍLIA	- Caviinae
GÊNERO	- Kerodon (mocós)

1.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

A família CAVIIDAE encerra um grupo de pequenos roedores encontrados somente na América do Sul. De acordo com Lacher Jr. (1981), os mocós podem ser encontrados nos estados do Nordeste e norte de Minas Gerais, porém habitam preferencialmente a caatinga do semi-árido do nordeste brasileiro (Figura 1).

Figura 1 – Nordeste brasileiro
(LACHER JR., 1981)

2 REVISÃO DA LITERATURA

O mocó (*Kerodon rupestris*) é um roedor que apresenta algumas peculiaridades.

2.1 BIOLOGIA DO MOCÓ (*Kerodon rupestris*) Wied (1820)

São animais que possuem grande diversidade, adaptando-se fisiologicamente aos mais variados tipos de climas e altitudes. Caracterizam-se como mamíferos terrestres; herbívoros, de formas e tamanhos variados; diversos tipos de placentação e dentição desprovida de caninos, como mostra o crânio do gênero correlato *Cavia aperea* (Figura 2).

Figura 2 – Crânio de *Cavia aperea*
(EISENBERG, 1989)

Em função disto, podem se apresentar como arborícolas, rupícolas e terrícolas. Possuem apenas três dedos nos membros posteriores, e cauda completamente atrofiada (MOOJEN, 1952).

Dentro da subfamília CAVIINAE estão quatro gêneros: *Kerodon*, *Galea*, *Cavia* e *Microcavia*. Este grupo inclui pequenos animais tipificados como domésticos, a exemplo da cobaia, ou porquinho da Índia (*Cavia porcellus*). Geralmente vivem em pequenas colônias feitas em buracos na terra, ou usam cavidades nas bordas das rochas. Possuem hábitos gregários e diurnos (CRANDALL, 1964).

Ao gênero KERODON pertencem os mocós, *Kerodon rupestris* que se assemelham muito aos gêneros *Cavia* e *Galea*. Possuem habitat mais especializado em relação às outras formas de caviinaes. Desde o período Pleistoceno, eles têm estado restritos à região do semi-árido da caatinga do nordeste brasileiro, onde estão rochas graníticas que lhes servem de refúgio, quando ameaçados pelos predadores. São excelentes saltadores escalando rochas e galhos de árvores, onde se alimentam de suas folhas, diferentemente de outros caviinaes que são terrestres e comem relva (LACHER JR., 1981) (Figura 3).

Figura 3 – Mocó sobre tronco de árvore

Fonte: fotografado por Moacir Franco de Oliveira, CEMAS, ESAM, RN – Brasil - 2001

Apresentam o dorso cinza claro e a parte posterior das coxas castanho-ferruginoso. Os adultos medem aproximadamente 40 cm e podem pesar até 1 quilograma de peso vivo. As patas são dotadas de coxins calosos pouco excedidos pelas unhas rígidas que lhes dão habilidade para galgar superfícies pedregosas e troncos de árvores. Eles procuram abrigo nas junturas das pedras ou sob elas. Saem à tarde ou à noite em busca de alimento. Comem folhas da vegetação rasteira, dos interstícios das pedras ou sobem em árvores para colher os brotos nas pontas dos galhos. Surpreendidos, atiram-se ao chão e desaparecem com grande rapidez. Os sertanejos que apreciam sua carne, imitam-lhes o assobio agudo para atraí-los. São facilmente domesticáveis afeiçoando-se às pessoas (MOOJEN, 1952). Estes animais estão sujeitos à intensa ação de caçadores, pelo seu tamanho e carne saborosa muito apreciada pela população rural, além da região estomacal que é utilizada na produção de queijo.

A longevidade do mocó em cativeiro é de cerca de 11 anos, apresentando comportamento social e formação de grupos familiares (ROBERTS; MALINIAK; DEAL, 1984; PINHEIRO; ANDRADE; CUNHA, 1989).

2.1.1 Padrões de Comportamento Sexual

No mocó, o gesto sexual mais comum é o naso-anal. O macho cheira a área vaginal da fêmea e, com frequência, cheira também a área anal, principalmente quando elas estão próximas do período do estro. Um comportamento complexo é observado só no mocó: há uma "circulação" do macho ao redor da fêmea, que permanece quieta e submissa, como mostra a figura 4 de A-D. Logo após, este comportamento preliminar, o macho realiza a monta, com múltiplas intromissões de curta duração e uma única ejaculação (LACHER JR., 1981) (Figura 4E).

Figura 4 – Padrão de comportamento de cópula do mocó (LACHER JR., 1981)
Modificações, adaptações e arte final por ZOGNO, 2002.

Segundo Pinheiro, Andrade e Cunha (1989) com dados referentes a 1985, o mocó tem um período médio de gestação de $65 \pm 1,34$ dias, número médio de filhotes $1,28 \pm 0,09$, peso médio da matriz pós parto $724,73 \pm 13,08$ g e 6,89% de abortos. Foi citado também um dado curioso: um percentual maior no nascimento de fêmeas = 68,97% em relação aos machos = 31,03%. Além disto, neste projeto foi relatada a ocorrência de alta taxa de mortalidade, devido às brigas entre os animais em cativeiro.

Estes dados não concordam com Lacher Jr. (1981) e com os dados de Roberts, Maliniak e Deal (1984), que obtiveram um período de gestação de 75,9 dias, não havendo diferença na porcentagem de nascimentos de machos e fêmeas.

Devido aos seus cruzamentos contínuos, os mocós produzem no máximo 5 filhotes ao ano. Nascimentos e concepções, nestas colônias em cativeiro, ocorreram em todos os meses do ano, sugerindo não haver sazonalidade.

2.1.2 Padrão de Reprodução

O *Kerodon* difere do padrão reprodutivo observado em outros gêneros próximos relacionados. Na história de vida dos caviinaes, o *Kerodon* tem a gestação mais longa, a menor média no tamanho da ninhada, o mais baixo peso de filhotes e o mais longo tempo para maturidade sexual. O mocó atinge a idade adulta com 200 dias. Estes extremos na escala de muitos parâmetros reprodutivos, sugere que nos animais da subfamília Caviinae foram alterados alguns aspectos de suas histórias de vida, em resposta às adaptações ecológicas específicas. Parece que o *Kerodon*, assim como outros caviomorfos, podem estar sendo pressionados evolutivamente para modificarem suas estratégias reprodutivas. Este grupo tem o "habitat" mais especializado comparado com outras formas de caviinaes, fato este que restringe totalmente suas potencialidades fisiológicas às condições ambientais (ROBERTS; MALINIAK; DEAL, 1984).

Segundo Lacher Jr. (1981) a evolução da estratégia reprodutiva observada no *Kerodon* foi influenciada por uma troca de hábito predominantemente pastador para um predominantemente folhívoro em uma zona ecológica isolada e árida. Existe a hipótese

de que uma forma ancestral do *Kerodon*, que primeiro colonizou o caatinga, alimentava-se de vegetação rasteira como a maioria das formas de caviídeos estudadas. O isolamento subsequente em uma zona tropical árida, pode ter exigido uma troca de alimentação, para tornar possível a sobrevivência através de longos períodos secos. Favorável a esta hipótese é a observação dos *Microcavia*, uma forma muito próxima ao mocó, que se alimenta predominantemente de relva e suplementa sua dieta com brotos durante períodos secos, sugerindo assim, a estratégia alimentar que pode ter caracterizado a forma ancestral do *Kerodon*. A troca de hábito trófico pode ter sido responsável por mudanças metabólicas que foram correlacionadas com mudanças em padrões reprodutivos, e até mesmo na forma de seus espermatozoides.

Espécies com baixas taxas metabólicas que vivem em ambientes com disponibilidade de recurso altamente variável, tenderão a prolongar a gestação para ganhar a vantagem de ter que investir menos energia diariamente na criação do jovem. O resultado seria um aumento líquido no investimento total de energia durante a gestação, mas a redução no investimento diário, poderia dar mais facilmente a uma fêmea, uma resistência maior às flutuações ambientais.

Isto pode ter acontecido, ou estar acontecendo, não só neste grupo, como também em outros mamíferos (ROBERTS; MALINIAK; DEAL, 1984).

2.1.3 Papel Ecológico

Os caviídeos são o maior item da dieta da maioria dos predadores da América do Sul. Uma alta taxa de reprodução destes animais, pode ser uma necessidade de sobrevivência da espécie (WEIR; ROWLANDS, 1973).

Portanto, tendo estes animais uma importante função ecológica na cadeia alimentar, é pois desaconselhável sua extinção através da caça indiscriminada, ou por qualquer outro fator. Convém ainda acrescentar que, alguns roedores histricomorfos

enterram as sementes que fazem parte de sua alimentação, contribuindo para o reflorestamento.

Diante do exposto, consideramos que se faz necessária a preservação destes animais através da criação em cativeiro, não só para reposição em seus "habitats", como também pelo grande interesse comercial da carne, tida como bastante saborosa e muito consumida no meio rural.

Assim sendo, acreditamos na necessidade da continuação dos estudos pormenorizados dos aspectos reprodutivos, alimentares, ritmos biológicos, comportamento social e caracteres fisiológicos destes animais.

2.2 OS LÍQUIDOS FETAIS

O entendimento da função depende do experimento, mas o conhecimento das estruturas envolvidas é um pré-requisito de um estudo planejado, e em nenhuma área da fisiologia de mamíferos existe uma variedade tão grande como a que se encontra nos animais de diferentes espécies que conseguem reter, nutrir e finalmente expelir seu produto (PERRY, 1981).

A prenhez, gravidez ou gestação é um estado peculiar das fêmeas, decorrente da fecundação de 1 ou mais óvulos, sua nidificação, placentação e evolução até a expulsão (parto ou abortamento). Quando o zigoto sofre várias divisões mitóticas e atinge a fase de mórula, diferenciam-se duas camadas: **interna** (embrioblasto) que concorre para formação do embrião, **externa** (trofoblasto) responsável pela sua nutrição. Do trofoblasto formam-se a vesícula blastodérmica, em seqüência o saco vitelino, e finalmente os envoltórios fetais (GRUNERT; BIRGEL, 1982).

As membranas fetais compreendem o âmnio, saco vitelino, cório e alantóide. A placenta é formada quando o tecido fetal adquire contato, ou se funde, com o tecido materno para trocas fisiológicas (PERRY, 1981). A figura 5 é um diagrama modificado que mostra as relações entre as membranas fetais (RENFREE; HENSLEIGH; Mc LAREN, 1975).

Figura 5 – Relações entre as membranas fetais (modificada)
(RENFREE; HENSLEIGH; Mc LAREN, 1975)

Em primeiro lugar, deriva-se da ectoderme o âmnio, que envolve internamente o embrião, apresentando a mesma disposição em todas as espécies. É um saco de camada dupla que circunda completamente o feto, exceto no anel umbilical. Inicialmente está em adesão íntima com a superfície do embrião, separando e distendendo-se progressivamente à medida que há formação do líquido amniótico (DERIVAUX; ECTORS, 1984). O âmnio tem a função mecânica de reter o feto e permitir o seu desenvolvimento livre de pressão local na sua superfície (PERRY, 1981).

Na fenda entre os folhetos do âmnio, encaixa-se como continuidade da bexiga fetal pelo canal do úraco, a bolsa alantoideana que é constituída por duas camadas muito finas. Apresenta uma topografia diferente de acordo com a espécie (DERIVAUX; ECTORS, 1984).

Fluidos fetais compõem uma grande proporção de conceitos de mamíferos durante a gestação. O feto é, ainda, totalmente circundado pelo cório. As mudanças maternas podem afetar diretamente o sangue fetal e fluido alantoideano (FAL), enquanto que as influências maternas sobre o fluido amniótico (FA) parecem ser mediadas pelo feto (MELLOR; SLATER, 1974).

2.2.1 Formação dos Fluidos Fetais

Os animais domésticos possuem, nas respectivas bolsas, os líquidos alantoideano e amniótico, diferenciando-se assim do homem, que apresenta como único líquido fetal o fluido amniótico (GRUNERT; BIRGEL, 1982).

A origem dos líquidos fetais (amniótico e alantoideano) assim como as secreções que contribuem para isto, são muito complexas. Existem ao menos quatro locais onde a absorção e secreção dos fluidos fetais podem ocorrer: - no trato respiratório, urinário, digestivo e na pele do feto.

→ Formação do fluido amniótico (FA)

O FA é o meio ambiente do feto durante a vida intra uterina. Seu papel é tanto fisiológico como mecânico. De cor clara no início da gestação, tornando-se esbranquiçado pela presença de substâncias sebáceas em suspensão. Pode também se tornar de cor parda por causa da eliminação de mecônio pelo feto, ou por morte ou dissolução fetal (DERIVAUX; ECTORS, 1984)

O FA no início da gestação, é considerado produto de secreção das paredes ou folhetos amnióticos (ROBERTS, 1986). Posteriormente, também é formado pela saliva, secreção nasal do feto e, temporariamente, por urina eliminada pela uretra. A cessação desta drenagem parece ser devida à função do esfíncter da bexiga fetal, sendo então a urina conduzida passivamente para o saco alantoideano via úraco (BONGSON; BASRUR, 1976).

São fatores de interação dinâmica responsáveis pela formação e composição do FA: a adição de solutos e água na urina fetal, o fluido pulmonar, a secreção das cavidades bucais e nasofaringeanas, o equilíbrio entre FA e sangue fetal (com ou sem transporte ativo) e a deglutição (MELLOR; SLATER, 1974). O feto não inala fluido amniótico para dentro dos pulmões (ROBERTS, 1986). Assim as rotas possíveis de entrada de FA para o feto é através da placenta via deglutição, e pela formação de água pelo metabolismo fetal. Estes dados não estão de acordo com Hafez e Hafez (2000), que

afirma que o feto remove fluido por deglutição ou por aspiração de líquido para dentro dos pulmões durante o movimento respiratório.

Ainda, tendo em vista que este líquido envolve diretamente o feto, nele podem ser encontrados pêlos, células epiteliais, resto de descamação cutânea e, nos fetos traumatizados, há a possibilidade da presença de mecônio (GRUNERT; BIRGEL, 1982).

Apesar do considerável conhecimento de taxas específicas de troca de fluido entre feto e cavidade amniótica, atualmente não se sabe como estes fatores são organizados para regular o volume e a composição do FA (TOMODA; BRACE; LONGO, 1987).

→ Formação do fluido alantoideano (FAL)

A face interna do alantóide é lisa e banhada pelo líquido alantoideano; enquanto que a face externa se relaciona, em sua maior parte, com a face interna do cório delimitando o espaço alantocorial, ocupado por um tecido mucoso muito abundante e irrigado por muitos vasos (DERIVAUX; ECTORS, 1984).

A pequena quantidade de FAL, antes dos rins do feto se tornarem ativos, provavelmente, tem origem no epitélio alantoideano ou é proveniente de absorção no lúmen uterino (ROBERTS, 1986).

A formação do FAL é mais simples. Assim como no FA, sua maior fonte é de origem renal, sendo geralmente composto pela urina fetal, e da atividade secretora da membrana alantoideana (MELLOR; SLATER, 1974). A produção de urina pelo feto é determinada por uma série de mecanismos renais, cujas atividades são influenciadas pelo volume e composição dos fluidos corpóreos do feto, e estes por sua vez, são influenciados pela disponibilidade de fluidos e eletrólitos do compartimento materno (LUMBERS; SMITH; STEVENS, 1985).

O FAL encerra resíduos do metabolismo nitrogenado: uréia, ácido úrico, alantoina. Possui coloração amarelo-cinza ao verde-oliva dependendo da espécie, sendo que em algumas encontram-se ainda, massas ovais ou discóides, homogêneas, sem características histológicas de tecido, chamadas hipomanes (na égua) ou boomanes (na vaca). Estas formações originadas dos histiotrofos (leite uterino) não utilizados ou

reabsorvidos, permanecem entre a placenta e a membrana coriônica, para finalmente se transferirem para a cavidade alantoideana (GRUNERT; BIRGEL, 1982; HAFEZ; HAFEZ 2000). Entretanto segundo Derivaux e Ectors (1984), estas estruturas estão presentes no fluido amniótico.

Ocorrem ainda, passagens de solutos e água entre o sangue endometrial e FAL, e entre sangue fetal dentro do cório-alantóide e FAL. Estas trocas de alguns solutos são modificadas pelo mecanismo de transporte ativo. O sódio passa do FAL para o sangue fetal, e o potássio passa em direção contrária. Os aminoácidos atravessam do sangue materno e fetal para o FAL. O transporte dessas substâncias são provavelmente reguladas pelo corticóide plasmático fetal (MELLOR; SLATER, 1974).

2.2.2 Características dos Fluidos Fetais

Ambos fluidos têm consistência aquosa no início da prenhez. Com o desenrolar da gestação a consistência do FAL torna-se mais parecida com a urina, e a consistência do FA muda para um líquido espesso, altamente viscoso quando se aproxima do parto, possivelmente devido ao excesso de secreção salivar (BONGSON; BASRUR, 1976) e nasofaringeana (ROBERTS, 1986), quando a maioria dos sistemas já está bem desenvolvido.

O FA contém diversos sais: NaCl, KCl, ácidos graxos, soro-albumina em quantidade bastante grande, e toda uma série de aminoácidos essenciais: alanina, leucina, histidina, arginina, tirosina e certos fatores de crescimento tais como: ácido pantotênico e ácido fólico.

O exame das **células amnióticas** permite evidenciar a *cromatina sexual* e, portanto, estabelecer o diagnóstico do sexo do feto. Como foi demonstrado por Lyon (1961), esta massa cromatínica, denominada de cromatina sexual, é proveniente da condensação de um dos cromossomos X das fêmeas que se encontra próximo à parede nuclear. Sua presença é, portanto, a expressão do sexo feminino (DERIVAUX; ECTORS, 1984).

A **citologia do FA** foi usada como teste para verificação da maturidade fetal em humanos, especialmente em casos de indução do parto, ou em cesareana eletiva. A maturidade fetal é evidenciada de acordo com a classificação do aspecto morfológico, tamanho, tipos e propriedades tintoriais das células do líquido amniótico (GORDON; BROSENS, 1967). Esta avaliação também foi utilizada em cadelas, aos quarenta dias de gestação, e no momento do parto (BARRETO, 2002).

O volume dos líquidos fetais varia intensamente com o desenvolvimento dos produtos e com o porte da fêmea gestante. Na primeira metade da gestação prepondera o líquido amniótico e, no final, desenvolve-se gradativamente o volume do alantoideano, exceto em suínos. Sob o ponto de vista semiológico, deve-se salientar que estes líquidos em condições fisiológicas são inodoros e, por serem relativamente pobres em substâncias orgânicas e inorgânicas, o peso específico é apenas ligeiramente superior ao da água, porém são meios de cultura adequados para o desenvolvimento de germes patogênicos e não patogênicos (GRUNERT; BIRGEL, 1982).

2.2.3 Funções dos Fluidos Fetais

O **fluido amniótico** representa um meio de proteção para o feto e lhe permite, em um estado de gestação mais avançada, efetuar as rotações necessárias para adaptação à posição mais favorável para o parto (DERIVAUX; ECTORS, 1984).

As propriedades lubrificantes atribuídas ao FA da gestação a termo, facilita a passagem do feto através do canal do parto no nascimento (ROBERTS, 1986). O fechamento do cordão umbilical após o parto e a saída da urina está, agora limitada apenas à uretra, onde a função da micção extrauterina se inicia (BONGSON; BASRUR, 1976).

O papel mais importante do FA é de ordem **nutritiva**, formando parte integrante do sistema circulatório fetal. Deglutido pelo feto, entra na constituição do mecônio, contribui na produção de líquidos intra e extra celulares dos tecidos fetais e passa pela

circulação sangüínea e linfática, para terminar na placenta. Ao final da gestação, e sobretudo no começo do parto, o FA se revela dotado de um grande poder ocitócico evidenciado pelas contrações do útero isolado de cobaias, quando colocado em solução adicionada deste líquido (DERIVAUX; ECTORS, 1984). Esta substância chama-se *eutodina* (eu = boa e toxos = expulsão) que é diferente da histamina, da acetilcolina e inclusive da ocitodina.

Além disto, o FA protege o feto contra choques externos; previne adesões entre a pele fetal e a membrana amniótica; promove a dilatação da cérvix (HAFEZ; HAFEZ, 2000).

O **líquido do alantóide** se origina da urina fetal e da atividade secretora da membrana alantoideana. Suas funções são:

- armazenamento de produtos que o feto excreta (secreções dos pulmões e glândulas salivares), e que não se difundem para a mãe,
- manutenção da pressão osmótica entre a circulação materna e o feto,
- prevenção da perda de líquidos por parte do concepto
- condução do alantocórion para íntima aposição com o endométrio durante os estágios iniciais de ligação materno fetal. (ROBERTS, 1986; JAINUDEEN; HAFEZ, 1993; HAFEZ; HAFEZ, 2000).

Dickson e Harding (1994) avaliaram a importância dos fluidos fetais para a manutenção da composição do plasma fetal durante a desidratação materna, quando a transferência de água da mãe para o feto parece ser reduzida, havendo assim um aumento de osmolaridade (sódio e cloro) no plasma materno, e também no plasma e urina do feto. Concluíram que o fluido das cavidades fetais parece limitar o grau de desidratação materna e fetal, não demonstrando, entretanto, como ocorre este mecanismo de regulação.

De maneira geral, segundo Grunert e Birgel (1982) as funções dos líquidos fetais são:

- proteger o feto contra traumatismo, desidratação e variações de temperatura;
- permitir o crescimento fetal e seus movimento sem prejudicar o útero;

- promover a dilatação da cérvix, vagina e vulva durante o parto;
- aumentar a lubrificação da vagina após o rompimento das bolsas, facilitando a passagem do feto;
- inibir o crescimento bacteriano por sua ação mecânica de limpeza e prevenir aderências.

2.2.4 Composição dos Fluidos Fetais

A composição bioquímica dos fluidos fetais envolve elementos como: sódio, potássio, cloretos totais, proteínas, enzimas, glicose, uréia e ácido úrico (KJELDSBERG; KNIGHT, 1993).

Segundo Hafez e Hafez (2000) os fluidos fetais contêm constituintes metabólicos, eletrólitos, enzimas, hormônios, células e outras estruturas.

Dominguez, Liptrap e Basrur (1990) conduziram que a testosterona é o único esteróide das gônadas de feto macho, que afeta os níveis correspondentes nos fluidos fetais. Isto pode ser devido ao fato de que, níveis elevados de testosterona no feto macho são necessários durante o período de diferenciação sexual.

Com a evolução da gestação, há maior interação entre mãe-feto via líquido amniótico, além do mais, os líquidos fetais se modificam em sua composição bioquímica durante todo esse período (RENFREE; HENSLEIGH; Mc LAREN, 1975; SOUZA (...), 1999).

Os testes bioquímicos são usados com a finalidade de avaliar as funções metabólicas desempenhadas pelos órgãos e tecidos do organismo, envolvendo fenômenos como: síntese, secreção, excreção e armazenamento de substâncias (FERREIRA NETO; VIANA; MAGALHÃES, 1978).

2.2.5 Importância de Alguns Parâmetros Físico-Químicos nos Fluidos Fetais

→ **Volume** – não é conhecido limite mínimo normal para o volume dos líquidos fetais; sabe-se, porém que seu aumento é patológico, não devendo passar de 20 litros para as

grandes espécies animais, 5 litros para pequenos ruminantes e 0,5 litro para carnívoros (GRUNERT; BIRGEL, 1982).

O volume dos fluidos extra-embrionários, na ratazana, é regulado pelo saco vitelínico que é o principal órgão nutritivo do embrião antes da formação da placenta alantóica funcionante. No camundongo o saco vitelino é desenvolvido muito similarmente ao da ratazana, envolvendo completamente o âmnion através da maior parte da gestação (RENFREE; HENSLEIGH; Mc LAREN, 1975).

→ **pH** - Muitas reações intracelulares, inclusive de cadeias metabólicas, são pH dependentes. Assim sua manutenção é essencial, e é realizada através de sistemas de tampões sanguíneos, sistema respiratório e renal. Em ratazanas foram observadas significantes modificações de pH no 18º dia de gestação (GHOSH; SANYAL, 1979), dia este em que outros autores também observaram mudanças importantes na composição bioquímica de fluido amniótico (RENFREE; HENSLEIGH; Mc LAREN, 1975).

→ **Osmolaridade**- é uma determinação da quantidade relativa de solutos em solução. A vasopressina (também chamada de hormônio anti-diurético) estimula a reabsorção de água nos túbulos distais do rim, levando à formação de urina mais concentrada. A osmolaridade pode ser um indicativo da capacidade de reabsorção renal, assim como, pode informar sobre a desidratação do organismo ou anormalidades do hormônio antidiurético (STRAYER, 1995).

2.2.6 Funções de Alguns Parâmetros Bioquímicos nos Líquidos Fetais

→ **Cálcio e Fósforo**

O cálcio (Ca) e o fósforo (P) são os minerais de maior relevância nos processos biológicos, sendo considerados juntamente com o magnésio os macroelementos mais importantes do organismo animal.

Os elementos minerais, presentes nas células e tecidos do organismo animal,

formam diversas combinações químicas funcionais, sendo que as concentrações variam de acordo com o elemento e o tecido. Estas concentrações devem manter-se dentro de limites bastante estreitos para garantir que a integridade funcional e estrutural dos tecidos, o crescimento, a saúde e a produtividade se processem normalmente.

O **cálcio** é o elemento mais abundante no organismo animal, com cerca de 99% agregado aos ossos e dentes. Participa da composição mineral do osso na forma de fosfato tricálcico com cerca de 75%, assim como de carbonato de cálcio 10%, combinando-se ainda com outros compostos na forma de citrato e pirofosfato. O íon Cálcio é o mensageiro intracelular mais importante nos eucariontes. Entra na cadeia energética, na fosforilação e defosforilação de ATP. O cálcio tem também grande importância em inúmeras funções biológicas, tais como contração muscular, coagulação sanguínea, onde atua como cofator metálico na transformação de protrombina para trombina, ativação enzimática, excitabilidade nervosa, secreção e liberação de hormônios, formação da matriz óssea, antagonista da ação do sódio e do potássio sobre o músculo cardíaco, intercomunicação e proliferação celular e permeabilidade das membranas. Assim é que este é um componente vital para todos os mamíferos, sendo pois a placenta permeável a este elemento (STRAYER, 1995). A taxa de cálcio circulante é controlada através da glândula paratireóide que produz o paratormônio, que é hipercalcemiante, enquanto que as células para-foliculares da tireóide secretam a calcitonina, que é hipocalcemiante.

O **fósforo**, da mesma forma, é fundamental no metabolismo celular participando diretamente das transformações bioquímicas. Na maioria dos animais está envolvido na síntese de compostos orgânicos, na manutenção das estruturas celulares, na liberação e transferência de energia celular, formação de proteínas e fosfolípedes (STRAYER, 1995).

→ **Proteínas**

As proteínas são essenciais para todos os seres vivos, possuindo imensa gama de variação de atividades determinando o padrão de transformação química na célula. Dentre suas funções principais estão: a catálise enzimática, transporte e armazenamento

de moléculas e íons, sustentação mecânica, proteção imunitária, geração e transmissão dos impulsos nervosos e controle do crescimento da célula (STRAYER, 1995). As proteínas do feto são sintetizadas na placenta ou no próprio organismo a partir de aminoácidos da mãe. As membranas fetais são ativas na síntese de proteínas.

Nos líquidos fetais elas têm origem urinária, pois as proteínas plasmáticas não atravessam a membrana fetal em ovinos. Elas se mantêm baixa e variável na urina fetal, no FA e no FAL, decrescendo de maneira logarítmica com o avanço da gestação (HERVEY; SLATER, 1967).

A concentração total de proteínas (dosadas pelo método de Bradford), e mais sete proteínas foram identificadas nos fluidos fetais do porco doméstico. Elas constituem a maioria das proteínas do fluido amniótico, porém não do alantoideano (MC KENNA, 1984).

→ **Uréia**

Aminoácidos em excesso (além do necessário para síntese de proteínas e outras biomoléculas) não podem ser estocados, e precisam ser excretados. O mesmo não acontece com ácidos graxos e glicose que formam estoques no organismo. O maior local de degradação de aminoácidos em mamíferos é o fígado (STRAYER, 1995).

A síntese deste composto se dá através do ciclo da uréia, que é a conversão do aminoácido ornitina em citrulina, e em seguida em arginina. Após esta reação a uréia é removida e a ornitina regenerada. Este composto orgânico é produto nitrogenado final do metabolismo de aminoácidos e proteínas, não desempenhando, normalmente, uma função útil no organismo sendo excretado pelos rins (STRAYER, 1995).

A entrada da urina fetal para os sacos dos fluidos fetais tende a diminuir a concentração de sódio e cloro, e aumentar a de uréia (HERVEY; SLATER, 1967).

Na medicina veterinária e humana, a determinação da concentração de uréia tem sido usada na avaliação da função renal juntamente com a creatinina e densidade.

→ **Glicose**

A glicose é o principal açúcar sanguíneo do feto, sendo portanto a mais

importante fonte de energia. A maior parte da glicose utilizada pelo feto é fornecida pela mãe, sendo mínima a produção endógena. Porém, o conceito pode sintetizar, através da glicogênese: frutose, galactose, ou pela neoglicogênese: piruvato, lactato e alanina (REZENDE; MONTENEGRO, 1995).

A concentração de glicogênio placentário é elevada durante o início da gestação, decrescendo com o seu avanço. À medida que isto ocorre, o feto começa ter sua própria glicogênese e passa a armazenar o glicogênio na forma de reserva hepática (REZENDE; MONTENEGRO, 1995).

Há evidências de que a glicose desempenha papel nutricional na formação dos somitos embrionários do rato, sendo a cavidade amniótica o maior portal de entrada da glicose durante esta fase. Há, também, um aumento de 7 vezes no volume da cavidade amniótica depois do 10^o dia, permitindo a conversão de seu eixo de flexão dorsal para ventral (SHEPARD; TANIMURA; PARK, 1997).

→ Creatinina

Um dos elementos bioquímicos mais estudados para determinar a maturidade fetal é a concentração da creatinina, e suas variações durante a gestação. Sua presença é explicada pela simples difusão, por diferença de gradiente, através dos corioâmnios (cordão umbilical, mucosa digestiva e mucosa bronquial) em ambas as direções. Esta é uma substância nitrogenada não protéica derivada da filtração glomerular, que atravessa totalmente esta membrana, de onde se pode concluir que a maturidade renal aumenta sua concentração no líquido amniótico. A concentração da creatinina é duas a três vezes maior no FAL do que no fluido amniótico. As possíveis vias de excreção de creatinina seriam por difusão passiva através do corioâmnio ao soro materno, e deglutição fetal. Na espécie humana, os níveis de creatinina aumentam no líquido amniótico com o decorrer da gestação. Isto permite que se estabeleça uma relação entre os níveis de creatinina e a maturidade fetal, uma vez que reflete a maturidade renal, muscular e dos sistemas enzimáticos do fígado fetal. A concentração final de creatinina depende de dois gradientes: o fetal e o materno (VOTTA, 1975).

A literatura específica para a análise bioquímica dos líquidos fetais, segue as mesmas técnicas, já padronizadas, para bioquímica sanguínea (que também é um fluido corpóreo). Assim sendo, Barreto (2002) estudando fluidos fetais de cadelas em final de gestação, obteve as seguintes médias e desvios padrão em mg/dl:

Glicose FA = $1,15 \pm 0,14$; FAL = $1,10 \pm 0,16$

Creatinina FA = $1,50 \pm 0,16$; FAL = $1,82 \pm 0,17$

Uréia FA = $3,71 \pm 0,12$; FAL = $3,76 \pm 0,12$

Proteínas Totais – FA = $3,37 \pm 0,1$; FAL = $3,61 \pm 0,11$

Souza (...) (1999) analisaram os fluidos fetais de búfalas no final da gestação, e obtiveram as concentrações médias em mg/dl:

Glicose FA = $38,75 \pm 25,43$; FAL = $62,96 \pm 28,62$

Cálcio FA = $3,17 \pm 0,96$; FAL = $5,85 \pm 1,73$

Fósforo FA = $2,2 \pm 0,65$; FAL = $2,81 \pm 1,66$

Creatinina FA = $12,55 \pm 3,97$; FAL = $111,25 \pm 24,34$

Uréia FA = $47,75 \pm 15,5$; FAL = $92,58 \pm 22,11$

Proteínas Totais - FA = $230 \pm 0,08$; FAL = $128 \pm 0,48$

Reddy (...) (1995) estudaram o fluido amniótico de ovelhas em final de gestação, e encontraram níveis médios em mg/dl de glicose = $2,7 \pm 0,03$ e proteínas totais = $6,8 \pm 0,03$.

Thonsen e Edelfors (1976) pesquisando bovinos, obtiveram 65-70 mg/dl de creatinina no FAL, no final da gestação.

Ghosh e Sanyal (1979) obtiveram em ratas 25-40 mg/dl de proteínas totais no FA.

Renfree, Hensleigh e Mc Laren (1975) estudaram o FA de camundongos e obtiveram seguintes níveis: glicose = 1 a 2 mg/dl no final de gestação; uréia = 4,5 a 7 $\mu\text{M/ml}$ e proteínas totais que variaram de 24-45 mg/dl.

2.2.7 Aplicações dos Estudos nos Fluidos Fetais

O Fluido Amniótico:

→ **como fator de cicatrização:** Baseados em alguns modelos animais de mamíferos onde, nos primeiros estágios de gestação, ocorre cura de feridas fetais sem cicatriz, mas em estágios posteriores há formação da cicatriz. Esta mudança fenotípica pode ser devida a características celulares ou ambientais. Assim Levinson (...) (2001) formularam a questão: Haveria influência do FA na mudança dos fenótipos, sem cicatriz para com cicatriz?

Para o teste foi usado o FA de ratas nos dias 14, 16, 18 e 21 de gestação, a 10%.

- na modulação dos fibroblastos da rede de colágeno e as modificações ocorridas nos fibroblastos adultos
- na transformação dos níveis do fator de crescimento β (TGF- β)

Concluíram que houve significativa expressão de TGF- β ou mudanças citoesqueléticas induzidas pelo FA.

→ **como fator neurotrófico:** Uchida (...) (2000) usando meio condicionado com células epiteliais do FA humano (CEAH), afirmaram que estas células podem ter função pluripotente porque são formadas a partir de células do epiblasto do 8º dia de fertilização. Para demonstrar a função neurotrófica foram usados neurônios corticais de ratos. Mostraram, por várias técnicas, que as CEAH sintetizam e liberam fatores neurotróficos derivados do cérebro, neurotrofinas e fatores de crescimento dos nervos. Concluíram que a membrana amniótica tem significativo papel no suprimento de fatores neurotróficos para o FA além de neurotransmissores, sugerindo o importante papel no desenvolvimento neural do embrião nos primeiros estágios da gestação.

→ **células totipotentes do FA em transplantes:** Kakishita (...) (2000) demonstraram que as CEAH sintetizam catecolaminas, inclusive dopamina. Propuseram-se, então, a estudar a possibilidade destas células servirem como doadoras para terapia de

transplantes de pacientes com doença de Parkinson. Os resultados indicaram claramente que as CEAH são capazes de produzir dopamina, e podem sobreviver e funcionar no cérebro de ratos. Embora a terapia de reposição de dopamina pode ser adquirida com o implante de CEAH, estudos posteriores são necessários para aumentar sua produção, assim como, a sobrevivência do transplante.

Ainda, segundo Sakuragawa (...) (2000) as CEAH podem ser carregadoras transgênicas para transplantes alogênicos de células do fígado. Como o tecido epitelial amniótico humano é formado ao redor do 8^o dia de fertilização, as CEAH têm multipotência para se diferenciar em vários órgãos: cérebro, coração ou fígado. Células geneticamente modificadas foram integradas no parênquima hepático de ratos, onde não causaram rejeição aguda pelo alotransplante. Concluíram que as CEAH podem ser usadas como carregadoras transgênicas para tratar pacientes com doenças hepáticas hereditárias.

→ **como fator de crescimento celular** - segundo Padma e Subramanyan (1997), há uma estimulação da proliferação de linfócitos pela calmodulina ligada às proteínas do FA. Segundo os autores esta é a primeira demonstração da capacidade mitogênica das proteínas do FA, participando no crescimento fetal.

→ **como meio de cultura** - Oettle e Wiswedel (1989) cultivaram embriões de camundongos em meio Eagle e FA proveniente de amniocentese humana de rotina. Concluíram que houve um aumento significativo na taxa de blastulação para blastocisto expandido, nos embriões cultivados em fluido amniótico.

O FA humano também foi comparado com o meio Ham's F-10 e se revelou como uma alternativa para o uso em fertilização "in vitro". O sucesso da divagem dos embriões com FA foi de 92% , enquanto que no Ham's foi de 86% (COETZEE (...), 1989).

Gianaroli (...) (1986) utilizaram o FA como meio de cultura, e também para transferência de embriões humanos:

- 4 gestações foram obtidas de 9 pacientes com embriões cultivados em FA

- 2 gestações foram obtidas de 12 pacientes de embriões cultivados em T6+ soro materno.

→ Células amnióticas podem ser promissoras para enxertos após nascimento

(MITKA, 2001)

Investigadores do Children's Hospital em Boston (New Orleans) mostraram que fluido amniótico pode ser uma fonte melhor de células para o feto, do que as colhidas do próprio feto. Assim, foram colhidos 2 ml de amostra de fluido amniótico obtidos através de amniocentese, que puderam render mais células para reparos plásticos no feto, e funcionarem imediatamente como um enxerto para implantação logo após o nascimento. Esta técnica é importante podendo ser usada para reparos de defeitos congênitos que não podem ser fechados através de cirurgia. Até o momento, os cirurgiões foram relutantes em usar tecido colhido do próprio feto para defeitos grandes, porque isto requer uma biópsia do diafragma fetal ou injúria abdominal, um procedimento muito invasivo que submete o feto a riscos desnecessários.

"A beleza do conceito que nós estamos apresentando é que, em vez de colher cirurgicamente células do tecido fetal, nós podemos construir tecido das células contidas no fluido amniótico, que é obtido durante amniocentese" (MITKA, 2001, p. 2083). Estas células foram, então, multiplicadas em cultura, e uma subpopulação de células morfológicamente distintas foram mecanicamente isoladas do resto, e seletivamente se expandiram. Nenhuma morte celular foi observada.

Os investigadores especularam que se mais adiante, a prova render resultados mais positivos, as primeiras aplicações estariam, no tratamento de hérnia congênita do diafragma, ou dos defeitos nas paredes do corpo.

2.3 O CICLO ESTRAL

A viviparidade foi acompanhada pelo desenvolvimento de duas estruturas passageiras de importância suprema, isto é o corpo lúteo e a placenta alantóica, em todo o grupo dos Metatheria e Eutheria. O corpo lúteo, embora presente em alguns

vertebrados inferiores, secreta progesterona para produzir as mudanças na área reprodutiva feminina, que é pré-requisito para a ocorrência de implantação e a formação da decídua. A placenta provê a conexão vascular necessária para troca gasosa e a passagem de nutrientes entre o embrião e mãe até o parto. Em qualquer indivíduo estes dois tecidos têm que ser removidos completamente antes que a reprodução possa ser repetida. Até onde é conhecido, com a exceção do rato marsupial masculino, *Antechinus stuartii*, que possui só um ciclo de espermatogênese, os processos que conduzem à reprodução nos indivíduos jovens, acontecem mais de uma vez na vida de todo mamífero. Este fato insinua que o processo envolvido pode, até certo ponto, ser considerado cíclico (WEIR; ROWLANDS, 1973).

Os processos reprodutivos nas fêmeas dos mamíferos são caracterizados por alterações cíclicas no trato genital feminino e na receptividade sexual. O período de receptividade é chamado de ESTRO, e o ciclo estral tem sido extensivamente estudado nos roedores em laboratório. Este ciclo envolve todo o trato reprodutor, e é possível determinar a fase sexual da fêmea pelo exame do esfregaço vaginal. A parede vaginal é composta de três camadas: mucosa, muscular e adventícia. O epitélio é estratificado, e responde às mudanças nos hormônios esteróides sexuais. Particularmente, as alterações nas concentrações sanguíneas do estrógeno causam um adensamento neste epitélio, que se diferencia e acumula glicogênio. As bactérias vaginais metabolizam este glicogênio transformando-o em ácido láctico, causando baixa no pH, que é típico do ambiente vaginal. O aumento no nível de estrógeno faz com que as células do epitélio se tornem "corneificadas", com superfície aplanada e núcleo pequeno ou ausente. Em essência, a citologia vaginal é um tipo de experimento endócrino. Esta técnica é também largamente usada para cães, gatos, roedores de laboratório, humanos (BURKE, 1986; JOHNSTON; ROOTKUSTRITZ; OLSON, 2001).

A maioria das capivaras exibe características que os diferenciam dos outros roedores. Isto inclui, períodos longos de gestação, nascimento de filhotes precoces, localização lateral de mamas, presença de uma membrana de oclusão vaginal e, geralmente, fácil reprodução em cativeiro (WEIR; ROWLANDS, 1973).

A natureza dos aspectos correlacionados com a reprodução dos roedores é extremamente variada. Touma, Palme e Sachser (2001) demonstraram diferentes tipos de ciclo estral em duas espécies, estreitamente correlacionadas, de roedores da América do Sul. A *Cavia aperea* e *Galea musteloides* são espécies de cobaias selvagens, pertencentes à sub-família *Caviinae*, e família *Caviidae*, que têm "habitats", sistemas de cobertura e comportamento social diferentes. Estes tipos de dados sobre ciclo estral não têm sido descritos para quaisquer outras espécies de mamíferos. Concluíram, então, que diferenças nos padrões reprodutivos das fêmeas, podem ter direcionado a evolução de diferentes características espermáticas nos machos.

Porém os primeiros pesquisadores, Stockard e Papanicolaou (1917) em cobaias; Long e Evans (1920) na ratazana e Allen (1922) em camundongo, demonstraram que o ciclo estral nos roedores é determinado por um padrão de mudanças nos tipos celulares que se observam nos esfregaços vaginais. Este padrão tem permitido estimar a duração do ciclo estral em diferentes espécies.

De modo geral, o ciclo sexual dos roedores é bem caracterizado através de esfregaços vaginais (FOX; LAIRD, 1970), onde a maioria das células observadas são as epiteliais. A variação contínua nas proporções dos tipos celulares encontrados em cada fase do ciclo estral é devida à ação hormonal a que este epitélio está sujeito.

Assim, alguns estudos sobre ciclo estral de roedores em cativeiro (FELIPE; CABODEVILA; CALLEJAS, 2001; GUIMARÃES; MOREIRA; VALE, 1997) foram realizados com diferentes objetivos: repovoamento (não extinção), comercial (carne e peles), ecológicos (reflorestamento e cadeia alimentar).

3 OBJETIVOS

Informes pormenorizados sobre os parâmetros reprodutivos do mocó (*Kerodon rupestris*), não são encontrados na literatura especializada, provavelmente pelo fato de ser esta, uma espécie característica do semi-árido nordestino brasileiro. Assim sendo, objetivando suprir esta lacuna, particularmente em relação à reprodução em cativeiro, este trabalho apresenta como propósito, a obtenção de dados que permitam, além de estabelecer dados de referência para este animal, estabelecê-lo como uma espécie útil, não apenas na alimentação humana, mas como modelo experimental, e ainda não sendo extinto, desempenhar seu papel ecológico.

Para tanto, pretendemos:

- estabelecer alguns parâmetros físico-químicos dos fluidos fetais: volume, cor, pH, osmolaridade.
- estabelecer alguns parâmetros bioquímicos de referência nos líquidos fetais, através das seguintes determinações químicas: níveis de cálcio, fósforo, proteínas totais, uréia, creatinina e glicose avaliando assim as funções metabólicas de síntese, secreção e excreção.
- avaliar citologicamente o fluido amniótico
- contribuir com novas informações sobre o ciclo estral da fêmea de mocó:
 - ⊗ fazendo uma caracterização detalhada sobre os tipos celulares,
 - ⊗ quantificando as mudanças nos padrões celulares que ocorrem nos diferentes estágios do ciclo, aplicando os índices colpocitológicos usados para outras espécies.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram colhidas amostras de líquidos fetais e células vaginais totalizando 18 animais.

4.1 COLHEITA DE AMOSTRAS DOS LÍQUIDOS FETAIS

Foram utilizadas 10 fêmeas de mocós para determinação dos parâmetros de referência de alguns constituintes bioquímicos dos líquidos fetais (amniótico e alantoideano durante os estágios: metade e fim de gestação). Estes animais foram criados em cativeiro, sob a coordenação do Professor Moadir Franco de Oliveira, no Centro de Criação de Animais Silvestres (CEMAS), licenciado no IBAMA como criadouro científico sob registro nº 12.492-004, pertencente à Escola Superior de Agricultura de Mossoró (ESAM), localizada em Mossoró – Rio Grande do Norte - Brasil.

4.1.1 Procedimento Anestésico-Cirúrgico

Após identificação da prenhez, os animais foram submetidos a um jejum sólido de 10 horas e hídrico de 6 horas, recebendo como medicação anestésica, a associação de Cloridrato de Ketamina¹ (15mg/kg) e Midazolam² (1mg/kg) na mesma seringa, por via intramuscular. Após 15 minutos, foram induzidos e mantidos sob máscara artesanal com oxigênio a 100% associado ao Isofurano³, que foi administrado em concentração suficiente para manutenção da anestesia em plano anestésico cirúrgico (3^o plano de Guedel). Após o animal ter atingido o plano anestésico, foi feita uma incisão longitudinal mediana pós-umbilical com aproximadamente 3-4 cm, de forma a expor o útero gravídico, que foi caracterizado macroscopicamente.

Identificado o corno uterino gestante, procedeu-se à incisão do mesmo, para exposição do conjunto de anexos embrionários e feto. Após a caracterização macroscópica das membranas fetais, foram colhidos os líquidos das cavidades alantoideana e amniótica, seguindo-se à retirada do(s) feto(s) anotando-se as mensurações de peso e medida. Procedeu-se à síntese do útero, da parede muscular abdominal, tecido subcutâneo e pele.

1 – Ketamin – 50mg/ml - Cristalia

2 – Dormine – 5 mg/ml - Cristalia

3 - Isoflurane – Cristalia

Após o procedimento cirúrgico os animais foram mantidos em gaiolas individuais, e submetidos à antibioticoterapia: Amoxilina⁴ (22mg/kg) por via intramuscular a cada 24 horas durante sete dias. A limpeza da ferida cirúrgica foi efetuada todos os dias com solução fisiológica, até a retirada dos pontos de pele no 8º dia pós-operatório.

Para colheita do fluidos fetais, procurou-se uma região avascular das membranas fetais, onde os líquidos amniótico e alantoideano foram puncionados individualmente, com auxílio de seringa estéril de 10 ml com agulha, e transferidos para tubos de teflon devidamente identificados. Todos os tubos foram armazenados dentro de recipiente térmico contendo gelo até o término da colheita do material. Tomou-se a precaução de observar se os líquidos estavam claros (sem hemólise), como recomenda Natelson; Scomegna e Epstein, 1974.

Os fetos foram retirados das membranas fetais, enxugando-os para retirada do excesso de líquido. Em seguida foram feitas mensurações de peso e comprimento. Os fetos mediam de 7,5 a 9,5 cm, pesando de 19,2 a 42,7g, como mostra a figura 6.

Figura 6 – Fetos de moços da metade (A= 30-35 dias; B= 40-45 dias) e final de gestação (C = 65-75 dias)

4 – Bactrosina – 20 mg/ml - Bayer

4.2 DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DOS FLUIDOS FETAIS

→ **Volume e cor**, através da observação direta nos tubos.

Os líquidos fetais foram centrifugados por 10 minutos em 2500 rpm (1500 G). O sobrenadante foi acondicionado à temperatura de -18° C, e uma alíquota de 0,5 ml de sobrenadante mais precipitado foi reservada para avaliação citológica.

Ao descongelar as amostras para as dosagens bioquímicas, procedeu-se às medições de pH e osmolaridade.

→ **pH** foi determinado em aparelho portátil de marca DENVER Instruments modelo Basic situado no Laboratório de Técnicas Imunológicas Aplicadas à Morfofisiologia do Departamento de Cirurgia da FMVZ – USP.

→ **osmolaridade** foi medida em osmômetro automático de marca OSMETTE A, com padrão = 0-1000 mOsm/L. Este equipamento faz medições pelo método da crioscopia, fornecendo resultados em mOsm/L, estando situado no Departamento de Reprodução Animal da FMVZ-USP.

4.3 AVALIAÇÃO CITOLÓGICA DO FLUIDO AMNIÓTICO

Após a centrifugação citada acima, os tubos contendo um pouco de sobrenadante e precipitado celular foram homogeneizados, e o conteúdo usado para confecção de esfregaço com objetivo de **caracterizar as células do fluido amniótico** da fêmea de mocó.

A confecção do esfregaço, fixação, coloração, análise e fotografia das lâminas foram efetuadas no Departamento de Reprodução Animal da FMVZ-USP.

As lâminas foram fixadas em álcool-éter 1:1 por 5 minutos, e coradas pela solução para microscopia corante de Shorr⁵ por 10 minutos (COLES, 1984).

5 - QEEL ® Química Especializada Erich Ltda.

A observação foi feita em microscópio Olympus Optical Co., modelo CHS, com aumento de 100 e 400 vezes. As células foram fotografadas em microscópio da marca Leitz Wetzlar Germany, modelo DIALUX-20 com aumentos de 160 e 400 vezes. Foram observados aspectos da forma celular, alterações e integridade das membranas citoplasmática e/ou nuclear, inclusões e presença ou não de núcleo nas células.

4.4 DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS DOS FLUIDOS FETAIS

Os parâmetros bioquímicos foram mensurados no laboratório do Departamento de Clínica Médica – FMVZ-USP. Os parâmetros – glicose, cálcio, fósforo, creatinina e uréia, foram determinados em Analisador Bioquímico “LYASYS” AMS – I.D. – B0049. As proteínas totais foram dosadas pelo método colorimétrico de Bradford (1976).

4.5 CICLO ESTRAL

A colheita das amostras de esfregaços vaginais foram realizadas nos animais da seguinte maneira:

4.5.1 Animais e Viveiros

Os viveiros dos animais medem 4 x 5 m iluminados naturalmente das 6:00 às 18:00h, com temperatura média anual de 30° C, situado na cidade de Mossoró-RN, a 16 m do nível do mar, latitude S - 5° 11', longitude W - 37° 20'. A alimentação constituiu-se de ração de coelho, folhas de jurema (*Mimosa hostilis*), jitirana (*Ipomoea salzmannii*), leucena, frutos regionais e água *ad libitum*.

Para determinação do ciclo estral foram acompanhadas 8 fêmeas em idade reprodutiva (média 150 dias), pluríparas, nas quais observou-se ritual de cópula.

4.5.2 Exame Externo

Durante a colheita dos esfregaços vaginais, um exame externo foi feito para detecção de variações que poderiam estar associadas aos estágios do ciclo estral: variações na tonalidade ou cor da mucosa vulvar, presença de tumefação e presença de secreção.

4.5.3 Colheita de Amostras de Células Vaginais

A avaliação colpocitológica foi realizada usando 8 fêmeas adultas, mantidas em cativeiro. O material para este exame foi colhido duas vezes por semana, durante 40 dias. Antes de efetuar a colheita, procedeu-se à limpeza da região perineal com algodão e solução fisiológica. Para confecção dos esfregaços foi utilizada uma haste plástica flexível com algodão na ponta, embebida previamente em solução fisiológica. Para colheita, a haste foi inserida na vagina e girada cuidadosamente no sentido horário, e com o mesmo movimento o material foi colocado em lâmina de microscopia, formando colunas paralelas (Figura 7).

Figura 7 – Limpeza perineal e colheita de células vaginais

4.5.4 Análise das Amostras de Citologia Vaginal

Depois da fixação em álcool:ácido acético 1:1, a coloração foi realizada com a solução para microscopia corante de Shorr (o mesmo usado para avaliação citológica do FA) por 10 minutos (COLES, 1984). Em cada lâmina foram contadas 200 células, anotando-se os tipos celulares segundo a classificação Colorado State University (2002). Esta determinação foi realizada através da observação das lâminas em microscópio Olympus Optical Co., modelo CHS, sob aumento de 100 e de 400 vezes. A contagem das células foi feita por amostras dos melhores campos de visualização. As células foram fotografadas em microscópio da marca Leitz Wetzlar Germany, modelo DIALUX-20 com aumentos de 160 e 400 vezes.

4.5.5 Determinação dos Estágios do Ciclo Estral

Os estágios do ciclo estral e suas durações foram determinados considerando a composição citológica no esfregaço: proporções relativas dos tipos celulares (parabasais, intermediárias e superficiais), infiltração de leucócitos e presença de muco. Foi feita uma análise retrospectiva do esfregaço, em caso de dificuldade na identificação do proestro. Uma vez identificado o estro, o esfregaço dos dias anteriores foi analisado para confirmar ou não o proestro.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados através do aplicativo Guided Data Analysis do programa Statistical Analysis System (2000).

Os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. Caso não obedecessem a estas premissas foram transformados (logaritmo na base 10 - $\log_{10}X$; Raiz quadrada - $\sqrt{X}$; Quadrado - X^2) e se a normalidade não fosse obtida empregar-se-ia então, o procedimento NPAR1WAY de

análise de variância não paramétrica.

Para descrição dos resultados, foram empregadas as médias e desvios padrões dos dados originais, e os níveis de significância (p) dos dados transformados, quando necessária a transformação.

Na análise dos dados de tipos celulares, as variáveis: células anucleadas, células nucleadas, células intermediárias e células parabasais não obedeceram à normalidade dos resíduos, sendo então, empregada a transformação para Raiz Quadrada (RQ) para que a normalidade fosse obtida. Estas variáveis foram então submetidas ao teste Tukey de médias ($p < 0,05$), para verificar diferenças entre as diferentes fases do ciclo estral.

Os dados de bioquímica dos líquidos fetais foram submetidos à análise descritiva através do PROC MEANS.

5 RESULTADOS

As observações correlacionadas com os aspectos físico-químicos dos líquidos fetais do mocó estão descritas abaixo.

5.1 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

Os valores obtidos nas determinações físico-químicas dos animais prenhes estudados, estão expressos no quadro 1.

Líquido Amniótico					Líquido Alantóide			
Anim	Cor	pH	Osm. mOsm/L	Vol. ml	Cor	PH	Osm. mOsm/L	Vol. ml
1	Incolor	8,18	283	1,0	-	-	-	-
2	Incolor	8,45	-	2,0	-	-	-	-
3	Incolor	-	-	0,1	Amarela	8,80	233	1,5
4	-	-	-		Incolor	8,90	287	0,5
5	Incolor	8,27	206	2,0	Amarela	8,26	277	0,5
6	Incolor	7,98	275	0,5	-	-	-	-
7	Incolor	-	-	1,0	-	-	-	-
8	Amarela	7,71	275	1,5	Amarela	8,87	182	4,5
9	-	-	-		Incolor	9,07	241	1,3
10	Amarela	7,90	277	1,5	Amarela	9,19	220	3,0

Quadro 1 - Análise físico-química dos líquidos fetais do mocó

5.2 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DOS FLUIDOS FETAIS

Os valores obtidos nas determinações bioquímicas dos animais prenhes estudados, estão expressos na tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetros bioquímicos (mg/dl) dos mocós estudados - Mossoró - Brasil – 2001

	A M N I Ó T I C O		A L A N T O I D E A N O	
mg/ dl	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Glicose	45,87	22,38	59,17	10,85
Cálcio	6,31	1,24	5,58	0,59
Fósforo	1,64	0,72	1,27	0,73
Creatinina	0,45	0,12	0,38	0,08
Uréia	34,03	5,96	31,49	2,28
Proteínas Totais	31,24	16,67	30,70	18,39

5.3 ANÁLISE CITOLÓGICA DO FLUIDO AMNIÓTICO

Foram identificados quatro tipos de células no fluido amniótico, colhido no final da gestação:

- Células arredondadas com núcleo ocupando a maior parte do citoplasma (células imaturas) figura 8A;
- Células com maturidade intermediária, nas quais o citoplasma é maior em relação ao núcleo, figura 8B;
- Células maduras, superficiais de forma poligonal, não corneificadas, que possuíam núcleo, figura 8C;
- Células supermaduras, corneificadas e anucleadas de forma poligonal, figura 8D.

Figura 8 - Células do Fluido Amniótico do mocó (400x)– **A**- célula imatura; **B**- célula de maturidade intermediária; **C**- célula corneificada com núcleo; **D**- célula supermadura, anucleada

5.4 CICLO ESTRAL

→ Exame externo

A superfície vulvar esteve sempre com coloração rósea e acinzentada. Nenhum animal mostrou modificações na aparência externa da região vulvar, ou presença de muco.

→ Caracterização dos tipos celulares

As células parabásais deste trabalho, apareceram isoladas ou em pequenos grupos possuindo, núcleos bem corados que ocupavam a maior parte do citoplasma (Figura 9).

Figura 9 - Células para basais do mucó (400x)

As células intermediárias observadas tinham forma ovóide ou poligonal, com núcleo na posição central (Figura 10).

Figura 10 - Células intermediárias do mucó (400x)

As células superficiais observadas neste experimento, possuíam forma poligonal, citoplasma claro, homogêneo e transparente. Quanto ao núcleo, foram observadas células superficiais nucleadas e anucleadas (Figura 11).

Figura 11 - Células superficiais nucleadas e anucleadas do mocó (400x)

Outras células – ao lado das células epiteliais descritas acima, outras foram vistas nos esfregaços vaginais: eritrócitos, neutrófilos, leucócitos e “células de foam”, ou espumosas, pois possuem numerosos vacúolos no citoplasma. Mesmo não sendo muito frequentes, estas células apareceram nas mocós estudadas, como mostra a figura 12.

Figura 12 - Célula de Foam encontrada no mocó (400x)

Finalmente, bactérias foram vistas, freqüentemente, em grande número nos esfregaços vaginais, ficando sobre as células e no fundo, como mostra a figura 11.

→ Fases do ciclo estral e suas respectivas freqüências de células

Anestro - a figura 14 ilustra esta fase do ciclo nos animais estudados onde poucas células foram encontradas, predominando as células parabasais. Foram observados também, poucos leucócitos em algumas fêmeas.

Proestro - o exame do esfregaço vaginal dos animais nesta fase, revelou uma mudança gradual das células intermediárias e parabasais para células superficiais, e muitas vezes, um grande número de bactérias. Presença reduzida de leucócitos (Figura 14).

Estro - nos animais estudados, não raras vezes, foram encontrados espermatozóides nos esfregaços vaginais, indicando que as fêmeas haviam sido cobertas depois do ritual de acasalamento observado no cativeiro (Figura 13). Nesta fase houve um predomínio marcante de células superficiais anucleadas. Não foram observados leucócitos neste estágio do ciclo estral dos animais estudados (Figura 14).

Figura 13 – Presença de espermatozóide na fase de estro do mocó (400x)

Metaestro - esta fase foi caracterizada por um forte declínio na porcentagem das células superficiais, o reaparecimento das intermediárias e basais e presença abundante

de leucócitos. Nas fêmeas estudadas, o perfil da mudança ocorreu essencialmente em 72 horas (Figura 14).

As fotomicrografias dos esfregaços vaginais de fêmeas de mocós, corados com solução corante de Shorr e ilustrando a composição celular relativa nos quatro estágios do ciclo estral, estão mostrados na figura 14.

Figura 14 - Fases do ciclo estral da fêmea de mocó. ANESTRO - (100x); PROESTRO - (400x); ESTRO - (400x); METAESTRO - (400x). As setas indicam a progressão do ciclo estral

As siglas significam: PB - células parabasais; CI - células intermediárias; CSN - células superficiais nucleadas; CSA - células superficiais anucleadas.

A análise estatística que comparou as frequências dos tipos celulares nas diversas fases do ciclo, revelou diferenças significativas na porcentagem de células superficiais anucleadas no estro, assim como de células parabasais no anestro. Não constatou porém, nenhuma diferença significativa nas porcentagens de células nucleadas e intermediárias nas diversas fases do ciclo, como mostra a tabela 2 abaixo:

Tabela 2 – Comparação entre valores médios dos tipos celulares durante as fases do ciclo estral das fêmeas de mocós (*Kerodon rupestris*), Brasil - 2002

Tipos Celulares	Fases do Ciclo Estral			
	Proestro	Estro	Metaestro	Anestro
Superficial Nucleada	16,43 ± 12,94 a	12,21 ± 6,06 a	10,63 ± 5,82 a	12,60 ± 7,17 a
Superficial Anucleada	42,21 ± 21,12 bc	71,40 ± 13,79 a	33,86 ± 17,85 b	25,18 ± 15,69 c
Intermediária	13,19 ± 10,63 b	7,22 ± 3,93 b	23,89 ± 9,11 a	12,23 ± 6,24 b
Parabasal	28,17 ± 19,47 b	9,18 ± 8,08 c	31,62 ± 16,65 b	49,99 ± 17,44 a
Leucócitos	+	-	+++	++

- : Nenhum +: Reduzido(até 20%) ++: Moderado(até 50%) +++:-Abundante(>50%)

Obs.: letras diferentes na horizontal em cada estágio, indicam diferença significativa, $\alpha = 0,05$, pelo teste de Tukey

Durante a progressão do ciclo estral, todos os tipos celulares apareceram em todos os estágios do ciclo reprodutivo, apresentando, entretanto, variações em suas porcentagens de acordo com a fase. As médias calculadas de cada tipo celular nas diferentes fases do ciclo, deram origem ao gráfico exposto na figura 15.

Figura 15 – Porcentagens de células nas diferentes fases de acordo com ciclo estral do mocó em cativeiro

6 DISCUSSÃO

Com relação à avaliação físico-química dos fluidos fetais das mocós estudadas, pode-se comentar que:

→ o **volume** dos fluidos variou bastante, além das perdas na colheita quando havia o rompimento das membranas fetais. No entanto, dos líquidos coletados, a média foi de $1,25 \pm 0,68$ ml para o fluido amniótico, e de $1,63 \pm 1,48$ ml para o fluido alantoideano.

Ambos os líquidos apresentaram-se com aspecto turvo, sendo que o **pH** variou de $8,04 \pm 0,27$ para o fluido amniótico, e de $8,84 \pm 0,32$ para o fluido alantoideano. Estes dados são semelhantes aos encontrados por Barreto (2002) em cadelas, e Ghosh e Sanyal (1979) em ratas.

→ a **osmolaridade** variou de 206 a 285 mOsm/L no FA, e 182 a 287 no FAL, semelhantemente aos achados por Thonsen e Edelfors (1976) em bovinos.

Com relação às concentrações encontradas nos parâmetros bioquímicos das fêmeas dos mocós, pode-se verificar que:

→ os níveis de **glicose** no FA foram semelhantes aos valores médios encontrados por Souza (...) (1999) na espécie bubalina, porém diferentes dos dados de Renfree, Hensleigh e McLaren (1975) em camundongo, de Barreto (2002) em cadelas e de Reddy (...) (1995) em ovelhas.

→ os níveis de **Cálcio** foram concordantes aos de Souza (...) (1999) no FAL de búfalas, diferindo porém dos dados no FA dos mesmos animais.

→ as concentrações do elemento **Fósforo**, foram bem mais baixas daquelas encontradas por Souza (...) (1999) em búfalas. Não foram encontradas citações na literatura sobre os parâmetros de Cálcio e Fósforo em espécies correlatas.

→ os níveis de **creatinina** são aplicados como indicadores da maturidade fetal, aumentando os níveis do meio para o final da gestação (VOTTA, 1975). Os dados do presente trabalho que também se referem a este período, mostraram-se abaixo dos citados por Barreto (2002) em cadelas, aos de Souza (...) (1999) em búfalas e aos que

se referem às ratazanas (GHOSH; SANYAL, 1979).

→ os dados referentes à **uréia** estão próximos aos de Souza (...) (1999) para o mesmo período de gestação, porém muito acima dos citados por Barreto (2002) na espécie canina.

→ quanto às **proteínas totais**, os dados do presente trabalho encontram-se muito acima dos achados de Barreto (2002) em cadelas, e abaixo dos dados de Souza (...) (1999) em búfalas. Concordam, no entanto, com os achados em ratazanas (GHOSH; SANYAL, 1979) e camundongos (RENFREE; HENSLEIGH; McLAREN, 1995).

As ligeiras diferenças encontradas nas concentrações dos parâmetros bioquímicos entre os dois líquidos fetais podem ser atribuídas às atividades metabólicas materno-fetais. Dados sobre interações bioquímicas materno-fetais nos mocós, não foram encontrados na literatura.

Através destas comparações, parece-nos razoável supor que, as semelhanças entre os dados deste trabalho e os de espécies tão distintas citados na literatura, sejam características dos mamíferos em geral, enquanto que, as diferenças podem estar ligadas às peculiaridades de cada espécie, e/ou à metodologia utilizada.

Durante a análise microscópica das **células do FA** dos mocós, foram observadas células íntegras, soltas e agrupadas. Notou-se também que, os tipos celulares encontrados poderiam indicar o grau de maturidade fetal, pois as células maduras eram as mais frequentes (80%) no final da gestação, como preconiza Gordon e Brosens (1967). Estas características também foram encontradas por Barreto (2002) em cadelas.

A maioria das células observadas numa preparação esfoliativa da mucosa normal da vagina, são células epiteliais cujas formas variam de acordo com as alterações hormonais. Além disto, um número variado de leucócitos, eritrócitos e bactérias estão normalmente presentes. Pequenos números de outras células contaminantes e microorganismos são, algumas vezes, observados (STOCKARD; PAPANICOLAOU, 1917).

A análise de um esfregaço vaginal é, em grande parte, um exercício de classificação de três tipos básicos de células: células superficiais, intermediárias e

parabasais. Entretanto, é preciso ter em mente que as células refletem um desenvolvimento contínuo, onde algumas delas não se encaixarão perfeitamente dentro destas categorias rigidamente definidas (COLORADO STATE UNIVERSITY, 2002).

Neste experimento, o estudo do **ciclo estral** foi baseado na dinâmica percentual da população de células de descamação do epitélio vaginal, onde índices como presença de leucócitos, muco e restos celulares também foram observados.

Todos os tipos celulares presentes nas camadas do epitélio vaginal, durante a progressão do ciclo estral, puderam ser observados neste experimento através de diagnóstico colpocitológico.

As células parabasais foram as menores células epiteliais encontradas no esfregaço vaginal. São células redondas, ou arredondadas, tendo um núcleo grande em relação ao citoplasma (Figuras 9 e 14). Estes dados concordam com Nogueira (1997) em pacas (*Agouti paca*).

As células intermediárias variaram de tamanho e forma, mas tipicamente, têm o diâmetro duas ou três vezes maior que as parabasais. Muitos citologistas subclassificam estas células em intermediárias pequenas e grandes Colorado State University (2002), e nas fêmeas estudadas, foram observadas como mostram as figuras 10 e 14, concordando com Guimarães, Moreira e Vale (1997) em cutias (*Dasyprocta prymnolopha*).

As células superficiais são as maiores vistas no esfregaço vaginal. Têm forma poligonal e são planas, às vezes tendo aparência laminada com dobras. Puderam ser observadas como mostram as figuras 11 e 14, concordando com Felipe, Cabodevila e Callejas (2001) em coypu (*Myocastor coypus*).

No tocante às **fases do ciclo estral** podemos citar que, foram observadas quatro fases no ciclo reprodutivo das mocós estudadas (Figura 14), dados estes concordantes com Nogueira (1997) em pacas e com Felipe, Cabodevila e Callejas (2001) em coypu.

Anestro – na maioria das espécies citadas na literatura: coypu (*Myocastor coypus*) (FELIPE; CABODEVILA; CALLEJAS, 2001), chinchila (*Chinchilla lanigera*) (BEKYÜREK; LIMAN; BAYRAN, 2002), esta fase é constituída de poucas células, havendo predomínio

das células intermediárias e parabasais. Neste experimento, este fato foi marcante, pois houve uma porcentagem significativamente maior de células parabasais nesta fase (Tabela 2). Os leucócitos apareciam em número moderado.

Proestro - a concentração estrogênica na circulação sanguínea aumenta durante o proestro, causando a proliferação do epitélio vaginal. A alta taxa de eritrócitos observada na maioria das fêmeas estudadas, concordam com os achados em cadelas por Johnston, Rootkustritz e Olson (2001), e discordam dos dados de Nogueira (1997) em pacas. Leucócitos em número reduzido e predominância de células parabasais e intermediárias.

Estro - é o período de receptividade das fêmeas, é também chamado de período "quente". Com a progressão do ciclo estral, e consequentemente aumento do nível de estrógeno circulante, as células do epitélio vaginal tornam-se "corneificadas", tendo sua forma aplanada, e por vezes, dobrada sobre si mesma. Estas células superficiais (nudeadas ou anudeadas), predominam nesta fase, sendo que o incremento da porcentagem foi detectado estatisticamente pelo teste de Tukey, nos animais estudados (Tabela 2). Estes dados concordam com Nogueira (1997) em pacas. Leucócitos ausentes.

Metaestro - nesta fase as células superficiais estão ausentes, ou em baixíssimo número (JOHNSTON; ROOTKUSTRITZ; OLSON, 2001), fato que ocorreu também neste trabalho. A significância da identificação do metaestro está no fato de que este pode ser um bom preditor do tempo de ovulação, portanto de gestação, e também do comportamento sexual (JOHNSTON; ROOTKUSTRITZ; OLSON, 2001). O começo do metaestro se correlaciona também com a baixa da fertilidade, pois cruzamentos depois da ocorrência das mudanças características desta fase, raramente são férteis. Além disto, normalmente há um aumento considerável de leucócitos nesta fase, fato este também observado nos esfregaços vaginais das fêmeas estudadas.

Existem ainda, índices com os quais se estima a duração do ciclo estral: a queratinização das células epiteliais vaginais e aparecimento, ou não, de leucócitos (FOX; LAIRD, 1970). Seguindo estes critérios, a duração do ciclo estral obtida nas fêmeas estudadas variou 18 a 29 dias, sendo que a média foi de $24,25 \pm 3,99$ dias. Estes dados resultaram da contagem de dias transcorridos a partir do dia do estro (número de células

superficiais alto) de um ciclo, ao dia anterior do estro do ciclo seguinte, como preconiza Nogueira (1997).

Estes resultados obtidos nas observações de todo ciclo estral da fêmea de mocó, estão em conformidade com os encontrados na literatura, usando técnicas estabelecidas para outras espécies como cadelas e gatas (JOHNSTON; ROOTKUSTRITZ; OLSON, 2001). Estão também concordantes com dados em espécies correlatas: cobaias (STOCKARD; PAPANICOLAU, 1917; LILLEY; EPPING; HAFNER, 1997), cutias (*Dasyprocta prymnolopha*) (GUIMARÃES; MOREIRA; VALE, 1997), paca (*Agouti paca*) (NOGUEIRA, 1997), coypu (*Myocastor coypus*) (FELIPE; CABODEVILA; CALLEJAS, 2001) e chinchila (*Chinchilla lanigera*) (BEKYÜREK; LIMAN; BAYRAN, 2002).

Além disto, as observações relacionadas ao ritual de acasalamento, ocorridas neste experimento, indicam que as condições de cativeiro foram bem aceitas pelos animais.

A técnica permitiu ainda, a identificação do estro de acordo com os tipos celulares observados, fato este que pode contribuir para estudos futuros visando aplicações biotecnológicas na área de reprodução destes animais, tendo em vista que nenhum dado semelhante foi encontrado na literatura consultada.

Estudos mais detalhados sobre o ciclo estral da fêmea de mocó, assim como o comportamento social e reprodutivo são essenciais para a compreensão biológica da espécie, contribuindo para a criação em cativeiro.

7 CONCLUSÕES

- 1 A composição físico-química dos líquidos fetais dos mocós foi semelhante à das cadelas, ratas e bovinos.
- 2 As concentrações de alguns parâmetros bioquímicos dos fluidos fetais dos mocós foram semelhantes às de outras espécies, tais como: glicose das búfalas; proteínas totais das ratas e camundongos; cálcio do FAL de búfalas.
- 3 As concentrações de alguns parâmetros bioquímicos dos fluidos fetais dos mocós foram diferentes de outras espécies, tais como: glicose de cadelas, camundongos e ovelhas; cálcio do FA de búfalas; creatinina de cadelas e búfalas; uréia de cadelas, búfalas e camundongos; proteínas totais de cadelas, búfalas e ovelhas.
- 4 Entre os dois líquidos (FA e FAL), as concentrações de cálcio, fósforo, creatinina, uréia e proteínas totais foram mais baixas no fluido alantoideano, enquanto os índices de glicose foram mais altos neste mesmo líquido.
- 5 As condições ambientais do criatório e procedimentos de manejo revelaram-se bons, pois os animais reproduziram-se em cativeiro.
- 6 As fêmeas estudadas apresentaram ciclo poliestral contínuo, não tendo sido verificada a sazonalidade.
- 7 A duração média dos ciclos estrais, dos animais estudados em cativeiro, foi de $24,25 \pm 3,99$ dias.
- 8 Verificaram-se alterações na morfologia das células da mucosa vaginal, nas diferentes fases do ciclo estral, das fêmeas de mocós estudadas.
- 9 Todos os tipos celulares apareceram em todas as fases do ciclo, variando apenas em frequência de acordo com a fase do ciclo estral.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, E. The oestrous cycle in the mouse. **American Journal of Anatomy**, v. 30, p. 297-371, 1922.
- BARRETO, C. S. **Avaliação bioquímica, citológica e do perfil eletroforético de proteínas no líquido amniótico e alantoideano de cadelas entre 30 a 40 dias de gestação e no momento da cesareana**: estudo experimental. 2002. 141 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2002.
- BEKYÜREK, T.; LIMAN, N.; BAYRAN, G. Diagnosis of sexual cycle by means of vaginal smear method in the chinchilla (*Chinchilla lanigera*) **Laboratory Animals**, v. 36, p. 51-60, 2002.
- BONGSON, T. A.; BASRUR, P. K. Foetal fluids in cattle. **Canadian Veterinary Journal**, v.17, n. 1, p. 124-127, 1976.
- BRADFORD, M. M. A Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BURKE, T. J. **Small animal reproduction and fertility**. A clinical approach to diagnosis and treatment. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. p. 128-130.
- CARLETON, M. D. Introduction to rodents. In: ANDERSON, S.; KNOX JONES JR., J. **Orders and families of recent mammals of the world**. New York: John Willey, 1984. p. 255-265.
- COETZEE, J. C.; SEVENSTER, C. B.; FOURIE, F. L.; HELBERG, L. A. In vitro culture of mouse embryos in human amniotic fluid. **South of African Medical Journal**, v. 76, n. 2, p. 62-63, July 1989.
- COLES, E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1984. p. 566.
- COLORADO STATE UNIVERSITY Classification of Vaginal Epithelial Cells. Disponível em: <<http://arbl.cvmbs.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/vc/cells.html>>. Acesso em: 28 jun. 2002.
- CRANDALL, L. S. Family Caviidae. In: _____. **Manangement of the wild mammals captivity**. Chicago: University of Chicago Press, 1964. p. 247-250.
- DERIVAUX, J.; ECTORS, F. **Fisiopatología de la gestación y obstetricia veterinaria**. Zaragoza (España): Acribia, 1984. p. 39-43.
- DICKSON, K. A.; HARDING, R. Role of fetal sac fluids during materna water deprivation in sheep. **Experimental Physiology**, v. 79, n. 2, p. 47-160, 1994.
- DOMINGUEZ, M. M.; LIPTRAP, R. M.; BASRUR, P. K. Fetal fluid steroids and their relationship to gonadal steroid secretion in single and twin bovine fetuses. **Theriogenology**, v. 34, n. 1, p. 57-72, 1990.
- EISEMBERG, J. F. Order Rodentia. In: _____. **Mammals of the neotropics**. Chicago: Smithsonian Institution Press, 1989. p. 207-209.

FELIPE, A. E.; CABODEVILA, J.; CALLEJAS, S. Characterization of the estrous cycle of the *Myocastor coypus* (coypu) by means of exfoliative colpocytology. **Journal of Neotropics Mammals**, v. 8, n. 2, p. 129-137, 2001.

FERREIRA NETO, J. A.; VIANA, E. D.; MAGALHÃES, L. M. **Patologia clínica veterinária**. Belo Horizonte: Rabelo e Brasil, 1978. p. 293.

FOX, R.; LAIRD, C. Sexual cycles. In: HAFEZ, E. S. E. **Reproduction and breeding techniques for laboratory animals**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1970. p. 107-122.

GHOSH, C.; SANYAL, A. K. Certain biochemical characteristics of rat amniotic fluid. **Indian Journal of Medicine Research**, v. 70, p. 771-776, Nov. 1979.

GIANAROLI, L.; SERACCHIOLI, R.; FERRARETTI, A. P.; FLAMIGNI, C.; BOVICELLI, L. The successful use of human amniotic fluid for mouse embryo culture and human in vitro fertilization. **Fertility and Sterility**, v. 46, n. 5, p. 907-913, Nov. 1986.

GIANNONI, M. L. Criação em cativeiro – alternativa para preservação de espécies. In: ECO 92, IMPACTOS SOBRE OS RECURSOS NATURAIS, 1992, Rio de Janeiro. **Palestras...** p. 27.

GORDON, H.; BROSENS, I. Cytology of amniotic fluid: a new test of fetal maturity. **Obstetrics and Gynecology**, v. 30, n. 5, p. 652-656, Nov. 1967.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H. Fisiologia da prenhez. In: _____. **Obstetricia veterinária**. 3. ed. Porto Alegre: Sulina, 1982. p. 27-60.

GUIMARÃES, D. A.; MOREIRA, D.; VALE, W. G. Determinação do dído reprodutivo da cutia (*Dasyprocta prymnolopha*) através do diagnóstico colpocitológico. **Acta Amazonica**, v. 27, n. 1, p. 55-64, 1997.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. Gestation, prenatal physiology and parturition. In: _____. **Reproduction in farm animals**. 7. ed. Philadelphia: Lippincott, 2000. p. 148-149.

HERVEY, E. J.; SLATER, J. S. The source of sheep foetal fluids in the later stages of gestation. **Journal of Physiology**, v. 22, p. 40-41, 1967.

JAINUDEEN, M. R.; HAFEZ, E. S. E. Gestation, prenatal physiology, and parturition. In: HAFEZ, E. S. E. **Reproduction in farm animals**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p. 573.

JOHNSTON, S. D.; ROOTKUSTRITZ, M. V.; OLSON, P. N. S. **Canine and feline theriogenology**. New York: W.B. Saunders, 2001. p. 18-29.

KAKISHITA, K.; ELWAN, M. A.; NAKAO, N.; ITAKURA, T.; SAKURAGAWA, N. Human amniotic epithelial cells produce dopamine and survive after implantation into stratum of a rat model of Parkinson's disease: a potential source of donor for transplantation therapy. **Experimental Neurology**, v. 165, n. 1, p. 27-34, Sep. 2000.

KJELDSBERG, C.; KNIGHT, J. Body fluids: laboratory examination of amniotic, cerebrospinal, serum and synovial fluids. In: _____. **American society of clinical pathology**. Chicago: Theid, 1993. 387 p.

LAGER JR., T. E. The comparative social behavior of *Kerodon rupestris* and *Galea spixii* and the evolution of behaviour in the Caviidae. **Bulletin of Carnegie Museum Natural History**, n. 17, p. 1-71, 1981.

LEVINSON, H.; PELED, Z.; LIU, W.; LONGAKER, M. T.; ALLISON, G. M.; EHRLICH, H. P. Fetal rat amniotic fluid: transforming growth factor beta and fibroblast collagen lattice contraction. **Journal Surgical Research**, v. 100, n. 2, p. 205-210, Oct. 2001.

LILLEY, G. L.; EPPING, R. J.; HAFNER, L. M. The guinea pig estrous cycle: correlation of vaginal impedance measurements with vaginal cycle cytologic findings. **Laboratory Animal Science**, v. 47, n. 6, p. 632-637, Dec. 1997.

LONG, J. A.; EVANS, H. M. The oestrous cycle in the rat and other studies in the physiology of reproduction. **Anatomical Record**, v. 18, n. 3, p. 31-40, 1920.

LUMBERS, E. R.; SMITH, F. G.; STEVENS, A. D. Measurement of net transplacental transfer of fluid to the fetal sheep. **Journal Physiology**, v. 364, p. 289-299, 1985.

LYON, M. F. Gene action in the X – chromosome of the mouse (*Mus musculus*). **Nature**, v. 190, p. 372, 1961.

MC KENNA, P. Proteins in the amniotic and allantoic fluids of fetal pigs. **Comparative Biochemistry Physiology - B.**, v. 78, n. 3, p. 663-667, 1984.

MELLOR, D. J.; SLATER, J. S. Some aspects of the physiology of sheep foetal fluids. **British Veterinary Journal**, v. 130, n. 3, p. 238-248, May-June 1974.

MITKA, M. Amniotic cells show promise for fetal tissue engineering. **Journal of the American Medical Association**, v. 17, n. 286, p. 2083, Nov. 2001.

MITTERMEIR, R. A. O país da diversidade. **Ciência Hoje**, v. 14, n. 81, p. 21-27, 1992.

MOOJEN, J. **Os roedores do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Educação e Saúde/ Instituto Nacional do Livro, 1952. 214 p. (Biblioteca Científica Brasileira. Série A – II).

NATELSON, S.; SCOMECA, A.; EPISTEIN, M. B. **Amniotic fluid-physiology, biochemistry and clinical chemistry**. 3^a ed. New York: John Willey, 1974. v. 1, p. 96-99.

NOGUEIRA, T. M. R. **Alguns parâmetros fisiológicos e reprodutivos da paca (*Agouti paca*, Linnaeus, 1766), em cativeiro: estudo experimental**. 1997. 131 f. Dissertação (Mestre em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 1997.

OETTL, E. E.; WISWEDEL, K. Mouse embryos cultured in amniotic fluid. **South of African Medical Journal**, v. 76, n. 2, p. 63-64, Jul. 1989.

PADMA, S.; SUBRAMANYAN, C. Proliferative stimulation of lymphocytes by calmodulin binding proteins isolated from amniotic fluid. **Indian Journal Medical Research**, v. 106, p. 236-241, Sep. 1997.

PERRY, J. S. The mammalian fetal membranes. **Journal of Reproduction Fertility**, v. 62, n. 2, p. 321-335, 1981

PINHEIRO, M. J. P.; ANDRADE, S. A.; CUNHA, J. N. Preservação e exploração de animais silvestres nativos: preá, cutia e mocó. **Caatinga**, v. 6, p. 28-49, 1989.

REDDY, A. P.; REDDY, V. S. C.; RAO, A. S.; SHARMA, G. P.; REDDY, G. V. N.; REDDY, T. J.; REDDY, V. S. Biochemical studies in the ewe (*Ovis aries*) amniotic fluid during different phases of gestation. **International Journal Animal Science**, v. 10, p. 321-323, 1995.

REDFORD, K. H.; ROBISON, J. G. Subsistence and commercial uses of wildlife in Latin America. In: _____. **Neotropical wildlife and conservation**. Chicago: University of Chicago Press, 1991. p. 6-23.

RENFREE, M. B.; HENSLEIGH, H. C.; McLAREN, A. Developmental changes in the composition and amount of mouse fetal fluids. **Journal Embryology Experimental Morphology**, v. 33, n. 2, p. 435-446, 1975

REZENDE, J.; MONTENEGRO, C. A. Trocas materno-ovulares. In: REZENDE, J. **Obstetrícia** 7. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 1995. p. 77-89.

ROBERTS, J. S. **Veterinary obstetrics and genital diseases**. 3. ed. Ann Arbor: Edward Brothers, 1986. 981 p.

ROBERTS, M.; MALINIAK, E.; DEAL, M. The reproductive biology of the rock cavy, *Kerodon rupestris*, in captivity: A study of reproductive adaptation in a trophic specialist. **Mammalia**, v. 48, n. 2, p. 253-266, 1984.

SAKURAGAWA, N.; ENOSAWA, S.; ISHII, T.; THANGAVEL, R.; TASHIRO, T.; OKUYAMA, T.; SUZUKI, S. Human amniotic epithelial cells are promising transgene carriers for allogeneic cell transplantation into liver. **American Journal of Human Genetics**, v. 45, n. 3, p. 171-176, 2000.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM – **SAS user's guide**: statistics. Versão 8. Cary: SAS, 2000.

SHEPARD, T. H.; TANIMURA, T.; PARK, H. W. Glucose absorption and utilization by rat embryos. **International Journal and Developmental Biology**, v. 41, n. 2, p. 307-314, Apr. 1997.

SOUZA, H. M.; CARDOSO, E. C.; BARNABE, V. H.; VALE, W. G. Alterações bioquímicas dos líquidos fetais de bubalinos com avanço da gestação. **Veterinary Brazilian Reproduction Animal**, v. 23, p. 178-79, 1999.

STOCKARD, C. R.; PAPANICOLAU, G. N. The existence of a typical oestrous cycle in the guinea pig with a study of its histological and physiological changes. **American Journal of Anatomy**, v. 22, p. 225-284, 1917.

STORER, T. I.; USINGER, R. L. **Zoologia geral**. 4. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1971. 757 p.

STRAYER, L. **Biochemistry**. 4. ed. New York: W.H. Freeman, 1995. p. 1064.

THONSEN, J. L.; EDELFORS, S. Cations (Magnesium, Potassium, Sodium), creatinine, bilirubin and osmolality of bovine fetal fluids. **Journal of Dairy Science**, v. 59, n. 2, p. 288-292, 1976.

TOMODA, S.; BRACE, R. A.; LONGO, L. D. Amniotic fluid volume regulation: basal volumes and responses to fluid infusion withdrawal in sheep. **American Journal of Physiology**, v. 252, p.380-387, 1987.

TOUMA, C.; PALME, R.; SACHSER, N. Different types in two closely related South America rodents (*Cavia aperea* and *Galea musteloides*) with different social and mating systems. **Reproduction**, v. 121, p. 791-801, 2001.

UCHIDA, S.; INANAGA, Y.; KOBAYASHI, M.; HURUKAWA, S.; ARAIE, M.; SAKURAGAWA, N. Neurotrophic function of conditioned medium from human amniotic epithelial cells. **Journal Neuroscience Research**, v. 62, n. 4, p. 585-590, Nov. 2000.

VON RICHTER, W. The utilization and management of wild animals. **Animal Research and Development**, v. 10, p. 93-103, 1979.

VOTTA, R. A. Aplicaciones clínicas del estudio de la creatinina del líquido amniótico. In: _____. **Investigaciones clínicas al conocimiento del estado fetal**. México: Panamericana, 1975. p. 59-63.

WEIR, B. J.; ROWLANDS, I. W. Reproductive strategies of mammals. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 4, p. 139-163, 1973.