MOACIR FRANCO DE OLIVEIRA

Placentação em mocós, *Kerodon rupestris* Wied 1820

São Paulo
2004

MOACIR FRANCO DE OLIVEIRA

Placentação em mocós, *Kerodon rupestris*, Wied 1820

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientador:

Profa. Dra. Maria Angelica Miglino

São Paulo
2004

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.1367 Oliveira, Moacir Franco de
FMVZ Placentação em mocós, *Kerodon rupestris*, Wied 1820 /
Moacir Franco de Oliveira. -- São Paulo : M. F. Oliveira, 2004.
208 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2004.

Programa de Pós-graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Profa. Dra. Maria Angélica Miglino.

1. Roedores. 2. Placentação. 3. Microscopia. I. Título.

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

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo macroscópico e microscópico da placenta de mocós, *Kerodon rupestris* (Wied, 1820) criados em cativeiro no semi-árido nordestino", Protocolo nº 77/2002, sob a responsabilidade da Profª Drª Maria Angélica Miglino, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado pela referida Comissão, em sessão de 05/06/2002.

(We certify that the Research "Study macroscopic and microscopic of the rocy cavi placenta, *Kerodon rupestris* (Wied, 1820) servants in captivity in the semi-arid Northeasterner" protocol number 77/2002, under the responsability of Profª Drª Maria Angélica Miglino, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in 06/05/2002 meeting.

São Paulo, 05 de junho de 2002

Profª Drª Júlia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome do autor: OLIVEIRA, Moacir Franco

Título: Placentação em mocós, *Kerodon rupestris*, Wied 1820

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

Data: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

RESUMO

OLIVEIRA, M. F. **Placentação em mocós, *Kerodon rupestris* Wied, 1820.** [Placentation in rocy cavi, *Kerodon rupestris*, Wied 1820]. 2004. 208 f. Tese (Doutorado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

Estudos de placentação foram desenvolvidos em quatorze fêmeas de mocós em diferentes fases de gestação. As fêmeas foram pré-anestesiadas associando-se cloridrato de quetamina (15mg/kg) e midazolan (1mg/kg). Em seguida anestesiadas com isoflurano em associação com oxigênio com 100% de saturação. Após a anestesia realizou-se a cirurgia para a exposição das estruturas fetais e a coleta de dados. Macroscopicamente, identificou-se uma placenta discoidal, o saco vitelínico e o âmnio de aspecto transparente e avascular. Microscopicamente, o cordão umbilical apresentou duas artérias, uma veia e o ducto alantoideano, além de uma artéria e uma veia vitelínicas. A placenta mostrou uma relação mesometrial com o útero e apresentou-se constituída por lóbulos delimitados por regiões de interlóbulo e, perifericamente, uma região de sincício marginal contendo locais com espongiotrofoblasto e células trofoblásticas gigantes. A subplacenta esteve composta por lóbulos e por trofoblasto de natureza sincicial e celular. O saco vitelínico apresentou uma porção parietal sustentada pela membrana de Reichert's e uma porção visceral muito vascularizada. Os estudos de placentação em mocós indicaram a presença de um útero bicórneo, uma placenta corioalantoídea discoidal e labiríntica, com barreira placentária hemocorial de subtipo hemomonocorial separando um fluxo sangüíneo materno-fetal do tipo contracorrente.

Palavras-chave: Roedores. Placentação. Microscopia.

ABSTRACT

OLIVEIRA, M. F. **Placentation in rock cavy, *Kerodon rupestris* (Wied, 1820).** [Placentação em mocós, *Kerodon rupestris*, Wied 1820]. 2004. 208 f. Tese (Doutorado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

Placentation studies of fourteen rock cavy females in different gestation phases were conducted. Females were pre-anesthetized associating ketamine chloridrate (15mg/kg) and midazolan (1mg/kg). Soon afterwards, they were anesthetized by isoflurane inhalation in association with oxygen at 100% saturation. After anesthesia, the surgery allowed to exhibit fetal structures and then data collection was performed. Macroscopically, a discoidal placenta, vitelline sack and the amnion of a transparent aspect and avascular, were identified. Microscopically, the umbilical cord presented two arteries, a vein and the allantoid duct, besides an artery and a vitelline vein. The placenta showed a relationship between the mesometrium and the uterus and was constituted by lobes delimited by interlobular areas and, peripherically, by an area of marginal syncytium containing places with spongiotrophoblast and gigantic trophoblastic cells. The subplacenta was composed by lobules and by a trophoblast of syncytium and cellular nature. The vitelline sack showed a parietal portion sustained by the Reichert's membrane and a well-vascularized visceral portion. The placentation studies in rock cavy indicated the presence of a bicornuate uterus, a chorioallantoid discoidal and labyrinthic placenta, with a hemochorial placental barrier of hemomonochorial subtype separating the maternal-fetal countercurrent sanguine flow.

Key- Words: Rodents. Placenta. Microscopy.

A Deus

Por ter permitido que eu trilha-se os melhores caminhos...

Os caminhos do bem comum

A minha esposa Raimundinha . . .

Pelo amor, carinho e compreensão.

Por dividir comigo todos os momentos nesta etapa de minha vida.

Desculpa pelas ausências em muitos momentos de convívio.

A Professora Maria Angelica Miglino

Pela liberdade para a execução deste trabalho.

Pelo carinho e a atenção que sempre demonstrou . . .

Por ter acreditado que eu era capaz.

Meu muito obrigado.

Aos meus Irmãos . . .

Lúcia, Juscelino, Jacira, Glicélia e Luciano.

Vocês foram minha primeira experiência de coragem.

Foram também objetivos de lutas e conquistas.

Adoro vocês!

Aos meus pais...

Enviados de Deus para eu vir ao mundo cumprir com minhas funções.

Irei sempre cumpri-las com responsabilidade e afeto.

A Família Brandão sem distinção de nomes

O incentivo inicial produziu um Doutor

Serei eternamente grato

Na vida conquistei espaços, busquei caminhos...

Isto me valeu lágrimas, desilusões, desalentos...

Contudo, permitiu que tivesse conquistas,
alegrias, risos

Mas, sobretudo o crescimento d'alma.

AGRADECIMENTOS

A realização de cada uma das etapas do presente trabalho foi fruto de muito esforço físico, mental e de muita dedicação. No entanto, agradecer as pessoas que de alguma forma contribuíram para que o mesmo pudesse ser concluído, constituiu-se na tarefa mais difícil, dado o cuidado que precisamos ter a fim de não sermos injustos com nenhuma delas.

Por isto, serei eternamente grato a cada um de vocês.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, pela oportunidade concedida.

À Escola Superior de Agricultura de Mossoró pela liberação para o Curso de Doutorado e por ceder os animais do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres para o experimento.

Ao Instituto Brasileiro de Meio Ambiente pela licença para utilização dos animais para o experimento

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) pela concessão de auxílio para o desenvolvimento deste trabalho.

A professora Maria Angelica Miglino pela paciência, amizade, e constante orientação durante todo o período de realização do Curso, fatores que somados constituíram-se em alicerce para realização deste trabalho.

Ao professor Antony M. Carter pela valiosa contribuição e sugestões dadas durante a realização deste trabalho, assumindo o papel de coorientador.

Ao professor José Fernando Gomes de Albuquerque pelo “acredito no potencial”.

Ao professor Idécio Luiz Sinhorini por ter cedido a estrutura do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Transmissão para processamento e análise de parte do material deste trabalho de Tese e por ter disponibilizado parte de seu precioso tempo com a interpretação do que estávamos analisando.

Aos Professores Pedro Primo Bombonato, Arani Nanci Bomfim Mariano, Antônio Augusto Coppi Maciel Ribeiro, Irvênia Luiza Maria Santis Prada, Francisco Javier Hernandez Blaquez pela atenção e orientação acadêmica todas as vezes que precisei.

Ao professor Odaci Fernandes de Oliveira pela identificação da vegetação utilizada na alimentação dos mocós e ainda pela correção do texto e emprego de determinados termos gramaticais.

As amigas Luciana de Oliveira Domingos, Marta Adami e Selma Maria de Almeida dos Santos. A amizade e carinho de vocês nos fizeram ver o quanto é bom o convívio com os colegas de um Curso de Doutorado.

A amiga Marina Bonatelli. Desculpe-me pelas inúmeras vezes que te perturbei com questões sobre placenta de roedores. Acredito que aprendemos juntos sempre que instigados pela professora Angélica.

A amiga Flávia Thomaz Verechia Pereira pela paciência e pelas lições de histologia. Tive muita sorte quando a Professora Angelica pediu para que me desse as orientações iniciais de histologia.

Aos amigos Carlos Gomes Ferreira, Marcelo Ismar Silva Santana, Luiz Sergio Ramadinho, Tânia Negreiros Faria, Paulo Menezes de Holanda Barros, Hildebrando Gomes Benedicto, Maria Amélia Zogno. Bem como, aos meus ex-alunos e hoje amigos de Pós-graduação Carlos Eduardo Bezerra de Moura e Wirton Peixoto da Costa. O convívio com vocês engrandeceu nossa alma.

Aos amigos Antônio Almeida dos Santos, Antônio Ribeiro e Caubi Rocha de Macedo pela disponibilidade, dedicação e incentivo que sempre me deram ao desenvolver meus trabalhos no Centro de Multiplicação de Animais Silvestres da Escola Superior de Agricultura de Mossoró. Sem a ajuda de vocês teria sido mais difícil a realização deste trabalho, por isso o “mestre” será sempre grato.

Ao amigo de Departamento Francisco Marlon Carneiro Feijó e ainda a amiga Nilza Dutra Alves pelas inúmeras vezes em que tiveram que resolver problemas meus, junto a Escola Superior de Agricultura de Mossoró, durante minha ausência.

A Dra Nilza Maria dos Reis Saraiva pelo carinho e atenção nos momentos que precisei de ajuda, bem como pela amizade e gentileza de me receber todas as vezes que estive em Fortaleza.

A Rosângela Felipe Rodrigues e Tatiana Carlesso dos Santos pela amizade, carinho e atenção.

A Daniele dos Santos Martins pelas acolhidas em sua casa e a enorme disponibilidade de ajudar.

A Alvanete Pereira Freire e Maria Miramar Veras, Chefe da Divisão de Pessoal e Secretária do Departamento de Medicina Veterinária/ESAM, respectivamente, pelo cuidado com o cumprimento de datas de envio de documentação durante o doutoramento.

A Ronaldo Agostinho da Silva pelo auxílio e compromisso assumido, com relação ao processamento do material de microscopia de luz e grande amizade.

A Shirlei Meire da Silva e ao Wanderley Lima Guidi pelo auxílio durante o processamento do material para análise em microscópio eletrônico de transmissão.

Aos funcionários Ana Paula Coppi Maciel Ribeiro, Edinaldo Ribas Farias “Índio”, Jaqueline Martins Santana e Kazue Takiishi e a pela ajuda e amizade.

As funcionárias da Biblioteca, dada a igualdade e excelente prestação de serviços aos seus usuários. Parte da apresentação deste trabalho é mérito do empenho de vocês em mostrar qualidade.

Por último gostaria de fazer um agradecimento especial aos amigos Antonio Chaves de Assis Neto “O nego”, Carlos Eduardo Ambrosio “Caju” e Danilo José Aires de Menezes...

... pela disponibilidade de tempo e paciência que tiveram comigo durante as longas horas de estudos de Anatomia no início do Curso.

... pela a atenção e carinho que sempre tiveram por mim e por Raimundinha.

O convívio com vocês facilitou o início de nossas vidas em São Paulo.

Por tudo...

Muito obrigado.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	22
1.1	CONSIDERAÇÕES GERAIS	22
1.2	ASPECTOS GERAIS DOS ROEDORES	23
1.3	BIOLOGIA DO <i>Kerodon rupestris</i>	24
1.4	JUSTIFICATIVA	26
2	OBJETIVOS	28
2.1	OBJETIVO GERAL	29
2.2	OBJETIVOS ESPECIFICOS	29
3	REVISAO DE LITERATURA	31
3.1	PLACENTAÇÃO EM ROEDORES: ASPECTOS GERAIS	32
3.2	PLACENTAÇÃO EM ROEDORES SUL-AMERICANOS	35
3.3	PLACENTAÇÃO DE ROEDORES	40
3.3.1	Dados biométricos	40
3.3.2	Útero	42
3.3.3	Cordão umbilical e as membranas fetais	45
3.3.4	Placenta principal e subplacenta	48
3.3.5	Placenta vitelínica	65
4	MATERIAL E MÉTODO	70
4.1	IDENTIFICAÇÃO DA ÁREA DE AMOSTRAGEM DOS ANIMAIS.....	71
4.2	CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE	72
4.3	ANIMAIS AMOSTRADOS	73
4.4	PROCEDIMENTO ANESTÉSICO-CIRÚRGICO	74
4.5	DADOS BIOMÉTRICOS: PLACENTA, FETO E CORDÃO UMBILICAL	75
4.6	MATERIAL PARA MICROSCOPIA	76
4.6.1	Preparação dos cortes histológicos para microscopia de luz .	76
4.6.2	Moldes para microscopia eletrônica de varredura	78
4.6.3	Cortes histológicos para microscopia eletrônica de transmissão	79
5	RESULTADOS	82
5.1	DADOS BIOMÉTRICOS: PLACENTA, FETO E CORDÃO UMBILICAL	83
5.2	CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS: PESO DA PLACENTA, PESO DO FETO, COMPRIMENTO DO FETO E DO CORDÃO UMBILICAL	85
5.2.1	Relação entre peso do feto e peso da placenta	85
5.2.2.	Relação entre o peso do feto e comprimento do cordão umbilical	86
5.2.3	Relação entre o peso do feto (wf) e comprimento do feto (Lf)	86
5.3	CARACTERIZAÇÃO DO ÚTERO GRAVÍDICO	88
5.4	CARACTERIZAÇÃO MACRO E MICROSCÓPICA DOS ANEXOS FETAIS	91

5.4.1	Cordão umbilical	92
5.4.2	Membranas fetais	97
5.3.3	Placenta: análise macroscópica	100
5.4.4	Placenta análise microscópica	102
5.4.4.1	Microscopia de luz	102
5.4.4.2	Microscopia de varredura	118
5.4.4.3	Microscopia eletrônica de transmissão	126
5.4.4.3.1	Decídua e zona juncional	126
5.4.4.3.2	Placenta e subplacenta	128
5.4.4.3.3	Placenta vitelínica	138
6	DISCUSSÃO	141
6.1	BIOMETRIA DA PLACENTA, DO FETO E DO CORDÃO UMBILICAL	142
6.2	CARACTERIZAÇÃO MACRO E MICROSCÓPICA DO ÚTERO.....	146
6.3	AS MEMBRANAS FETAIS	149
6.4	O CORDÃO UMBILICAL	153
6.5	MACROSCOPIA DA PLACENTA	154
6.6	PLACENTA DO MOCÓ: ANÁLISE MICROSCÓPICA	157
6.6.1	A decídua basal e a zona juncional	158
6.6.2	Caracterização do labirinto placentário	163
6.6.3	A subplacenta do mocó	166
6.6.4	O pedúnculo placentário	168
6.6.5	A placenta vitelínica na placentação do mocó	170
6.6.6	Vascularização da placenta	173
7	CONCLUSÕES	177
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	181
	REFERÊNCIAS	183
	ANEXO	197

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Nos parágrafos que se seguem procurou-se abordar alguns aspectos que tornam relevante os estudos com animais silvestres, bem como, caracterizar de forma sucinta os roedores e ainda a espécie em questão, a fim de melhor situar o assunto a ser tratado.

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A problemática em torno da biodiversidade do planeta tem levado pesquisadores a desenvolver trabalhos no campo da ecologia animal, abordando aspectos de interesses ecológicos a fim de preservar aquelas espécies ameaçadas de extinção. Dentro deste contexto, os animais silvestres, que diferem daqueles domesticados pelo conjunto de medidas adotadas pelo homem, modificando de forma gradativa e progressiva seu comportamento, fisiologia, anatomia e características genéticas, têm sido alvo destas pesquisas. Dentre estes aspectos, a biologia comportamental, a fisiologia e a anatomia têm assumido papéis de relevada importância, uma vez que, propiciam formas de conhecimentos que permitem ao homem entender como interagem determinados grupos de animais em ambiente natural ou mesmo em regime de cativeiro.

Desta forma, experimentos com o intuito de observar a anatomia de determinadas estruturas, relacionando-as com a funcionalidade e adaptabilidade

¹da espécie e seu comportamento no meio, requerem do pesquisador uma análise contínua de dados durante determinado período, de maneira a adquirir informações precisas a respeito da biologia da espécie que se quer estudar.

Estes estudos muitas vezes levam em consideração aspectos reprodutivos e alimentares, ritmos biológicos, comportamento social e características fisiológicas e morfológicas, sendo em sua grande maioria realizados em função da importância ecológica que a espécie apresenta. Neste último caso, enquadram-se roedores, tais como as cutias, as capivaras, as pacas e em especial os mocós, animais que, por suas exigências de habitat, correm maior risco de extinção quando comparados às demais espécies.

1.2 ASPECTOS GERAIS DOS ROEDORES

Os roedores são animais que oferecem extraordinárias variedades de adaptações ecológicas, suportando os mais variados tipos de climas e altitudes, podendo com isso apresentar grande diversidade de adaptações fisiológicas. Caracterizam-se por serem mamíferos com cérebro e placentação do tipo generalizado. Apresentam tamanho e formato de dentição característicos, por serem desprovidos de caninos e possuírem espaços bem definidos entre os incisivos e entre os molares (MILLEY; GIDLEY¹, 1918 apud MOOJEN, 1952), o que aliados ao aspecto geral da maioria das formas, os tornam facilmente

¹ Moojen (1952) faz referência a publicação de Milley; Gidley¹, 1918, mas não cita a mesma em sua bibliografia.

reconhecíveis. Podem, em função disto, apresentarem-se como arborícolas, rupícolas ou terrícolas, mas com capacidade de acomodarem-se parcialmente a mais de dois tipos de adaptações características.

Possuem hábitos gregários sem organização social definida, vivendo agrupados no mesmo lugar, cada um deles agindo essencialmente como indivíduo, sem cooperação com os demais. No entanto, desenvolveram para certas atividades diversos sinais sociais.

1.3 BIOLOGIA DO *Kerodon rupestris*

A família Caviidae, encerra um grupo de roedores que se afastam sob vários aspectos dos Hystriomorphia, principalmente pela formação da mandíbula a qual apresenta na face externa uma crista para inserção de uma das partes do masseter e que se prolonga ao nível dos alvéolos. Rood (1979) afirma que a família Caviidae é pequena e constituída por animais de pequeno porte e adaptados às condições de baixas altitudes. No Brasil é representada basicamente pelos gêneros *Kerodon*, *Cavia* e *Galea*.

Os mocós, *Kerodon rupestris*, apresentam a superfície dorsal do corpo com coloração cinza-clara, mesclada de preto e branco e a parte posterior das coxas de coloração castanho-ferruginosa (MOOJEN, 1952). Os adultos medem 410 milímetros e podem apresentar até um quilograma de peso vivo. São desprovidos

de clavículas e têm mandíbula alongada, na qual os dentes se distribuem de maneira especialmente particular quando comparado a outros tipos de roedores. Possuem cauda e pés tridáctilos, os quais são dotados de coxins calosos e unhas rígidas, o que lhes fornecem extrema habilidade para galgar superfícies pedregosas e troncos de árvores.

De acordo com Streilein (1982), acham-se distribuídos, no Brasil, em todos os Estados do Nordeste, e ainda podem ser encontrados ao norte do Estado de Minas Gerais, sendo restritos a áreas rochosas, especialmente serrotes e serras, mas algumas vezes podem ser encontrados em lajeiros de planícies.

Para Mares, Streilein e La Rosa (1982), os mocós são Caviidae que apresentam um habitat relativamente especializado quando comparado a outras formas da família Caviidae. Esta especialidade refere-se ao fato de que o grupo habita especialmente a caatinga do semi-árido do Nordeste brasileiro.

São animais gregários de hábitos crepusculares que passam o dia abrigados em tocas de rochas, saindo à tardinha e ao amanhecer para alimentar-se de brotos de galhos de árvores, pequenos arbustos e ramos de algumas espécies de plantas trepadeiras (MENDES, 1987).

Apresentam ciclo reprodutivo peculiar, já que as fêmeas podem, em cada período gestacional, que é relativamente longo, gerar um ou dois filhotes. De acordo com Kleiman, Eisenberg e Mariniak, (1979), dentro da família Caviidae são os animais que apresentam o maior período de gestação, o menor tamanho de ninhadas, o menor tamanho de concepto ao nascer, e a menor relação peso ao nascer/peso da mãe.

Segundo Lacher (1979) existe para o *Kerodon rupestris* um estro fértil pós-parto, as cópulas ocorrendo cerca de vinte e quatro horas após o parto. Em trabalho abordando aspectos reprodutivos da espécie, Roberts, Mariniak e Deal (1984) observaram que o período de gestação destes roedores é em média 75,9 dias, independentemente da idade do animal; Os mesmos observaram ainda que animais jovens quando acasalados com animais velhos tendem a atingir a maturidade sexual mais cedo do que quando convivem em grupos formados com animais de mesma idade. Também observaram que ocorre uma variação na idade da puberdade sexual (início da atividade reprodutiva) para machos e fêmeas, a média é cerca de 151 dias. Afirmaram os autores que a gestação longa e a maturidade sexual retardada, ocorrem possivelmente em virtude da especificidade de seu habitat.

1.4 JUSTIFICATIVA

No Brasil os trabalhos desenvolvidos com roedores muitas vezes estão associados a levantamentos sistemáticos ou mais especificamente a trabalhos de biologia básica com levantamento de espécies, geralmente associadas a determinado tipo de vegetação. Trabalhos abordando características de anatomia funcional ainda não têm sido desenvolvidos com roedores, salvo para aquelas espécies que desenvolveram interesse econômico. Estes estudos podem ser realizados em ambiente natural, contudo, quando em cativeiro tornam-se mais

viáveis dada a maior facilidade para observação e contenção dos indivíduos durante a realização de experimentos.

No Nordeste brasileiro a diversidade biológica é bastante reduzida, uma vez que, o fotoperíodo, a temperatura, a umidade relativa e a pluviometria atuam como fatores limitantes à vida biológica. Somado a estes fatores o homem, o qual por questões culturais e mesmo em função das condições sociais a que está sujeito, tem caçado de forma indiscriminada inúmeros roedores, levando muitos deles a riscos de extinção. Com base nestes aspectos, têm crescido de forma acentuada os estudos com animais silvestres brasileiros, sejam eles de caráter zootécnico, comportamental, reprodutivo, anatômico ou fisiológico, como forma de viabilizar a criação e manutenção destes animais em ambiente natural, bem como em cativeiro. Aliás, a utilização de espécies silvestres em projetos de desenvolvimento sustentável é oportuna, atual e necessária em nosso país.

Assim, considerando a importância ecológica que teria a viabilização da criação de *Kerodon rupestris* e ainda por esta espécie estar sendo criada em cativeiro no Centro de Multiplicação de Animais Silvestres, da Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró-RN, bem como a escassez de literatura a respeito de sua biologia de reprodução, sobretudo no que diz respeito a sua anatomia, procurou-se desenvolver o presente trabalho de pesquisa como forma de definir parâmetros que possam subsidiar um melhor potencial reprodutivo desta espécie.

Objetivos

2 OBJETIVOS

A fim de descrever a morfologia da placenta e dos anexos fetais do *Kerodon rupestris* estabeleceu-se os objetivos abaixo, subdividido-os em função das respostas que se queria obter.

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar macro e microscopicamente o útero, o cordão umbilical, a placenta e as membranas fetais de mocós, com base em dados biométricos, e técnicas de microscopia de luz, eletrônica de varredura e de transmissão, em diferentes fases de gestação.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o útero gravídico evidenciando a vascularização mediante o uso de técnicas de injeção de látex e dissecação;
- Caracterizar as membranas fetais e seu comportamento;
- Definir a disposição e número de vasos fetais no cordão umbilical de fetos;
- Verificar a incidência de gestação nos cornos uterinos, bem como o número de fetos por gestação;

- Descrever macroscopicamente a placenta considerando seu formato e vascularização;
- Estudar os dados mensuráveis dos anexos fetais mediante tratamentos estatísticos específicos;
- Determinar os valores médios de peso e diâmetro placentários;
- Determinar a eficiência placentária da espécie.
- Caracterizar com base em microscopia de luz as membranas fetais e o cordão umbilical dos fetos;
- Caracterizar a placenta com base na microscopia de luz, de varredura e de transmissão;
- Descrever as relações materno-fetais que se processam na placenta tomando como base o arranjo vascular da placenta;
- Determinar a direção do fluxo sanguíneo materno e fetal;
- Caracterizar os elementos que compõem a barreira placentária;
- Comparar os dados específicos obtidos neste trabalho com aqueles já determinados em outros roedores.

Revisão de literatura

3 REVISÃO DE LITERATURA

A presente revisão de literatura foi realizada levando em consideração o grupo animal ao qual o *Kerodon rupestris* pertence e, ainda ao assunto a ser pesquisado, neste caso, placentação de roedores, no sentido de criar condições para melhor compreensão e interpretação dos resultados.

3.1 PLACENTAÇÃO EM ROEDORES: ASPECTOS GERAIS

O sucesso da viviparidade em mamíferos, de acordo Abrahamsohn e Zorn (1993), depende de uma associação muito íntima entre tecidos maternos e embrionários para permitir um intercâmbio adequado de materiais entre ambos os organismos, sendo a implantação o primeiro passo para o estabelecimento desta associação.

Denker (1993) afirma que a condição para que a implantação ocorra em mamíferos euterianos requer que o trofoblasto chegue a um estado invasivo e que o endométrio tenha chegado a um estado de receptividade. Para que ela se processe, o trofoblasto através de sua membrana plasmática apical tem que se prender à membrana plasmática apical do epitélio uterino.

Como em geral as membranas plasmáticas epiteliais não são adesivas, isto representa um paradoxo biológico, provavelmente regulado por ações hormonais, uma vez que, esta condição ocorre garantindo a implantação e o conseqüente estado gravídico da fêmea.

O processo da gestação resultante destes mecanismos, de acordo com Hamlett e Rasweiler IV (1993), corresponde a uma série evolutiva de relações

morfológicas e fisiológicas no sentido de garantir a sobrevivência do embrião, variando seu grau de complexidade entre as diferentes espécies, a ponto de poder explicar como os mamíferos resolveram os diferentes problemas relativos a sua gestação, bem como expressar ainda o modo como a viviparidade pode ter evoluído para atingir sua expressão atual.

A condição para que a gestação ocorra e a partir daí se desencadeie o conjunto de processos que garantam a sobrevivência do embrião, este passa inicialmente pelo processo de implantação, o qual representa, por definição, o processo que se inicia com a morfogênese placentária, resultante da associação entre os tecidos de origem materna e fetal, através de um contato apropriado, e que tem sido amplamente usado em espécies nas quais o processo envolve a invasão pelo trofoblasto, acompanhado pela degradação dos tecidos maternos.

Entretanto, independentemente do grau de intimidade que possa vir a existir entre os organismos materno e embrionário, estes processos sempre envolvem pelo menos duas fases iniciais, comuns à todas as espécies, que correspondem às fases de aposição e adesão, resultando na interação entre o trofoblasto e o epitélio uterino de forma direta, promovendo a fixação do embrião ao epitélio uterino (SCHLAFKE; ENDERS, 1975).

Como consequência do processo de implantação, tem-se o desenvolvimento do embrião e a formação gradativa de seus anexos fetais: as membranas extra-embrionárias, o cordão umbilical e a placenta, e ainda a conseqüente condição gravídica, que se processa com particularidades específicas entre as diferentes espécies de fêmeas de mamíferos.

A placenta, órgão que se forma em função do sucesso da implantação do blastocisto no útero, representa o órgão funcional da unidade biológica materno-

fetal e é, tanto do ponto de vista morfológico como funcional, um órgão muito complexo, que no curso de seu desenvolvimento apresenta não somente modificações quantitativas e qualitativas de sua estrutura macroscópica geral, mas também diversas modificações microscópicas que são habitualmente descritas como testemunhos de seu envelhecimento ou maturação.

Amoroso (1959) considera que nos diversos grupos de mamíferos a placenta funciona como estrutura de troca com importância diferencial, dependendo do seu tipo. Segundo o mesmo algumas apresentam importância secundária, enquanto, outras uma estrutura temporária, que se modificam ao longo do período gestacional, com diferente grau de eficiência de trocas materno-fetal, nos inúmeros grupos de mamíferos.

Dantzer e Leiser (1997) definem a placenta como sendo um órgão composto por dois compartimentos geneticamente diferentes, uma parte materna e outra fetal, com grande diversidade de tamanho, arquitetura e componentes da barreira materno-fetal, sujeitos a um padrão de variabilidade nos diferentes mecanismos, que são ativados no seu desenvolvimento, garantindo a formação de um órgão altamente eficiente para a troca respiratória, e também às trocas de nutrientes e metabólitos.

Leiser e Kaufmann (1994) descrevem que, durante a gravidez de vertebrados vivíparos, se desenvolve um sistema complexo de membranas nutricionais que envolvem o feto e que, como resultado da inter-relação que passa a existir entre elas, uma placenta é formada em todos aqueles lugares onde estas são opostas ou estão unidas à mucosa uterina, com propósito de garantir as trocas materno-fetais. Para este fim, uma variabilidade extra-ordinária de estruturas placentárias têm se desenvolvido em mamíferos.

Esta variabilidade refere-se ao tipo e número de membranas envolvidas ao formato externo do órgão, ao modelo geométrico da interdigitação das superfícies materna e fetal ao tipo e número de camadas de tecidos separando o sangue materno e fetal, que constituem a barreira placentária, e ao modelo geométrico dos vasos sangüíneos materno e fetais.

O modo como surgem estas modificações no curso da organogênese e como elas se acentuam em função da duração da gestação, correspondendo a um aumento da atividade placentária, para alguns ou diminuição desta atividade para outros, tem levado pesquisadores a conduzirem inúmeros trabalhos, utilizando a placenta e os demais anexos embrionários de diferentes espécies de mamíferos. Estas investigações acerca da placenta e dos demais anexos fetais têm sido realizadas com base em diferentes técnicas de microscopia e processamentos histológicos.

Dado o grande número de características morfofuncionais descritas, em estudos com placentas, procurou-se apresentá-los segundo dois grandes itens: o primeiro abordando os trabalhos desenvolvidos com placenta de roedores sul-americanos e o segundo abordando trabalhos realizados com roedores, em geral.

3.2 PLACENTAÇÃO EM ROEDORES SUL-AMERICANOS

Trabalhos abordando caracteres morfológicos e a morfogênese da placenta de roedores, no Brasil, ainda são muito escassos, especialmente, quando se trata de espécies silvestres. Contudo, descreveu-se alguns destes trabalhos, sobretudo aqueles que pareceram possuir maior importância para o

estabelecimento de análises comparativas da estrutura placentária e dos demais anexos fetais entre roedores.

Estudando as membranas fetais da cutia dourada (*Dasyprocta aguti*) Carvalho et al. (1996), analisaram a constituição anatômica das membranas fetais de uma cutia dourada e classificaram o útero como bicornuado, ricamente vascularizado, em face da gestação, e com paredes intensamente delgadas permitindo a visualização das membranas fetais e seus líquidos. Os cornos uterinos apresentaram um rápido afilamento na região de transição com a tuba uterina. Os vasos arteriais mostravam trajeto tortuoso e eram bem mais numerosos quando comparados aos vasos venosos.

Em estudo macro e microscópico da placenta hemocorial de seis capivaras (*Hydrochoerus hydrochoeris*), capturadas no Pantanal Matogrossense, Ferraz et al. (1997) observaram que ambos os cornos do útero bicornuado estavam gestantes e que o mesométrio mostrava muitos e tortuosos vasos. As membranas fetais da capivara definiam uma depressão na mucosa uterina, correspondente ao local de encaixe da placenta. A área de implantação apresentou-se circular e o alantóide e âmnio possuíam aspecto transparente.

Bonatelli (2001) que analisou morfológicamente placentas em estágios intermediário e final de gestação, em nove pacas (*Aguti paca*), com auxílio de microscópio de luz e microscópio eletrônico de transmissão, afirma que a paca é um roedor dotado de uma placenta do tipo vitelínica e outra do tipo corioalantóidea. A placenta vitelínica possui uma área visceral, composta por dobras e vilos com numerosas projeções digitiformes, e uma área vitelínica parietal revestida por células endodérmicas e por células trofoblásticas diferenciadas, denominadas espongiotrofoblastos, encontrada apenas em

placentas em estágio intermediário de gestação. A placenta corioalantóidea é labiríntica e composta de lóbulos com três regiões distintas; o centro do lóbulo, contendo artérias e veias circundadas por células trofoblásticas; o labirinto, caracterizado como a região de maior local de trocas materno-fetais; e o interlóbulo, como região comum a vários lóbulos placentários compostos por cordões trofoblásticos de natureza sincicial. O fluxo sangüíneo com base no comportamento dos vasos placentários foi classificado como do tipo contracorrente e a barreira placentária como hemomonocorial.

O comportamento das membranas fetais da paca (*Aguti paca*) foi descrito em um único exemplar por Machado et al. (1996), os quais utilizaram látex Neoprene colorido injetado no sistema arterial. Externamente no corno uterino gestante identificaram uma disposição radiada das ramificações arteriais uterinas e útero-ovarianas e várias anastomoses. Um único feto, localizado no corno uterino esquerdo foi visto envolvido pelas membranas fetais. A membrana corioalantóidea apresentava em sua extensão duas veias bem evidentes funcionando como tirantes de sustentação. Observaram ainda pequena quantidade de líquido amniótico e alantóideo e uma placenta do formato discoidal.

Miglino et al. (1996) estudaram as membranas fetais e o útero gravídico de seis exemplares de capivara (*Hydrochoerus hydrochoeris*). O útero do roedor foi classificado como bicornuado, e podia apresentar ambos os cornos gestantes com formato fusiforme no local onde se situavam os fetos. Na área de implantação podiam ser vistos inúmeros vasos dilatados e tortuosos, diferentemente dos que se dirigiam para as áreas circunvizinhas, que eram retos e finos.

Neves (2000), em trabalho de tese de doutorado com biologia da reprodução de cutias, estudou o útero gestante e a morfologia da placenta e do cordão umbilical de nove cutias criadas em cativeiro. Neste estudo ele descreve os vasos que suprem o útero gravídico, os aspectos macroscópicos da placenta e os vasos e ductos que compunham o cordão umbilical. A placenta da cutia, segundo suas observações, apresentava lóbulos placentários reunidos por um espesso tecido colágeno, cada um apresentando um “centro lobular”. O cordão umbilical apresentou-se constituído por três artérias, uma veia e um ducto alantóide com lúmen irregular e com parede fina quando comparado às paredes dos vasos do funículo umbilical.

Ferraz (2001), em estudo macro e microscópico de onze placentas de termo de capivara (*Hydrochoerus hydrochoeris*), utilizando técnicas para uso de microscópio de luz e de microscopia eletrônica de transmissão, identificou uma placenta vitelínica e uma placenta corioalantóidea constituída por lobos e lóbulos placentários, irregulares, coexistindo juntas até o final da gestação, exibindo uma forma discóide irregular e fixada à região mesometrial do útero pelo pedúnculo placentário. Um sistema vascular materno-fetal realizava trocas através de um sistema de contracorrente e a barreira placentária era do tipo hemomonocorial, constituída de sinciciotrofoblasto como o principal componente celular.

Ferreira et al. (2002) desenvolveram trabalho onde descrevem macroscopicamente a placenta e as membranas fetais do ratão do banhado (*Myocastor coypos*), considerando o fato de que esta espécie encontra-se em processo de extinção, bem como visando criar perspectivas de melhorias na reprodução destes animais. No animal estudado os autores identificaram, com as membranas fetais ainda intactas, a presença de um resquício do pedículo

vitelínico, causando uma pequena retração do alantocório ao lado direito com relação ao feto. O alantocório apresentou-se com intensa vascularização e a bolsa amniótica aparentemente avascular era bem translúcida. O cordão umbilical apresentou-se com formato de “Y”, com um ramo vascular ligando o feto à placenta e um outro ligando o feto à membrana alantoídea, apresentando no seu trajeto uma estrutura discoidal de onde se originam os demais vasos do alantocório. Já a placenta foi classificada como discoidal e lobada.

Pesquisando a morfologia da placenta e anexos fetais da paca (*Aguti paca*), Silva (2001) descreve macro e microscopicamente o cordão umbilical e observa, com base em medidas obtidas do comprimento dos cordões umbilicais e do comprimento fetal, que o comprimento do cordão equivale a metade do comprimento fetal. Também verifica, com base na técnica de dissecação empregada, que o cordão umbilical apresenta duas artérias e uma veia umbilicais, o ducto alantóide e vasos onfalomesentéricos envoltos pelo mesênquima fetal (geleia de Wharton). Microscopicamente, descreve ainda as camadas que compõem as artérias e veias, o lume dos vasos e o epitélio que constituía a parede do ducto alantóide como sendo do tipo bi-estratificado cúbico.

Rodrigues (2002) estudou a morfologia e a microvascularização de placentas de cutias (*Dasyprocta aguti*) em diferentes fases de gestação. Macroscopicamente, ela descreveu a placenta como esférica e estruturalmente lobulada, conectada ao útero através de uma mesoplacenta e, microscopicamente, como sendo constituída por interlóbulos delimitando lóbulos placentários. Com base em resultados encontrados na microscopia de varredura, a autora sugeriu um modelo de fluxo sanguíneo do tipo contracorrente, onde o

sangue fetal flui centriptamente do interlóbulo para o centro do lóbulo, enquanto o sangue materno desloca-se centrifugamente.

Considerando a natureza hemocorial, labiríntica, o fluxo sangüíneo placentário e a proporção entre o peso da placenta e o peso do feto, a mesma, afirma ter a placenta alto grau de eficiência.

3.3 PLACENTAÇÃO DE ROEDORES

Nos Estados Unidos e na Europa pesquisas envolvendo os anexos fetais de roedores e mamíferos em geral, vem sendo realizadas já há bastante tempo. Muitas delas na tentativa de estabelecer relações filogenéticas entre os diversos grupos de roedores, ou então no sentido de definir o papel destas estruturas na relação materno-fetal que se estabelece durante o desenvolvimento do embrião.

Para melhor apresentar parte dos resultados destas pesquisas decidiu-se por descrever dados referentes aos trabalhos publicados sobre o assunto, relacionando-os de acordo com os tipos de resultados obtidos.

3.3.1 **Dados biométricos**

Examinando placentas de coelhos em diferentes estágios da gestação, Bruce e Abdul-Karin (1973) utilizaram uma análise múltipla de regressão linear e observaram a existência de uma relação positiva entre o peso fetal e o peso da

placenta. De acordo com os mesmos, o peso do feto e da placenta aumentam rapidamente, com o período da gestação, mas a relação varia com seu desenvolvimento, embora seja mantido um coeficiente de regressão positivo em todas as fases de prenhez analisados.

Duncan (1969) afirma que o peso do feto e o peso da placenta em coelhos próximo à parição relacionam-se de forma positiva e que esta relação estaria associada a origens causais ou podem ser devidos a fatores como o genótipo dos conceitos e a sua posição no corno uterino.

Norman e Bruce (1979), estudando as relações entre o peso do feto e da placenta de ratas, definem os pesos médios dos fetos e das placentas e correlacionam as duas variáveis utilizando análise de co-variância e coeficiente de correlação comum, obtendo uma correlação positiva entre o peso do feto e da placenta aos treze dias da gestação e uma correlação negativa para o peso da placenta aos dezessete dias da gestação e não para o peso do feto, com relação ao tamanho da prole. De acordo com os autores, fatores como o tamanho da ninhada, posição do feto no corno uterino, o sexo do feto e talvez o peso da placenta afetam o peso fetal dos ratos a termo.

Schneider (1996) define a placenta como um órgão que realiza uma variedade de funções que são assumidas na vida pós-natal por órgãos diferentes, cujo objetivo é a homeostase de um ambiente protegido para o crescimento e desenvolvimento do embrião e do feto. Com base nisto afirma que o padrão básico do crescimento placentário e fetal em diferentes espécies de mamíferos mostra similaridades gerais. Por exemplo, o crescimento da placenta no início da prenhez excede o crescimento do feto, enquanto que, na metade da gestação cresce muito mais lentamente que o peso do feto. Isto se dá em função de

mudanças estruturais que conduzem a um aumento enorme da capacidade funcional da placenta.

Tam e Burgess (1977), analisando parâmetros de crescimento de componentes teciduais da placenta do porquinho-da-índia, observaram que os maiores valores absolutos encontrados para o peso da placenta e do feto estiveram ao redor dos trinta e cinqüenta e três dias da gestação e a fase de crescimento do feto deu-se aos quarenta e cinco dias do término da gestação.

3.3.2 Útero

O útero é a estrutura anatômica onde o desenvolvimento embrionário dos mamíferos euterianos se processa. Tal desenvolvimento ocorre segundo características ontogênicas e filogenéticas próprias de cada espécie e, por essa razão, tem proporcionado os mais variados estudos.

Em estudos com placentação, Danter, Leiser e Kaufmann (1988) admitem que no início da prenhez, em roedores de laboratório, a luz do útero muda de uma forma irregular para uma luz com criptas na mucosa, que possui orientação antimesometrial-mesometrial antes do blastocisto anexar-se ao epitélio luminal, iniciando uma resposta decidual antes mesmo do trofoblasto alcançar a lâmina basal do epitélio uterino. Conforme Enders e Welsh (1993) estas modificações nas células epiteliais do lume uterino ocorrem como forma de facilitar a penetração do trofoblasto e caracteriza-se pela presença de apoptoses.

Egund e Carter (1974) usaram técnica de angiografia para descrever a circulação uterina e placentária do porquinho-da-índia e caracterizaram o útero

destes animais como do tipo bicornuado, com cada corno uterino recebendo seu fluxo sangüíneo por anastomoses da artéria uterina com a “ipsilateral” artéria ovariana. Em ambos os lados a artéria uterina surgia da artéria ilíaca interna, enquanto, as ovarianas surgiam da aorta sobre o mesmo nível que as artérias renais.

A morfogenia das membranas fetais do pika americano (*Ochotona princeps*) foi estudada por Harvey (1959) em duas fases de gestação. O útero foi descrito como uma estrutura circular dividido em três regiões: o perimétrio, o miométrio e o endométrio. Este último revestido por uma camada de epitélio colunar simples com pregas endometriais que se estendiam por todo comprimento da cavidade uterina. Durante o processo de implantação do blastocisto no corno uterino o mesmo relata a ocorrência, ocasionalmente, de leucócito polimorfonuclear, além da presença de leucócitos, eritrócitos e células epiteliais na luz uterina, que indicam degeneração histolítica progressiva do tecido uterino.

Observando a anatomia e histologia do sistema reprodutor do nutria (*Myocastor coypus*), Matamoros (1981) constatou que o útero era bicórneo, cada corno medindo aproximadamente 12 cm de comprimento e externamente unia-se por meio de uma membrana delgada, formando um falso corpo. Nas fêmeas gestantes, observou no corno não gestante, que o endométrio possuía glândulas uterinas bem desenvolvidas e um epitélio cilíndrico recoberto por uma camada muscular delgada protegida por uma camada serosa.

Estudando as membranas fetais de *Geomys sp*, como um tipo intermediário de formação da membrana fetal de roedores, Mossman e Hisaw (1940) descreveram que nestes animais o útero provavelmente era dúplex, pela

presença de duas aberturas cervicais parcialmente fundidas identificadas no seu interior. Seus cornos uterinos tinham tamanho relativamente curto e eram espessos quando comparados à maioria dos roedores, assemelhando-se ao do porquinho-da-índia e achavam-se fundidos, externamente, a aproximadamente 1,5 cm sobre a cérvix.

Oduor-Okelo e Gombe (1982), em trabalho com placentação do rato-de-cana (*Thryonomys swinderianus*), um histricomorfa que habita o novo e o velho mundo, descrevem o útero deste como bicórneo, com os cornos se abrindo dentro da vagina por duas aberturas cervicais laterais distintas. Além disto, os úteros não prenhes analisados apresentavam lume revestido por um epitélio cúbico simples.

Perrota (1959), estudando as membranas fetais de um roedor histricomorfa, o porco-espinho canadense (*Erethizon dorsatum*), descreve a morfologia das membranas fetais e do útero considerando uma série de particularidades que envolvem a reprodução da espécie. O útero foi descrito como um tipo de transição entre dúplex e bicórneo, cada corno uterino, como moderadamente longo, abrindo-se em um braço da longa cérvix. Externamente, a porção caudal dos cornos aparecia unida. Contudo, em cortes histológicos eles eram vistos separados por um septo muscular. O miométrio era formado por fibras longitudinais e circulares e o epitélio classificado como colunar alto.

Segundo Ramsey e Donner (1980), o útero obtém sua provisão sangüínea predominantemente da aorta pela ilíaca interna e artérias uterinas. Fontes secundárias incluem a mesentérica “inferior”, a média “facial”, a epigástrica “inferior”, a pudenda externa e as artérias ovarianas. Ramos das artérias uterinas penetram a parede uterina bilateralmente e vão emitindo pequenas artérias que se organizam em arcada.

Pesquisando sobre o desenvolvimento e histologia da placentação de chinchila (*Cavia aparea*), Tibbitts e Hillemann (1959) afirmam que o útero nestes animais é do tipo dúplex, com os cornos abrindo-se em dois orifícios laterais a cérvix na vagina e suspensos pelos ligamentos largos na parede celomática dorsal. Tais ligamentos levam vasos sangüíneos aos cornos e também ao feto e à placenta materna. A mucosa uterina achava-se coberta por um epitélio colunar simples, contínuo, e possuía glândulas tubulares que se abriam na luz do útero.

Verkeste et al. (1998), avaliando a extensão da invasão do trofoblasto na arquitetura vascular preplacentária do porquinho-da-índia e a forma de invasão do trofoblasto na estrutura vascular do mesométrio e miométrio, sugerem que em gravidez normal as mudanças estruturais observadas em artérias espirais sejam uma condição prévia para a placentação apropriada e a instituição de um fluxo de sangue placentário adequado. Segundo Pignenborg et al. (1980), estas mudanças estruturais em artérias espirais seriam induzidas por invasão endovascular de células trofoblásticas, durante a primeira metade da gestação.

3.3.3 Cordão umbilical e as membranas fetais

Barone (1976) descreve que o cordão umbilical em animais domésticos é composto pelos vasos umbilicais, pelo pedículo do alantóide e pelo pedículo do saco vitelínico, que inclui os chamados vasos onfalomesentéricos, estando todos envoltos pela gelatina Wharton.

Fischer (1971), estudando a placentação no castor americano (*Castor canadensis*), descreve que o âmnio apresentava-se pregueado e que o saco

vitelínico sofre inversão tardiamente e encontrava-se provido de sangue por artérias vitelínicas grandes.

Considerando o fato de que as membranas fetais têm significação filogenética, Hillemann e Gaynor (1961) estudaram a placentação do nutria (*Myocastor coypus*), comparando com outros histricomorfos. Com base em suas observações o cordão umbilical mostrou-se revestido por um epitélio escamoso simples contínuo, representado pelo âmnio, inserido ventralmente na superfície fetal da placenta e abrigando duas artérias e uma veia umbilicais, além de uma artéria e uma veia vitelínicas. O ectoderma amniótico era formado por um epitélio escamoso cúbico simples, com núcleos ovóides ocupando posição central da célula, não demonstrando evidência de que fosse vascularizado próximo ao disco e nem por vasos vitelínicos.

Leiser e Kaufmann (1994), em publicação sobre a estrutura placentária considerando critérios comparativos em diversos grupos de mamíferos, colocam que o cório, âmnio, saco vitelínico e alantóide são estruturas membranosas diretamente relacionadas com o desenvolvimento placentário. O cório corresponde a uma camada epitelial derivada da parede blastocística externa, que corresponde ao trofoblasto, e nunca desenvolve vasos. O âmnio corresponde a uma camada epitelial com função de suporte que rodeia o embrião ou feto em desenvolvimento. O saco vitelínico consiste numa camada de epitélio endodérmico vascularizado por vasos vitelínicos. Por último o alantóide, formado por mesênquima ricamente vascularizado que se conecta ao cório parcial ou completamente para formar a circulação embriônica formando a placenta corioalantóica de grande número de mamíferos.

Lordy (1940) descreve que cordão umbilical é revestido pelo epitélio amniótico e ainda considera que o estrato conjuntivo amniótico adere-se intimamente à substância fundamental do cordão conhecida como geléia de Wharton (mesênquima fetal), a qual é composta por tecido mesenquimatoso, com células estreladas e substância fundamental amorfa, contendo muito glicogênio.

Luckett (1968), estudando a morfogênese da placenta e das membranas fetais em um tipo de insetívoro, considera que o aparecimento do saco vitelínico é relativamente semelhante durante as fases iniciais da gestação, na maioria das ordens de mamíferos, contudo, várias modificações podem acontecer durante as fases posteriores da gestação. De acordo com Mossman (1937), o saco vitelínico pode tornar-se completamente vascularizado e persistir como uma estrutura relativamente grande, ou então, ser completamente vascularizado, mas tornar-se extremamente reduzido ou vestigial em fases adiantadas da gestação e por último pode ser completamente invertido.

Stewart (1993) afirma que as membranas extra-embriônicas dos amniontes são partes estruturais com importância substantiva na ontogênese do organismo e que o saco vitelínico, sendo a primeira destas estruturas a se desenvolver, tem uma função importante no regulamento e mobilização da nutrição para o embrião de espécies ovíparas, e adicionalmente contribui para trocas materno-fetais em muitas espécies vivíparas.

Tibbitts e Hillemann (1959) estudaram o desenvolvimento e histologia placentária de chinchilas (*Chinchilla laniger*) utilizando técnicas de injeção de látex, resina vinílica, tinta da Índia, clareamento por glicerina e hidróxido de potássio e técnicas histológicas para microscopia de luz. Ao descreverem o cordão umbilical em fetos de termo, afirmam que o comprimento do mesmo era

igual a 20 mm, em média e apresentava cinco vasos principais, duas artérias e uma veia umbilicais, uma artéria e uma veia vitelínicas e a vesícula alantoídea composta por um epitélio cúbico simples. Além disso, observaram recipientes sangüíneos menores e células sangüíneas dispostas na substância gelatinosa do cordão.

3.3.4 Placenta principal e subplacenta

As espécies da classe Rodentia, em geral, possuem placenta discoidal, labiríntica e hemocorial. Entretanto, vários elementos celulares ou não celulares (subplacenta, placenta vitelínica, membrana de Reichert's e células gigantes) são encontrados em sua massa mesenquimal, estimulando pesquisadores a investigar seu desenvolvimento, estrutura e função durante a prenhez.

A porção materna da placenta resulta da interação entre os tecidos maternos e a membrana coriônica a partir do local onde se instala a reação decidual, enquanto a formação da placenta fetal inicia-se ao fim da primeira metade da gestação, quando o mesoderma alantoideano alcança a região basal do cone ectoplacentário e torna o cório vascularizado (MUNTENER; HSU, 1977; SNELL; STEVENS, 1966). Este mesênquima fetal invade o interior do cone ectoplacentário, sendo margeado por células trofoblásticas, e constitui a principal região de trocas da placenta, que corresponde ao labirinto.

Dependendo da forma como os tecidos maternos e fetais desenvolvem interações, durante a gestação dos mamíferos, as placentas podem ser classificadas como epiteliocorial, sindesmocorial, endoteliocorial e hemocorial

(PIJNENBORG et al. 1981). Nesta linha de raciocínio as placentas de roedores e primatas são classificadas como do tipo hemocorial, uma vez que nestes animais a interação materno-fetal, resulta da invasão do leito vascular uterino pelo trofoblasto, que passa a ser banhado pelo sangue materno extravasado (MOSSMAN, 1937, 1987; SCHLAFKE; ENDERS, 1975; STEVENS, 1993; WELSH; ENDERS, 1991).

Entender estes mecanismos de interação tem sido o objeto de estudos de grande número de pesquisadores, alguns deles citados ao longo deste levantamento bibliográfico.

Abrahamsohn (1983), pesquisando a ultra-estrutura de placenta e a decídua antimesometrial em ratas, entre o quinto e oitavo dias de gestação, observou que as primeiras células deciduais eram poligonais com núcleos arredondados e nucléolos proeminentes, além de possuírem ribossomos livres no citoplasma. Observou que entre o sétimo e oitavo dias estas células apresentavam-se com grandes cisternas de retículo endoplasmático granular e agranular, além de complexo de Golgi bem desenvolvido e um elevado número de mitocôndrias e lisossomos, que indicavam o processo de involução da decídua ao longo da gestação.

Enders e Welsh (1993), tratando sobre o estabelecimento da condição hemocorial da placenta afirmam que o modo de evitar contato prolongado do trofoblasto com tecido conjuntivo materno é que promove migração rápida do trofoblasto no endométrio e invasão de vasos maternos para estabelecer a condição hemocorial. Em ratos, eles observam que se desenvolve uma placenta hemotricorial labiríntica, contendo o trofoblasto em contato com o tecido conjuntivo materno não modificado, e que a resposta decidual inicia-se em função

da presença do blastocisto na luz do útero decidual, antes do trofoblasto alcançar a lâmina basal do epitélio uterino.

Segundo Ansell, Barlow e McLaren (1974), o desenvolvimento da decídua em roedores está associado com a produção de células multinucleadas e gigantes. Em ratos, são identificadas células binucleadas, que aparecem ao longo da zona secundária ou antimesometrial da decídua pelo oitavo dia de gravidez (KREHBIEL, 1937). Em camundongos, esta região caracteriza-se por apresentar células bi, tri ou tetranucleadas (SNELL; STEVENS 1966).

As funções destas células, em placentas de ratos e camundongos, foram investigadas por Deane et al. (1962), na tentativa de entender as prováveis funções delas na produção de hormônios esteróides, capacidade invasiva e fagocítica, uma vez que são vistas na periferia da placenta fetal, em associação íntima com a decídua e com seios de sangue materno.

Estudando o sinciotrofoblasto em placentas de termo do degu (*Octodon degus*) com auxílio de microscópio eletrônico de transmissão e de varredura, Bosco, Diaz e Borox (1997) utilizaram placentas de fêmeas com sessenta e noventa dias de gestação. Nas placentas com sessenta dias de penhez, a subplacenta ao microscópio de luz mostrou-se volumosa e imbricada entre a placenta e a decídua basal e constituída por sinciotrofoblasto e alguns capilares separados por mesênquima fetal. Contudo, nas placentas com noventa dias não foi observada a subplacenta. Nelas pode ser identificado um sincício labiríntico falso aparentemente separado do sincício verdadeiro, também labiríntico localizado junto a espaços maternos no centro do órgão.

Carter (2001), analisando evolutivamente a placenta e as membranas fetais com base na filogenia molecular, sugere que a transição da placentação

epiteliocorial para a hemocorial aconteceu de forma independente entre morcegos, roedores, primatas antropóides, tatus e outros mamíferos, e que a placenta do tipo coriovitelinica, resultante da fusão do cório com o saco vitelínico, que ocorre de forma definitiva em mamíferos Prototerianos, seria uma característica filogenética ancestral, uma vez que nos mamíferos Euterianos ela ocorre transitoriamente, sendo posteriormente substituída por uma placenta corioalantoídea, que seria, segundo (LUCKETT ¹, 1976 apud CARTER, 2001) uma característica avançada na placentação dos mamíferos.

Danter, Leiser e Kaufmann (1988), descrevendo os aspectos morfológicos comparativos da vascularização de placentas de mamíferos caracterizaram conjuntamente, a arquitetura vascular da placenta do chinchila e porquinho-da-índia, classificando a placenta destas espécies como sendo discoidais, labirínticas e hemomonocorial, compostas por lóbulos supridos por capilares fetais e lacunas maternas. Nestas o labirinto, que constitui os lóbulos placentários, é formado no estágio inicial do desenvolvimento placentário, quando um volume de trofoblasto é penetrado por canais, que contêm alternadamente sangue materno e capilares fetais.

Descreveram ainda a vascularização placentária, onde observaram que as artérias fetais se ramificam na base do cordão umbilical, originando ramos que desenvolvem pequenas artérias que correm paralelas à margem labiríntica interlobular, desenvolvendo ao longo de sua passagem uma rede capilar que se irradia quase que centriptamente em direção à veia fetal, localizada centralmente

¹- LUCKETT, (1976) apud CARTER, A. M. Evolution of the placenta and fetal membranes seen in the light of molecular phylogenetics. **Placenta**, v. 22, n. 10, p. 800-807, 2001.

no labirinto de cada lóbulo. As veias centrais dos lóbulos conectam-se a veias perpendiculares e por conseguinte conectam-se à veia umbilical.

A rede arteriolar materna segue para os centros lobulares onde se ramificam em uma rede lacunar materna. Esta é contínua, com diversas lacunas venosas maternas na periferia do lóbulo, de modo que a corrente de sangue capilar fetal dá-se da periferia do lóbulo para o centro e o sangue materno desloca-se do centro para a periferia.

Estudando o desenvolvimento, histologia e a histoquímica da subplacenta do porquinho-da-índia (*Cavia porcellus*), Davies, Dempsey e Amoroso (1961) descrevem que no meio da gestação a placenta corioalantóidea é composta por um sincício grosso contendo apenas seios de sangue materno e um sincício fino contendo seios maternos e vasos fetais. Com base nas observações realizadas em microscópio eletrônico de transmissão e microscopia de luz, eles definem a subplacenta como uma região especializada do cório resultante da proliferação e pregueamento do ectoderma fetal na base da escavação central ou mesodermal no centro da placenta corioalantóidea, formada por lamelas de citotrofoblasto inserido em mesênquima corioalantoideo, que se diferencia em sinciciotrofoblasto, ao longo da gestação, mas separado por uma membrana basal fina.

Os núcleos das células citotrofoblásticas foram considerados grandes, com nucléolos proeminentes. O citoplasma era basófilo, finamente granular e continha algumas mitocôndrias. Já o sinciciotrofoblasto era limitado, externamente, por uma membrana celular bem definida e o citoplasma possuía aspecto grosseiramente granular, contendo algumas mitocôndrias e grandes vacúolos.

Davies e Glasser (1968) fizeram observações histológicas na estrutura fina da placenta de ratas aos doze e vinte dias da gestação utilizando microscópio de luz e microscópio eletrônico de transmissão. A decídua basal no início da gestação era representada por uma zona fibrosa e estreita de células estromais condensadas, que se coravam fortemente pela eosina. Denominaram de labirinto a zona da placenta da rata na qual são encontradas lacunas vasculares maternas e vasos fetais, e de zona basal a zona em que são encontradas apenas lacunas vasculares maternas.

A subplacenta representava uma região ocupada por uma massa volumosa de células vacuoladas de um lado e com a glândula metrial do outro e ainda com ilhotas vacuoladas correspondentes a células de glicogênio. Os vasos maternos grandes atravessavam a decídua basal para a base da placenta e estavam revestidas por um endotélio aparentemente normal, menos na região de subplacenta, revestidos por elementos celulares grandes, que podiam ser células endoteliais hipertrofiadas ou possivelmente células trofoblásticas derivadas da zona basal da placenta.

Em estudo comparativo sobre a estrutura fina do trofoblasto em placenta hemocoriais de nove espécies examinadas com microscópio eletrônico de transmissão, Enders (1965) identificou em rato de laboratório, camundongo, hamster e o “deer mouse” três camadas de trofoblasto formando a barreira placentária. No coelho, identificou duas camadas. No porquinho-da-índia e no esquilo uma única camada de trofoblasto, identificando situação semelhante em tatus e humanos.

Naqueles animais de placenta com barreira hemotricorial, o trofoblasto possui organização labiríntica com uma camada externa de natureza celular e

uma média e outra interna de natureza sincicial, enquanto que naquele onde a barreira era do tipo dicorial a camada externa era sincicial e a interna continha alguns limites celulares. Já naqueles com barreira placentária hemomocorial, a camada de trofoblasto era de natureza sincicial, destituída de qualquer evidência de limites entre células e com microvilos tanto na superfície que faz contato com as lacunas maternas como com a que faz relação com os capilares fetais.

Firth e Leach (1996), fazendo uma revisão sobre a contribuição da microvascularização fetal para a troca transplacentária, afirmam que a organização paracelular em microvasos da placenta humana, assemelha-se ao modelo de placenta do porquinho-da-índia. Tais afirmações baseiam-se no fato de que as paredes dos capilares destas espécies contêm um sistema de poros cujas dimensões restringem a permeabilidade ao soluto.

Pesquisado sobre a placentação do castor americano (*Castor canadensis*), Fischer (1971) descreveu que a implantação nestes animais era superficial e antimesometrial. Identificou uma papila endometrial formada na parede mesometrial da superfície do útero antes do contato com a justaposição do cório com o alantóide. A placenta, o autor caracterizou como “reniforme”, desenvolvida ao redor da papila endometrial, com interdigitação do tipo labiríntica e com arquitetura lobada.

A barreira placentária foi identificada como hemodicorial com a camada trofoblástica interna de natureza sincicial e a externa do tipo celular. Já com relação à vascularização o autor observou que o sangue materno desloca-se por dois vasos arteriais que não penetram no labirinto e é escoado por uma única veia.

A subplacenta destes desenvolve-se por invasão do trofoblasto na papila endometrial, pequena no início da gestação, bastante desenvolvida na metade da gestação, bastante volumosa a termo e interposta entre a placenta corioalantoídea e a decídua materna. Dois vasos sangüíneos arteriais grandes posicionavam-se no centro da subplacenta em ângulo de 45° e alcançavam a superfície de junção da placenta e subplacenta (FISCHER, 1985).

Fischer e Floyr (1972), em estudo com a placentação do gerbil (*Meriones unguiculatus*), a fim de descrever a estabilização do labirinto placentário a termo, utilizando vinte e quatro fêmeas, de treze dias antes do final da gestação. De acordo com esses pesquisadores a placenta corioalantoídea se forma quando o alantóide estabelece contato com o cório vascularizando-o e, estabelecendo com isto, um intercâmbio circulatório com canais de sangue materno. Em função da atividade do trofoblasto celular, o citotrofoblasto germinal, posteriormente diferencia-se em duas camadas distintas, com características histológicas diferentes.

O espongiotrofoblasto no início da gestação apresenta grupamentos de citotrofoblasto cercados por células gigantes. A termo é composto por duas ou três camadas de células gigantes. Já a decídua basal apresenta muitas áreas de necrose e os canais venosos aumentam, enquanto a glândula subplacentária desaparece.

A morfogenia das membranas fetais do pika (*Ochotona princeps*) foi estudada por Harvey (1959) em duas fases de gestação. A placenta definitiva ele considerou do tipo corioalantoídea, discoidal, com barreira placentária hemocorial. Quando madura a placenta limita áreas hemoendotelial e é ainda labiríntica, resultando no crescimento extensivo das células trofoblásticas a medida em que o

citotrofoblasto transforma-se em sinciciotrofoblasto. A placenta neste animal é composta principalmente de tecido de origem embrionária, sendo o tecido materno representado basicamente por células sangüíneas e o endotélio dos vasos sangüíneos maternos.

Considerando o fato de que as membranas fetais têm significado filogenético, Hillemann e Gaynor (1961) afirmam ser particularmente pertinente comparar a placenta do nutria (*Myocastor coypus*) com a de outros histicomorfos. Com base em análises sobre a arquitetura da placenta, os autores afirmaram que a placenta era corioalantoídea, discoidal, e que estava presa a uma depressão uterina por meio do pedúnculo basal de tecido decidual.

Cada lóbulo placentário era formado por três regiões: uma de espongiotrofoblasto, uma zona intermediária ou de labirinto e uma zona central.

A zona central do lóbulo que podia apresentar-se oblonga ou esferoidal, composta pela lacuna materna, muitas e pequenas tributárias da veia umbilical que coleciona o sangue da zona intermediária. A zona intermediária do lóbulo era composta por numerosos capilares vasculares longos e delgados que se estendiam da zona central ao espongiotrofoblasto. A zona externa (Espongiotrofoblasto) correspondia a um sincício composto, na sua maior parte, por ectoderma coriônico residual por onde passavam ramos das artérias umbilicais que se subdividiam em capilares no labirinto.

Na área central do disco placentário achava-se uma subplacenta grande e lobada, com a borda fetal recortada. As células trofoblásticas que a formavam eram pequenas, uniformes e ocorria em ninhos limitados por uma matriz de tecido conjuntivo penetrado por vasos fetais.

Hoffman e Wooding (1993), em artigo abordando uma revisão sobre a origem celular, estrutura e função das células trofoblásticas gigantes e células binucleadas, consideram que em roedores as células gigantes são grandes, mononucleadas e abundantes em ratos, hamsters e esquilo, resultantes da transformação das células blastocísticas trofodermais.

Nesse mesmo artigo os autores referem-se à membrana de Reichert's como uma estrutura que apóia a camada parietal do endoderma do saco vitelínico, coberto por processos de trofoblasto aplainado com fenestrações. Tais fenestrações estariam posicionadas de modo a influenciar o transporte de substâncias do sangue materno para o saco vitelínico visceral.

Kaufmann (1969), estudando a placenta de porquinhos-da-índia, afirma que aos quatorze dias ela apresenta-se com formato de cone resultando de uma massa de sinciotrofoblasto não vascularizado, coberto externamente por uma fina camada de citotróbusto. Identificou ainda camadas de células gigantes de "Duval" e a membrana de Reichert's. Após a proliferação da rede capilar formando o labirinto, a placenta assume um aspecto discoidal, onde se distinguem três regiões formando os lóbulos placentários.

A vascularização da placenta também foi pesquisada pelo Kaufmann tendo constado espaços de sangue venoso materno e as artérias fetais, por um lado, e espaços do sangue arterial materno e as veias fetais, por outro, correndo juntos. No lóbulo, os vasos sangüíneos materno e fetal formam uma rede tridimensional de capilares e espaços sangüíneos, onde o sangue desloca-se por meio de um fluxo contracorrente.

Em estudo posterior utilizando microscópio eletrônico de transmissão, Kaufmann (1981) afirma que nestes animais a placenta é hemomonocorial e que

sua forma discoidal resulta das interdigitações materno-fetais, formando um labirinto, resultante da invasão do trofoblasto sobre os vasos materno e capilares fetais constituindo uma barreira placentária hemonocorial constituída por sinciciotrofoblasto, banhado pelo sangue materno por meio de um fluxo sangüíneo do tipo contracorrente.

Quanto à estrutura fina, as principais organelas citoplasmáticas encontradas, no trofoblasto interlobular, foram mitocôndrias e o retículo endoplasmático granular, sugerindo que o interlóbulo esteja associado ao metabolismo intermediário para o labirinto.

Kerstschnska, Schöder e Kaufmann (1997) investigaram a ultraestrutura do trofoblasto da placentas do degu (*Octodon degus*), um pequeno roedor caviomorfo sul americano com parentesco próximo ao porquinho-da-índia, chinchila e a capivara. A placenta foi classificada como sendo corioalantoidea, labiríntica e hemomonocorial. Os autores consideram a existência de canais ou poros visíveis cruzando completamente a camada de trofoblasto, sendo a primeira vez que se sugeria uma conexão aberta entre os espaços maternos do sangue e o interstício fetal, no modelo de placenta de caviomorfos.

Larsen (1961), estudando o local de implantação no coelho utilizando microscópio eletrônico de transmissão, afirma que o interesse dos pesquisadores pelo processo dá-se por várias razões, entre elas está a natureza da interação entre o organismo materno e o organismo fetal e o fenômeno de erosão do tecido materno pelo organismo fetal através de ação do trofoblasto sobre o epitélio uterino degenerando-o. No momento da implantação o trofoblasto consiste em uma camada citotrofoblasto e outra de sinciciotrofoblasto separados pelas

membranas protoplasmáticas em que se observam algumas áreas com desmosomos.

As lacunas de trofoblasto se formam a partir de numerosos vacúolos que surgem no citoplasma e que por confluência entre si são transformadas em lacunas maternas na placenta definitiva, que posteriormente são preenchidas por sangue materno após penetração de vasos sangüíneos materno pelo trofoblasto.

Luckett e Mossman (1981) investigaram o desenvolvimento e o significado filogenético das membranas fetais e placenta dos roedores africanos e afirmaram que a morfogenia das membranas fetais são essencialmente iguais naqueles animais, até mesmo na posse de características exclusivas como a subplacenta e um anel capilar no saco vitelínico, invertido, mostrando características monofiléticas.

A placenta corioalantóidea das espécies estudadas apresentava cinco regiões principais, representadas pela zona labiríntica, formando os lóbulos, uma zona de espongiotrofoblasto localizado lateralmente ao disco placentário; uma região central que consiste na subplacenta; a zona juncional uma zona proeminente da decídua basal contendo numerosas células gigantes decíduais.

A ultra estrutura e permeabilidade de placentas de ratos winstar foram estudadas através de técnicas de angiografia por Metz, Aoki, Forssmann (1987). De acordo com esses pesquisadores, as trocas de substâncias entre mãe e feto acontecem no labirinto placentário, e neste caso, a segunda camada de trofoblasto sincicial era a mais efetiva como barreira placentária, pelo menos com base na metodologia empregada. Segundo as considerações dos autores a placenta corioalantóidea nos animais estudados funciona como um órgão especializado para a transferência de moléculas pequenas, enquanto o saco

vitelínico seria uma estrutura especializada envolvida com a passagem de macromoléculas.

Muntener e Hsu (1977) analisando o desenvolvimento do trofoblasto da placenta do camundongo ao redor do oitavo dia da gestação, afirmaram que o alantoide entra em contato com o cone ectoplacentário, originando a placenta corioalantoidea definitiva e que já no nono dia esta apresenta quatro zonas distintas (lâmina coriônica, labirinto, zona juncional e região de células gigantes) e logo em seguida a circulação corioalantóidea placentária se estabelece.

Ao redor do décimo quarto dia, o labirinto placentário alcança suas características definitivas, ou seja, os vasos sangüíneos umbilicais ramificam-se dentro de septos de conjuntivo rodeados por células trofoblásticas, formando uma rede vascular densa banhada por sangue materno.

Investigando a placentação do rato-de-cana (*Thryonomys swinderianus*), roedor típico do continente africano, Oduor-Okelo e Gombe (1982), descrevem cinco regiões distintas na placenta corioalantóidea a termo: o labirinto, o espongiotrofoblasto, a subplacenta, a zona juncional e a decidua.

Dois anos depois, Oduor-Okelo (1984) com auxílio de microscópio eletrônico de transmissão, caracteriza a placenta e subplacenta deste roedor e classifica a barreira placentária como hemomonocorial composta por uma única camada de sinciotrofoblasto, uma lâmina basal e o endotélio do capilar fetal.

A subplacenta achava-se formada por cito e sinciotrofoblasto separados por mesênquima fetal, este último com numerosos microvilos, retículo endoplasmático granular e aparelho de Golgi bem desenvolvidos.

A origem e função das células sinciotrofoblastos gigantes em humanos foram estudadas por Pierce e Midgley (1963). Os pesquisadores afirmam que o

sinciciotrofoblasto é derivado por diferenciação do citotrofoblasto e tem como função principal a secreção de gonadotrofina coriônica. Ao microscópio eletrônico de transmissão estas células mostravam natureza sincicial, contendo até três núcleos em um citoplasma comum, com alto grau de organização do retículo endoplasmático, aparelho de Golgi bem desenvolvido e numerosas mitocôndrias. O citotrofoblasto possuía núcleos grandes em relação ao citoplasma e facilmente distinguíveis do sincício. As membranas das células apresentavam desmosomos e microvilos bem mais numerosas que no sinciciotrofoblasto.

Sansom (1927), estudando as células gigantes da placenta de coelhos, afirma que em roedores ocorre o aparecimento nos tecidos uterinos durante a gestação, elementos conspícuos conhecidos como células gigantes. Estas células normalmente alcançam enorme tamanho em comprimento e geralmente são mononucleadas, mas podem ser multinucleadas e encontradas em grande número na parede do útero gravídico de vários roedores e ainda no labirinto placentário de alguns, na região subplacentária ao redor da parede uterina e raramente na região do sulco periplacentário que cerca o disco placentário.

Segundo Tam e Burgess (1977), nos primeiros dias da gestação as placentas de porquinhos-da-índia são constituídas por células trofoblásticas representadas por citotrofoblastos de núcleos relativamente pequenos, associado a um citoplasma escasso e basófilo. Estas células são encontradas na região esponjosa, na região de interlóbulo e também na região mesometrial. Na região de interlóbulo ocasionalmente são identificadas figuras de mitose.

Descrevendo o desenvolvimento do sincício da zona labiríntica, aqueles autores afirmam que, inicialmente, esta região é desorganizada e somente aos

quarenta dias o sinciciotrofoblasto acha-se na sua forma típica de zona labiríntica, ou seja, organizado de forma radiada, bem vascularizado e com anastomoses.

Aos dezessete dias do período gestacional, as células coriônicas gigantes organizam-se formando dois grupos pequenos periféricos a subplacenta. Com o desenvolvimento máximo destas células, elas alcançam a subplacenta no ponto onde a placenta vitelínica visceral acha-se presa ao disco placentário. Finalmente, começam aparecer mudanças necróticas, de forma que o núcleo de algumas células começa a ficar recortado e o citoplasma começa a assemelhar-se a uma rede frouxa devido ao aparecimento de numerosos e grandes vacúolos.

Em placentação do chinchila, (TIBBITTS; HILLEMANN, 1959) caracterizam a placenta como corioalantóidea, histologicamente hemocorial e lobada, sendo que cada lóbulo encontrava-se separado por uma região de espongiotrofoblasto e localizava-se mesometrialmente em uma concavidade de tecido decidual materno presa por um pedúnculo que a conectava ao útero pela mesoplacenta. A subplacenta predominava no início do desenvolvimento da placenta corioalantóica, persistia durante a maior parte da gestação, mas eventualmente era reduzida em tamanho ou desaparecia completamente na placenta a termo.

Verkeste et al. (1998), avaliando a extensão da invasão do trofoblasto na arquitetura vascular preplacentária do porquinho-da-índia e o como se processa a invasão do trofoblasto na estrutura vascular do mesométrio e miométrio, sugerem que em gravidez normal as mudanças estruturais observadas em artérias espirais sejam uma condição prévia para a placentação apropriada e a instituição de um fluxo de sangue placentário adequado e que estas mudanças estruturais em artérias espirais seriam induzidas por invasão endovascular de células

trofoblásticas, durante a primeira metade da gestação (PIGNENBORG et al. 1980). Segundo estes autores, células gigantes únicas podiam ser observadas ocasionalmente presas pelo endotélio e na túnica média aos trinta e cinco dias da gestação e aos sessenta e três dias estas células eram vistas situadas, principalmente, no interstício como um aglomerado denso, ao longo da artéria mesometrial, sugerindo que células trofoblásticas, provavelmente, migrem semelhante a células brancas ao longo da parede do vaso, usando moléculas de adesão das células endodérmicas para superar forças opostas dentro dos vasos.

De acordo com Wimsatt (1962), o passo fundamental no desenvolvimento da placenta corioalantóidea nos euterianos é a formação de vilos coriônicos vasculares. Estes penetram no endométrio ou simplesmente interdigitam-se com pregas vasculares da superfície do endométrio, com função de aproximar os vasos fetais dos vasos maternos. Em alguns casos, os vilos se fundem ou assumem uma configuração de labirinto, perdendo sua identidade. Considera ainda que a organização histológica da barreira placentária, separando o sangue materno e fetal, na placenta corioalantóidea exibe uma organização histológica variável de uma espécie para outra ou mesmo semelhante para diferentes espécies, de modo que a placenta alantóica e cório exibem uma organização variável de um lugar para outro de sua superfície, em numerosos mamíferos, e estruturalmente áreas similares têm capacidades funcionais diferentes.

Welsh e Enders (1987) identificaram a interação entre células trofoblásticas e deciduais e o estabelecimento da circulação sangüínea materna na placenta vitelínica parietal, de ratas nos locais de implantação no início da gestação, e sugerem que o útero tem um papel ativo durante a implantação e placentação vitelínica no rato.

Quanto ao estabelecimento da circulação sangüínea materna esta inicia, conforme descrito por aqueles pesquisadores, quando as células trofoblásticas migram para os vasos maternos que vão fornecer sangue para a placenta vitelínica parietal, resultante da degeneração por apoptose das células do estroma decidual, permitindo a migração das células trofoblásticas aos vasos maternos, mostrando seu poder invasivo.

Wislocki e Dempsey (1955) caracterizaram a placenta corioalantóica de ratas aos quinze, dezessete e vinte um dias de gestação através de microscopia eletrônica de transmissão. A barreira placentária apresentava-se composta por duas ou três finas lâminas sobrepostas do citoplasma de células trofoblásticas individuais, uma membrana basal apoiando o trofoblasto e a parede do capilar fetal constituído de uma membrana basal que suportava as células endoteliais, caracterizando a placenta como hemocorial e o trofoblasto como do tipo celular.

O labirinto placentário era representado por trofoblasto de natureza celular e não sincicial aos vinte um dias, com corpos celulares grandes contendo como regra um, ou ocasionalmente, dois grandes núcleos situados lado a lado, e citoplasma, com área próxima ao núcleo rico em retículo endoplasmático granular, mitocôndrias e pequenas gotas lipídicas. Por meio de microscópio eletrônico de transmissão, principalmente, na porção da parede da placenta vitelínica parietal que está presa à superfície da placenta corioalantóica, eles observaram uma lâmina longa de substância que possui estrutura fibrilar.

3.3.5 Placenta vitelínica

A placenta vitelínica como uma placenta funcional em roedores, antes da formação da placenta corioalantóidea, é especialmente importante, uma vez que, trata-se da única estrutura presente, envolvida com os processos de trocas entre mãe e feto. Em função desta condição, fisiologistas e anatomistas têm procurado entender o papel desta estrutura durante as fases iniciais da prenhez, que seria transportar material da parede da esplancnopleura pela cavidade do saco vitelínico, através de uma série de canais formados pelas células trofoblásticas, que distribuem sangue materno ao longo da parede do omfalopleura (EVERETT, 1935).

Carpenter e Ferm (1969) afirmam, em estudos envolvendo a placenta vitelínica de hamsters, que a placentação em roedores é caracterizada pelo desenvolvimento de duas membranas placentárias diferentes. Além da placenta corioalantóidea, que forma uma relação hemocorial entre sangue materno e fetal, uma placenta vitelínica visceral invertida vem justapor o endométrio uterino, sem que haja nenhuma relação citológica íntima entre o epitélio do saco vitelínico e o endométrio.

Dempsey (1953) estudou o epitélio da placenta vitelínica visceral do porquinho-da-índia com auxílio do microscópio eletrônico de transmissão, descrevendo-o como uma lâmina fina de tecido, com pouco colágeno, com o epitélio altamente organizado e composto por células polarizadas. Este epitélio era constituído por células colunares descansando sobre uma membrana basal basofílica. O citoplasma destas células continha uma região supra nuclear de gotas lipídicas no aparelho de Golgi além de uma concentração de grânulos

apicais e mitocôndrias esféricas e fusiformes, e ainda retículo endoplasmático muito evidente.

A camada de células trofoblásticas compondo a camada externa da placenta vitelínica parietal encontrava-se situada entre células decíduais e a membrana de Reichert's, onde assumia provavelmente um papel importante como barreira seletiva para o movimento de material do sangue materno que fluía para a cavidade do saco vitelínico pelos espaços criados pelas células trofoblásticas (CARPENTER, 1580; JOLLIE, 1968).

Haar e Ackerman (1971) desenvolveu pesquisa com o saco vitelínico de camundongos em desenvolvimento embrionário entre sete e onze dias de gestação. Com esta finalidade, fixou os úteros em solução de glutaraldeído a 2,5%, tamponado com fosfato 0,1M contendo sacarose a 1% e a pH 7,4. Após fixação dos úteros e dissecação do saco vitelínico, fragmentos foram submetidos a técnicas de microscopia eletrônica de transmissão. As células endodérmicas da placenta vitelínica visceral apresentaram-se formadas por um epitélio colunar, com um núcleo basal de forma irregular, com cromatina dispersa e um nucléolo de tamanho moderado. Estas células encontravam-se presas a uma fina camada que separa o endoderma do mesoderma. Ao longo de extensão, a placenta vitelínica visceral apresentava vilosidades na sua parede epitelial.

A origem da vascularização e eritropoiese na placenta vitelínica de camundongos foi estudada por Haar e Ackerman (1970). Segundo os autores a cavidade da placenta vitelínica é formada por um segmento parietal adjacente ao trofoblasto e um segmento visceral que se mantinha em proximidade com o embrião em desenvolvimento, diferindo quanto a localização, organização celular e sua função.

A placenta vitelínica parietal era composta por uma única camada de células endodérmicas separadas do trofoblasto pela membrana de Reichert's. A placenta vitelínica visceral estava formada por uma camada única de células endodérmicas colunares e separadas do mesoderma subjacente por uma membrana basal.

Estudando as membranas fetais do nutria (*Myocastor coypus*), Hillemann e Gaynor (1961) observaram que a placenta vitelínica existente nestes organismos consistia apenas da parte visceral, altamente desenvolvida, e formava um reforçado envelope pelo lado de fora do âmnio presa do lado fetal do disco corioalantóideo ao longo de um círculo próximo a margem do disco, refletindo-se por cima da margem mesometrial do mesmo.

Segundo Jollie (1968), a placenta vitelínica parietal em ratas é constituída por duas camadas de células, o trofoblasto e o epitélio endodérmico, separados por uma membrana amorfa, a membrana de Reichert's. Esta estrutura serve de rota placentária ao transporte de substâncias para regular as trocas materno-fetais. A membrana de Reichert's, o autor considerou como uma estrutura resistente atuando como um reforço de sustentação do trofoblasto e o endoderma.

King e Enders (1970) descrevem a estrutura da placenta vitelínica visceral do porquinho-da-índia utilizando microscópio eletrônico de transmissão, dando ênfase, em particular, às células do endoderma colunar e à região dos vilos. No citoplasma apical das células endodérmicas, observaram numerosas invaginações da membrana, vesículas de endocitose, túbulos densos e vacúolos grandes, que pareciam formar um sistema associado a absorção. Os núcleos das células endodérmicas situavam-se na porção basal da célula e o citoplasma

apical possuía numerosos vacúolos pouco corados. O endoderma visceral achava-se separado das células mesodérmicas por meio de uma membrana basal e continha vasos sangüíneos vitelínicos. A placenta vitelínica é formada por células endodérmicas que correspondem a um tipo especial de epitélio.

Tam e Burgess (1977) descrevem que, em fases iniciais da gestação, as células da placenta vitelínica são pequenas, ovóides e dispostas tangencialmente ao disco da placenta. Ao tornarem-se maduras, as mesmas constituem um epitélio colunar com citoplasma celular mais volumoso, formando a porção parietal da placenta vitelínica. Já as células endodérmicas que constituíam a placenta vitelínica visceral formavam um epitélio colunar situado ao redor do *sinus terminales*.

A interação entre células trofoblásticas e decíduais e o estabelecimento da circulação sangüínea materna na placenta vitelínica parietal de ratas, foram pesquisadas por Welsh e Enders (1987). Os pesquisadores identificaram os locais de implantação em ratas no início da gestação e sugeriram que o útero destes animais tem um papel ativo durante a implantação e placentação vitelínica. O estabelecimento da circulação sangüínea materna inicia-se quando as células trofoblásticas migram para os vasos maternos que vão fornecer sangue para a placenta vitelínica parietal, e resulta da degeneração por apoptose das células do estroma decidual, permitindo a migração das células trofoblásticas aos vasos maternos, mostrando seu poder invasivo.

Welsh e Enders (1987) estudaram locais de implantação, em ratos com diferentes dias da gestação a fim de determinar os diferentes eventos envolvidos na formação de espaços sangüíneos pelo trofoblasto, que faz parte da placenta vitelínica parietal, e determinar como o trofoblasto tem acesso ao sangue

materno. O sangue que flui segundo os autores pelos espaços, formados pelo trofoblasto, na placenta vitelínica parietal, é a fonte de nutrientes que alcançam o embrião pela placenta vitelínica visceral.

Wislocki e Padykula (1953) desenvolveram estudos histoquímicos na membrana de Reichert's e na placenta vitelínica de ratas. Para isto utilizaram placentas e membranas fetais de ratas em várias fases de gestação. A placenta vitelínica nas ratas consistia-se de uma parede externa correspondente a placenta vitelínica parietal, e de uma parede interna vascularizada por vasos sangüíneos vitelínicos que representava a placenta vitelínica visceral.

Material e método

4 MATERIAL E MÉTODO

Neste capítulo procurou-se descrever de maneira sucinta o conjunto de métodos e técnicas utilizadas para execução do presente trabalho. Além disso, especifica os testes estatísticos e o nível de significância adotado para análise dos dados numéricos.

4.1 IDENTIFICAÇÃO DA ÁREA DE AMOSTRAGEM DOS ANIMAIS

O material destinado à realização do estudo de placentação do mocó (*Kerodon rupestris*) foi obtido no Cemas (Centro de Multiplicação de Animais Silvestres da Escola Superior de Agricultura de Mossoró-RN), registrado junto ao IBAMA como criadouro científico sob o número 12.492- 0004, e criado em 12 de setembro de 1989 através da portaria ESAM N° 154/89. Ocupa uma área de 20 ha e localiza-se entre as coordenadas geográficas 5° 11'S e 37° 20'W Gr, com altitude ao redor de 16 m acima do nível do mar. Tem como objetivos fomentar pesquisas, conservação e manutenção de espécies silvestres criadas em cativeiro, bem como criar tecnologia capaz de produzir proteína animal de baixo custo para populações de baixa renda familiar.

Em seu organograma, O Centro de Multiplicação de Animais Silvestres, encontra-se dividido em setores distintos, onde são desenvolvidos projetos de pesquisas referentes ao manejo de espécies silvestres, entre elas o mocó.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE

Os mocós são animais ecaudados, com longas pernas propulsoras e unhas rombas sobre coxins espessos localizados na falange ungueal, que lhes conferem a capacidade de caminhar sobre superfícies rochosas ásperas e subir em pequenas árvores da caatinga nordestina. Apresentam crânio com rosto longo e estreito, sendo grande a distância entre os dentes incisivos e os pré-molares.

Segundo Moojen (1952), os mocós (Figura 1) são classificados taxonomicamente como espécie pertencente ao:

Filo Chordata

Classe Mammalia

Ordem Rodentia

Subordem Hystricomorpha

Família Caviidae

Subfamília Caviinae

Gênero Kerodon

Espécie *Kerodon rupestris* (Wied 1820)

Figura 1 - Exemplar da espécie estudada, *Kerodon rupestris*, Wied 1820.
Centro de Multiplicação de Animais Silvestres-ESAM/RN

4.3 ANIMAIS AMOSTRADOS

Foram utilizadas para realização do presente estudo, quatorze fêmeas prenhes de mocós, criadas em cativeiro com peso variando entre 700 e 800 gramas, em diferentes estágios da gestação.

- Três animais no 1/3 inicial da gestação
- Cinco animais no 1/3 médio da gestação
- Seis animais no 1/3 final da gestação

Os animais foram mantidos em iguais condições de cativeiro e alimentados com ração comercial para coelho, jureminha - *Desmanthus virgatus* (L.) Willd; leucena - *Leucaena leucocephala* (Lam.) DeWit, feijão de rola -

Macroptilium lathyroides (L) Urb., jitirana-branca – *Merremia aegyptia* (L.) Urb. e água *ad libitum*.

4.4 PROCEDIMENTO ANESTÉSICO-CIRÚRGICO

Após identificação da prenhez, os animais eram submetidos a um jejum sólido de dez horas e hídrico de seis horas, recebendo como medicação pré-anestésica a associação de cloridrato de quetamina¹ (15mg/kg) e midazolam² (1mg/kg) na mesma seringa por via intramuscular. Após quinze minutos, foram induzidos e mantidos sobre máscara artesanal com oxigênio a 100% associado ao isoflurano³, que foi administrado em concentração suficiente para manutenção da anestesia em plano de anestesia cirúrgica (3º plano de Guedel).

Após o animal ter atingido o plano anestésico, era feita uma incisão longitudinal mediana pós-umbilical com aproximadamente 3-4 cm, de forma a expor o útero gravídico, que era então caracterizado macroscopicamente; identificava-se o corno uterino gestante, incisava-se o mesmo, e, após exposição do conjunto de anexos embrionários e feto, procedia-se à caracterização macroscópica das membranas fetais, da placenta e do cordão umbilical. Em seguida eram realizadas as mensurações do feto, do cordão umbilical e da placenta.

Após o procedimento cirúrgico, os animais eram mantidos em gaiolas individuais e submetidos a antibioticoterapia: amoxilina⁴ (22mg/kg) por via intramuscular a cada 24 horas durante sete dias, sendo a limpeza da ferida

cirúrgica efetuada todos os dias com solução fisiológica até a retirada dos pontos da pele no oitavo dia de pós-operatório.

4.5 DADOS BIOMÉTRICOS: PLACENTA, FETO E CORDÃO UMBILICAL

Utilizando-se um paquímetro de aço inoxidável, determinou-se os comprimentos do feto e do cordão umbilical e o diâmetro das placentas. Utilizando-se uma balança digital (0,001 gramas - modelo MARTE), determinou-se o peso dos fetos e das placentas.

Com os dados de mensuração e pesagens obtinham-se as seguintes relações:

- Peso fetal (g)/ peso da placenta (g) determinada como sendo o quociente entre o peso fetal em gramas e o peso da placenta em gramas;
- Peso fetal (g)/ comprimento do cordão umbilical (cm) como sendo o quociente entre o peso do feto em gramas e o comprimento do cordão umbilical em centímetros;
- Peso do feto (g)/comprimento do feto (cm) dividindo-se o peso do feto em gramas pelo comprimento do feto em centímetros.

Para avaliar o comportamento das variáveis, em função do número de fetos (único ou duplo) por prenhez e em relação as fases (inicial, meio e final) da gestação, os dados das mensurações da placenta, cordão umbilical e do feto foram submetidos a testes estatísticos não paramétricos (Teste de Kruskal-Wallis

e Teste de Mann-Whitney) e regressão linear e análise correlação, visando a identificar o comportamento destas variáveis em cada fase da gestação e tipo de gestação. Para isto, considerou-se a existência de diferenças significativas entre as variáveis testadas, o nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

4.6 MATERIAL PARA MICROSCOPIA

Após obtenção dos dados de mensuração e pesagem, procedeu-se com a coleta de material para microscopia de luz, eletrônica de varredura e eletrônica de transmissão.

4.6.1 **Preparação dos cortes histológicos para microscopia de luz**

Os cortes histológicos, bem como, a preparação das lâminas, foram realizados no laboratório de Histologia do Setor de Anatomia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo. Para sua obtenção utilizou-se a metodologia usualmente empregada em laboratório de histologia, descrita por Behmer, Tolosa e Freitas Neto (1976), Berçak e Paulete (1976)

Para este fim, foram coletados, fragmentos das placentas, cordão umbilical e membranas fetais de três animais, com cerca de 1 a 1,5 cm, em diferentes estágios de gestação. O material coletado era acondicionado em frascos contendo solução de formaldeído a 10% tamponado com fosfato de sódio

0,1M, pH 7,4 a 4°C ou paraformaldeído a 4% tamponado com fosfato de sódio 0,1M, pH 7,4 a 4°C.

Após fixação, o material era lavado rapidamente em água corrente para retirada do excesso do fixador e então submetido a metodologia para obtenção das lâminas, na seguinte ordem: a) desidratação: com esta finalidade o material previamente fixado era colocado em álcool 95% por uma hora e em seguida em álcool absoluto realizando-se três trocas com intervalo de uma hora, de modo a garantir total desidratação do material; b) diafanização: nesta etapa o material era imerso em dois xilóis durante uma hora e meia, em cada um, assegurando completa diafanização e total retirada do álcool; c) paraplastização: os fragmentos eram colocados em dois paraplast a 60°C, permanecendo “over night”, no primeiro, e por uma hora e meia, no segundo, para total retirada do xilol. Em seguida procedia-se o emblocamento do material.

Obtidos os blocos, procedia-se então a microtomia em micrótomo (LEICA RM 2065), fazendo-se cortes de 5 a 7 μ de espessura, que eram levados à esfufa a 55°C. Posteriormente eram desparaplastizados em dois banhos de xilol por dez minutos, reidratados em álcool 100%, 95%, 70% e em água corrente, durante três minutos em cada reagente até garantir total hidratação.

Finalmente, as lâminas eram submetidas à coloração por hematoxilina-eosina (HE), azul de toluidina (AT), tricrômio de Masson, Picrossírius, Ácido periódico de schiff (PAS) e fucsina-paráldeído + tricômio de Gomori.

Finalizada a coloração, procedia-se a montagem definitiva das lâminas, tendo sido a interpretação das mesmas, realizada em microscópios de luz

(LEICA DMR) dotado de objetivas com aumento variando entre 2,5X a 100X (objetiva de imersão). Aquelas mais representativas eram então, selecionadas para fotomicrografias, sendo as estruturas placentárias caracterizadas com base em trabalhos desenvolvidos por Kaufmann e Davidoff (1977) e Leiser e Kaufmann (1994), Mossman (1987) e Soiron (1993).

4.6.2 Moldes para microscopia eletrônica de varredura

Para os estudos de microvascularização foram utilizadas cinco placentas de termo injetadas com resina Mercocry CL – 2R (Vilene, Tokyo, Japan) azul ou vermelho, segundo metodologia descrita por Björkman et al. (1981) e Leiser et al. (1997). Identificava-se sempre qual das colorações estava sendo aplicada nos vasos maternos ou fetais e, após completa polimerização, acondicionava-se o material em frascos contendo água destilada, transferindo-o ao laboratório de histologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, onde eram imersos em solução de hidróxido de sódio, variando entre 10% e 40%, conforme estágio de corrosão, deixados em estufa sob temperatura de 60°C, até completa corrosão sendo, porém lavadas periodicamente para substituição do hidróxido.

Completada a corrosão, lavavam-se os moldes vasculares com água destilada até a completa retirada do hidróxido. Em seguida, colocavam-se os mesmos em estufa a 37°C para secagem. Posteriormente, os moldes vasculares eram incluídos em solução de gelatina incolor a 20%, e levados à geladeira para

garantir maior resistência ao molde. Em seguida obtinham-se pequenos fragmentos, que eram novamente lavados em água corrente para retirada da gelatina. Posteriormente, estes eram novamente imersos em solução de hidróxido de sódio para garantir completa retirada da gelatina e após lavagem em água corrente, levados a estufa para secagem e em seguida montagem. Os fragmentos eram selecionados em bases metálicas, daí procedia-se a metalização com ouro, utilizando-se um metalizador (EMITECH K550).

Por último, procedia-se a análise, do material em microscópio eletrônico de varredura (LEO 435 VP) e as imagens mais representativas eram fotomicrografadas, em diferentes tipos de aumento, para posterior interpretação.

4.6.3 Cortes histológicos para microscopia eletrônica de transmissão

Para caracterização ultra-estrutural da placenta dos mocós, foram obtidos fragmentos com cerca de 0,5 mm² de regiões da decídua, zona juncional, subplacenta, labirinto, interlóbulo.

As análises do labirinto placentário pelo microscópio eletrônico de transmissão decorreram, principalmente da necessidade de identificar se a placenta correspondia ao modelo hemocorial (mono, di, tri) com base em trabalhos descritos por Enders (1965). Para este fim, obtiveram-se amostras de regiões distintas do labirinto placentário. Fragmentos com cerca de 0,5 mm² foram imersos em solução de glutaraldeído a 2,5%, tamponado com fosfato de sódio a 0,1 M, pH 7,4.

Completada a fixação, o material era lavado em tampão fosfato de sódio a 0,1 M, pH 7,4 por três vezes, durante dez minutos cada. Em seguida procedia-se a pós-fixação em tetróxido de ósmio (tamponado em fosfato de sódio 0,1 M e a pH 7,4) a 2% por duas horas. Concluída a pós-fixação, lavava-se os fragmentos com a solução tampão por três vezes durante dez minutos. Após lavagem, estes eram imersos em acetato de uranila a 3%, “over night” (12 a 16 horas) lavados novamente com o tampão, procedendo-se como das vezes anteriores, sendo finalmente submetidos à desidratação em álcool etílico a 50%, 70%, 90% por dez minutos cada e em álcool etílico absoluto, realizando-se quatro trocas a intervalos de vinte minutos.

Após a passagem pela bateria de álcool etílico absoluto, lavava-se os fragmentos em óxido de propileno, durante dez minutos, para garantir total desidratação, iniciando-se então a infiltração em araldite 502 - Polysciences). Para este fim, os mesmos eram imersos em uma mistura de óxido de propileno e araldite na proporção 1:1 durante uma hora; araldite pura durante 12 horas; araldite pura durante 2 horas e finalmente em araldite pura para confecção dos blocos, sendo levados à estufa a 60° C por três dias, até completa polimerização.

Obtidos os blocos, confeccionava-se cortes semifinos com 0,4 µm de espessura em ultramicrotomo automático (LEICA ULTRACUT R), corando-se a quente com solução aquosa de azul de toluidina a 1% e analisando-os em microscópio de luz, a fim de identificar as áreas de interesse para obtenção dos cortes ultrafinos. Para isto, fez-se cortes com 0,07 µm de espessura que eram então coletados em telas de cobre e contrastados com acetato de uranila saturado a 2%, durante sete a dez minutos, e logo após em citrato de chumbo a

0,5%, durante o mesmo período utilizado para o acetato de uranila. Por último, o material era analisado em microscópio eletrônico de transmissão (JEOL 100-CXII) e as regiões do mesênquima placentário melhor caracterizadas eram então eletrofotomicrografadas.

A nomenclatura utilizada para denominação das estruturas identificadas teve como base o International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature (1992) e o International Committee on Veterinary Histological Nomenclature (1994), e os resultados obtidos comparados com a literatura referente a estudos com placentas de roedores e ainda com outras Ordens taxonomicamente próximas ao mocó.

5 RESULTADOS

Os resultados que se seguem acham-se dispostos segundo a ordem dos objetivos previamente definidos, no sentido de facilitar as interpretações. Para este fim, tabelas, gráficos e figuras são apresentados logo após a exposição dos mesmos.

5.1 DADOS BIOMÉTRICOS: PLACENTA, FETO E CORDÃO UMBILICAL

Os dados biométricos e de peso da placenta, do feto e do cordão umbilical foram determinados como forma de avaliar as condições de desenvolvimento do feto. Os valores do comprimento do cordão umbilical variaram entre 1,5 e 4,0 cm, sendo a média igual a 2,25 cm. O comprimento dos fetos variou entre 2,0 e 10 cm, com média igual a 6,0 cm. Já o peso dos fetos e das placentas variou entre 1,36 e 84,0 g e 1,6 e 5,8 g, respectivamente, enquanto que o diâmetro médio das placentas foi igual a 2,2 cm.

Quando determinados os valores individuais e médios das relações entre o peso fetal e o peso da placenta, o peso fetal e o comprimento do cordão umbilical, e o peso do feto e o comprimento do feto, os valores médios encontrados foram respectivamente iguais a 0,398 g/g, 1,433 g/cm e 0,578 g/cm (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores absolutos e médios do comprimento do cordão umbilical (Lcu), comprimento do feto (Lf), peso do feto (Wf), peso da placenta (Wp), diâmetro da placenta (Dp) e relações entre peso do feto (Wf)/peso da placenta (Wp), peso do feto (Wf)/comprimento do cordão umbilical (Lc) e peso da placenta (Wp)/comprimento do feto (Wf) obtidos de fêmeas gestantes de mocós em diferentes estágios de gestação, no período de 2001/2002. CEMAS/ESAM-RN

Nº	Feto	Lcu	Lf	Wf	Wp	Pg	Sexo	Dp	Wf/Wp	Wf/Lcu	Wp/Lf
1	Único	1,5	3,0	2,50	1,8	Início	Fêmea	1,9	0,72	1,20	0,60
2	Único	1,5	2,0	3,00	1,6	Início	Fêmea	1,8	0,53	1,07	0,80
3	Único	1,0	2,5	2,00	1,8	Início	Macho	2,0	0,90	1,80	0,72
4	Único	1,5	2,5	1,36	2,0	Início	Macho	2,0	1,47	1,33	0,80
5	Único	1,2	2,0	3,00	2,5	Início	Fêmea	2,0	0,83	2,08	1,25
6	Duplo	2,5	7,0	17,8	4,2	Metade	Macho	3,0	0,24	1,68	0,60
7	Duplo	2,5	4,5	16,5	4,3	Metade	Macho	2,5	0,26	1,72	0,96
8	Único	3,0	7,5	19,2	4,1	Metade	Macho	2,5	0,21	1,37	0,55
9	Único	3,0	6,0	20,0	4,5	Metade	Fêmea	2,0	0,23	1,50	0,75
10	Único	3,0	6,0	19,6	4,3	Metade	Fêmea	2,0	0,22	1,43	0,72
11	Único	3,0	9,5	42,7	4,2	Final	Macho	3,5	0,10	1,40	0,44
12	Único	3,0	9,5	42,7	4,2	Final	Macho	3,5	0,10	1,40	0,44
13	Único	3,0	9,0	48,2	5,2	Final	Macho	3,0	0,11	1,73	0,58
14	Duplo	4,0	10,0	84,0	5,8	Final	Macho	3,0	0,07	1,45	0,58
15	Duplo	3,5	9,0	70,0	5,4	Final	Macho	2,6	0,08	1,54	0,60
16	Único	3,0	9,0	65,0	5,0	Final	Fêmea	2,5	0,08	1,67	0,56
χ	-	2,25	6,0	33,8	3,4	-	-	2,2	0,398	1,433	0,578

5. 2 CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS: PESO DA PLACENTA, PESO DO FETO, COMPRIMENTO DO FETO E DO CORDÃO UMBILICAL

5.2.1 Relação entre peso do feto e peso da placenta

Distribuídos em diagrama de dispersão os valores peso do feto e peso da placenta (wf/wp) para o total da amostra, visando verificar o grau de dependência entre as duas variáveis a tendência da distribuição dos pontos plotados demonstrou relação do tipo $y = a + bx$, cuja expressão obtida a partir desta relação foi $y = 33.73 + 16.38x$ (Figura 2).

A estimativa do coeficiente de correlação entre peso do feto e o peso da placenta foi elevada e positiva, evidenciando uma elevada dependência entre as variáveis ($r = 0,8515^*$).

Figura 2 - Relação entre o peso do feto e o peso da placenta determinada para o mocó, obtidas a partir de dados coletados, no período de 2001/2002, no CEMAS/ESAM-RN

5.2. 2 Relação entre o peso do feto e comprimento do cordão umbilical

Plotados os pontos empíricos individuais do peso dos fetos em função do comprimento do cordão umbilical (Wf/Lcu) observou-se uma tendência do tipo: $y = a + bx$, sendo a expressão obtida: $y = 35.64 + 25.64x$ (Figura 3).

Ao ser analisada a existência de correlação entre as variáveis observou-se uma correlação positiva ($r=0,8486^*$) indicando elevada dependência entre as variáveis.

Figura 3 - Relação entre o peso do feto e o comprimento do cordão umbilical em mocós, determinada com base nos dados coletados no período de 2001/2002, no CEMAS/ESAM-RN

5.2.3 Relação entre o peso do feto (wf) e comprimento do feto (Lf)

Quando plotados em diagrama de dispersão, os valores do peso do feto/(wf) e o comprimento do feto/(Lf) com a intenção de verificar o nível de dependência entre as variáveis, as mesmas, após distribuição dos pontos

demonstraram uma relação do tipo $y = a + bx$, cuja expressão definida foi igual a $y = 1.26 + 0.41x$.

Submetidas a análise de correlação as variáveis apresentaram elevada correlação considerando-se o valor de $(r = 0,8933^*)$ (Figura 4).

Figura 4 - Relação entre o peso da placenta e o comprimento do feto de mocós, definida, em função dos dados coletados no período de 2001/2002, CEMAS/ESAM-RN

Depois de observada a existência de correlação para as variáveis, testou-se as mesmas individualmente relacionando-as as fases de gestação, tendo-se observado-se que todas as variáveis apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) em função das fases de gestação. Contudo, quando comparadas conjuntamente, as relações wf/wp e wp/Lf apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) em função das fases de gestação, ao contrário da relação wf/Lcu .

Por último testou-se as variáveis individualmente em relação ao tipo de gestação, observando-se que as mesmas não diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre si.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DO ÚTERO GRAVÍDICO

O útero evolutivamente representa a estrutura biológica adequada ao desenvolvimento do embrião durante todo o período da gestação dos mamíferos Eutherianos, possuindo, conseqüentemente, diferentes características morfofuncionais nas diversas espécies. Em mocós, apresentou-se macroscopicamente com o formato de “Y”, dispondo de dois longos cornos abrindo-se em um curto corpo e uma cérvix espessa constituída internamente por anéis cervicais musculares bem definidos.

Cada corno uterino mostrou-se ligeiramente curvo, com um formato afunilado, emergindo da tuba uterina sem, contudo, apresentar uma área de transição bem evidente, seguindo caudalmente, de cada lado dorsal da cavidade abdominal, onde se une com o do antímero oposto.

Externamente, a região onde ocorre a união dos cornos uterinos mostrou-se cilíndrica sem nenhuma divisão. No entanto, ao examinar-se o lume dos cornos, notou-se um septo mediano dividindo esta região em dois condutos laterais. O septo seguia caudalmente até próximo à cérvix e, só então, os dois cornos se uniam para formar um corpo uterino curto, marcado por um septo mediano que os divide, internamente e abrindo-se na cérvix (Figura 5).

Microscopicamente, as paredes dos cornos uterinos grávidos mostraram-se revestidas por um epitélio prismático. Além disso, apresentavam-se ricas em pregas, as quais se dispunham ao longo de toda sua extensão (Figura 6).

Figura 5 - Ilustração do útero grávidico de mocó. Observar o formato afunilado e a disposição da artéria útero-ovárica (←) e suas ramificações ao longo de sua parede. A presença de anéis (←) na cervix e do septo mediano na região de fusão dos dois cornos no lume do corpo do órgão (→)

Figura 6 - Fotomicrografia do útero de mocó. Em (A) observa-se a parede uterina (↘) constituída por dobras endometriais e a presença de glândulas uterinas (*). No alto observar o lume uterino (lu). Em (B) têm-se um detalhe do epitélio prismático (EpP) que constitui a parede do útero e em (C) um detalhe do epitélio cúbico que delimita a parede da glândula endometrial (EpC). Paraplast, 5 μ , hematoxilina – eozina, A - 286X, B e C – 1334X

5.4 CARACTERIZAÇÃO MACRO E MICROSCÓPICA DOS ANEXOS FETAIS

Finalizada a caracterização macroscópica do útero, procedeu-se à caracterização das estruturas fetais. As mesmas estavam representadas pelo cordão umbilical, as membranas coriovitelinica e amniótica, o saco vitelínico e a placenta (Figura 7), os quais são descritas macroscópica e microscopicamente nos parágrafos que se seguem.

Figura 7 - Fotografia do útero gestante de mocós, após incisão. Observa-se a parede evertida do corno uterino (pu), a placenta (p), a membrana amniótica (am), o cordão umbilical (cu), os vasos vitelínicos vascularizando o saco vitelínico (vv), membrana coriovitelinica (cv) e o saco vitelínico (sv)

5.4 1 Cordão umbilical

O cordão umbilical representa o conjunto de vasos e ductos encarregados do transporte de substâncias maternas necessárias ao desenvolvimento do feto, bem como de excretas fetais a serem transportados à mãe.

O número de vasos envolvidos com o transporte de substâncias materno-fetais, no cordão umbilical de mocós, segundo observações macro e microscópicas, esteve representado duas artérias, uma veia e o ducto alantóide, envoltos por uma substância de aspecto gelatinoso. Além destes vasos foram identificados dois vasos, representados por uma artéria e uma veia vitelínicas, que se distribuíam ao longo de extensão da membrana coriovitelinica (Figura 8).

Figura 8 – Fotomicrografia do cordão umbilical de feto de mocós, obtido na porção justa fetal: encontram-se identificadas artérias umbilicais (a), veia umbilical (v), ducto alantóideo (d) artéria (aa) e veia (vv) vitelínicas. Paraplast, 5 μ , fucsina-paraldeido+tricromio de Gomori, 37X

Microscopicamente, o cordão umbilical apresentou-se delimitado pelo epitélio amniótico, constituído por um estrato de células pavimentosas, um tecido conectivo com característica de tecido mucoso, correspondente a geleia de Wharton (mesênquima fetal), onde eram observadas fibras elásticas e espaços intercelulares dispostos em lâminas concêntricas (Figura 9).

Figura 9 – Fotomicrografia do cordão umbilical de feto de mocós. A região corresponde ao epitélio amniótico (Ep) e o mesênquima fetal (mf). Observar as células epiteliais pavimentosas (→), as células mesenquimais (→) e as fibras elásticas (⇒). Paraplast, 5 μ , picrossírius, 286X

As artérias apresentam duas camadas distintas na formação de sua parede. A mais externa, formada de fibras musculares lisas circulares longitudinais, e a mais interna também formada de fibras musculares lisas,

porém apenas com disposição longitudinal. Mais internamente, próximo à luz do vaso, identificou-se a lâmina elástica interna (Figura 10).

Figura 10 – Fotomicrografia de uma das artérias do cordão umbilical de fetos de mocós. (A) corresponde a uma das artérias fetal com luz irregular. (B) um detalhe da mesma onde se identifica o endotélio do vaso (↗) e camada média (cm). (C) Corresponde a artéria vitelínica, na qual identifica-se a elástica interna (↘) e a camada externa (ce). Paraplast, 5 μ , fucsina-paraldeído+trícromio de Gomori. A - 149X. B e C - 572X

As veias, por sua vez, apresentaram em sua parede apenas uma camada homogênea, onde predominaram células musculares lisas, com disposição circular, possuindo ainda lâmina limitante elástica interna, apresentando-se rompida na maioria das vezes (Figura 11).

Figura 11 – Fotomicrografia da veia umbilical de fetos de mocós. Em (A) tem-se uma visão geral da veia, cuja luz apresenta aspecto mais regular que nas artérias (*). Em (B) camada muscular (cm) e o endotélio do vaso (↙). Paraplast, 5 μ , fucsina-paraldeido+tricromio de Gomori. A - 150X. B - 572X

O ducto alantóide mostrou-se constituído por um epitélio de transição, com lume irregular e rico em fibras colágenas (Figura 12).

Em todos os casos analisados, o cordão umbilical inseria-se centralmente à placenta por um hilo vascular resultante da ramificação do conjunto de estruturas que o constituía, ou seja, suas artérias, veias e ducto alantoideano.

Figura 12 - Fotomicrografia do ducto alantóide presente no cordão umbilical de mocós. Em (A) observar a luz irregular do ducto (*). Em (B) tem-se um detalhe do ducto evidenciando o epitélio de transição (▼) e das fibras colágenas (fc). A - Paraplast, 5 μ , picrossírius, 286X. B - Paraplast, 5 μ , fucsina-paraldeido + tricromio de Gomori, 1334X

5.4.2 Membranas fetais

As membranas fetais representam um dos aspectos que evidenciam a existência de processos evolutivos nos animais, sobretudo, nos mamíferos, quando comparados aos demais grupos de vertebrados. Na espécie em estudo, as membranas fetais apresentaram um padrão de transparência, permitindo que o feto fosse visualizado, entre, as mesmas, envolto pelos líquidos que preenchem cada uma das suas cavidades.

A membrana amniótica mostrou-se intensamente delgada, transparente e recobrindo o embrião com maior ou menor intimidade, dependendo do estágio da gravidez, uma vez que a quantidade de líquidos fetais entre as membranas variava com o desenvolvimento da gestação, alterando o grau de proximidade entre âmnio e feto (Figura 6).

A membrana coriovitelínica apresentou-se com uma porção livre e outra formando o saco vitelínico. Além disso, possuía menor transparência quando comparada à amniótica.

A porção livre achava-se ricamente vascularizada por vasos vitelínicos que partiam do feto em sua direção por meio do cordão umbilical. Logo após encontrar esta membrana, estes vasos emitiam dois ramos sustentados por uma conexão na membrana amniótica, que deslocavam-se em direções opostas sofrendo uma série de ramificações que se dispunham radialmente na mesma e ainda no saco vitelínico (Figura 6).

O saco vitelínico, que nos roedores, aparece de forma invertida, apresentou-se como a menos transparente das estruturas membranosas de

proteção ao feto e possuía um caráter rígido quando comparado ao âmnio e a membrana coriovitelinica. Além disso, achava-se irrigado por vasos de pequeno calibre, assumindo um formato côncavo modelado pelo formato da placenta (Figura 6).

No mocó o conjunto de membranas formava, ao redor da área de inserção do cordão umbilical à placenta, uma área circular, sendo que a amniótica discorria ao longo de toda extensão do mesmo.

Microscopicamente, a membrana amniótica apresentou-se constituída por células que se organizavam formando um epitélio do tipo pavimentoso simples e possuíam núcleos fusiformes (figura 13).

A porção lisa da membrana coriovitelinica mostrou-se formada por um epitélio cúbico simples e pouco vascularizada (Figura 14). Já a porção vilosa mostrou-se formada por epitélio prismático simples com os núcleos celulares dispostos apicalmente. Este epitélio dispunha-se formando estruturas vilosas, contendo centralmente tecido mesenquimal, no qual havia inúmeros vasos sangüíneos (Figura 15).

Figura 13 – Fotomicrografia da membrana amniótica de mocós. A mesma possui células com núcleos fusiformes e são características de epitélio pavimentoso (➡). Parafina, 5 μ , hematoxilina-eosina, 1334X

Figura 14 – Fotomicrografia da porção lisa da membrana coriovitelinica de mocós. As células epiteliais cúbicas formam uma única camada de células. Parafina, 5 μ , hematoxilina-eosina, 1334X

Figura 15 – Fotomicrografia da porção vilosa da membrana coriovitelínica de mocós. Observar as células características de epitélio cúbico, a presença de vasos (*) e o aspecto viloso da membrana (↓). Parafina, 5 μ , hematoxilina-eosina, 286X

5.3.3 Placenta: análise macroscópica

Foram descritas macroscopicamente cinco placentas em fase inicial de gestação, cinco em fase intermediária e seis placentas em fase final de gestação. Em todos os casos elas apresentaram o mesmo padrão macroscópico: formato discoidal, ligeiramente alongado do lado materno, e formato levemente achatado do lado fetal. Ao longo de sua extensão, observou-se uma rede de vasos que a circundam partindo do lado fetal em direção ao lado materno. Estes vasos, que ora se imbricam pelo interior da placenta, ora a circundam, diminuem paulatinamente seu diâmetro até se tornarem bem

delgados. Os vasos que imbricam pelo interior ou que a margeiam, emitem ramificações aos diversos lóbulos placentários. Quando seccionada a placenta, no sentido longitudinal ou transversalmente, pode ser visto áreas correspondentes aos lóbulos e interlóbulos placentários.

Estes lóbulos quando observados em moldes por injeção de Mercor, após corrosão, mostram-se com formato ligeiramente arredondados, com tamanhos variados, e estão sempre orientados no sentido materno. Do lado fetal os vasos umbilicais se ramificam formando vasos de pequeno calibre. Na face materna um vaso materno forma um anel vascular ao redor do qual encontra-se a subplacenta (Figura 16).

O pedúnculo placentário, muito evidente em algumas espécies, não aparece na espécie estudada, pelo menos macroscopicamente. Em função disto, a placenta acopla-se diretamente ao miométrio, formando neste local uma depressão circular de natureza convexa onde se encaixa sua porção materna. No entanto, microscopicamente o pedúnculo placentário pode ser definido como a região da placenta correspondente a subplacenta e a decídua basal.

5.4.4 Placenta: análise microscópica

Após caracterizada macroscopicamente a placenta procedeu-se com a caracterização microscópica da mesma.

5.4.4.1 Microscopia de luz.

A placenta do mocó apresentou componentes maternos e fetais associados entre si como forma de garantirem a realização das trocas metabólicas entre mãe e feto. Conjuntamente, estes componentes interagem na placenta moldando três componentes principais: os lóbulos placentários, representados pelo labirinto e uma região central; a região de interlóbulo, uma região com menor organização celular e vascular, em relação ao labirinto, que se encontrava delimitando cada lóbulo placentário e ainda uma região diferenciada correspondente a subplacenta. Além destas estruturas, foram identificadas a região de decídua basal, a zona juncional, uma região

diferenciada do labirinto placentário representada pelo espongiotrofoblasto, uma região de sincício marginal e a placenta vitelínica sustentada pela membrana de Reichert's (Figura 17).

Figura 17 – Fotomicrografia da placenta de mocós. Observar a região de decídua basal (db), a subplacenta (sbp), os lóbulos placentários (lb), a região de interlóbulo (il), a placenta vitelínica parietal (↙) e a placenta vitelínica visceral (pvv). Paraplast, 5 μ , hematoxilina-eosina, 37X

A análise microscópica da placenta do mocó sugeriu que esta possuía distintamente regiões representadas por lóbulos placentários compostos por uma região de labirinto, formado por uma rede de capilares fetais dispostos radialmente em relação a um segundo componente lobular representado pelo centro do lóbulo. Cada centro lobular achava-se constituído por uma artéria materna, uma veia fetal e uma lacuna materna (Figura 18).

O labirinto placentário caracterizou-se por apresentar células trofoblásticas de natureza sincicial (sinciciotrofoblasto), identificadas em função de seu grau de organização. Nele os núcleos sinciciais encontravam-se bem próximos uns dos outros e, além disso, possuíam pequena eozinofilia quando comparados ao sinciciotrofoblasto das demais regiões da placenta (Figura 19).

A região de interlóbulo na placenta principal representa a área de mesênquima que separa os lóbulos placentários, uns dos outros e caracteriza-se por apresentar um aspecto menos organizado e com maior eozinofilia que o sinciciotrofoblasto do labirinto. Além disso, no interlóbulo, era mais evidente uma maior distância entre os núcleos que constituíam as células de natureza sinciciais (Figura 20).

Os vasos predominantes nos interlóbulos correspondem a artérias e veias fetais, contudo, artérias e veias maternas também podem ser identificadas nestas regiões, circundadas por capilares. Ainda pôde ser identificadas nos interlóbulos, áreas de luz irregular desprovidas de endotélio, contendo sangue, que correspondem as lacunas maternas (Figura 21).

Figura 19 - Fotomicrografia do lóbulo placentário da placenta de mocó. Em (A) observar presentes no centro do lóbulo: artéria materna (am), veia fetal (vf) e lacuna materna (↗) representando o centro lobular. Em (B) observar a organização dos capilares dispostos paralelamente e em (C) a proximidade dos núcleos do sinciotrofoblasto ([). Paraplast, 5 μ , hematoxilina-eosina, A- 73X, B - 286X, C - 1334X

Figura 20 – Fotomicrografia de interlóbulo placentário da placenta de mocó. Observa-se a artéria fetal (af), a veia fetal (vf) (B) Observar a menor organização de seus capilares em relação ao labirinto e em (B) a menor organização e maior distância dos núcleos sinciciais comparado ao labirinto (()). A – Paraplast, 5 μ , hematoxilina-eosina, 149X. B – Araldite, 1 μ , azul de toluidina, 149X. C - Paraplast, 5 μ , hematoxilina-eosina, – 1334X

Na porção mais periférica da placenta principal, pode ser vista de forma destacada, em relação às demais regiões da placenta, uma faixa de trofoblasto correspondente ao sincício marginal. Esta região apresentou-se constituída por grande quantidade de lacunas maternas e com sinciciotrofoblasto com organização similar ao do interlóbulo, porém com basofilia mais acentuada e aparentemente maior número de lacunas maternas. É este sincício marginal que se encontra delimitando os lóbulos placentários presentes na periferia da placenta, sendo, portanto, juntamente com o interlóbulo, as estruturas que delimitam os lóbulos placentários (Figura 22).

A suplacenta do mocó esteve representada por um grande lobo de aspecto circular, encravado entre a placenta principal e a decídua basal, mas separada destas por meio de um grande septo de tecido conjuntivo, correspondente a zona juncional (Figura 23).

Internamente, a subplacenta achava-se dividida em pequenos lóbulos irregulares, separados uns dos outros por tecido conjuntivo, contendo vasos sangüíneos de origem fetal.

Segundo o aspecto celular, a subplacenta correspondia a uma massa de células trofoblásticas composta por sinciciotrofoblasto e citotrofoblasto, este último aparecendo em número predominantemente maior e com formato bem característico.

O citotrofoblasto achava-se disposto próximo à parede que constituía a luz dos vasos sangüíneos, enquanto que o sinciciotrofoblasto era visto formando ninhos irregulares circundado pelo trofoblasto celular. O primeiro caracterizava-se por apresentar um núcleo esférico com cromatina dispersa e com um ou dois nucléolos localizados próximos ao polo nuclear. O espaço citoplasmático apresentou-se nitidamente delimitado pela membrana celular e a cariomembrana com um aspecto levemente acidófilo. Já o sinciciotrofoblasto caracterizou-se por apresentar núcleos próximos uns dos outros, com aspecto eosinófilo e com limites celulares pouco definidos.

Figura 23 – Fotomicrografia da subplacenta de mocós. Em (A) observa-se a reação positiva do sinciotrofoblasto subplacentário ao ácido periódico de Schiff. Observar em (B) a divisão da subplacenta em lóbulos por septos de mesênquima fetal (setas). Ao centro estão assinalados vasos deciduais caracterizados pelas projeções citoplasmáticas em sua luz (vd). (C) representa o citotrofoblasto (cit) e (D) o sinciotrofoblasto (sin) da mesma. A - Paraplast, 5 μ , ácido periódico de Schiff, 149X. C e D – Araldite, 1 μ , azul de toluidina, 1334X

Logo abaixo da subplacenta podia ser observado um outro grande septo de conjuntivo de natureza fetal perfurando centralmente a placenta principal, contendo vasos de origem fetal, que partiam do cordão umbilical até a subplacenta. Estes elementos correspondiam à escavação central da placenta, representando o mesênquima fetal que dava origem a zona juncional (Figura 24).

Esta última, por sua vez, apresentou-se composta por células trofoblásticas gigantes, por células aparentemente com conteúdo glicogenólico, e representava o meio pelo qual os vasos maternos chegavam a placenta principal.

Figura 24 – Fotomicrografia da placenta de mocós, mostrando a área de escavação central da placenta. Observar a presença de vasos fetais (↘) e a relação da placenta com a subplacenta (sbp) que forma o seu teto. Paraplast, 5 μ , hematoxilina-eosina, 37X

O espongiotrofoblasto mostrou-se na placenta do mocó, como uma faixa de células trofoblásticas localizadas logo abaixo da camada de células endodérmicas, separada da placenta vitelínica parietal, apenas pela membrana de Reichert's. Suas células eram vistas formando grupamentos dispostos irregularmente com núcleos pequenos e citoplasma eosinófilo apresentando espaços característicos de vacúolos celulares (Figura 25).

Figura 25 – Fotomicrografia da placenta de mocó. A mesma representa um região de espongiotrofoblasto (spg) localizada entre a placenta vitelínica parietal (pvp) e o sincício marginal (sm). Estas células se caracterizam pelo aspecto vacuolado do citoplasma. Paraplast, 5 μ , tricromio de Masson, 572X.

A decídua basal resulta do crescimento e proliferação das células do estroma da camada funcional do endométrio uterino no local da implantação e é consequência da ação secretora do sinciciotrofoblasto.

As células decíduais situadas abaixo do embrião em desenvolvimento, juntamente com o trofoblasto coriônico forma a placenta dos mamíferos e no caso dos roedores é responsável também pela formação da subplacenta.

Neste estudo a decídua basal caracterizou-se por apresentar células com citoplasma acidófilo e núcleos ligeiramente eosinófilos, e ainda pela presença de vasos sangüíneos (Figura 26).

Figura 26 – Fotomicrografia da decídua basal da placenta de mocós. Em (A) observar a presença de células pequenas com citoplasma acidófilo e núcleos eosinófilos e em (B) a reação PAS⁺ da decídua (*). Verifica-se ainda a existência de vasos decíduais (vd) e, na parte inferior da figura a subplacenta (sbp) Paraplast, 5µ. A - hematoxilina-eosina, 572X e B ácido periódico de Schiff, 149X

Como elemento celular, na placenta do mocó, além de trofoblasto sincicial, citotrofoblasto subplacentário e do espongiotrofoblasto, identificou-se

inserido na membrana de Reichert's, na zona juncional e no próprio labirinto, células trofoblásticas gigantes. Estas células caracterizaram-se por apresentar um citoplasma acidófilo, volumoso e núcleos relativamente pequenos com afinidade eosinófila (Figura 27).

Figura 27 – Fotomicrografia da placenta de mocós. Observa-se a presença de células trofoblásticas gigantes em áreas distintas da placenta. (A) uma área da membrana de Reichert's, (B) uma região de zona juncional e (C) uma região da placenta principal voltada para o feto. Paraplast, 5 μ , hematoxilina-eosina, A e C: 572X e B - 1334X

Uma outra estrutura estudada nos mocós foi a placenta vitelínica. A mesma esteve composta por um componente parietal e um componente visceral resultante de modificações do saco vitelínico durante a gestação.

O componente parietal (placenta vitelínica parietal) caracterizou-se por apresentar uma parede exterior de natureza bilaminar composta por uma lâmina de células endodérmicas parietais e uma camada de células trofoblásticas gigantes, invadindo-a em alguns locais a membrana de Reichert's.

As células endodérmicas apresentaram arranjos vilosos preenchidos por tecido conjuntivo, com núcleos ocupando quase todo volume citoplasmático com grande afinidade eozinófila, e dispostos em posição apical (Figura 28).

A membrana de Reichert's, por sua vez, encontrava-se logo abaixo da camada de células endodérmicas servindo como parede de sustentação para estas, sendo constituída por tecido de natureza conjuntiva. Quando submetida a diferentes técnicas de coloração, esta membrana mostrou-se diferenciada quando corada pelo tricromio de Masson e hematoxilina-eozina, mas pouca afinidade pelo ácido periódico de Schiff (Figura 29).

Figura 28 - Fotomicrografia da placenta vitelínica parietal de mocós. Em (A) observar a disposição apical dos núcleos (n) das células endérmicas (↘), bem como a presença de vasos vitelínicos de pequeno calibre (*). Em (B) verificar a eozinofilia destes núcleos e ainda a membrana de Reichert's (mR) servindo de sustentação para as mesmas. A – Araldite, 1 μ , azul de toluidina, 1334X. B - Paraplast, 5 μ , hematoxilina-eosina, 1334X.

Figura 29 – Fotomicrografia da placenta do mocó. Observar a afinidade da membrana de Reichert's pelo Masson (mR). Acima desta, identificada-se a placenta vitelínica parietal (pvp), uma camada de tecido derivada da decídua (de), sobreposta por tecido com aspecto mucoso (mu). Na porção inferior da figura, espongiotrofoblasto (*) na região de sincício marginal (sm) Paraplast, 5 μ , tricromio de Masson 1334X

O componente visceral (placenta vitelínica visceral) correspondia a uma parede interna vascularizada por vasos sangüíneos vitelínicos e estruturalmente achava-se formada por células endodérmicas dispostas de modo a formar um epitélio colunar, sustentado por um mesênquima fetal ricamente vascularizado por vasos vitelínicos de pequeno calibre. Além disso, apresentava projeções vilosas menos acentuadas e voltadas para o lado fetal, ao contrário da porção parietal, que emitia projeções bem mais evidentes e voltadas para a parede do útero (Figura 30).

Figura 30 – Fotomicrografia da porção visceral da placenta vitelínica de mocós (pvv). Em (A) observar o apêndice (↙) pelo qual a mesma prende-se à placenta corioalantoídea (p) e ainda a presença de vaso vitelínico (*). Em (B) um detalhe do epitélio cúbico, com células de núcleos eozinófilos dispostas sobre o mesoderma embrionário por onde se deslocam os vasos vitelínicos de pequeno calibre em meio a suas vilosidades (vv). Paraplast, 5 μ , hematoxilina-eosina. A – 37X e B - 1334X

5.4.4.2 Microscopia de varredura

As técnicas de microscopia de reflexão foram realizadas com a intenção de comparar o arranjo vascular dos lóbulos com os achados da microscopia de luz, visando estabelecer o modelo de fluxo sanguíneo presente na placenta do mocó.

Analizados os moldes vasculares da placenta do mocó, verificou-se que os lóbulos placentários possuíam formatos ligeiramente esféricos, ou no máximo pouco alongados, dispostos lado a lado e com orientação quase sempre voltada para a face materna.

Os vasos maternos mostraram-se pouco organizados e possuíam aspecto ligeiramente contorcido. Além disso, distribuíam-se, principalmente, por entre os lóbulos placentários. Ao redor da subplacenta, estes vasos formavam um anel venoso na região correspondente a zona juncional e distribuíam-se por meio de ramificações, cada vez mais especializadas, na placenta principal. Já os vasos fetais inseriam-se centralmente na placenta, percorrendo perifericamente os lóbulos (Figura 31).

Figura 31 – Fotografia de um molde vascular da placenta de mocós em fase final de gestação. (A) – Corresponde ao lado materno e (B) o lado fetal da placenta. Os vasos maternos estão em vermelho e os fetais em azul. Observar que os vasos fetais inserem-se centralmente e se aprofundam na massa de lóbulos ou deslocam-se periféricamente sobre a mesma, enquanto que os maternos distribuem-se principalmente por entre os lóbulos placentários e possuem menor organização. Corrosão – NaOH. Injeção de mercor vermelho na artéria fetal e azul na veia materna

Na placenta principal os vasos maternos ramificam-se entre o sincício marginal, o interlóbulo e os lóbulos placentários. As artérias penetram o labirinto pelo centro do lóbulo voltado para o lado materno, ramificam-se formando capilares, os quais se rompem por ação do trofoblasto, dando origem as lacunas maternas. Estas são numerosas na região de sincício marginal, aparece em menor número na região de interlóbulo. No centro do lóbulo ocorre uma única artéria bem desenvolvida que se abre nas lacunas maternas fazendo com que seu conteúdo sangüíneo banhe os capilares fetais no labirinto placentário. Este sangue segue então para a periferia do lóbulo pela rede de lacunas para finalmente ser recolhido pelas veias maternas na região de interlóbulo e de sincício marginal (Figuras 32 e 33).

As artérias fetais na placenta corioalantoídea, resultantes da ramificação das artérias umbilicais ao formar o hilo placentário, inseriam-se à placenta após perfurarem a superfície do âmnio, o qual mantém relação com a mesma, aumentando seu grau de ramificação logo abaixo desta membrana. Um ramo arterial único percorria junto com o mesênquima fetal que formava a escavação central e, no nível da subplacenta, ramificava-se entre os seus lóbulos, formando a rede de capilar fetal envolto em tecido conjuntivo de origem fetal, enquanto que as demais ramificações que se formavam dentro da massa da placenta principal deslocavam-se na região de interlóbulo, capilarizando-se de modo a formar os capilares fetais do labirinto (Figura 34).

O sangue fetal, por sua vez, deslocava-se por meio de uma rede de capilares que se formavam, em função da capitalização da artéria fetal, na região de interlóbulo, e que fornecia ramos para pelo menos dois lóbulos placentários, ao contrário da veia materna, que se constituía a partir de ramificações vasculares oriundas dos lóbulos placentários, ramificando-se até formar a veia fetal no centro do lóbulo (Figura 35).

Após observação dos moldes vasculares e obtenção dos cortes transversais dos mesmos com a intenção de descrever sua organização observou-se que os capilares no interior dos lóbulos obedeciam uma distribuição radiada e centrípeta em relação a seu centro e que se originavam a partir de vasos que os perfurava centralmente, ou que se deslocavam entre estes, na região de interlóbulo. Esta organização permitiu também que se percebesse que estes capilares possuíam direções opostas, entre o centro do lóbulo e a periferia do lóbulo.

A forma como os vasos maternos e fetais ramificavam-se entre o centro do lóbulo, labirinto e interlóbulo, estabelecendo o fluxo sanguíneo da placenta em correntes opostas, permitiu que se pudesse classificá-lo como sendo um modelo de fluxo contracorrente.

Figura 32 – Fotoeletromicrografia de molde vascular da placenta de mocós em fase final de gestação, onde são vistos dois lóbulos placentários. No centro de cada lóbulo acha-se identificada a artéria materna (am). As porções terminais das mesmas possuem aspecto irregular em consequência da perda de suas paredes a fim de formar as lacunas maternas. Abaixo e ao centro observa-se uma veia materna (vm). Injeção de Mercor vermelho na artéria fetal e azul na veia materna. 130X

Figura 33 – Fotomicrografia de molde vascular da placenta de macaco em fase final de gestação. Observa-se ao centro o interlóbulo delimitado por dois lóbulos placentários. O vaso de grande calibre corresponde a uma veia materna (vm). Observar que a mesma origina-se de vasos que se deslocam do labirinto em direção ao interlóbulo. Verificar ainda a menor organização em relação ao labirinto, correspondente a zona de transição entre labirinto e interlóbulo. Injeção de mercurox vermelho na artéria fetal e azul na veia materna. 210X

Figura 34 - Fotoeletromicrografia de molde vascular da placenta de mocós em gestação de termo. (A) corresponde a uma região do interlóbulo. Observa-se na mesma artéria fetal (af) disposta no meio da rede capilar que constitui o labirinto, fornecendo ramificação que se deslocam periféricamente entre os lóbulos (lob). Em (B) tem-se um detalhe do labirinto em que se observa na parte superior da foto a veia fetal (vf) e na parte inferior esquerda a artéria de Mercor vermelha na artéria fetal e azul na veia materna. A – 54X. B – 150X

Figura 35 – Fotoeletromicrografia de molde vascular da placenta de mocós em fase final de gestação. A imagem corresponde a um lóbulo placentário na periferia da placenta. À esquerda e no centro do lóbulo, encontra-se a fetal (vf) disposta no meio da rede capilar proveniente do labirinto e, à direita, artérias fetais (af), percorrendo perifericamente o mesmo. Injeção de Mercor vermelho na artéria fetal e azul na veia materna 150X.

5.4.4.3 Microscopia eletrônica de transmissão

A técnica de microscopia eletrônica de transmissão foi realizada, principalmente, com o objetivo de caracterizar a placenta do mocó, com relação ao número de camadas constituintes da barreira placentária. Esta barreira se estabelece entre o organismo materno e fetal durante o desenvolvimento embrionário, evitando o contato entre o sangue materno e fetal, expressando a distância entre estes dois tipos sangüíneos e resulta no maior ou menor grau de invasividade do trofoblasto sobre os tecidos maternos. No entanto, a técnica permitiu também caracterizar outras estruturas da placenta deste roedor, visando complementar os resultados obtidos com auxílio da microscopia de luz.

5.4.4.3.1 Decidua e zona juncional

As células da decidua basal na placenta do mocó caracterizaram-se por apresentar núcleo de formato irregular com um único nucléolo bem organizado, localizado próximo ao centro do núcleo. Possuíam uma matriz extracelular muito abundante, os quais mantinham-se unidas por meio de zônulas de adesão. O citoplasma celular era rico em mitocôndrias e em cisternas de retículo endoplasmático granular (Figura 36).

Figura 36 - Detalhe da decídua basal de mocós. (A) um corte semifino mostrando o grau de intimidade entre as células deciduais, o formato regular dos núcleos e grânulos de glicogênio confirmados através de PAS na microscopia de luz. Em (B) observa-se se ao centro uma célula com núcleo central ocupando grande parte do citoplasma (N) e o nucléolo bem organizado (N). Observa-se ainda a matriz extra celular (mec), rica em fibras colágenas (◄), e junções de adesão celular (←). Em (C) observar que os núcleos possuem formato irregular. A - Araldite, 1 μ , azul de toluidina, 1133X. B e C Araldite, 70nm, acetato de uranila e citrato de chumbo, A - 8960X, C - 10.000X

A zona juncional caracterizou-se por apresentar células com núcleos esféricos, localizados centralmente em relação ao citoplasma, contendo um nucléolo geralmente central. Estas células achavam-se envoltas em tecido conjuntivo frouxo, que formava uma matriz celular bem desenvolvida como na decídua. O citoplasma mostrou-se rico em mitocôndrias e com grande quantidade de cisternas do retículo endoplasmático rugoso (Figura 37).

5.4.4.3.2 Placenta e subplacenta

As células sinciciotrofoblásticas do labirinto da placenta do mocó caracterizaram-se por apresentar núcleos muito próximos, com nucléolos bem organizados e dispostos perifericamente à cariomembrana. O citoplasma sincicial possuía grande número de vesículas com pouca eletrodensidade, conferindo um aspecto vacuolado ao citoplasma. Na subplacenta, entretanto, estas células, pareciam possuir núcleos mais regulares que os do labirinto, encontravam-se localizadas centralmente aos lóbulos, possuíam aspecto irregular e apresentavam áreas de degeneração celular (Figura 38).

As células trofoblásticas de natureza celular, presentes na subplacenta, dispunham-se formando paredes que delimitavam os septos de mesênquima fetal, que constituíam os lóbulos da subplacenta. As mesmas caracterizavam-se por possuir um núcleo único ocupando quase todo espaço citoplasmático, contendo um nucléolo menos organizado que os nucléolos sinciciais e eram ricos em áreas de cromatina condensada dispersas pelo núcleo (Figura 39).

Figura 37 - Zona juncional da placenta de mocós. Em (A) observar que o tecido possui característica de conjuntivo (tc) que, os núcleos são esféricos e a membrana nuclear possui bordas de aspecto irregular. Em (B) a matriz celular constituída de conjuntivo e em (C) o citoplasma rico em estruturas mitocondriais (→). A – Fotomicrografia de corte semifino. Araldite, 1 μ , azul de toluidina, 1334X. B e C – Eletrofotomicrografia. Araldite, 70 nm, acetato de uranila, citrato de chumbo, B - 4500X, C – 10.000X

Figura 38 – Eletrofotomicrografias do sinciotrofoblástico da placenta de maca. (A) e (C) a fotomicrografias de cortes semifinos do labirinto placentário e subplacenta. (B) e (D) observar que os núcleos do sinciotrofoblasto do labirinto possuem aspecto mais irregular quando comparado aos da subplacenta. Além disso, em alguns casos podem apresentar dois nucléolos (nc) bem organizados, ao passo que o subplacentário possui apenas um nucléolo, em todos os casos, bem organizados. Verificar que os nucléolos do sinciotrofoblasto subplacentário dispõem-se na porção mais inferior do núcleo. O citoplasma sincicial mostra-se com intensa granulação, sugerindo a presença de grande número de ribossomos. (A) e (C) - Araldite, 1 μ , azul de toluidina, 1334X. B e D - Araldite, 70 nm, acetato de uranila, citrato de chumbo, B - 10.000X, D - 4.500X

Figura 39 – Células citotrofoblásticas da subplacenta de mocós. (A) - Fotomicrografia de corte semi fino das células citotrofoblásticas, em que se observa sua disposição irregular formando grupos celulares delimitados por septos de conjuntivo (►). (B) - Eletrofotomicrografia do citotrofoblasto. Verificar que o citoplasma é extremamente reduzido, mas mantém seus limites celulares, através da membrana celular que é bem evidente (↓). Observar ainda que não se evidenciam nucléolos organizados, mas diversas regiões de heterocromatina (*) dispersas no interior do núcleo. (A) - Araldite, 1 μ , azul de toluidina, 1334X. B Araldite, 70 nm, acetato de uranila, citrato de chumbo, 10.000X

Após caracterizados os componentes celulares da placenta, descreveu-se então os elementos que compoñham barreira materno-fetal da placenta do mocó. Com base nas descrições realizadas com auxílio de microscópio eletrônico, a barreira placentária apresentou-se constituída por uma camada única de células trofoblásticas sinciciais e pela parede endotelial do capilar fetal separadas, entre si, pela membrana basal, permitindo definir a placenta do mocó quanto a barreira placentária como do tipo hemocorial e subtipo hemomonocorial (Figuras 40 e 41).

Figura 40 - Eletrofotomicrografia da barreira placentária da placenta de mocós. A mesma acha-se constituída pelo endotélio do capilar fetal (↘) e uma única camada de sinciotrofoblasto separada pela membrana basal (↑). Verificar o citoplasma sincicial (sin) rico em organelas e as microvilosidades banhadas pelo sangue materno (*). Observar a presença do capilar fetal (cf) e ainda da lacuna materna (lm). Araldite, 70nm, acetato de uranila e citrato de chumbo. 12800X

Figura 41 - Eletrofotomicrografia da barreira placentária da placenta de mocós em maior aumento. Observa-se o núcleo da célula endotelial do capilar fetal (ne) e a membrana basal com aspecto amorfo (➤) seguida do sinciciotrofoblasto (sin). Araldite, 70 nm, acetato de uranila e citrato de chumbo, 12.800X

O sinciotrofoblasto nos locais onde se estabeleciam áreas de trocas materno-fetais, bem como, as lacunas maternas propriamente ditas, caracterizavam-se por apresentar microvilosidades imersas no sangue materno, contendo vesículas de natureza não identificada em suas extremidades e ainda vesículas citoplasmáticas, próximas à membrana plasmática, que pareciam ser produtos de transporte celular entre os dois meios (Figura 42).

Estes microvilos, por sua vez, pareciam ser mais bem desenvolvidos na região de sincício marginal e labirinto, quando comparados aos das lacunas na subplacenta, embora nenhum método tenha sido utilizado para verificar este fato.

A barreira placentária na placenta do mocó mostrou-se constituída por uma única camada de células trofoblásticas sinciciais e pela parede endotelial do capilar fetal separadas pela membrana basal.

O sincício trofoblasto naquelas regiões onde a barreira era mais delgada apresentava grande quantidade de vesículas citoplasmáticas e ao longo, da barreira a face banhada pelo sangue materno mostrou-se rica em microvilosidades com vesículas de natureza não identificada em suas extremidades, imersas no sangue materno.

Na região da subplacenta foram identificadas lacunas maternas delimitadas por células de natureza sincicial e celular em contato com sangue materno contendo as microvilosidades comportando-se da mesma forma que no labirinto placentário.

Já na região de sincício marginal, na porção da placenta voltada para o feto, as lacunas maternas apresentaram paredes compostas por células

triblásticas gigantes e por sincício trofoblasto em contato com a parede do capilar fetal.

Figura 42 – Eletronfotomicrografias do sinciotrofoblasto da placenta de mocós. Em (A) observa-se as microvilosidades na parede do sinciotrofoblasto em contato com o sangue materno, com vesículas bem evidentes em suas extremidades (*). Em (B) observa-se um detalhe do retículo endoplasmático granular e ao centro uma mitocôndria. (C) corresponde a um agregado de mitocôndrias, organelas muito numerosas no citoplasma sincicial (mt) e (D) representa um detalhe em grande aumento do aparelho de Golgi. Araldite, 70 nm, acetato de uranila e citrato de chumbo. A – 20.000X, B – 45.000X, C – 20.000, D – 45.000X

Por se tratar de uma placenta corioalantoídea do tipo hemocorial, a placenta de mocós mostrou-se rica em lacunas maternas. As lacunas maternas são áreas onde normalmente se processam as trocas materno-fetais, através da barreira placentária, ou então representam locais de retorno sangüíneo ao organismo materno. Na placenta de mocós estas estruturas foram identificadas na região de labirinto e interlóbulo. No entanto, canais sangüíneos maternos, provavelmente para retorno do sangue ao organismo materno, foram observados na região de sincício marginal e na subplacenta.

Em todas as regiões em que se observou, lacunas maternas, o componente em contato com o sangue materno era um sinciciotrofoblasto com parede celular rica em microvilosidades. Contudo, nos canais sangüíneos maternos, observados na região de subplacenta, de um lado observou-se as células citotrofoblásticas e do outro o sinciciotrofoblasto, ambos com microvilosidades em contato com o sangue materno. Na região de sincício marginal na porção da placenta mais diretamente voltada para o feto, os canais sangüíneos observados podiam apresentar células trofoblásticas gigantes, formando a sua parede em substituição ao sinciciotrofoblasto, bem como os dois elementos celulares, conjuntamente. Este tipo de trofoblasto caracterizou-se por apresentar citoplasma intensamente maior que o citoplasma do sincício normal, só diferenciado com precisão quando observado sob microscópio eletrônico (Figura 43).

É importante salientar que, na subplacenta, os capilares fetais relacionados com estes canais possuíam núcleos hipertrofiados e o citoplasma

das células endoteliais, comumente, emitia projeções para a luz dos vasos presentes na subplacenta.

Figura 43 – Em (A) observa-se uma região de barreira placentária presente no labirinto placentário caracterizada pela presença do capilar fetal (cf) e a lacuna materna (lm). (B) e (C) são canais sangüíneos maternos (cs) presentes, respectivamente, na subplacenta e sincício marginal. Observar o trofoblasto celular (cit) e sincicial (sin) formando o canal sangüíneo na subplacenta e o trofoblasto gigante (tg) delimitando os canais sangüíneos na região de sincício marginal. (D) detalhe das projeções do citoplasma das células endoteliais na luz do capilar fetal (⇐) Eletrofotomicrografias. Araldite, 70 nm, acetato de uranila e citrato de chumbo. A – 4.500X, B – 3.000X, C – 2.000X, D - 5960X

Na subplacenta também pôde ser identificada regiões de degeneração celular, caracterizadas pelo fato de seus núcleos e citoplasma possuírem aspectos típicos de estruturas celulares em processo de apoptose, principalmente, naquelas regiões mais próximas da decídua materna, evidenciada pela presença de restos celulares, citoplasma e núcleos atípicos. Somado a isto se observou por várias vezes a presença de polimorfonuclear freqüentes naqueles locais onde normalmente está ocorrendo processos de degeneração celular (Figura 44).

5.4.4.3.3 Placenta vitelínica

No que se refere a placenta vitelínica, tanto a porção parietal quanto porção visceral, segundo as observações realizadas por meio de microscopia eletrônica de transmissão apresentaram às células endodérmicas com núcleos dispostos basalmente e contendo um único nucléolo, na maioria das vezes pouco organizado. O citoplasma mostrou-se muito volumoso e continha retículo endoplasmático bem desenvolvido. Além disso, apresentava um grande número de mitocôndrias e vesículas eletrodensas com formatos diversos e, dispostas em sua grande maioria na região supranuclear. As células desta região também se caracterizaram por apresentarem ricas em microvilosidades do lado que faz contato com as paredes do útero (Figura 45).

Figura 44 – Eletrofotomicrografias da subplacenta de mocós. A) em meio ao material em degeneração celular identifica-se um polimorfo nuclear. B) Vaso em envolto por grande quantidade de restos celulares, indicando um processo de degeneração celular. Observar que não são identificadas organelas citoplasmáticas dispostas no citoplasma, mas apenas um material amorfo e alguns vacúolos provavelmente autofágicos (va). C) núcleo celular (n) disperso em meio ao material citoplasmático com nucléolo desorganizado, indicando processos de degeneração. Araldite, 70 nm, acetato de uranila e citrato de Chumbo. A – 3900X, B – 7.000X, C – 2.000X, D - 5960X

Figura 45 – Eletromicrografias da placenta vitelínica de mocós. A) representa a porção visceral. As células têm núcleos basais (n) e são ricas em microvilosidades (seta). B) representa porção parietal (pvp) sustentada pela membrana de Reichert's (mR) localizada acima do sincício marginal (sm). C) mostra a disposição supranuclear de mitocôndrias (m) e de vesículas eletrodensas (v) e do retículo endoplasmático (re). D) indica espaços inter celulares (ic) e processos de adesão celular (⇌). Araldite, 70 nm, acetato de uranila e citrato de Chumbo. A – 2.250X, B – 6.000X, C – 10.400X, D – 30.000X.

6 DISCUSSÃO

No capítulo referente a discussão os resultados foram analisados e comparados com outros já existentes citados na literatura revisão de literatura como forma de fornecer elementos para definição das conclusões.

Os estudos com placentação em roedores têm sido realizados com base em vários aspectos na tentativa de se estabelecer relações filogenéticas entre os anexos fetais dos vários grupos de roedores, já que nestes indivíduos são observadas particularidades com relação ao formato da placenta, a presença de uma estrutura secundária correspondente à subplacenta e ao saco vitelínico que se mostra completamente invertido, e que funciona como uma estrutura ativa do início ao final da gestação.

Tomando como referência o fato de que estas estruturas podem assumir comportamentos morfofuncionais diferentes nas diversas famílias e espécies desta ordem de mamíferos, procurou-se estudá-las no *Kerodon rupestris* a fim de comparar os resultados obtidos com aqueles já descritos por outros pesquisadores para outras espécies.

6.1 Biometria da placenta, do feto e do cordão umbilical

A mensuração de estruturas fetais em estudos de placentação são realizadas no sentido de verificar até que ponto, variáveis como peso do feto, peso da placenta, comprimento do feto e comprimento do cordão umbilical

mantêm relações entre si, associando a existência ou não destas correlações à eficiência da placenta durante o desenvolvimento do feto.

A análise de correlação obtida com os dados coletados foi realizada no sentido de observar se existia algum tipo de dependência entre as variáveis, uma vez que segundo os dados da literatura existir uma relação direta entre peso do feto, comprimento do feto, peso da placenta e comprimento do cordão umbilical, ao longo das fases de gestação, como indicativo da eficiência placentária. Nos mocós encontrou-se correlação verdadeira em todas as variáveis testadas.

Confirmada a dependência entre as variáveis, utilizou-se o teste não paramétrico de Krauskal-Wallis para avaliá-las em função das fases de gestação, levando em consideração o fato de que a amostra possuía um pequeno valor de “n” e ainda por ser um teste que avalia três ou mais tipos de tratamentos. Neste caso, foram consideradas as fases inicial, intermediária e final da gestação.

Para avaliar estas variáveis segundo o tipo de gestação, utilizou-se o teste de Mann-Whitney U por ser adequado a análises envolvendo apenas dois tipos de tratamentos, neste caso, a ocorrência de feto único ou duplo no útero gestante.

O fato dos valores individuais das variáveis e das relações wf/wp , wf/Lfu e wp/Lf não diferirem significativamente em função do tipo de gestação, estaria indicando, provavelmente, que mesmo que o número de fetos por parição varie, a relação entre as variáveis mantém a mesma proporção. Contudo, acredita-se que uma amostra mais significativa para este fim poderia estabelecer uma mudança de comportamento na análise dos dados.

Na análise realizada considerando as fases de gestação, a relação entre o peso do feto e o peso da placenta e ainda o peso da placenta e o comprimento do feto não terem apresentado diferenças significativas, estaria indicando que estas relações se modificam em função da fase gestacional.

Bruce e Abdul-Karin (1973) em coelhos, por meio de regressão linear a relação entre o peso do feto e da placenta encontraram um coeficiente de correlação positivo em todas as fases da gestação. No mocó, embora, o tratamento estatístico empregado tenha sido diferente, também se verificou uma correlação positiva entre as duas variáveis.

O fato dos pesos do feto e da placenta apresentarem correlação positiva sugere que o peso do feto estaria diretamente relacionado ao desenvolvimento da massa placentária. Contudo, deve-se considerar que outros fatores podem influenciar o seu desenvolvimento.

Duncan (1969) também desenvolveu análise estatística com o peso do feto e placenta de coelhos no período final de gestação, observando uma relação positiva. O autor considerou que a mesma estaria condicionada a origens casuais ou mesmo a fatores como o genótipo do conceito ou ainda a posição deste nos cornos uterino.

Norman e Bruce (1979) realizando pesquisas com metodologia semelhante a utilizada por (Duncan, 1969) em placentas de ratas, definiram os pesos médios dos fetos e das placentas, e correlacionam as duas variáveis utilizando análises de co-variância e coeficiente de correlação comum, obtendo uma correlação positiva entre o peso do feto e da placenta aos treze dias da gestação e uma correlação negativa para o peso da placenta aos dezessete dias

da gestação e não para o peso do feto, com relação ao tamanho da prole, e admitem que fatores como o tamanho da ninhada, posição do feto no corno uterino, o sexo do feto e talvez o peso da placenta afetem diretamente o peso fetal a termo.

Em mocós não foi possível estabelecer o número de dias da gestação, mas apenas estimar-se os períodos inicial, médio e final da gestação. Mesmo assim, verificou-se que os dados apresentaram-se significativos no nível de 5%, indicando que existe uma tendência dos pesos do feto e da placenta crescerem linearmente.

Tam e Burgess (1977), analisando parâmetros de crescimento de componentes teciduais da placenta do porquinho-da-índia observaram que os maiores valores absolutos encontrados para os pesos da placenta e do feto estiveram ao redor dos trinta e cinqüenta e três dias da gestação, e a fase de crescimento do feto deu-se aos quarenta e cinco dias do término da gestação.

Segundo Schneider (1996), com base no que afirma (TAM; BURGESS, 1977), o padrão básico do crescimento placentário e fetal em diferentes espécies de mamíferos mostra similaridades gerais. Por exemplo, o crescimento da placenta no início da prenhez excede o crescimento do feto, enquanto que, na metade da gestação cresce muito mais lentamente do que aumenta o peso do feto. Isto ocorre em função de mudanças estruturais que conduzem a um aumento enorme da capacidade funcional da placenta.

A placenta inicialmente aumenta sua massa celular no sentido de atingir o seu grau máximo de atividade funcional, de modo a garantir a sobrevivência de feto, o que justificaria seu crescimento com rapidez.

Na metade da gestação ela já atinge sua diferenciação máxima, o que garante sua funcionalidade máxima. O feto, no entanto, apesar de ter seu crescimento associado a mecanismos de trocas fetais, continua crescendo, mas de forma moderada, para que as condições de fecundidade placentária sejam mantidas.

Para mocós não foi possível estabelecer relações entre os valores médios obtidos com os anexos fetais. Para que tais relações fossem obtidas, estatisticamente seria necessário amostragens com maior número de ocorrências para cada uma das fases de gestação. O fato de tratar-se de um animal silvestre com gestação longa, com apenas um ou dois filhotes por parição os quais ainda não possuem um manejo reprodutivo totalmente viável em cativeiro, inviabilizou este procedimento.

6.2 Caracterização macro e microscópica do útero

Evolutivamente, o útero representa a estrutura biológica adequada ao desenvolvimento do embrião e do feto durante toda gestação dos mamíferos euterianos, possuindo conseqüentemente diferentes características morfofuncionais nas várias espécies.

Em roedores, grupo de mamíferos com inúmeras particularidades reprodutivas, o útero tem sido objeto de estudos, buscando-se obter um padrão de classificação anatômica consensual nas diferentes famílias deste grupo.

Abrahamsohn e Zorn (1993), descrevendo a implantação do blastócisto no útero de roedores de laboratório, afirmam que em úteros não gravídicos a luz uterina é irregular, mas que muda para um lume com criptas na mucosa com orientação mesometrial-antimesometrial, antes mesmo do blastócisto anexar-se ao epitélio do lume uterino.

Egund e Carter (1974) por meio de angiografia descrevem o útero do porquinho-da-índia como do tipo bicornuado e com circulação dos cornos uterinos oriunda das artérias uterinas, que por sua vez originam-se a partir da ilíaca interna.

Mossman e Hisaw (1940) afirmam que o útero do ratos de “bolso” parece ser do tipo dúplex, e que os cornos uterinos são relativamente curtos e espessos, ao contrário da maioria dos roedores, onde os cornos apresentam-se relativamente longos e adelgaçados.

Oduor-Okelo e Gombe (1982) caracterizam o útero do *Thyonomys swinderianus* como bicornuado, com lume revestido por um epitélio cúbico simples, quando não gravídico.

Em *Erethizon dorsatum*, o útero representa um tipo de transição entre dúplex e bicornuado, com cornos uterinos moderadamente longos, abrindo-se em uma cérvix também longa e revestida por um epitélio do tipo colunar alto (PERROTA, 1959).

Tibitts e Hillemann (1959), ao estudarem a placentação de *Cavia aparea*, descrevem morfológicamente o útero como do tipo dúplex, mas não fazem referência ao tamanho que os cornos possuem. Contudo, afirmam que o epitélio da mucosa uterina é do tipo colunar simples.

Segundo Ramsey e Donner (1980), o útero obtém sua provisão sangüínea predominantemente da aorta pelas ilíacas interna e artérias uterinas, mas que pode apresentar provisão secundárias de fontes como a epigástrica e artérias ovarianas, entre outras. Ainda de acordo com esses autores, as filiais das artérias uterinas penetram a parede uterina bilateralmente e vão emitindo pequenas artérias que se organizam em arcada provendo as paredes uterina de sangue.

De acordo com análises realizadas com base na macroscopia e microscopia de luz o útero de mocós é do tipo bicornuado, suprido por uma artéria ovário-uterina com origem na ilíaca interna, e tem seu lume revestido por um epitélio prismático. Desta forma, no que se refere ao fato de ser bicórneo os resultados encontrados para o útero do mocó concordam com os resultados obtidos por vários pesquisadores (CARVALHO et al. 1996; EGUND; CARTER, 1974; MACHADO et al. 1996; MIGLINO et al. 1996; ODUOR-OKELO; GOMBE, 1982) em pesquisas com espécies diferentes de roedores.

Assemelham-se ainda aos resultados de Egund e Carter (1974) e Ramsey e Donner (1980) quanto aos vasos que dão origem as artérias ováricas e uterinas, nestes casos oriundas das ilíacas interna e artérias uterinas. Entretanto, diferem daqueles encontrados por Mossman e Hisaw (1940) Perrota (1959) e Tibbitts e Hillemann (1959), uma vez que o útero dos roedores estudados por estes pesquisadores foram classificados como dúplex.

É interessante colocar ainda que as descrições realizadas pelos pesquisadores para o útero torna-se previsível, se comparadas tais descrições àquelas realizadas por Mossman (1987), que cita um padrão diferente para o

útero, indicando que o mesmo mantém uma série de particularidades nas diversas unidades taxinômicas desta ordem.

6.3 As membranas fetais do mocó

Em mamíferos superiores, a presença das quatro membranas extra-embrionárias é um fato comum a todas as espécies. O que pode ocorrer, no entanto, são modificações de ordem funcionais, fazendo com que elas interajam entre si e formem diferentes tipos de placentas ou algumas delas sofrerem processos de involução com o decorrer da gestação.

O saco vitelínico, a primeira das estruturas a surgir nos vertebrados como membrana extra-embrionária, nos roedores aparece como uma membrana invertida descrita por Mossman² (1937) apud Luckett, 1968, durante a ontogênese, o saco vitelínico é vascularizado por meio de vasos com origem nas artérias mesentéricas, que emergem junto com o cordão umbilical, tornando-o ricamente vascularizado, sendo em razão disto denominados de vasos vitelínicos.

Esta vascularização é citada por Fischer (1971) que descreve o saco vitelínico como uma estrutura provida de sangue por artérias vitelínicas. Para Leiser e Kaufmann (1994) e Luckett (1968) é uma estrutura completamente vascularizada.

2

¹- Mossman, 1937 apud LUCKETT, W. P. Morphogenesis of the placenta and fetal membranes of the tree shrews (Family tupaiidae). **American Journal Anatomy**, v. 123, n. 3, p. 385-428, 1968.

Na maioria dos roedores o saco vitelínico modifica-se formando uma placenta vitelínica dotada de uma porção parietal e outra visceral, funcionando como um órgão de trocas materno-fetais, cujas funções parecem ser substituídas ou complementadas pela placenta corioalantoídea, a qual se origina nos roedores durante as fases iniciais da gestação.

No roedor em questão o saco vitelínico apresentou-se intensamente vascularizado e invertido, a exemplo do que descreve em outros roedores, Fischer (1971), Leiser e Kaufmann (1994), Lucket (1968) e Mossman (1977), constituído por um epitélio prismático simples, formando uma placenta vitelínica parietal e uma visceral, diferindo, portanto dos resultados obtidos por Tibbitts e Hillemann (1959) em estudos com chinchila, os quais afirmam que nenhuma placenta vitelínica parietal ou membrana de Reichert's se forma nestes animais.

O âmnio é descrito, na maioria das espécies, como uma estrutura avascular que tem como função a proteção hidrostática do feto, pelo fato de possuir uma cavidade preenchida por líquido com funções dinâmicas. Fischer (1971) afirma que em chinchilas ele aparece como uma estrutura pregueada e avascular. Esta corresponde a uma camada epitelial com função de suporte que rodeia o embrião ou feto em desenvolvimento (HILLEAMNN; GAYNOR, 1961; LEISER; KAUFMANN, 1994).

Em mocós o âmnio mostrou-se liso, avascular, com ausência de pregas e formado por epitélio pavimentoso simples, diferente da descrição feita, quanto ao tipo de epitélio, por Hillemann e Gaynor (1961). Estes autores afirmam que o

ectoderma amniótico, em chinchilas, é composto por epitélio escamoso cúbico simples com núcleos ovóides ocupando posição central da célula, sem evidências de que fosse vascularizado. Esta descrição difere daquela realizada para mocós, quanto ao tipo de epitélio, mas é concordante quanto ao fato do mesmo ser avascular.

Leiser e Kaufmann (1994) em trabalho sobre a estrutura placentária segundo critérios comparativos entre diversos grupos de mamíferos, afirmam que o cório, o âmnio, o saco vitelínico e o alantóide são as estruturas membranosas envolvidas com o desenvolvimento placentário. O cório corresponde a uma camada epitelial derivada da parede blastocística externa, que corresponde ao trofoblasto, e nunca desenvolve vasos. O âmnio corresponde a uma camada epitelial com função de suporte que rodeia o embrião ou feto em desenvolvimento. O saco vitelínico consiste numa camada de epitélio endodérmico vascularizado por vasos vitelínicos. Por último, o alantóide, formado por mesênquima ricamente vascularizado, que se conecta ao cório de maneira parcial ou completa para formar a circulação embriônica formando a placenta corioalantóica de grande número de mamíferos.

Quanto a membrana coriônica e alantoídea, na literatura há referências às mesmas, em roedores, como membrana justaposta denominada de membrana corioalantoídea, já que resulta de suas interações um órgão de trocas definitivo, que corresponde a placenta corioalantoídea dos roedores.

Em mocós o cório e o alantóide estiveram envolvidos com a formação da placenta principal, a qual foi denominada, por esta razão, de corioalantoídea. No entanto, naquelas regiões em que cório pode interagir com o saco vitelínico uma

membrana coriovitelínica pode ser observada, sendo uma porção lisa, formada por um epitélio cúbico simples, e uma porção vilosa, constituída por epitélio prismático simples. Não foram encontrados na literatura alusões a este fato, contudo, acredita-se que observações desta natureza sejam importantes, uma vez que elas mostram o grau de relação entre as membranas fetais na espécie em questão.

O aspecto viloso observado no saco vitelínico de mocós, durante as observações macroscópicas, pôde ser comprovado através de microscopia de luz. O mesênquima que forma a parede do saco vitelínico dispõe-se formando estruturas vilosas, contendo centralmente tecido mesenquimal perfurado por vasos vitelínicos, no caso da porção visceral.

O saco vitelínico tem sido estudado em roedores, principalmente pelo fato deste juntamente com o cório serem as estruturas que compõem a placenta vitelínica no início da gestação dos roedores. Porém, também tido sido objeto de estudos pelo fato de representar uma estrutura de trocas materno-fetal, da qual pouco se sabe sobre o metabolismo. Stewart (1993) afirma que o saco vitelínico, sendo a primeira das estruturas extra-embionárias a se desenvolver, tem uma função importante no regulamento e na mobilização da nutrição do embrião de espécies ovíparas e que adicionalmente contribui para trocas materno-fetais em muitas espécies vivíparas.

6.4 O cordão umbilical

A determinação de medidas como comprimento e diâmetro do cordão umbilical são importantes em estudos reprodutivos, pois podem servir de parâmetros para avaliar as condições de desenvolvimento do feto.

Segundo Miller et al. (1981), Moessing et al. (1982) e Moessing (1983), o comprimento do cordão umbilical representa um indicador confiável do movimento fetal e é influenciado por pelo menos dois fatores: a incidência do movimento fetal e do espaço intra-uterino disponível. Logo, se houver diminuição do espaço intra-uterino ou se o movimento fetal for bloqueado, haverá uma diminuição no estiramento do cordão umbilical com conseqüente diminuição do comprimento do mesmo.

Em roedores estudos envolvendo alterações no comprimento do cordão umbilical foram realizados por Cunha et al. (1992), Leão et al. (1992), Liedike (1995) e Oliveira (1994). Nestes estudos observou-se a influência de fármacos no movimento fetal, presenciando-se cordões umbilicais curtos sempre que existia uma diminuição dos movimentos do feto pela ação do fármaco.

O cordão umbilical de mocós apresentou padrão arterial e venoso semelhante àquele descrito por Hillemann e Gaynor (1961), Silva (2001) e Tibbtes e Hillemann (1959), uma vez que, em nutria, chinchila e pacas os pesquisadores citam a presença de duas artérias e apenas uma veia umbilicais. No entanto, em mocós os resultados diferiram daqueles obtidos pelos autores acima no que se refere ao tipo de tecido de revestimento da parede que forma o lume do ducto alantóide. Em mocós o epitélio deste ducto apresentou-se

tipicamente como um epitélio de transição, diferentemente dos resultados encontrados por Tibbtes e Hillemann (1959) que descrevem, o epitélio do ducto alantóide, em chinchilas, como sendo cúbico simples, dos de Silva (2001) para pacas que descreve um epitélio bi-estratificado cúbico e ainda com os de Neves (2000) que caracterizou o epitélio do ducto como sendo revestido por células endoteliais. No mocó os resultados referentes ao número de vasos do cordão umbilical são semelhantes aos encontrados por Hillemann e Gaynor (1961), Silva (2001) e Tibbtes e Hillemann (1959), quanto a presença da artéria e veias vitelínicas presentes no cordão umbilical.

6.5 Macroscopia da placenta

A placenta, definida como o centro funcional da unidade biológica materno-fetal, é do ponto de vista morfológico quanto funcional, um órgão complexo, que no curso de seu desenvolvimento sofre modificações macroscópicas e microscópicas em sua estrutura, indicando seu processo de maturação.

Entender como surgem estas modificações durante a organogênese, e como elas se acentuam em função da duração da gestação, garantindo sua atividade tem levado a realização de pesquisas em todo o mundo.

Estas investigações acerca da placenta têm sido realizadas com base em diferentes técnicas de microscopia e processamentos histológicos. Em função disto, a grande maioria dos estudos realizados com este órgão tratam, inicialmente, de sua descrição macroscópica.

Em cutias Carvalho et al (1996) descrevem a placenta de gestação de termo como discoidal e constituída por lóbulos. No entanto, Neves (2000) refere-se a placentas de cutias como uma estrutura lobada com formato globoso, enquanto Rodrigues (2002) define, também em cutias, a placenta como um órgão estruturalmente lobado, mas com formato esférico. É importante salientar neste caso que todos os pesquisadores trabalharam com a espécie *Dasyprocta aguti*.

Ferraz (2001), Ferreira et al. (2001) e Kaufmann (1981), estudando placentas de capivaras, ratão do banhado e porquinho-da-índia, em fase final de gestação, respectivamente, classificaram a placenta destes animais como lobada e discoidal. Já Fischer (1971), estudando a placenta do castor canadense, descreve-a com formato reniforme e arquitetura lobada, enquanto que Graça-Pires (1998) e Mossman (1926), estudando placentação em coelhos, classificam-na como do tipo bidiscoidal.

Machado et al. (1996) e Matamoros (1981) descreveram a placenta da paca como discoidal e lobada. Silva (2001), entretanto, considerou que a placenta destes animais era discoidal, mas não se refere ao aspecto da lobação.

O formato da placenta nos roedores tem assumido geometria variável, o que permite conceituar que os roedores são animais com placentação do tipo generalizada, em relação a sua geometria. Moojen (1952), descrevendo sobre a biologia dos roedores do Brasil, cita que estes são animais que possuem placentação generalizada, provavelmente referindo-se ao fato de que a placenta assume formas geométricas diversas entre as espécies que compõem este grupo de mamíferos

Torna-se importante salientar ainda considerando-se como correta a descrição que tem sido dada à placentação dos roedores, que é consensual o fato da placenta definitiva neste grupo de animais ser sempre resultante da interação entre a membrana coriônica e a alantóica, sendo, portanto corioalantoídea. Segundo literatura consultada, em todos os roedores pesquisados a placenta definitiva resulta da interação entre estas duas membranas extra-embrionárias.

Outro aspecto de consenso observado em placenta de roedores é o da lobação, uma vez que, ao se referirem a caracterização macroscópica da placenta definitiva, os pesquisadores a descrevem como estruturalmente lobada, com exceção do trabalho realizado por Mossman e Weisfeldt (1939) com o roedor *Cittellus tridencenlineatus*, descrita como uma placenta hemocorial com ausência de lóbulos.

Em mocós, a placenta em gestação de termo, macroscopicamente apresentou geometria discoidal, sendo este formato resultante da interação entre o cório e o alantóide o que a caracteriza como uma placenta corioalantoídea.

Já os aspectos da lobação foram descritos com base nos moldes obtidos por injeção de mercox, onde se pôde observar a forma levemente arredondada, tamanho variado e orientação no sentido materno. Tais resultados assemelham-se àqueles descritos por Perrota (1959) para o porco espinho canadense, um roedor histrycomorpha, no que diz respeito, a forma geométrica, a lobação e ao tipo de interação entre as membranas, resultados semelhantes aos de (FERRAZ, 2001; FERREIRA, 2001; KAUFMANN, 1981) e discordantes daqueles definidos por (FISCHER, 1971; NEVES, 2000; RODRIGUES, 2002).

Certamente, estas diferenças estão associadas a questões filogenéticas, ou mesmo às diferentes interpretações dada pelos autores à placenta no que se referi a forma geométrica. No entanto, vale ressaltar que os resultados que mais se assemelharam aos obtidos para mocós foram descritos em roedores que possuem maior similaridade de caracteres filogenéticos de grupo, como é o caso do porquinho-da-índia e do chinchila descrito por Mossman (1987) e Tibbtttes e Hillemann (1959).

Parece existir na verdade uma tendência da placenta dos roedores assumir formato discoidal, contudo, algumas espécies fogem a este padrão. Mossman (1937, 1987) descreve a forma da placenta de membros de varias famílias de roedores como discoidal. No entanto, refere-se, a placenta de *Dasyprocta aguti* como sendo esférica, enquanto, Neves (2000) e Rodrigues (2002) afirmam que na mesma a placenta globosa. Mossman (1937, 1987) refere-se ainda a presença de uma delgada mesoplacenta, neste roedor, sobre a qual se refere também Rodrigues (2002).

6.6. Placenta do mocó: Análise microscópica

Os parágrafos que se seguem tratam exclusivamente dos aspectos referentes às estruturas identificadas na placenta de mocós com auxílio de técnicas de microscopia e, como forma de facilitar a discussão decidiu-se por

discutir separadamente as interpretações obtidas por meio de microscopia de luz, varredura e transmissão.

6.6.1 A decídua basal e a zona juncional

A decídua resulta da reação decidual do estroma materno no sentido de garantir que o mecanismo da placentação se processe naqueles mamíferos, em que o trofoblasto desempenha ação fortemente invasiva. A decídua seria, portanto, a contribuição materna inicial à implantação e resulta da transformação do estroma uterino pela ação do trofoblasto (JOLLIE 1965; LATSHAW, 1987)

Abrahamsohn (1983) descreve, com base na ultra-estrutura, que em ratas as células deciduais são poligonais, e dotadas de núcleos arredondados e nucléolos proeminentes no início da gestação. Davies e Glasser (1968) consideram-na uma zona fibrosa e estreita formada por células estromais condensadas coradas fortemente pela eosina

O desenvolvimento da decídua em roedores estaria segundo Ansell, Barlow e McLarem (1974), associado à produção de células multinucleadas e a células gigantes, aparecendo em ratos ao redor do oitavo dia da gravidez de acordo com KREHBIEL (1937).

Sendo assim, a região de decídua basal representa o primeiro local de grande atividade, que se estabelece durante o processo de placentação, principalmente naqueles grupos de indivíduos com placentação do tipo invasiva. É a partir dela que surge as primeiras condições favoráveis a implantação e

conseqüentemente estabelecimento e desenvolvimento do embrião no ambiente uterino. Por exemplo, nesta região os vasos maternos se modificam, por ação do trofoblasto, no sentido de estabelecer um fluxo sangüíneo adequado entre mãe e feto, garantindo sua sobrevivência.

Dantzer, Leizer e Kaufmann (1988) consideram que esta estrutura placentária resulta das mudanças que ocorrem no endométrio uterino durante a implantação. Estas modificações estariam associadas a modificações no formato, organização e metabolismo das células estromais do tecido conjuntivo do endométrio. Estes conduzem a formação de um tecido distinto correspondente a decídua, o qual surge pela ação mediada por esteróides ovarianos, fazendo com que as células do estroma uterino aumentem de tamanho, arredondem seus núcleos e diminuam o espaço do estroma extra celular.

Em mocós a decídua basal é representada por uma pequena faixa de células modificadas pela reação do estroma uterino com o trofoblasto invasivo de origem embrionária. Suas células caracteristicamente pequenas e possuem citoplasma acidófilo, núcleos ligeiramente eosinófilos e apresentam vasos sangüíneos. Esta descrição assemelha-se àquelas realizadas em roedores como a paca (BONATELLI, 2001) e a capivara (FERRAZ, 2001). No entanto, na paca e capivara a reação decidual parece possuir um outro tipo de comportamento, dado ao fato de que, nestas espécies, a placenta encontra-se delimitada por uma grande cápsula membranosa de origem conjuntiva, que delimita uma menor área de interação entre os tecidos maternos e fetais.

Não foi objetivo deste estudo caracterizar o papel da decídua na gestação, mas sabe-se que a mesma representa o primeiro local de grande atividade que se estabelece durante o processo de placentação, principalmente naqueles animais em que a placentação é do tipo invasiva, garantindo as condições favoráveis ao desenvolvimento do embrião no ambiente uterino. Neste sentido Ansell, Barlow e McLaren (1974) descrevem que a mesma estaria, em roedores, associada à produção de células multinucleadas e a células gigantes, aparecendo em ratos ao redor do oitavo dia da gravidez (KREBBIEL, 1937).

Na decídua os vasos maternos modificam-se, por ação do trofoblasto, a fim de estabelecer o fluxo sanguíneo adequado entre a mãe e o feto. Além disso, resultando da interação entre os tecidos deciduais e o trofoblasto forma-se um delgado septo de conjuntivo, delimitando a subplacenta dos Caviideos, denominada zona juncional, particularmente diferente nos diversos roedores. Esta parece estar associada a processos de síntese de glicogênio juntamente com a decídua basal.

Segundo Davies, Dempsey e Amoroso (1961), esta região é uma lâmina de mesênquima fetal situado entre a subplacenta e a placenta principal que passa entre as lamelas de citotrofoblasto da subplacenta levando vasos sanguíneos à placenta corioalantóide e à subplacenta. Neste último caso as células endoteliais da parede dos vasos são substituídas por elementos trofoblásticos invasivos.

Para Jollie e Craing (1979), esta representa uma região intermediária entre o labirinto e a decídua composta por células gigantes, espongiotrofoblasto,

células de glicogênio, e células basófilas indiferenciadas (PEEL; BULMER, 1977).

As células desta região caracterizam-se fisiologicamente por acumular glicogênio e produzir hormônios de diferente natureza química (JOLLIE; CRAING, 1979).

A zona juncional na placenta dos mocós consistiu de uma lâmina circular de tecido conjuntivo contendo no seu interior a subplacenta. Nela pode ser observado a presença de células que pareciam conter grânulos de glicogênio, células trofoblásticas gigantes e ainda estruturas com características de matriz hialina. Jollie e Craig (1979) e Peel e Bulmer (1977) definem a zona juncional como uma região rica em glicogênio. Na placenta dos mocós a presença de glicogênio foi confirmada pela reação em lâmina na qual utilizou-se ácido periódico de Schff, o que confirma a hipótese levantada.

O fato de terem sido observado grânulos de glicogênio nesta região, pode representar um indicativo de sua importância na atividade metabólica placentária.

Luckett e Mossman (1981) afirmam que a zona juncional corresponde a uma zona proeminente da decidua basal contendo numerosas células gigantes decíduais. Particularmente, acredita-se que esta é a descrição mais correta para tal estrutura, uma vez que existem contradições na literatura quanto a sua origem.

Um dos aspectos que tornam estimulante estudar a placenta de roedores, principalmente, entre os Caviideos, é o número de componentes funcionais e particularidades, que esta estrutura apresenta entre as diversas Famílias e espécies. Dentre os roedores sul-americanos estruturas, tais como as células

gigantes, a subplacenta e a membrana de Reichert's, ainda não haviam sido descritas em roedores, sendo estruturas de grande interesse nos estudos com placentação.

Davies, Dempsey e Amoroso (1961) referem-se a estas células como estando inseridas profundamente ao endoderma parietal e fundido-se na superfície com o sincício marginal da placenta corioalantoidea.

As células trofoblásticas gigantes podem está distribuídas próximas a decídua, ao longo da membrana de Reichert's no início da gestação ou durante todo período gestacional segundo Mossman, (1937, 1987).

Perrota (1959) afirma que as células gigantes estão presentes na periferia da placenta coriônica, revestindo espaços que provêem caminhos para o retorno do sangue materno da placenta às veias na decídua, mas que também podiam ser encontradas em uma região próxima a decídua.

Sansom (1927) admite que em coelhos estas células gigantes alcançam tamanho enorme em comprimento e são normalmente mononucleadas, mas podem apresentar-se multinucleadas, localizadas próximas às paredes do útero gravídico, sendo encontradas raramente no labirinto placentário próxima à subplacenta e na periferia do disco como descrito por Hillemann e Gaynor, (1961) e Perrota (1959). Segundo este último autor existe discussão quanto a origem destas células se maternas ou fetais, porém admite que a grande maioria delas são de origem fetal.

Na placenta de mocós estas células foram encontradas envoltas em tecido conjuntivo que constituía a zona juncional, envoltas em alguns pontos da membrana de Reichert's e ainda na porção livre da placenta voltada para o feto,

próximo ao local onde o âmnio faz contato com a placenta. Além disso, apresentavam citoplasma de formato irregular e um núcleo ligeiramente basófilo, geralmente único.

Hoffmann e Wooding (1993) afirmam que as células gigantes são grandes, mononucleadas e abundantes em placentas de ratos, hamsters e esquilos e resultam da transformação de células blastocísticas trofodermais.

Células gigantes foram descritas em porquinho-da-índia (KAUFMANN, 1969), roedores africanos (LUCKETT; MOSSMAN, 1981), camundongo (MUNTENER; HSU, 1977), e humanos (PIERCE; MIDGLEY, 1963).

As descrições feitas para as células gigantes na placenta de mocós assemelham-se aos resultados descritos Davies, Dempsey e Amoroso (1961) Hillemann e Gaynor (1961), Hoffmann e Wooding (1993), Perrota (1959) e Sansom (1927), no que diz respeito a sua localização e descrição microscópica.

6.6. 2 Caracterização do labirinto placentário

Segundo Kaufmann (1969) a placenta do cobaia, microscopicamente, acha-se dividida por um sincício marginal e interlóbulo igualmente constituídos e por lóbulos compostos pelo labirinto e centro do lóbulo.

Esta descrição é similar à observada para a placenta principal dos mocós. Entretanto, para a placenta do mocó ocorre algumas diferenças entre o sincício marginal e interlóbulo, pois enquanto o interlóbulo apresenta-se rico em lacunas maternas e capilares o sincício marginal mostrou-se pobre em capilares, mas ricos em canais sangüíneos, provavelmente responsáveis para retorno

sangüíneo ao organismo materno. Esta descrição baseia-se no fato de que os espaços que separam o sangue materno e fetal não representarem locais de trocas metabólicas, mas sim locais onde o sangue é recolhido. A mesma diferiu ainda do labirinto pela presença de células trofoblásticas gigantes bem diferenciadas, principalmente na região de sincício marginal com maior relação com a face fetal.

Ham (1976), ao diferenciar o trofoblasto celular do sincicial, considera o citotrofoblasto como células trofoblásticas perfeitamente definidas e separadas, enquanto o sincício é formado por células pouco definidas, constituídas por uma massa contínua de citoplasma que possui vários núcleos por essa razão denominada de sinciotrofoblasto.

Leiser e Beier (1988), descrevendo a formação das lacunas no início da gestação em coelhos, afirmam que estas representam espaços sangüíneos maternos limitados por células trofoblásticas que começam a se desenvolver durante os últimos estágios da implantação e são típicas de placentas hemocoriais. As mesmas resultam da perda das paredes dos vasos pela ação invasiva do trofoblasto, mas podem também resultar da ação da reação decidual. Carter (1975) afirma que a formação das lacunas maternas estaria relacionada à pressão e ao próprio fluxo sangüíneo.

Estas lacunas maternas estão separadas do sangue materno por um número diferente de componentes estabelecidos de acordo com (Enders1965). Quando separando o sangue materno do fetal, observa-se o endotélio do capilar fetal, a membrana basal e apenas uma, duas ou três camadas de sinciotrofoblasto, as placentas são denominadas de hemomono, hemodi e

hemotricoriais, respectivamente, em função da barreira que estas estruturas formam entre os dois fluxos sanguíneos.

O labirinto na placenta de mocós, juntamente com o centro lobular constituíam os lóbulos placentários. O sinciotrofoblasto apresentou limites indefinidos, como descrito por (HAM, 1976), enquanto o citotrofoblasto foi observado apenas na subplacenta, com limites celulares bem definidos. Além disso, os limites que separavam o sangue materno do fetal corresponderam a descrição para placentas hemomonocoriais definidas por Enders (1965). Além disso, o trofoblasto sincicial que mantinha relação com o espaço materno mostrou-se rico em microvilosidades.

Em roedores o modelo hemocorial da barreira placentária tem apresentado subtipos diferentes. Dantzer, Leiser e Kaufmann (1988), em chinchilas e no porquinho-da-índia, Kerstschnska, Schoder e Kaufmann (1997), no degu, e Oduor-Okelo (1984), em rato-de-cana, descreveram a barreira placentária como hemomonocorial, semelhante à encontrada para o mocó, mas diferente da encontradas por Enders e Welsh (1993) e Wislocki e Dempsey (1955) em ratos, onde a barreira placentária constitui uma placenta hemotricorial.

Para King (1982), a condição labiríntica e hemomonocorial é uma característica de roedores caviomorfos, neste caso representados pelos mocós, degu e chinchila, o que corresponderia certamente a um caráter filogenético de grupo, questão abordada por Amoroso (1959), Carter (2001), Hillemann e Gaynor (1961) e Mossman (1987).

6.6.3 A subplacenta do mocó

A subplacenta foi descrita pela primeira vez por Duval² (1892) apud Davies; Dempsey; Amoroso, 1961, e tem sido objeto de estudo por outros pesquisadores, principalmente pelo fato de ser uma estrutura placentária comum a roedores Caviidae, cujas funções ainda são pouco conhecidas. Perrota (1959) descreve a subplacenta como uma estrutura resultante do trofoblasto primário que limita a escavação central e que, durante a vascularização da placenta coriônica deixa de ser convertido em labirinto, ficando retido, e que depois se prolifera para formar a subplacenta.

Sabe-se, no entanto, que esta estrutura aparece com um grande volume celular no início da gestação e que pode permanecer com menor volume ou desaparecer por completo ao término da gestação.

Segundo Davies, Dempsey e Amoroso (1961), a subplacenta consiste de citotrofoblasto que se diferencia em sincício, à medida que a gestação progride na superfície da decídua basal e está separada da placenta corioalantoídea por uma lâmina de mesênquima fetal que passa entre as lamelas de citotrofoblasto da subplacenta levando consigo os vasos sanguíneos. Oduor-Okello (1984) descreve para um roedor africano que a subplacenta de fato era formada por trofoblasto celular e sincicial separados por septos de mesênquima fetal, onde o último apresentava-se com numerosos microvilos, retículo endoplasmático granular e aparelho de Golgi bem desenvolvidos.

²- Duval, 1892 DAVIS, J., DEMPSEY, E. W. e AMOROSO, E. C. The subplacenta of the guinea pig: An electron microscopic study. **Journal Anatomy**, v. 95, n. 2, p. 311-324, 1961.

Em mocós a subplacenta apresentou-se com as mesmas características que têm sido descritas em outros roedores (Davies; Dempsey; Amoroso, 1961; Kaufmann; Davidoff, 1977, persistindo até o final da penhez, mas sofrendo uma série de modificações ao longo desta, como uma massa células trofoblásticas tipicamente de natureza celular em proximidade com os vasos inseridos no mesênquima fetal de cada lóbulo subplacentário e delimitando áreas de massa trofoblásticas de natureza sincicial. Esta massa celular citotrofoblástica é predominantemente maior no início da gestação, mas à medida que a gestação progride ela torna-se menor em relação à massa sincicial. No entanto, mostra-se diferente quanto à presença de canais ou lacunas maternas, estruturas delimitadas de um lado, por sinciciotrofoblasto e do outro, por citotrofoblasto, ambos contendo microvilosidades imersas no sangue, provavelmente de origem materna. Oduor-Okelo (1984) descreve a presença de microvilosidades para o sinciciotrofoblasto subplacentário.

Ao término da gestação, a placenta do mocó caracterizou-se por apresentar áreas de degeneração, áreas com estrutura tecidual composta por matriz hialina e material nuclear necrótico. Esta mesma descrição foi obtida por Perrota (1959), para a subplacenta, estudando a placenta do porco espinho canadense.

Estes resultados assemelham-se ainda aos obtidos por Tafani ³(1886) e Wislocki ⁴ (1921) *apud* Davies, Dempsey; Amoroso 1961), no que se refere a

³Tafani, (1886) e ⁴ Wislocki, (1921) *apud* DAVIS, J., DEMPSEY, E. W. e AMOROSO, E. C. The subplacenta of the guinea pig: An electron microscopic study. **Journal Anatomy**, v. 95, n. 2, p. 311-324, 1961.

presença apenas de vasos fetais na mesma, pois no mocó não poderam ser identificados vasos maternos adentrando a subplacenta, mas apenas na zona juncional, indo vascularizar a placenta principal. Neste caso os vasos maternos caracterizam-se por apresentar elementos trofoblásticos em substituição ao endotélio da parede dos mesmos.

Davies e Glasser (1968) referem-se a vasos maternos na subplacenta como vasos forrados por elementos celulares grandes, que podem ser células endoteliais hipertrofiados ou possivelmente células trofoblásticas derivadas da zona juncional da placenta.

Acredita-se que, apesar da existência destes vasos na zona juncional, na subplacenta não ocorra vasos maternos propriamente ditos, uma vez que os mesmos só são visualizados naqueles locais da zona juncional diretamente relacionados com a decídua. Caso contrário, o problema estaria em delimitar precisamente o que seria decídua, subplacenta e zona juncional, já que segundo as interpretações sob microscopias de luz e eletrônica de transmissão não deixam dúvidas que estes vasos se encontram nos limites da zona juncional e em nenhum momento foram observados na subplacenta com estas mesmas características.

6.6.4 O pedúnculo placentário

O pedúnculo placentário corresponde ao conjunto de estruturas que conectam a placenta ao tecido uterino. Estas estruturas têm aspecto variado

entre os roedores, podendo está representadas apenas pelo tecido que constitui a decídua basal, ou conjuntamente pela subplacenta, bem como por uma mesoplacenta, além de outras estruturas com denominações próprias.

Miglino et al. (2002) referem-se ao pedúnculo placentário em *Aguti paca* e *Dasyprocta aguti* como uma estrutura formada pela mesoplacenta originada a partir da zona juncional da decídua basal. Em *Cavia porcellus* (TIBBTTS; HILLEMANN, 1959) identificaram a mesoplacenta como estrutura peduncular

enquanto no *Myocastor coypus*, Hillemann e Gaynor (1961) afirmam que a conexão da placenta ao útero se faz por um pedículo basal de tecido decidual

Wolfer e Kaufmann (1980) afirmam que a placenta principal está conectada à parede uterina por uma área de contato, denominada de haste placentária e ainda a subplacenta, uma área do ponto de vista metabólico altamente ativa, localizada no centro da haste placentária, condição única dos roedores caviomorfos

Em mocós a placenta discoidal definitiva achava-se presa ao útero materno numa depressão côncava representada pela região de decídua e a própria subplacenta, conforme observações realizadas durante as análises microscópicas. Nas observações macroscópicas não foi possível caracterizar nenhuma estrutura macroscópica que representasse o pedúnculo placentário, como a mesoplacenta descrita por Rodrigues (2002), em cutias, ou os “tirantes” observados por Silva (2001), em pacas.

Trabalhos envolvendo o pedúnculo placentário são citados apenas como complementares a estudos de placentação. Acredita-se, no entanto, que melhor atenção deva ser dada a esta estrutura, pois a mesma pode está diretamente

envolvida com a relação materno-fetal, dado ao fato que por ele os vasos maternos chegam à placenta, perfurando a zona juncional, ramificando-se em seguida no interior da placenta principal até formar as lacunas maternas, no caso das placentas hemocoriais.

6.6.5 A placenta vitelínica na placentação do mocó

Os trabalhos envolvendo a placenta vitelínica de roedores, de modo geral, têm sido realizados através de microscopia eletrônica de transmissão e ainda por meio de técnicas de histoquímica. Poucas vezes representando o objetivo principal da investigação. Observa-se, porém, que esta estrutura parece não possuir grandes diferenças morfológicas entre roedores, já que os trabalhos têm apresentado descrição similar para cada um dos seus componentes.

Calarco e Moyer (1966) consideram que em mamíferos a placenta vitelínica possui importância secundária, persistindo como uma estrutura adicional. Em roedores, no entanto, ela continua seu desenvolvimento, envolve parcialmente o embrião e tem funções de proteção, nutrição e hematopoiética.

Carpenter e Ferm (1969) admitem que a placenta vitelínica visceral se forma, em hamsters, justapondo-se ao endométrio sem que haja nenhuma relação citológica íntima entre o seu epitélio e o endométrio, mas encontra-se formada por um epitélio que enfrenta o lume uterino, uma camada de tecido mesenquimal frouxo contendo vasos e uma camada de células mesoteliais aplainadas na superfície que representa seu limite da cavidade exocelomática.

Em mocós esta estrutura mostrou uma porção parietal em contato com a parede do corno uterino gestante e uma porção visceral com vilosidades voltadas para a luz do útero, presa à placenta principal por meio de um apêndice de natureza conjuntiva e avascular.

São semelhantes no tocante às descrições realizadas para a placenta vitelínica do mocó, do ponto de vista da microscopia, os trabalhos desenvolvidos por Dempsey (1953), Hillemann e Gaynor (1961), Tam e Burgess (1977) e Welsh e Enders (1987).

Vale salientar que ao descrever esta estrutura no chinchila, Hillemann e Gaynor (1961) observaram apenas a existência da porção vitelínica visceral do saco vitelínico. Neste caso ela apresentou-se como uma estrutura altamente desenvolvida, formando um reforçado envelope pelo lado de fora do âmnio e presa ao lado fetal da placenta corioalantoídea.

O fato da porção parietal da placenta vitelínica está ausente pode representar um indicativo de que ela tenha um papel secundário comparada à porção visceral, pois sendo esta última extremamente vascularizada poderia ser considerada como a provável estrutura de nutrição fetal antes que a placenta corioalantoídea esteja funcionalmente ativa, como retratam alguns estudos.

Welsh e Enders (1987), estudando a placenta de ratos, chama a atenção para a importância da placenta vitelínica visceral como uma placenta funcional em roedores, antes da formação da placenta corioalantoídea, já que é por ela que os nutrientes alcançam o embrião.

No que se refere a membrana de Reichert's, a melhor definição, descrita para a mesma, segundo nosso entendimento, é aquela fornecida por Mossman

(1937), na qual ele afirma que esta estrutura corresponde a uma membrana hialina localizada entre o trofoderma e o endoderma da parede bilaminar do saco vitelínico, composta por tecido elástico colágeno ou outra proteína ou uma mistura de proteínas.

A mesma foi definida também por Hoffman e Wooding (1993), em roedores, como uma estrutura que apóia a camada parietal do endoderma do saco vitelínico e ainda como um material amorfo que reveste o trofoblasto do epitélio endodérmico, aparecendo em todas as fases da gestação como uma faixa de densidade eletrônica moderada.

Segundo King e Enders (1970), o saco vitelínico de cobaias apresenta um complexo arranjo de dobras e vilos na região do disco placentário, comprovado sob microscopia de luz. Além disso, observaram que os núcleos das células endodérmicas estavam situados na porção basal das células endodérmicas. Descrição esta que se assemelha ao que foi aqui encontrado para os mocós.

No mocó a membrana de Reichert's mostrou-se como uma estrutura presente durante todo o período gestacional. Nas fases iniciais da gestação ela aparece como uma lâmina contínua que sustenta a camada de células endodérmicas da porção parietal do saco vitelínico. Porém, à medida que a gestação progride esta pode aparecer como lâmina interrompida em algumas regiões ou ainda conter áreas isoladas com células trofoblásticas gigantes ou com grupos de células espongiotrofoblásticas.

Em mocós a placenta vitelínica apresentou uma porção visceral e outra parietal, como na maioria dos roedores. Haar e Ackerman (1971) afirmam que estas porções diferem quanto a localização, organização celular e função. A

parietal é composta por uma camada de células endodérmicas separadas do trofoblasto pela membrana de Reichert's, enquanto a porção visceral é formada por uma camada de células endodérmicas colunares separadas do mesoderma subjacente por uma membrana basal.

6.6. 6 Vascularização da placenta

Os estudos envolvendo a vascularização da placenta, em geral, são desenvolvidos com a intenção de definir o modelo de fluxo que ocorre para garantir as trocas metabólicas através da barreira placentária. No entanto, poucos trabalhos têm tratado do assunto pela grande dificuldade que se tem em interpretar o complexo arranjo vascular que se estabelece entre os vasos maternos e fetais, em função da ação do poder invasivo do trofoblasto, particularmente, diferente nos diversos grupos de mamíferos.

Jainudeen e Hafez (1995), estudando a vascularização da placenta, relatam que as artérias umbilicais levam sangue do feto à placenta e que as veias fazem percurso inverso. O fluxo umbilical aumenta com o avanço da gestação, a fim de satisfazer as demandas de crescimento do feto, e que vários modelos teóricos têm sido propostos para explicar a direção do fluxo sangüíneo materno e fetal na placenta.

Sabe-se ainda que a eficiência de trocas entre mãe e feto variam com o modelo de fluxo sangüíneo que a placenta possui, sendo o sistema de contracorrente aquele com maior eficiência para trocas metabólicas. Torna-se importante esclarecer também que a máxima eficiência placentária que envolve

este tipo de fluxo deve-se ao maior gradiente de concentração que se estabelece em fluxos desta natureza.

Kaufmann e Burton (1994), em tratado sobre anatomia e gênese de placentas, descreveram o arranjo vascular da placenta de alguns mamíferos e afirmam que por muito tempo a eficiência placentária esteve vinculada ao tipo de barreira placentária, separando o sangue materno e fetal. Contudo, discordam desta premissa por considerarem que não existem evidências suficientes que suportem a eficácia destes processos no mecanismo de trocas entre o sangue materno e fetal, a não ser o tipo de fluxo presente entre os dois lados da barreira placentária. No entanto, admitem que, dentre os diversos tipos de fluxos que se estabelecem entre esta barreira, o de contracorrente apresenta-se como o sistema altamente eficiente, permitindo teoricamente um equilíbrio arteriovenoso na placenta de roedores, lagomorfos e equídeos. Jainudeen e Hafez (1995) concordam com as definições de Kaufmann e Burton (1994) afirmando que a eficiência placentária é mínima no sistema de fluxo concorrente e máxima no de contracorrente.

Com base neste pressuposto, admite-se que o sistema menos eficiente seria o concorrente e o de maior eficácia aquele com fluxo contracorrente, uma vez que o deslocamento de fluxos em sentidos contrários geram gradientes de concentração diferentes entre dois meios o que garante que processos de difusão se estabeleçam com mais eficiência.

Leiser e Kaufmann (1994), comparando aspectos da eficiência placentária em vários animais, afirmam que no sistema de fluxo contracorrente os capilares maternos e fetais estão arranjados paralelamente, mas com fluxos opostos,

sendo este modelo comum em placentas de roedores, lagomorfos e alguns ruminantes. Mossman e Strauss (1963) descreveram o modelo de fluxo sanguíneo como contracorrente, em roedores.

Estudando a placentação de capivaras Soiron (1993) constatou que os vasos fetais no interior do labirinto possuíam orientação da periferia ao centro do lóbulo, enquanto o sangue materno deslocava-se através de lacunas maternas bem desenvolvidas, fluindo do centro para a periferia do lóbulo, caracterizando um sistema contracorrente ideal. Estudos similares foram posteriormente desenvolvidos por Ferraz (2001), obtendo resultados semelhantes com relação a vascularização placentária de capivaras.

O modelo de fluxo contracorrente tem sido descrito com frequência para placentas de roedores (BONATELLI, 2001; DANTZER, LEISER; KAUFMANN, 1988; KAUFAMANN, 1969, 1981; RODRIGUES; 2002) parecendo ser o modelo que mais se adequa a placentas do tipo labirínticas e hemocoriais, normalmente encontradas neste grupo de animais. Como este grupo de mamíferos apresenta características reprodutivas que diferem sob vários aspectos de outros grupos de mamíferos, acredita-se que pesquisas que relacionem este tipo de fluxo com parâmetros como tamanho de ninhada e período de gestação sejam necessários, uma vez que a eficiência placentária interfere diretamente na relação peso do feto e peso da placenta, entre outras características.

Os resultados encontrados com relação à vascularização da placenta de mocós, de um modo geral, apresentaram o mesmo padrão vascular descrito para outros roedores, no entanto, acredita-se que tiveram maior grau de

similaridade com aqueles descritos por Kaufmann e Davidoff (1977) para o porquinho-da-índia.

A disposição dos vasos fetais e maternos nos lóbulos placentários, definindo um fluxo sangüíneo em sentidos opostos permite que se infira o modelo de contracorrente, para placentas de mocós. Tal afirmativa corrobora com os achados de Kaufmann e Davidoff (1977) e Mossman (1937) quando afirmam que placentas labirínticas possuem fluxos opostos. Com base no que preconizaram estes pesquisadores Bonatelli (2001), Dantzer; Leiser; Kaufmann, (1988), Rodrigues (2002) e Trevino (1982) sugeriram este mesmo modelo em estudos com outros roedores.

Conclusões

7 CONCLUSÕES

As conclusões abaixo resultam da interpretação dos resultados obtidos ao longo do desenvolvimento do projeto de tese, alicerçados ainda em trabalhos de pesquisa desenvolvidos com placentação de roedores. Além disso, visa responder cada um dos objetivos propostos inicialmente, embora possam aparecer em menor número, uma vez que, foi decidido apresentá-los algumas vezes, para melhor entendimento, em blocos incluindo um ou mais objetivos.

- 1- O útero do mocó apresentou-se macroscopicamente, com base na técnica utilizada para sua caracterização, semelhante ao da maioria dos roedores caviomorfos, tanto no que se refere a sua vascularização como quanto a sua morfologia;
- 2- O padrão de vascularização do cordão umbilical de mocós caracterizou-se por apresentar duas artérias e uma veia umbilicais, uma artéria e uma veia vitelínicas e ainda o ducto alantóide.
- 3- Os mocós mostraram uma maior tendência a desenvolverem gestações com um único feto diferentemente da maioria dos Caviideos, que parem dois ou mais filhotes por gestação;

- 4- Macroscopicamente, baseado em observações do material a fresco e em moldes vasculares a placenta do mocó apresentou formato discoidal, lobulado e com arranjo vascular materno-fetal dispostos em direção contrária sobre o seu mesênquima. Além disso, não apresentou do ponto de vista macroscópico, como é comum em alguns roedores, um pedúnculo para conexão da placenta ao útero;
- 5- As relações obtidas para o peso do feto e peso da placenta, peso do feto e do comprimento do cordão umbilical e, peso do feto e comprimento do feto, apresentaram elevado grau de dependência, indicando uma elevada eficiência placentária;
- 6- Os estudos com placentação do mocó mostraram que as membranas fetais eram representadas por um âmnio avascular, um saco vitelínico com inversão completa composto por uma porção parietal e outra visceral e ainda que o cório e o alantóide interagiam de modo a constituir uma placenta do tipo corioalantóide;
- 7- A placenta corioalantóide de mocós mostrou-se com três regiões distintas: os lóbulos placentários constituídos pelo labirinto e centro do lóbulo; uma região de interlóbulo e uma região de sincício marginal. Contudo, inserida em sua massa mesenquimal e delimitada pela zona juncional e ainda pela decídua basal, identificou-se uma estrutura acessória, citada para roedores Caviideos, correspondente a subplacenta, que juntamente com a decídua basal, constituam o pedúnculo placentário, identificado somente por meio de microscopia de luz;

- 8- Os elementos celulares da placenta do mocó estiveram representados, com base nas observações realizadas sob microscopia de luz e microscopia eletrônica de transmissão por trofoblasto de natureza sincicial (sinciciotrofoblasto), pelo espongiotrofoblasto, por células trofoblásticas gigantes e ainda por trofoblasto celular (citotrofoblasto) encontrado apenas na região de subplacenta. No entanto, servindo como estrutura de sustentação da placenta vitelínica parietal foi observada em todas as fases gestacionais estudadas, a membrana de Reichert's, descrita como um elemento acelular.
- 9- Considerando o arranjo vascular dos capilares e lacunas maternas no labirinto placentário analisados por meio de microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura definiu-se o fluxo sanguíneo materno-fetal na placenta de mocós, como do tipo contracorrente, já que o sangue materno desloca-se nas lacunas em direção oposta ao sangue fetal no interior dos capilares, corroborando com a afirmativa inicial de que a placenta possuía elevada eficiência;
- 10-A barreira placentária na placenta de mocós mostrou-se constituída por três elementos distintos: a parede do capilar fetal, a membrana basal e uma única camada de sinciciotrofoblasto separando o sangue materno do sangue fetal, caracterizando a placenta corioalantoídea como hemocorial e de subtipo hemomonocorial.

Considerações finais

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se afirmar, consideradas as afirmativas acima que o roedor Caviidae, *Kerodon rupestris*, em termos de placentação pode ser considerado um animal com útero bicórneo, com implantação mesometrial, com placenta discoidal, labiríntica, corioalantoídea, hemocorial e subtipo hemomonocorial, semelhante a outros indivíduos de mesmo taxon. E ainda que apresenta uma subplacenta como órgão acessório que se mantém durante toda sua gestação, embora possa apresentar áreas de degeneração a termo. O âmnio mostrou-se avascular e o saco vitelínico ricamente vascularizado e com inversão completa.

Referências

REFERÊNCIAS

- ABRAHAMOSH, P. A. Ultrastructural study of the mouse antimesometrial decidua. **Anatomy Embryology**, v. 116, n.2, p. 263-274, 1983.
- ABRAHAMSOHN, P. A.; ZORN, T. M. T. Implantation and Decidualization in Rodents. **Journal Experimental Zoology**, v. 266, n. 6 p. 603-628, 1993.
- AMOROSO, E. C. Structural and functional aspects of the placenta. Comparative Anatomy of the placentas. **Annals of the New Academy of Sciences**, v. 75, n.2, p. 855-872, 1959.
- ANSELL, J. D.; BARLOW, P. W.; McLAREN, A. Binucleate and polyploid cell in the decidua of the mouse. **Journal Embryology Experimental Morphology**, v. 31, n. 1, p. 223-227, 1974.
- BARONE, R. **Anatomie comparée des mamifères domestique**. Paris: Vigot, 1976. Fascicule II, p. 579-605.
- BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; FREITAS NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: EDATR, 1976.
- BERÇAK, W.; PAULETE, J. **Técnicas de citologia e histologia**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1976, v. 1 e 2.
- BJÖRKMAN, N.; DANTZER, V.; HASSELAGER, H. H.; KJAERGAARD, P. Perfusion in vivo of the porcine placenta. Fixation for EM. **Placenta**, v. 2, n. p. 287-302, 1981.
- BONATELLI, M. **Análise morfológica da placenta da paca (*Agouti paca*, L. 1766)**. Estudo microscópico de luz e microscopia eletrônica de transmissão. 2001. 68 f. Dissertação (Mestrado em Anatomia dos Animais Domésticos) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

BOSCO, C. B.; DIAZ, S. V.; BOROX, J. P. Sinciotrofoblasto em placenta de termino de *Octodon degus*. Estudio ultramicroscopico de transmission y barrido. **Revista Chilena Obstetricia e Ginecologia**. v. 62, n. 4, p. 149-256, 1997.

BRUCE, N. W.; ABDUL-KARIM, R. W. Relationships between fetal weight, placental weight and maternal placental circulation in the rabbit at different stages of gestation. **Journal Reproduction and Fertilization**, v. 32, n. 1, p. 15-24, 1973.

BURGESS, S. M.; TAM, W. H. Ultrastructural changes in the guinea-pig placenta, with special reference to organelles associated with steroidogenesis. **Journal Anatomy**, v. 126, n. 2, p. 319-327, 1977.

CALARCO, P. G.; MOYER, F. H. Structural Changes in the murine yolk sac during gestation: cytochemical and electron microscope observations. **Journal Morphology**, v. 119, n. 3, p. 341-356, 1966.

CARTER, A. M. Evolution of the placenta and fetal membranes seen in the light of molecular phylogenetics. **Placenta**, v. 22, n. 10, p. 800-807, 2001.

CARTER, A. M. Placental circulation. In: Steven D.H. (ed). Comparative Placentation. Essays in structure and function. New York: Academic Press, 1975, p. 108-160.

CARPENTER, S. J. Placental permeability during early gestation in the hamster. Electron microscopic observations using horseradish peroxidase as a macromolecular tracer. **Anatomy Record**, v. 197, p. 221-238, 1980.

CARPENTER, S. J.; FERM, V. H. Uptake and storage of trrortrast by the rodent yolk sac placenta: an electron microscopic study. **American Journal Anatomy**, v. 125, n. 4, p. 429-456, 1969.

CARVALHO, M. A. M.; NEVES, W. C.; MIGLINO, M. A.; BEVILÁQUA, E. M. As membranas fetais da cutia dourada (*Dasyprocta aguti*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ANATOMIA, 17, 1996, Fortaleza. **Anais...** Ceará: Sociedade Brasileira de Anatomia, 1996. p. 89.

CUNHA, S. A.; CONTRERA, M. G. D.; LOPES, R. A.; AZOUBEL, R.; CONTRERA, J. D. Experimental hypervitaminosis A in the rat. The effect of a

single dosis of vitamin A on umbilical cord lenght. In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 44, 1992, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 1992. p. 712.

DANTZER, V.; LEISER, R.; KAUFMANN, P. Comparative morphological aspects of placental vascularization. **Trophoblast Research**, v. 3, p. 235-260, 1988.

DAVIES, J.; GLASSER, S. R. Histological and fine structural observations on the placenta of the rat. **Acta Anatômica**, v. 69, n. 4, p.542-608, 1968.

DAVIS, J., DEMPSEY, E. W; AMOROSO, E. C. The subplacenta of the guinea pig: An electron microscopic study. **Journal Anatomy**, v. 95, n. 3, p. 311-324, 1961.

DEANE, H. W.; RUBIN, B. L.; DRIKS, E. C.; LOBEL, B. L.; LEIPSNER, G. Trophoblastic giant cells in placentas of rats and mice and their probable role in steroid-hormone production. **Endocrinology**, v. 70, n. 3, p. 407-419, 1962.

DEMPSEY, E. Electron microscopy of the visceral yolk-sac epithelium of the guinea pig. **American Journal Anatomy**, v. 93, n. 3, p. 331-363, 1953.

DENKER, H. W. Implantation: A cell biological paradox. **Journal Experimental Zoology**. v. 2,n. 6, p. 541-558, 1993.

DUNCAN, S. L. B. The partition of uterine blood flow in the pregnant rabbit. **Journal Physiology**, v. 204, p. 421 – 433, 1969.

DAVIS, J., DEMPSEY, E. W. e AMOROSO, E. C. The subplacenta of the guinea pig: An electron microscopic study. **Journal Anatomy**, v. 95, n. 2, p. 311-324, 1961.

EGUND, N.; CARTER, A. M. Uterine and Placental Circulation in the Guinea-Pig: na Angiographic Study. **Fecundation Reproduction Fertility**, v. 40, n. 2, p. 401-410, 1974.

ENDERS, A. C. A comparative study of the fine structure of the trophoblast in several hemochorial placentas. **American Journal anatomy**, v. 116, n. 1, p. 29-68. 1965.

ENDERS, E. A. C.; WELSH, A. O. Structural interactions of trophoblast and uterus during hemochorial placenta formation. **Journal Experimental Zoology**, v. 266, n.6, p. 578-587, 1993.

ENDERS, A. C.; SCHLAFKE, S. Cytological aspects of trophoblast - uterine interaction in early implantation. **American Journal Anatomy**, v. 125, n. 1, p. 1 - 30, 1969.

ENDERS, A. C.; WELSH, A. O.; SCHLAFKE, S. Implantation in the rhesus monkey: endometrial responses. **American Journal Anatomy**, v. 173, n. 3, p. 147-169, 1985.

EVERETT, J. W. Morphological and physiological studies of the placenta in the albino rat. **Journal Experimental Zoology**, v. 70, n. 2, p. 243-279, 1935.

FERRAZ, R. H. S. **Estudo macro e microscopio da placenta de termo de capivara (*Hydrochaerus hidrochaeris* – CARLETON, M. D. 1984)**. 2001. 75 f. Tese (Doutorado em Anatomia dos Animais Domésticos) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo; 2001.

FERREIRA, G. J. B. C.; OLIVEIRA, M. F.; CARVALHO, A. F.; MIGLINO, M. A.; AMBROSIO, C. E.; MARTINS, D. S.; MARTINS, J. F. P. Morfologia da placenta do ratão do banhado (*Myocastor coypus* Molina, 1782). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 26, n. 2, p. 107-109, 2001.

FINN, C. A. KEEN, P. M. The induction of deciduomate in the rat. **Journal Embryology Experimental Morphology**, v. 11, part 4, p. 673-682, 1963.

FISCHER, T. V. Placentation in the american beaver (*Castor canadensis*). **American Journal Anatomy**, v. 131, n. 2, p. 159-184, 1971.

FISCHER, T. V. The subplacenta of the beaver (*Castor canadensis*). **Placenta**, v. 6, p. 311 - 321, 1985.

FISCHER, T. V.; FLOYD, A. D. Placental Development in the mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) II. From the establishment of the labyrinth to term. **American Journal Anatomy**, v. 134, n. 3, p. 321-336, 1972.

FIRTH, J. A.; LEACH, L. Not trophblast alone: A review of the contribution of the fetal microvasculature to transplacental exchange. **Placenta**, v. 17, n. 2/3, p. 89-96, 1996.

GRAÇA-PIRES, A. Aspects of the placental vasculaization in the rabbit female, (*Oryctolagus cuniculus*) when gestation occurs under induced anemia condicions. **Brazilian Journal Morphology Animal Science**, v. 15, n. 1, p. 85-93, 1998.

HAMLETT, W. C.; RASWEILER IV, J. J. Introduction: Comparative Gestation and Placentation in Vertebrates. **Journal Experimental Zoology**, v. 266, n.5, p. 343-346, 1993.

HAAR, J. L.; ACKERMAN, G. A. Ultrastructural changes in mouse yolk sac associated with the initiation of viteline circulation. **Anatomy Record**, v. 170, n. 4, p. 437-456, 1971.

HAAR, J. L.; ACKERMAN, G. A. A phase and electron microscopic study of vasculogenesis and erythropoiesis in the yolk sac of the mouse. **Anatomy Record**, v. 170, n. 2, p. 199-223, 1971.

HAM, Arthur W. **Tratado de histologia**. Septima Edicion. Interamericana: Espaná, 1976, p. 810-837.

HARVEY, E. B. Placentation in Ochotonidae. **American Journal Anatomy**, v. 104, n. 1, p. 61-85, 1959.

HILLEMANN, H. H.; GAYNOR, A. I. The definitive architerture of the placenta of nutria, *Myocastor coypus* (MOLINA). **American Journal Anatomy**, v. 109, n. 3, p. 299-317, 1961.

HOFFMAN, L. H.; WOODING, F. B. P. Giant and binucleate trophoblast cells of mammals. **Journal Experimental Zoology**, v. 266, n.6, p. 559 - 577, 1993.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY HISTOLOGICAL NOMENCLATURE. **Nômina histológica**. 2. ed. rev. Zurich, 1994. (Together with with nomica anatomica veterinaria, 4 edição. And nomina embriologica veterinária).

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. **Nômina anatômica veterinária**. 4. ed. Ithaca: Word Association on Veterinary Anatomists, 1994. (Together with nomina histologica, 2. ed., 1992 and nomina embriologica veterinaria, 1992).

JAINUDEEN, M. R.; HAFEZ, E. S. E. Gestação, fisiologia pré-natal e parto. In: HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 6 ed. São Paulo: Manole, 1995. p. 217-240.

JOLLIE, W. P. Changes in the fine structure of the parietal yolk sac of the rat placenta with increasing gestational age. **American Journal Anatomy**, v. 122, n. 3, p. 513-532, 1968.

JOLLIE, W. P.; BENCOSME, S. A. Electron microscopic observations on primary decidua formation in the rat. **American Journal Anatomy**, v. 116, n. 1, p. 217-236, 1965.

JOLLIE, W. P.; CRAIG, S. S. The fine structure of placental junctional zone cells during prolonged pregnancy in rats. **Acta Anatomica**, v. 105, n. 4, p. 386-400, 1979.

KAUFMANN, P. The Guinea Pig Placenta and its Development. **Z. Anat. Entwickl. Gesch.**, v. 120, p. 83-101, 1969.

KAUFMANN, P. Electron Microscopy of the Guinea-pig placental membranes. **Placenta**, p. 3-10, 1981. Supplement 2.

KAUFMANN, P.; BURTON, G. Anatomy and genesis of the placenta. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. **The physiology of reproduction**. 2 ed. New York: Raven Press, 1994. v. 1, p. 441-484.

KAUFMANN, P.; DAVIDOFF, M. The guinea pig placenta. **Advances in Anatomy Embryology and Cell Biology**, v. 53, n. 2, p. 5-90, 1977.

KERTSCHANSKA, S.; SCHRÖDER, H.; KAUFMANN, P. The Ultrastructure of the trophoblastic layer of the degu (*Octodon degus*) Placenta: a re-evaluation of the "Channel Problem". **Placenta**, v. 18, n. 2/3, p. 219-225, 1997.

KING, B. F. Comparative Anatomy of The Placental Barrier. **Bibliotheca Anatomica**, v. 22, n. 1, p 13-28, 1982.

KING, B. F.; ENDERS, A. C. The fine structure of the guinea-pig visceral yolk sac placenta. **American Journal Anatomy**, v. 127, n. 4, p. 397-414, 1970.

KING, B. F.; TIBBITIS, F. D. The fine structure of chinchilla placenta. **American Journal Anatomy**, v. 145, n. 1, p. 33-56, 1976.

KIRBY, D. R. S.; BRADBURY, S. The hemo-chorial mouse placenta. **Anatony Record**, v. 152, n. 3, p. 279-282, 1965.

KLEIMAN, D. G.; EISENBERG, J. F.; MALINIAK, E. Reproductive parameters and productivity of caviomorph rodents. In: **Vertebrate ecology in the northern neo-tropics**. Washington DC, Smithsonian Institution Press, 1979. p. 173-183.

KREHBIEL, R. H. History of the decidual plasmodia or giant cells of *Citellus townsendi*. **Anatomical Record**, v. 50, n. 3, p. 275, 1937.

LACHER JR, T. E. The comparative social behavior of *Kerodon rupestris* and *Galea spixii* and the evolution of behavior in the caviidae. **Bull. Carnegie Mus. Nat. Hist.**, v. 17, p. 1-71, 1979.

LARSEN, J. F. Electron microscopy of the implantation site in the rabbit. **American Journal Anatomy**, v. 109, n. 3, p. 319-334, 1961.

LEAO, L. L. S.; LOPES, R. A.; NOVAES JR, A. B.; SALA, M. A.; KOMESU, M. C.; MAIA CAMPOS, G. The effect of maternal protein deprivation during pregnancy in rat umbilical cord length. In: ENCONTRO DE PESQUISAS VETERINÁRIAS, 14; 1992, **Resumos**: Jaboticabal. p. 259.

LEISER, R.; KAUFMANN, P. Placental structure: in a comparative aspect. **Experimental Clinical Endocrinology**, v. 102, n. 3, p. 122-134, 1994.

LEISER, R.; KREBS, C.; KLISCH, K.; EBERT, B.; DANTZER, V.; SCHULER, G.; HOFFMAN, B. Fetal villosity and microvasculature of bovine placenta in the second half of gestation. **Journal Anatomy**. v. 191, n. 4, p. 517-27, 1997.

LEISER, R., and BEIER, H. M. Morphological studies of lacunar formation in the early rabbit placenta. **Trophoblast Research**, v. 3, p. 97-110, 1988.

LIEDITKE JR., H.; AZOUBEL, R.; TUBINO, P. J. G.; LOPES, R. A. Estudo morfológico de fetos de ratas tratadas com ciclofosfamida durante a gestação. **Revista Regional Ciências**, v. 4, p. 95-104, 1995.

LORDY, C. **Embriologia humana e comparada: onto e teratogênese**. Caieras, São Paulo: Companhia Melhoramentos de São Paulo, 1940. p. 261.

LUCKETT, W. P. Morphogenesis of the placenta and fetal membranes of the tree shrews (Family tupaiidae). **American Journal Anatomy**, v. 123, n. 3, p. 385-428, 1968.

LUCKETT, W. P.; MOSSMAN, H. W. Development and phylogenetic significance of the fetal membranes and placenta of african hystricogonathous rodents bathyergus and hystrix. **American Journal Anatomy**, v. 162, p. 265-285, 1981.

MACHADO, M. R. F.; MIGLINO, M. A.; NEVES, W. C.; BEVILAQUA, E. M. As membranas fetais da paca (*Cuniculus paca*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ANATOMIA, 17.1996, Fortaleza. **Anais...** Ceará: Sociedade Brasileira de Anatomia, 1996. p. 89.

MARES, M. A.; STREILEIN, K. E.; LA ROSA, M. P. Nonsynchronous molting in three genera of rodents from brazilian caatinga (*Thrichomys*, *Galea* and *Kerodon*). **Journal Mammalogy**, v. 63, p. 484-488, 1982.

MATAMOROS, Y. Anatomía e histologia del sistema reproductor del tepezcuinte (*Cuniculus paca*). **Revista Biología Tropical**, v. 29, n. 1, p. 155-164, 1981.

MENDES, B. V. Plantas e animais para o nordeste. 1 Ed. Rio de Janeiro: Globo. 1987, 167 p.

METZ, J.; AOKI, A.; FORSSMANN, W. G. Studies on the ultrastructure and permeability of the hemotrichorial placenta. I. Intercellular junctions of layer I and tracer administration into the maternal compartment. **Cell Tissue Research**, v. 192, n.3, p. 391-408, 1978.

MIGLINO, M. A.; SOUZA, W. M.; NEVES, W. C.; BEVILAQUA, E. M. As membranas fetais da capivara (*Hydrochoerus hydrochoeris*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ANATOMIA, 17. 1996, Fortaleza. **Anais...** Ceará: Sociedade Brasileira de Anatomia, 1996. p. 124.

MIGLINO, A. M.; CARTER, A. M.; SANTOS FERRAZ, R. H.; FERNANDES MACHADO, M. R. Placentation in the Capybara (*Hydrochaerus hydrochaeris*), Agouti (*Dasyprocta aguti*) and Paca (*Agouti paca*). **Placenta**, v. 23, n. 5, p. 416-428, 2002.

MILLER, M. E.; HIGGINBOTTOM, M.; SMITH, D. W. Short umbilical cord: its origin and relevance. **Pediatrics**, v. 67, n. 5, p. 618-621, 1981.

MOESSING, A. C. Fetal akinesia deformation sequence: an animal model. **Pediatrics Research**, v. 72, n. 6, p. 857-863, 1983.

MOESSING, A. C.; BLANC, W. A.; MARONE, P. A.; POLSEN, D. C. Umbilical cord length as index of fetal activity: experimental study and clinical implications. **Pediatrics Research**, v. 16, n. 2, p. 109-112, 1982.

MOOJEN, João. **Os Roedores do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério de Educação e Saúde. Instituto Nacional do Livro, 1962. 214 p. (Biblioteca Científica Brasileira. Série A – II).

MOSSMAN, H. W. The rabbit placenta and problem of placental transmission. **American Journal Anatomy**, v. 37, n. 3, p. 433-497, 1926.

MOSSMAN, H. W. Comparative morphogenesis of fetal membranes and accessory uterine structures. **Contrib. Embryol. Carneg. Inst.**, v. 26, p. 126-146. 1937.

MOSSMAN, H. W. Comparative anatomy. In : WYNN, R. M. (Ed). **Biology of the uterus**. Cidade: editora, 1977. p. 19-34.

MOSSMAN, H. W. **Vertebrate fetal membranes**: Comparative ontogeny and morphology; evolution; phylogenetic significance: basic functions; research opportunities. London: The Macmillan Press, 1987.

MOSSMAN, H. W.; HISAW, F. L. The fetal membrane def the Rocket gopher, illustrating na intermediate tipe of rodent membrane formation. **American Journal Anatomy**, v. 66, n. 3, p. 367-391, 1940.

MOSSMAN, H. W.; STRAUSS, F. The fetal membranes of the pocket gopher illustrating na intermediate type of rodent membrane formation. II. From the beginning of the allantois to term. **American Journal Anatomy**, v. 113, n. 3, p. 447-477, 1963.

MOSSMAN, H. W.; WEISFELDT, L. A. The fetal membranes of a primitive rodent, the trirteen-striped ground squirrel. **Amereican Journal Anatomy**. v. 64, n.1, p. 59-109, 1939.

MÜNTENER, M.; HSU, Yu-C. Development of trophoblast and placenta of the mouse. **Acta Anatomyca**, v.98, n.3, p. 241-252, 1977.

NEVES, W. C. **Biologia da reprodução em cutias**: morfologia placentária da cutia (*Dasyprocta aguti*). 2000. 94 f. Tese (Doutorado em Anatomia dos Animais Domésticos) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

NORMAN, N. A.; BRUCE, N. W. Fetal and placental weight relation-ship in the rat at days 13 and 17 of gestation. **Journal Reproduction Fertility**, v. 57, n, p. 345-348, 1979.

ODUOR-OKELO, D. An electron microscopic study of the chorion-allantoic placenta and the subplacenta of the cane rat (*Thryonomys shinderianus* Termminck). **Placenta**, v. 5, n. 5, p. 433-442, 1984.

ODUOR-OKELO, D.; GOMBE, S. Placentation in the cane rat (*Thryonomys shinderianus* Termminck). **African Journal Ecology**, v. 20, p. 40 - 66, 1982.

OLIVEIRA, P. T.; TONET, A. D. R.; SALA, M. A.; CAMPOS, G. M.; WATANABE, I. The effect of hypertemia on umbilical cord and placenta. **Anais de Farmácia e Química**, São Paulo, v. 33-34, p. 91, 1993-1994. Suplemento.

PEEL, S.; BULMER, D. Proliferation and differentiation in the establishment of the rat chorio-allantoic placenta. **Journal Anatomy**, v. 127, n. 3, p. 675-687, 1977.

PERROTTA, C. A. Fetal membranes of the canadian porcupine, *Erethizon dorsatum*. **American Journal Anatomy**, v. 104, n. 1, p. 35-59, 1959.

PIERCE, G. B.; MIDGLEY JUNIOR, A. R. The origin and function of human syncytiotrophoblastic giant cells. **American Journal Pathology**, v. 43, n. 1, p. 153-173, 1963.

PIJNENBORG, R. Trophoblastic invasion of human decidua from 8 to 18 weeks. **Placenta**, v. 1, n.1, p. 3-19, 1980.

PIJNENBORG, R.;BLAND, J. M.; ROBERTSON, W. B.; DIXON, G. BROSENS, I.The pattern of interstitial trophoblastic invasion of the myometrium in early human pregnancy. **Placenta**, v. 2, p. 305-316, 1981.

PIJNENBORG, R.; ROBERTSON, W. B.; BROSENS, I. The arterial migration of trophoblast in the uterus of the golden hamster *Mesocricetus auratus*. **Journal Reproduction Fertility**, v. 40, n. 2, p. 269-280, 1974.

RAMSEY, E. M.; DONNER, M. W. **Placental vasculature and circulation**. Philadelphia: Saunders 1980. 95 p.

ROBERTS, M.; MALINIAK, E.; DEAL, M. The reproductive biology of the rock cavy, *Kerodon rupestris*, in captivity. A study reproductive adaptation in a trophic specialist. **Mammalia**, v. 48, n. 2, p. 253-264, 1984.

RODRIGUES, R. F. **A estrutura e microvascularização da placenta de cutia (*Dasyprocta aguti*, CARLETON, M. D. 1984)**. 2002. 62 f. Dissertação (Mestrado em Anatomia dos Animais Domésticos) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

ROOD, J. P. Ecological and behavioral comparisons of three genera Argentine caviés. **Anim. Behav. Monog.**, v. 5, p.1-83, 1979.

SANSOM, G. S. The giant cells in the placenta of rabbit. **Proc. Roy. Soc.**, London, v. 101, p. 354-368, 1927.

SCHLAFKE, S.; ENDERS, A. C. Cellular basis of interaction between trophoblast and uterus implantation. **Biology Reproduction**, v. 12, n. p. 41-65, 1975.

SCHNEIDER, H. Ontogenic Changes in the Nutritive Function of the Placenta. **Placenta**, v. 17, n. 1, p. 15-26, 1996.

SILVA, W. N. **Aspecto morfológico da placenta e anexos fetais da paca (*Agouti paca*, L. 1766)**. 2001. 61 f. Dissertação (Mestrado em Anatomia dos Animais Domésticos) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

SNELL; STEVENS 1966 , *apud* ANSELL, J. D.; BARLOW, P. W.; McLAREN, A . Binucleate and polyploid cell in the decidua of the mouse. **Journal Embryology Experimental Morphology**, v. 31, n. 1, p. 223 – 227, 1974.

SOIRON, M. L. **Das Siidamerikanische wasserschwein (*Hydrochoerus hydrochaeris*, L. 1766)**. Physiologisch-anatomische und klinische untersuchungen unter dem aspekt der versuchstierkundlichen eignung. Aachen, Giessen, 1993. 133 f. Tese (Doutorado) – Fachbereich Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität Giessen, 1993.

STREILEIN K. E. Ecology of small mammals in the semiarid brazilian caatinga. I Climate and faunal composition. **Annals of Carnegie Museum Natural History**, v. 15, art. 5, p. 79- 107, 1982.

STEVEN, D. H. Comparative placentation: strucutre and function. Academic Press, London. 1975.

STEWART, J. R. Yolk sac Placentation in reptiles: Structural innovation in a fundamental vertebrate fetal nutritional system. **Journal Experimental Zoology**, v. 266, n. 5, p. 431-449, 1993.

TAM, W. H.; BURGESS, S. M. The developmental changes in the placenta of the guinea pig. **Journal Anatomy**, v. 123, n. 3, p. 601-614, 1978.

TIBBITS, F. D.; HILLEMANN, H. H. The development and histology of the chinchilla placenta. **Journal Morphology**, v. 105, p. 317-365, 1959.

TREVINO, F. Distribution of the cytotrophoblast in the guinea pig placenta. **Bibliotheca Anatomica**, v. 22, p. 150-155, 1982.

VERKESTE, C. M.; SLANGER, B. F. M.; DAEMEN, M.; VAN STRAATEN, H.; KOHNEM, G.; KAUFMANN, P.; PEETERS, L. L. The extent of trophoblast invasion in the preplacental vasculature of the guinea pig. **Placenta**, v. 19, n. 1, p. 49-54, 1998.

WELSH, A. O.; ENDERS, A. C. Chorioallantoic placenta formation in the rat. II. Angiogenesis and maternal blood circulation in the mesometrial region of the implantation chamber prios to placenta formation. **American Journal Anatomy**, v. 192, n. 4, p. 347-365, 1991.

WELSH, A. O.; ENDERS, A. C. Light and electron microscopic examination of the mature decidual cells of the rat with emphasis on the antimesometrial decidua and its degeneration. **American Journal Anatomy**, v. 172, n.1, p. 1-129, 1985.

WELSH, A. O.; ENDERS, A. C. Trophoblast-decidual cell Interactions and establishment of maternal blood circulations in the pariental Yolk Sac Placenta of the Rat. **Anatomical Record**, v. 217, n. 2, p.203-219, 1987.

WIMSATT, W. A. D. Some aspects of the comparative anatomy of the mammalian placenta. **American Journal Obstetrics Gynaecology**, v. 81, n.11, p. 1568-1594, 1962.

WISLOCKI, G. B.; DEMPSEY, E. W. Electron Microscopy of the placenta of the rat. **Anatomy Record**, v. 123, n.1, p. 33-64, 1955.

WISLOCKI, G. B.; PADYKULA, H. A. Reichert's membrane and the yolk sac of the rat investigated by histochemical means. **American Journal Anatomy**, v. 92, n. 1, p. 117-151, 1953.

WOLFER, J.; KAYFMANN, P. Die ultrastruktur der mersch weinchen subplazenta. **Zbl. Vet. Med. C. Anat. Histol. Embryol**, v. 9, p. 29-43, 1980.

and 5 rock caviés (*Kerodon rupestris*) between midgestation and term of pregnancy. Material was collected from the following breeding centres: Center for Experimental Breeding of Capybara, Paulista State University, Araçatuba, São Paulo; Center for Experimental Breeding of Paca, Paulista State University, Jaboticabal, São Paulo; Center for Experimental Breeding of Agouti, Federal University of Piauí, Teresina, Piauí; and Center for Breeding of Wild Animals, Mossoró. The guinea pig was a laboratory animal (Otavio Bastos Foundation, São João da Boa Vista, São Paulo, Brazil). The research was authorized by the Brazilian Institute of the Environment and Renewable Natural Resources (IBAMA).

Paca were sedated with azaperone (Stresnil; 0.1 mg/kg I.M.) and given atropine (0.5 mg I.M.). Anaesthesia was induced with xylazine (Coopazine, Coopers Brasil, São Paulo, S.P., Brazil; 1 mg/kg I.M.) and ketamine (Holliday Scott S.A., Brazil; 20 mg/kg I.M.). Hemihysterectomy was then performed under aseptic conditions during inhalation anaesthesia with halothane (Hoechst, Frankfurt, Germany). Postoperatively the animals were treated with benzyl penicillin and streptomycin (Pentabiotico[®], Fort Dodge, Campinas, S.P., Brazil; 8000–24 000 IU/kg I.M.) and an analgesic (metamizol, Dipirona).

Bilateral hysterectomy was performed in capybara and agouti. The animals were premedicated with acepromazine (Univet, São Paulo, S.P., Brazil; 0.1–1.0 mg/kg I.M.). Anaesthesia was induced with xylazine (Dorcipec[®], Vallée S.A., Montes Claros, M.G., Brazil; 0.5–1.0 mg/kg) and ketamine (Cristália, Itapira, S.P., Brazil; 5–10 mg/kg I.M.) and continued with halothane (Hoechst, Frankfurt, Germany; 1 per cent) or enflurane (Etrane[®], Abbott, São Paulo, S.P., Brazil) in oxygen. Postoperative treatment included antibiotic coverage with benzyl penicillin and streptomycin (Pentabiotico[®], Fort Dodge, Campinas, S.P., Brazil; 8000–24 000 IU/kg I.M.) and analgesia as required with flunixin meglumine (Banamine[®], Schering-Plough, Rio de Janeiro, R.J., Brazil).

Rock caviés were premedicated with midazolam (Dormine, Cristália, Itapira, S.P., Brazil; 1 mg/kg) and ketamine (Cristália, Itapira, S.P., Brazil; 15 mg/kg I.M.). Hemihysterectomy was then performed under aseptic conditions during inhalation anaesthesia with isoflurane (Cristália, Itapira, S.P., Brazil) in 100 per cent oxygen. Postoperative treatment included antibiotic coverage with amoxicillin (Bactrosina, Bayer, São Paulo, S.P., Brazil; 22 mg/kg).

Bilateral hysterectomy was performed in guinea pigs anaesthetized with a tiletamine/zolazepam mixture (90 mg/kg of each I.M.; Zoletil 50; Virbac, São Paulo, S.P., Brazil).

Histology and immunohistochemistry

Tissues collected for histology and immunohistochemistry were immersion fixed in 4 per cent paraformaldehyde in 70 mM phosphate buffer for 48 h, and then washed in cold, phosphate buffered NaCl solution for 72 h.

For histology, tissues were processed by standard procedures for embedding in paraplast or glycol methacrylate

(Historesin[®], Leica, Germany). Sections were cut at 2 µm (Historesin) or 5 µm (paraplast) and transferred to glycerin coated slides. They were stained with haematoxylin and eosin or toluidine blue.

For immunohistochemistry, tissues were processed for embedding in paraffin by standard methods. Five µm thick sections were transferred to Superfrost Plus slides (VWR, Mississauga, Ontario, Canada). Immunohistochemistry for cytokeratin (to identify epithelial cells and trophoblasts) and vimentin (to identify mesenchymal cells and stromal decidua) was performed as previously described [6]. Tissue sections were incubated with either a rabbit polyclonal antibody for wide spectrum screening of cytokeratins (1 : 500; Z622, Dako, Mississauga, Ontario, Canada) or a monoclonal mouse antibody against vimentin (1 : 50; clone V9, Dako, Mississauga, Ontario, Canada) at 4°C for 24 h. Immunostaining was identified by the avidin–biotin–peroxidase technique, using a Vectastain kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) with diaminobenzidine (DAB) as the chromogen. Sections were counterstained with methyl green. To control for non-specific binding of the primary antibody, we used normal rabbit IgG for cytokeratins and normal mouse IgG for vimentin, each at a concentration matching the IgG content of the primary antibody.

We have previously described the histology and immunohistochemistry of the placenta in guinea pig [8], capybara, agouti and paca [6]. For the present study we examined histological sections and immunostained sections from two rock cavié placentae.

Vascular casts

To study the microvasculature, term placentae were injected with Mercor[™] CL-2R (Okenshoji Co., Ltd, Tokyo, Japan) as described by Hodde et al. [9]. The procedures were similar to those applied by others to a wide range of placental types [10,11]. A maternal and/or fetal vessel was cannulated and the resin injected under manual control. Tissues were digested by immersion of the preparation in several changes of 20 per cent NaOH solution at 50–60°C. The casts were rinsed thoroughly in distilled water and dried in an oven at 37°C. They were then refrigerated in 20 per cent gelatin. For scanning electron microscopy, pieces of the casts were rinsed in distilled water to remove the gelatin, dried, and mounted on stubs with conductive carbon cement (Neubauer, Münster, Germany). They were then coated with gold using a sputter coater (Model K550, Emitech Products Inc., Houston TX, USA) and examined in a scanning electron microscope (Model 435 VP, Leo Electron Microscopy Ltd, Cambridge, UK).

Vascular casts were made of near term placentae in 3 agoutis, 2 capybaras, 4 guinea pigs, 1 paca and 3 rock caviés and of a mid-gestation placenta in 1 capybara and 1 paca.

As a further aid to understanding vessel distribution, some placentae were injected with coloured latex (Neoprene 650, DuPont, Brazil; Latex Stain, Suvinil, Glassurit do Brazil S/A,

Figure 1. A. Low power view of a rock cavy placenta to show the lobular structure, parietal yolk sac epithelium (pys), visceral yolk sac (vys), subplacenta (sp) and decidua (dec). Hematoxylin and eosin, Scale bar 3 mm. B. Rock cavy placenta to show division of the labyrinth (lab) into lobes by interlobular trophoblast (il). Large vessels are confined to the interlobulum and the centre of the lobe (cl). Haematoxylin and eosin, Scale bar 300 μ m. C. Section through paca placenta following latex injection of a uterine artery (white), uterine vein (green), umbilical artery (red) and umbilical vein (yellow). Note that the centre of each lobe is filled by the fetal venous route and the periphery by the fetal arterial route. The subplacenta (sp) is supplied by the fetal arterial route. The mesoplacenta (mp) is poorly vascularized. Scale bar 1 cm. D. Section through capybara placenta following latex injection of a uterine artery (white), uterine vein (blue), umbilical artery (yellow) and umbilical vein (red). The subplacenta (sp) is supplied by the fetal arterial route. The main placenta is supplied by spiral arterics (sa) that skirt around the subplacenta. The interlobular venous channels (ilv) empty into a basal venous lacunar ring, which is drained by branches of the mesometrial veins. Scale bar 1 cm.

São Bernardo do Campo, S.P., Brazil). Different colours were injected in a uterine vein, a uterine artery, an umbilical artery and the umbilical vein. The placentae were then immersion fixed in 10 per cent formalin.

Latex injections were made in one mid-gestation capybara and one paca near term of pregnancy.

RESULTS

Gross morphology

As shown for the rock cavy (Figure 1A–B), the main placenta comprises several lobes separated by areas of interlobular syncytium. Large vessels are confined to the centre of the lobes

Figure 2. Sections of rock cavy placenta immunostained for cytokeratin (A, C) or vimentin (B, D) and counterstained with methyl green. A–B. Central part of a lobe showing maternal arterial channels lined by cytokeratin-positive trophoblast (ma) and a vimentin-positive fetal vein (fv). C–D. Interlobular region showing connective tissue with a vimentin-positive fetal artery (fa). Scale bar 50 μ m.

and the interlobular areas (Figure 1B). The biggest vessels at the centre of the lobes are often irregular in shape and are lined by trophoblast that is strongly cytokeratin-positive (Figure 2A). Clearly they are maternal blood channels. The smaller vessels at the centre of the lobes are rounder in shape and their walls are vimentin-positive (Figure 2B). Vimentin-positive vessels also occur in the interlobular areas (Figure 2D). As previously seen in agouti and paca [6], the interlobular trophoblast of the rock cavy failed to immunostain for cytokeratin (Figure 2C). When latex of different hues is injected simultaneously in an umbilical artery and vein, the centre of the lobes is filled by the venous route and the periphery from the arterial route (Figure 1C). Thus the vimentin-positive vessels in the interlobular areas are fetal arteries, whilst those at the centre of the lobes are fetal veins. On the maternal side, venous drainage is through interlobular vessels that are filled by latex injected through a branch of the uterine vein (Figure 1D). They drain a latticework of venous channels in the interlobular areas, but these are not strongly cytokeratin-positive (not

shown). A few large, round vessels lined by trophoblast are found in the interlobular areas (not shown). We surmise that these are the maternal arterial channels that supply the trophoblast-lined vessels at the centre of the lobes.

Below the main placenta, and separated from it by a layer of fetal mesenchyme, is the subplacenta (Figure 1A, C–D), a structure unique to the hystricomorph rodents. The uterine decidua forms a placental stalk or pedicle and, in agouti and paca (Figure 1C), a placental capsule or mesoplacenta. The following sections deal first with the fetal and maternal vessels of the main placenta and then with the vascular supply of the subplacenta and the decidual components of the placenta.

Fetal arterial supply

The cord carries five blood vessels: the two umbilical arteries, an umbilical vein and a vitelline artery and vein that supply the yolk sac placenta. The umbilical arteries attach at the centre of

Figure 3. Fine structure of placental vasculature of the rock cavy (A–C) and guinea pig (D) in late gestation. Vascular casts were made by injection of Mercox in an umbilical artery and a maternal vein. A. Fetal arteries supplying several lobes. One vessel passes into the interlobium to supply a deeper lying lobe. Scale bar 100 μ m. B. Interlobium with maternal venous channel receiving the drainage from two lobes. Scale bar 100 μ m. C. Maternal channels draining the labyrinth empty into a large maternal lacuna in the interlobular region. This shows the negative impressions of the nuclei of the syncytiotrophoblast. Scale bar 200 μ m. D. Overview showing an interlobular region and parts of three lobes. Fetal interlobular arteries are seen supplying the capillaries of the labyrinth. At right, the large vessel at the centre of the lobe is likely a maternal arterial sinus. Scale bar 300 μ m.

the placenta, where there is a layer of fetal mesenchyme. They then branch across the fetal surface of the placenta. From here arteries descend perpendicular to the surface either to supply the more superficial lobes or to pass through the interlobular areas to reach deeper lying lobes, as shown for the rock cavy (Figure 3A). The interlobular arteries ramify across the outer surface of the lobes, as shown for paca (Figure 4B), before suddenly dividing to send bursts of capillaries towards the centre of the lobe, shown for guinea pig (Figure 3D), paca (Figure 4D, Figure 5B) and agouti (Figure 6A, B). Within the lobes, the capillaries are arranged in radial fashion with anastomoses between them (Figure 4C, Figure 7E).

Fetal venous drainage

At the centre of the lobe, the fetal capillaries drain into small veins, as can be seen in tissue sections (Figure 2B) and vascular

casts (Figure 7A–B). These form one or more larger veins that leave through the base of the lobe to drain into a network of veins below the surface of the placenta. This network feeds into branches of the umbilical vein that run across the fetal surface of the placenta.

Maternal arterial supply

The uterus is bicornuate and each horn is supplied by an arterial arcade fed by the uterine and ovarian arteries. Numerous vessels arise from this arcade and cross the mesometrium to supply the uterine wall. However, only a few of these arteries, usually 3–5, are recruited to supply each placenta. These vessels widen considerably as they approach the placenta and tend to meander across the surface of the uterus. They form a loose plexus beneath the placenta from which there arise a small number of spiral arteries that enter the

Figure 4. Fine structure of placental vasculature of the paca in late gestation. Vascular cast made by injection of Mercor in a fetal artery and maternal vein. A. Overview showing several placental lobes separated by interlobular areas. Large vessels are confined to the centre of the lobes (cl) and the interlobular regions (il). Vessels within the labyrinth are arranged in radial fashion. Scale bar 1 mm. B. Ramification of a fetal interlobular artery (arrow) over the outer surface of a lobe. Scale bar 300 μ m. C. Fetal capillaries of the placental labyrinth. Note the occurrence of anastomoses between the capillaries. Scale bar 100 μ m. D. Fetal arteries coursing over the outer surface of a lobe then suddenly branching to send capillaries towards its centre. Scale bar 100 μ m.

placental stalk and pass around the perimeter of the sub-placenta (Figure 1D).

A small number of arterial channels, now lined by trophoblast, enter the main placenta and ramify in a system of lacunae beneath the fetal surface of the placenta. A single large arterial lacuna enters each lobe and passes down the centre, where it can be seen in vascular casts (Figure 5A, Figure 7C). Small branches arise from this central channel and divide to supply the fine channels of the placental labyrinth (Figure 5B, Figure 7C). These run parallel to the fetal capillaries, from the centre to the periphery of the lobe, creating the anatomical basis for countercurrent exchange. Whilst these fine, trophoblast-lined channels are readily seen in tissue sections, it is difficult to show them in vascular casts (Figure 5B, Figure 7C). However, they were demonstrated in a guinea pig placenta where the injection of Mercor was limited to maternal vessels (Figure 6D) and there revealed a fine network of interlacing channels.

Maternal venous drainage

The maternal channels of the labyrinth drain into the spaces formed by the latticework of the interlobular trophoblast (Figure 2C). An interlobular region usually receives the venous drainage from two or more lobes (Figure 3B). These small venous channels drain into much larger venous lacunae as can be shown in vascular casts (Figure 3C, Figure 5C–D). The latter show the negative impressions of the nuclei of the syncytiotrophoblast (Figure 3C).

These interlobular venous channels drain into lacunae, some of which run quite superficially over the outside of the placenta (Figure 7F), although within the capsule in agouti (Figure 6C) and paca. Others are situated more centrally within the placenta. Kaufmann and Davidoff [3] refer to these as, respectively, primary marginal lacunae and primary central lacunae. They all drain into a basal venous lacunar ring

Figure 5. Fine structure of placental vasculature of the paca in late gestation. Vascular casts were made by injection of Mercor in a fetal artery and maternal vein (A–B) or a maternal vein alone (C–D). A. Large vessels at the centre of a lobe include fetal veins (fv) and a large maternal arterial blood channel (ma). Scale bar 100 μ m. B. At left fetal arteries give rise to capillaries that run to the centre of the lobe. At right maternal blood channels supply the fine, trophoblast-lined channels that pass to the periphery; these do not appear in the cast. Scale bar 100 μ m. C. Maternal venous channels in an interlobular region. Scale bar 200 μ m. D. Maternal venous channels draining into a large venous lacuna. Scale bar 300 μ m.

(Figure 8A). A small number of veins leave the ring, pass around the periphery of the subplacenta (Figure 1D), and empty into the mesometrial veins. These join a venous arcade formed by the uterine and ovarian veins. The latter is the most important and is sometimes referred to as the utero-ovarian vein [12].

Subplacenta

In mid to late gestation, the subplacenta is supplied largely by fetal vessels (Figure 8A). A large branch of the umbilical artery follows the central band of fetal mesenchyme to the base of the main placenta and then branches to supply the subplacenta (Figure 8B). The subplacental vessels pursue a tortuous course with dilatations and constrictions (Figure 8C–D) as in an endocrine gland such as the ovary [13]. A few branches of the

maternal artery supply the subplacenta, at least in capybara and paca, where they can be demonstrated by latex injection (data not shown).

Placental stalk and placental capsule

The placenta rests on a stalk formed by decidua. In ago paca (Figure 1C), there is an additional structure, the placenta, that forms a capsule around the placenta. Capybara has a large placental stalk and an incomplete capsule (Figure 1D). Close inspection of guinea pig and rock cavy placenta shows a structure that may be analogous to the incomplete capsule of the capybara. These structures are supplied by maternal vessels. In late gestation the capsule is well vascularized. However, the placental stalk receives a supply of blood vessels (data not shown).

Figure 6. Fine structure of placental vasculature of the agouti (A–C) and guinea pig (D) in late gestation. Vascular casts were made by injection of Mercor in an umbilical artery alone (A) an umbilical artery and a maternal vein (B–C) or a uterine artery (D). A. Fetal interlobular artery branching to give rise to the capillaries of the labyrinth. Scale bar 200 μ m. B. Interlobular region at top includes two sizes of vessel with different patterns of ramification, representing fetal arteries (fa) and maternal venous lacunae (mv). Scale bar 100 μ m. C. Maternal venous lacuna in an interlobular region. Scale bar 300 μ m. D. Maternal channels of the labyrinth. An arterial lacuna (ma) gives rise to an interlacing network of fine channels that drain into the venous channels of the interlobium (mv). Scale bar 100 μ m.

DISCUSSION

Traditionally, the rodents have been divided into three sub-orders. The hystricomorph rodents continue to be regarded as a single clade, supported by analysis both of morphological characters and nucleotide sequence data [14]. Indeed, Luckett and Mossman [1] asserted that the hystricomorphs could be regarded as a monophyletic group, based on placental structure alone. The present study of five species from three families of hystricomorphs indicates a remarkable constancy in the arrangement of the placental vasculature. Our data confirm and extend the observations made in the nutria, a member of a fourth family, by Hilleman and Gaynor [2].

We are in agreement with Hilleman and Gaynor [2] that there is a countercurrent arrangement of the blood vessels. Within each lobe, maternal blood flows from the centre to the periphery, whilst fetal blood flows in the opposite direction

(Figure 9). Kaufmann and Davidoff [3] and Dantzer et al. [4] reached a similar conclusion for the guinea pig and chinchilla. In a study of the Canadian porcupine, Perrotta [5] correctly identified the direction of flow in the maternal vessels. However, he suggested that fetal arterioles arose from arteries at the centre of the lobes and then crossed the lobe to supply the capillaries. These then drained into the fetal veins, which he correctly placed at the centre of the lobes. In vessel casts we have been unable to identify vessels corresponding to the fetal arterioles of Perrotta [5]. Instead, we showed that the fetal arteries pass through the interlobular regions to break up into sprays of capillaries on the outer surface of the lobes. Moreover, when coloured latex was injected simultaneously in an umbilical vein and artery, the centre of the lobe was filled exclusively from the venous side.

Countercurrent flow is the common pattern in rodent and lagomorph placentae [15]. It provides for more efficient

Figure 7. Fine structure of the placental vasculature of the capybara in late gestation. Vascular casts were made by injection of Mercor in an umbilical artery and a maternal vein (A–C), an umbilical artery alone (D–E) or a maternal vein alone (F). A. Parts of several lobes, showing capillaries of the fetal labyrinth. Larger vessels at the centre of the lobe include fetal veins and maternal arterial channels. Scale bar 300 μ m. B. Capillaries draining into fetal veins at the centre of the labyrinth. Scale bar 100 μ m. C. Maternal arterial channels at centre of lobe branching to send fine channels through the trophoblast of the labyrinth; these do not appear at full length in the cast. Scale bar 100 μ m. D. Fetal interlobular artery ramifying across the outer surface of a lobe. Scale bar 100 μ m. E. Fetal capillaries of the labyrinth. Note the occurrence of anastomoses. Scale bar 20 μ m. F. Maternal venous channels of several interlobular regions draining into larger marginal lacunae which, at bottom, join the basal venous lacunar ring. Scale bar 1 mm.

maternal-fetal exchange when, as in the case of oxygen, exchange is flow dependent. What should not be overlooked is that the difference in efficiency between concurrent, crosscurrent and countercurrent flow is dependent on other factors, notably the diffusion capacity of the placenta [16].

Within the labyrinth, the fetal capillaries formed a network of interconnecting vessels. This was paralleled on the maternal side by connections between the trophoblastic tubules carrying maternal blood. This network structure has been described for other hystricomorph species and may be part of the stem pattern of the placenta in rodents [17].

On the maternal side of the placenta, latex injections confirmed the presence of spiral arteries, as previously shown for the guinea pig by angiographic methods [12]. Vascular casts of mouse placenta similarly reveal that maternal blood is

supplied through spiral arteries [18] and spiral arteries occur in the rabbit placenta [19]. Thus, a labyrinthine placenta with countercurrent exchange, supplied on the maternal side by spiral arteries, is a common pattern for the Glires (rodents and lagomorphs). There are differences, however, in the nature of the placental barrier. The interhaemal membrane has one layer of trophoblast in hystricomorph rodents compared to two in rabbits and three in the murid rodents [20]. A distinctive feature of the hystricomorph placenta is its division into lobes. However, Hilleman and Gaynor [2] drew an interesting analogy between the arrangement of blood vessels in the entire murid placentae, represented by the hamster, and that of a single lobe of the hystricomorph placenta.

A truly unique feature of the hystricomorph rodents is the presence of a subplacenta [1]. As shown by Kaufmann and

Figure 8. Vessels of the subplacenta. Vascular casts were made by injection of Mercox in an umbilical artery and a maternal vein; only fetal vessels were demonstrated in the subplacenta. A. Maternal-facing surface of a detached capybara placenta showing the vessels of the subplacenta (sp) and the maternal venous ring at the base of the placenta (mv). B. Low power scanning electron micrograph showing a single fetal artery (fa) entering the centre of the subplacenta in paca. Scale bar 1 mm. C. At higher magnification vessels of the paca subplacenta are seen to pursue a tortuous course and are irregular in calibre. Scale bar 100 μ m. D. A similar skin of vessels is seen in the subplacenta of agouti. Scale bar 300 μ m.

Davidoff [3] for the guinea pig, it is supplied by a single fetal artery that follows a central band of mesenchyme to the base of the main placenta, where it branches to supply the subplacenta. Wolfer and Kaufmann [21] showed that from day 15 until at the latest day 28, the subplacenta of the guinea pig contained maternal blood lacunae. A fetal circulation was first established on day 32. Therefore, they concluded that maternal and fetal vessels were never present at the same time. We agree that the subplacenta is unlikely to play a role in maternal-fetal exchange, but did see a few branches of the maternal arteries in the subplacenta of capybara and paca. However, the true function of the subplacenta remains obscure. Based on extensive ultrastructural and histochemical studies, it was proposed that the subplacenta of the guinea pig might secrete gonadotrophic hormones [22,23]. The ultrastructure of chinchilla placenta is also suggestive of secretory activity [24]. Consistent with an endocrine role for

this structure, we found that the subplacental vessels pursue a tortuous course with dilatations and constrictions just as in an endocrine gland [13].

In contrast to myomorph rodents, where a number of interesting variations in placental structure occur [25], placentation is remarkably constant in hystricomorph rodents [17]. The placenta is lobate, the interhemal barrier is of the haemomonochorial type and there is a characteristic subplacenta. These features support inclusion of the Old and New World representatives in a monophyletic group [1], an inference sustained by molecular phylogenetics [14]. Our results indicate that this constancy of pattern is reflected in the microvasculature, which is arranged to enable countercurrent transfer in each lobe of the placenta. These features likely evolved in the Eocene period as part of a reproductive strategy with precocial young and long gestation periods [26].

Figure 9. Countercurrent blood flow in the hystricomorph placenta. Fetal blood flows from fetal arteries in the interlobium (FA) to fetal veins at the centre of the lobe (FV), as indicated by the upper arrow. Maternal blood flows from arterial channels at the centre (MA) to venous channels in the interlobium (MV), as indicated by the lower arrow. Vessel diameters and lengths are not drawn to scale.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). We gratefully acknowledge the skilful assistance of Karca Nygard.

REFERENCES

- [1] Luckett WP, Mossman HW. Development and phylogenetic significance of the fetal membranes and placenta of the African hystricomorph rodents *Buthyergus* and *Hystrix*. *Am J Anat* 1981;162:265–85.
- [2] Hilleman HH, Gaynor AI. The definitive architecture of the placenta of nutria, *Myocastor coypus* (Molina). *Am J Anat* 1961;109:299–318.
- [3] Kaufmann P, Davidoff M. The guinea-pig placenta. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 1977;53:5–91.
- [4] Dantzer V, Leiser R, Kaufmann P, Luckhardt M. Comparative morphological aspects of placental vascularization. *Trophoblast Res* 1988; 3:235–60.
- [5] Perrotta CA. Fetal membranes of the Canadian porcupine, *Erethizon dorsatum*. *Am J Anat* 1959;104:35–59.
- [6] Miglino MA, Carter AM, dos Santos Ferraz RH, Fernandes Machado MR. Placentation in the capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*), agouti (*Dasyprocta aguti*) and paca (*Agouti paca*). *Placenta* 2002;23:416–28.
- [7] Rood JP, Weir BJ. Reproduction in female wild guinea-pigs. *J Reprod Fert* 1980;23:393–409.
- [8] Carter AM, Tanswell B, Thompson K, Han VK. Immunohistochemical identification of epithelial and mesenchymal cell types in the chorioallantoic and yolk sac placentae of the guinea-pig. *Placenta* 1998;19:489–500.
- [9] Hodde KC, Miodonski A, Bakker C, Veltman W. Scanning electron microscopy of microcorrosion casts with special attention on arterio-venous differences and application to the rat's cochlea. *Scan Electron Microsc* 1977;2:477–84.
- [10] Leiser R, Krebs C, Ebert B, Dantzer V. Placental vascular corrosion cast studies: a comparison between ruminants and humans. *Microsc Res Tech* 1997;38:76–87.
- [11] Krebs C, Winther H, Dantzer V, Leiser R. Vascular interrelationships of near-term mink placenta: light microscopy combined with scanning electron microscopy of corrosion casts. *Microsc Res Tech* 1997; 38:125–36.
- [12] Egund N, Carter AM. Uterine and placental circulation in the guinea-pig: an angiographic study. *J Reprod Fert* 1974;40:401–10.
- [13] Murakami T, Ikebuchi Y, Ohtsuka A, Kikuta A, Taguchi T, Ohtani O. The blood vascular wreath of rat ovarian follicle, with special reference to its changes in ovulation and luteinization: a scanning electron microscopic study of corrosion casts. *Arch Histol Cytol* 1988;51:299–313.
- [14] Huchon D, Madsen O, Sibbald MJ, Ament K, Stanhope MJ, Catzeflis F et al. Rodent phylogeny and a timescale for the evolution of Glires: evidence from an extensive taxon sampling using three nuclear genes. *Mol Biol Evol* 2002;19:1053–65.
- [15] Mossman HW. The rabbit placenta and the problem of placental transmission. *Am J Anat* 1926;37:433–97.
- [16] Metcalfe J, Bartels H, Moll W. Gas exchange in the pregnant uterus. *Physiol Rev* 1967;47:782–838.
- [17] Mess A. Evolutionary transformations of chorioallantoic placental characters in rodentia with special reference to hystricomorph species. *J Exp Zool Part A Comp Exp Biol* 2003;299:78–98.
- [18] Adamson SL, Lu Y, Whiteley KJ, Holmyard D, Hemberger M, Pfarrer C et al. Interactions between trophoblast cells and the maternal and fetal circulation in the mouse placenta. *Dev Biol* 2002;250:358–73.
- [19] Carter AM, Göthlin J, Olin T. An angiographic study of the structure and function of the uterine and maternal placental vasculature in the rabbit. *J Reprod Fert* 1971;25:201–10.
- [20] Enders AC. A comparative study of the fine structure of the trophoblast in several hemochorial placentas. *Am J Anat* 1965;116:29–68.
- [21] Wolfer J, Kaufmann P. Die Ultrastruktur der Meerschweinchen-Subplacenta. *Anat Histol Embryol* 1980;9:29–43.
- [22] Davies J, Dempsey EW, Amoroso EC. The subplacenta of the guinea pig: An electron microscopic study. *J Anat* 1961a;95:311–24.
- [23] Davies J, Dempsey EW, Amoroso EC. The subplacenta of the guinea pig: Development, histology and histochemistry. *J Anat* 1961b;95:457–73.
- [24] King BF, Tibbitts FD. The fine structure of the chinchilla placenta. *Am J Anat* 1976;145:33–56.
- [25] Enders AC, Blankenship TN, Lantz KC, Enders SS. Morphological variation in the interhemal areas of chorioallantoic placentae. *Trophoblast Res* 1998;12:1–19.
- [26] Mess A, Mohr B, Martin T. Evolutionary transformations of hystricomorph Rodentia and the climatic change in the Eocene to Late Oligocene time interval. *Mitt Mus Natkd Berlin Zool Reihe* 2001;77:193–206.