JOÃO CARLOS MORINI JUNIOR

**GLICOGÊNIO PLACENTÁRIO E FETAL ORIGINADOS DE
OVINOS GESTANTES SUBMETIDOS OU NÃO A TOSQUIA**

SÃO PAULO
2007

JOÃO CARLOS MORINI JUNIOR

**GLICOGÊNIO PLACENTÁRIO E FETAL ORIGINADOS DE OVINOS
GESTANTES SUBMETIDOS OU NÃO A TOSQUIA**

Dissertação 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 Mestre em
Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e
Silvestres

Orientador:

Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato

SÃO PAULO

2007

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgílio Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1920
FMVZ

Morini Junior, João Carlos
Glicogênio placentário e fetal originados de ovinos gestantes submetidos ou não a tosquia / João Carlos Morini Junior. – São Paulo: J. C. Morini Junior, 2007.
99 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Cirurgia, 2007.

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

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato.

1. Placenta. 2. Tosquia. 3. Ovelhas. 4. Estresse. 5. Relação materno-fetal. I. Título.

ERRATA

Página	Parágrafo	Linha	Onde se lê	Leia-se
Resumo	1	3	98f	99f
Abstract	1	3	98f	99f

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Glicogênio placentário e fetal originados de ovinos gestantes submetidos ou não à tosquia", protocolado sob o nº1157/2007, utilizando 21 (vinte e uma) ovelhas (cadáver), sob a responsabilidade do Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato, 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 "ad referendum".

We certify that the Research "Glycogen related to placenta and fetus of shorn or not shorn sheep during the gestation", protocol number 1157/2007, utilizing 21 (twenty one) sheep, under the responsibility Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved "ad referendum", meeting

São Paulo, 29 de novembro de 2007

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: MORINI JUNIOR, João Carlos

Título: GLICOGÊNIO PLACENTÁRIO E FETAL ORIGINADOS DE OVINOS GESTANTES
SUBMETIDOS OU NÃO A TOSQUIA

Dissertação 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 Mestre em Ciências

Data:____/____/____

Banca Examinadora

Prof.Dr._____Instituição:_____

Assinatura:_____Julgamento:_____

Prof.Dr._____Instituição:_____

Assinatura:_____Julgamento:_____

Prof.Dr._____Instituição:_____

Assinatura:_____Julgamento:_____

Epígrafe

*“É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se e ver a vida passar;
é melhor tentar, ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o final.*

*Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.*

*Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver ...”*

Martin Luther King

Dedicatória

“A meu pai, João Carlos Morini amigo, sempre meu grande mestre, com quem cada dia aprendo mais a crescer como homem e ser uma pessoa de respeito e caráter que sempre batalha muito para conseguir o que sonha, mas seu maior sonho tenho certeza que ele já conseguiu que é ter uma família feliz, e isto tenho certeza que somos. Obrigado por tudo...”

“...a minha mãe Zuleida Caroprezo Morini, não tenho palavras para dizer o quanto te amo pois a prova de amor maior que você me deu nunca conseguir retribuir, posso tentar chegar perto mas nunca igualar o amor de uma pessoa que não se contenta em dar a vida uma vez ao filho. Obrigado Por seu amor, carinho e ensinamentos...”

“... a minha irmã Adriana Caroprezio Morini pessoa que tem o coração maior que o peito, sempre me ajudando seja quando estou doente e bravo ou quando estou feliz e meio alegrinho. Não tenho vergonha de dizer que até hoje em partes, tentei seguir seus passos. Pois a garra que você dedica aos seus amigos, é incalculável, se hoje sou um homem que pode ter feito as escolhas certas na vida. Tenho certeza que em cada decisão seu exemplo e opinião me ajudaram a ser a pessoa que sou hoje...”

*“...a minha avó Ciniira Pavão Caroprezo, sempre dizem que vó é
mãe com açúcar acho que você é a prova real desta frase, sempre
correndo atrás de deixar tudo em ordem para sua família e nunca
esquecendo de fazer todas as vontades e caprichos de seus
queridos como você mesma nos chama, você é o amor em
pessoa...”*

“... a Laura Anadi Morini, mulher dedicada de fibra uma guerreira cuja luta desde moça foi muito linda para criar todos os filhos cujo caçula é meu pai homem que digo com muito orgulho amo do fundo do meu coração...”

*“... a todos meus familiares que por mínimo que seja tem
responsabilidade por nem que seja um pouquinho da minha
vida...”*

*“... a Professora Maria Angélica Miglino, cuja confiança que
depositou em mim ao me entregar este projeto e abrir as portas
do departamento nunca saberei agradecer...”*

*“... ao meu Orientador Professor Pedro Primo Bombonato quem
me elucidou durante a caminhada deste trabalho e em meu
aprendizado na Anatomia da Medicina Veterinária...”*

Agradecimentos

Aos dois órgãos CNPQ e FMVZ-USP que forneceram parâmetros e fundos para que este trabalho viesse a ser desenvolvido

Aos professores Carlos Eduardo Ambrosio e Daniele dos Santos Martins, por fazerem parte da nossa família, por tudo que me ensinaram e por todo carinho que me tratam. E por serem pessoas tão especiais que sempre estão presentes em nossa vida.

As Professoras Flavia Thomaz Verechia, Ana Flavia de Carvalho e Celina Almeida Furlanetto Mançanares, amigas que com seu carinho e conhecimento souberam colocar o conhecimento e mostraram os caminhos da placenta para mim.

Ao Professores Francisco Javier H. Blazquez, por me fornecer a metodologia de análise de glicogênio.

Aos José Roberto Kfourir Júnior, Paula Papa de Carvalho, Tatiana Carlesso dos Santos e Isaura Prada por terem me ajudado a aprender o que é anatomia e como dar aula.

Aos Professores Luiz Alberto Oliveira Ribeiro (UFRGS) e Norma Ribeiro (ULBRA), colaboradores principais do projeto que me forneceram os animais, condições mais que excelentes para trabalhar e me trataram com maior afeto e muito respeito em minha estada em Porto Alegre.

Aos Professores da UNESP-Dracena: Ricardo da Fonseca e Claudia Maria Bertam por auxílio no desenvolvimento da minha pesquisa e análise estatística além do carinho que me receberam.

Aos colaboradores Ronaldo Agostinho, Sandra Frieberger, Diogo Palermo, Ednaldo, João Pele, Raimundo e Cláudio Arroio, que sempre me ajudaram e me acompanharam durante todo o processo de aprendizado e desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores Marcelo Bertolini e Luciana Bertolini pelos conselhos e auxílio dados durante a realização deste trabalho.

Ao amigo André Luís Rezende Francioli, porque amigos são realmente para todas as horas, e tenho a sorte de poder contar com ele nas horas mais incertas. Sendo para dar gargalhadas ou falar de coisas serias aprendi muito com você.

Aos amigos Cristiane Valverde Wenceslau, Phelipe Oliveira Phavaron, Patrícia Fraciotti, Walkiria Ferreira, Carlo Magenta, Claudia Kanashiro e Fernanda Agreste, amigos que sempre estiveram ao meu lado, me auxiliando no trabalho, me encorajando a sempre crescer, me dando conselhos e me emprestando seus ouvidos. Obrigado por serem pessoas tão leais e companheiras.

A todos os colegas que compartilharam plantões, aulas, brincadeiras, minha pequena vida durante estes 2 anos de pós graduação, Obrigado: Alex, Alida, Álvaro Galgo, André Gatti, Ana Rita, Amanda, Angélica Oliveira, Assis, Caio, Camila Ercoline, Carlos Sarmento, Daniela Cagnoto, Dulcenea Teixeira, Emerson, Elizangela, Érika Branco, Evander, Fabi, Fabio, Fernando, Flavio, Gerlane, Gisele, Guilherme Buson, Guilherme J., Hugo Andreas Gutierrez, Hildebrando, Janaina, Joana Mona, Joel Laves, Juliana Jarra, Juliana Passos, Juliana Placido Guimarães, Karla P., Marcelo M., Marcelo, Marcos Ivo, Leandro Fadel, Luciana, Maise, Marina Brito, Marina Moreira, Marina P. Brolio, Matheus Tjara, Mirya Lança, Paulinha, Regina Bolonha, Renata Fontenele, Renata Mari, Renato, Rita Torqueti, Rose Ricci, Rosa Cabral, Simone, Suzane Natororberto, Thais Chucuri, Thais G., Thiago, Tânia, Vivian Samoto. Desculpem os nomes aqui não citados e que não consegui lembrar os demais, mas todos fazem parte e sempre serão lembrados por estarem presentes em todos os momentos de alegria e aprendizado.

Aos colaboradores e funcionários do departamento da FMVZ-USP: Jaqueline, Maicon, Caue, Vera, Ana, Luiz Ileu, Fátima, Elza, Joana e Claudinha.

A todos os alunos da veterinária-USP turma 72 e 73, pois aos ensinar anatomia a eu aprendia como ser professor. E as queridas Bruna Matte e Patty Renno pessoas que conheci pouco tempo mas já tenho grande afeto.

RESUMO

MORINI JUNIOR, J. C. **GLICOGÊNIO PLACENTÁRIO E FETAL ORIGINADOS DE OVINOS GESTANTES SUBMETIDOS OU NÃO A TOSQUIA** [Glycogen in the placenta and fetus of shorn or not shorned sheep during the gestation]. 2007. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

Com intuito de esclarecer a associação do ganho de peso do feto no ato da tosquia, fato este, que diminui a taxa de mortalidade ao nascer, utilizamos vinte e uma ovelhas da raça merino australiano, divididos em 2 grupos com 10 integrantes cada: um tosquiado (OT) aos 70 dias do período gestacional e um segundo mantido como controle (ONT). Destas fêmeas durante o período final de gestação retirou-se a placenta e o feto através do procedimento cirúrgico segundo técnica cesariana convencional. Para efeito comparativo mensurou-se inicialmente as características morfométricas da placenta e dos fetos. Como caracterização da placenta quantificamos o número de placentônios e suas medidas. As amostras de placenta foram fixadas e processadas para microscopia de luz, com inclusão em parafina. A quantificação do glicogênio foi obtida com a mensuração de 5 campos randômicos de cada lâmina produzida seqüencialmente. As análises foram realizadas por efeito comparativo de diferença de coloração por reação histoquímica de P.A.S. Para análise estatística foi utilizado o teste T normal comparativo entre médias. Os resultados macroscópicos indicaram que o tratamento da tosquia não aumentou significativamente os pesos placentários e fetais, e tão pouco as medidas referentes ao placentônio. Nas análises microscópicas, a quantidade média de glicogênio entre as áreas quantificadas no placentônio não apresentaram diferenças significativas, já no fígado na região da tríade portal e no músculo reto houve diferença entre os animais tosquiados e os não tosquiados. Com isto podemos concluir que a tosquia realizada aos 70 dias do período gestacional influência no acúmulo de glicogênio no fígado e no músculo reto femural, podendo ser estes os fatos responsáveis pelo aumento do peso dos fetos ao nascer.

Palavras-chave: Placenta. Tosquia. Ovelhas. Estresse. Relação materno-fetal.

ABSTRACT

MORINI JUNIOR, J. C.. **GLYCOGEN RELATED TO PLACENTA AND FETUS OF SHORNED OR NOT SHORNED SHEEP DURING THE GESTATION** [Glicogênio placentário e fetal originados de ovinos gestantes submetidos ou não a tosquia]. 2007. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

In order to clarify the association of weight increase of the fetus in the act of shorn, and remembered that this fact decreases the rate of mortality at birth we tested twenty Merino australian sheep. Animals were divided into 2 groups with 10 members each: shorn (OT) to 70 days of gestational period and a second kept as control (ONT). The placenta and fetus were removed by a surgical procedure of caesarean, according conventional technique. As characterization of the placenta quantification of the placentome numbers and their measures. Samples of placenta were fixed and routinely processed for the light microscopy, with inclusion in paraffin. The quantification of glycogen was obtained with the measurement of 5 fields in each slides produced sequentially. The tests were conducted by comparative effect of a difference in color between the slides and the area covered by the histochemistry PAS reaction For statistical analysis was used the T test (student) and comparison between normal averages. The macroscopic results indicated that the treatment of shorn not significantly increased the fetal and placental weights, and so little measures regarding placentomes. The microscopic analysis, shows that the average between the areas of glycogen quantified in placentome were not different ($P < 0.05$). Already in the liver at the portal triad region and in the rectus femoris muscle were found a significant increase of glycogen deposits ($P < 0.05$). With this results we can conclude that the shorn done at 70 days of gestational period influence on the accumulation of glycogen in the liver and muscle of the fetuses and thus increase the weight of them at birth.

Key words: Placenta. Shear. Lambs. Stress. Materno-fetal relationship.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	OBJETIVOS	24
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
2.2	OBJETIVOS GERAIS	24
2.3	OBJETIVO APLICADOS	24
3	REVISÃO DE LITERATURA	25
3.1	ASPECTOS GERAIS SOBRE A ESPÉCIE E DE PRODUÇÃO.....	25
3.2	ASPECTOS REPRODUTIVOS	27
3.2.1	<i>A placenta</i>	29
3.2.1.1	<i>O Placentônio.....</i>	33
3.3	O GLICOGÊNIO.....	38
4	MATERIAL E MÉTODO.....	43
4.1	ANIMAIS.....	43
4.1.1	<i>Composição dos grupos</i>	44
4.2	PROCEDIMENTO DE AMOSTRAGEM	46
4.2.1	<i>Análises macroscópicas.....</i>	47
4.3	MICROSCOPIA DE LUZ.....	47
4.3.1	<i>Quantificação do glicogênio</i>	48
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA DAS AMOSTRAS	49
5	RESULTADOS	50
5.1	RESULTADOS MACROSCÓPICOS	50
5.1.1	<i>Placentas</i>	50
5.1.1.1	<i>Placentônio</i>	51
5.1.2	<i>Fetos.....</i>	56
5.2	RESULTADOS MICROSCÓPICOS	57
5.2.1	<i>Placentônios.....</i>	58
5.2.2	<i>Fígado</i>	70
5.2.3	<i>Músculo Reto Femural</i>	78
6	DISCUSSÃO	84
7	CONCLUSÃO	92
	REFERÊNCIAS	93

1 INTRODUÇÃO

Acredita-se que os ovinos (*Ovis aries*) foram um dos primeiros animais domesticados utilizados pelo homem, por volta de 10.000 anos a.C. Nesta época, os humanos seguiam os rebanhos nos vales durante o inverno, até as regiões altas, no verão. Cunningham (1999) cita que o homem, no início da civilização, em sua procura por alimento, claramente reconheceu, no ovino, uma espécie capaz de produzir 2 das necessidades básicas do homem carne e pele.

A população mundial de ovinos, estimada por Iwto (2000), é de um bilhão, sendo os maiores rebanhos localizados na China (135 milhões) e Austrália (113 milhões), seguidos do Irã (54 milhões) e da Nova Zelândia (45 milhões). Segundo a mesma organização, os rebanhos dos três principais países do Cone Sul (Brasil, Argentina e Uruguai) somam um total de 43 milhões de ovinos, responsáveis por 5,7% da produção mundial de lã.

No Brasil a produção de ovinos é um fator de grande importância econômico-social na região Sul, principalmente do Estado do Rio Grande do Sul. Um dos principais problemas enfrentados neste mercado são as perdas reprodutivas, causadas pelo baixo peso dos animais ao nascer e pelas baixas temperaturas encontradas durante a época de parição (RIBEIRO, 2002).

O rebanho ovino brasileiro, que chegou a 16,5 milhões de cabeças no início da década de 90, vem aumentando chegando a uma população estimada atualmente de 17,1 milhões (ANUALPEC, 2006). Da mesma forma, o rebanho gaúcho, que já atingiu aproximadamente 13 milhões de cabeças na década de 70 possui hoje 4,5 milhões de ovinos. Essa redução no rebanho ovino teve um grande impacto na produção nacional de lã, que decresceu de 30 mil para 13 mil toneladas. O total de riqueza gerado pelo setor, anualmente, é estimado em 23,3 milhões de reais.

Em vários países onde a indústria do ovino têm se desenvolvido, as análises econômicas apontam que o número de animais por hectare e o número de crias produzidos por monta natural, são responsáveis por 95% da economicidade do sistema (CLARKSON e WINTER, 1997). No Rio Grande do Sul, a mudança do

sistema de produção de lã para o de crias, não foi acompanhada de alterações de manejo que privilegiassem a eficiência reprodutiva.

O rebanho brasileiro apresenta um índice médio de desmame de crias de somente 63%, segundo Selaive-Villarroel (1991). Esse índice inviabiliza, economicamente, o pleno estabelecimento de um sistema de produção de crias.

Na Nova Zelândia, Dalton et al. (1980) observaram que há uma correlação entre o peso ao nascer e a taxa de mortalidade. Crias com peso entre 2,0-2,5 kg mostraram mortalidade de 48%, enquanto que, no grupo de crias mais desenvolvidos, com peso ao nascer entre 6,0-6,5 kg, a mortalidade baixa para 22,6%.

Nesse mesmo estudo, as percentagens mais baixas de mortalidade observadas (13 a 14%) ocorreram em crias com peso ao nascer entre 4,0 e 5,5 kg. No Rio Grande do Sul, existem poucos dados sobre o peso ao nascer de animais criados em condições extensivas. Os dados disponíveis mostram que animais com valores entre 2,9 e 3,7 kg para crias filhas de ovelhas das raças Corriedale e Ideal (COIMBRA FILHO, 1975; OLIVEIRA, 1978; MÉNDEZ, 1981; FONTANA, 1994) apresentam alta taxa de mortalidade. Os valores são, portanto, inferiores à faixa de peso que levaria à menor mortalidade de crias.

Kleemann et al. (1993) afirmaram que a nutrição no meio ou no final da gestação, não influencia o peso fetal no final do nascimento, e a mesma também não influencia na sobrevivência dos fetos com 50 a 100 dias de idade gestacional. Se aumento da quantidade de alimento dado a fêmea gestante tanto no meio quanto no final da gestação for excessivo reduz a sobrevivência dos fetos ao final da gestação.

Vários estudos têm demonstrado que o crescimento fetal pode ser aumentado pela tosquia da ovelha durante a gestação. Morris e Cutcheon (1997) descreveram aumento no peso ao nascer de 0,7 kg em crias gêmeos, tosquiando ovelhas aos 70 dias de gestação, sem que fosse observado nenhum efeito no peso ao nascer das crias de mães não tosquiadas, entretanto os mecanismos que envolvem esse efeito não foram ainda bem determinados.

Corner et al. (2007) promoveu um estudo no qual testou o estresse relacionado a tosquia no meio da gestação relacionada ao peso e dimensões do corpo de ovelhas nascidas de partos gemelares. Para isto testou quatro diferentes

grupos; um deles foi tosquiado no meio da gestação, o outro não foi tosquiado um terceiro teve apenas região ventral e da cauda tosquiada (tosquia higiênica) e o quarto apenas simulou a tosquia. Como resultado os autores observaram que o tratamento não teve efeito no peso das ovelhas durante a gestação e lactação; a resposta ao estresse mensurado pelos níveis de cortisol foi similar nas tosquiadas completamente, nas que receberam tosquia higiênica e na simulação; as não tosquiadas tiveram baixa concentração de cortisol plasmático. A média da duração das gestações foi maior no grupo das tosquiadas; as crias nascidas das ovelhas tosquiadas tiveram aumento significativo no seu peso ao nascimento e também obtiveram maiores comprimentos nos membros torácico e pélvico. Com isto os autores concluíram que as ovelhas nascidas de ovelhas tosquiadas no meio da gestação nascem comprovadamente mais pesadas, porém este aumento de peso não está associado aos altos níveis de cortisol provocados pelo estresse agudo do ato da tosquia, já que os níveis de cortisol foram elevados tanto nos animais tosquiados quanto nos que receberam apenas a tosa higiênica.

Ribeiro (2002) observou, quando comparou animais tosquiados e não tosquiados, uma redução na condição corporal média das ovelhas durante a gestação e a lactação, que foi maior no grupo de ovelhas tosquiadas. A condição corporal média desse grupo decresceu de 3,25 no dia 74 da gestação para 1,9 no dia 132 gestacional, chegando a 1,24 no dia 24 da lactação. No mesmo período, os valores de condição corporal média do grupo não tosquiado foram de 3,13, 2,41 e 1,18. A diferença entre a condição corporal das ovelhas dos dois grupos foi estatisticamente significativa durante todo o período de observação.

Guyton e Hall (2006) afirmam que os carboidratos possuem pouca função estrutural na célula, exceto como partes das moléculas de glicoproteínas, mas desempenha o papel principal na nutrição da célula. Uma pequena quantidade de carboidratos é sempre armazenada nas células na forma de glicogênio, que é um polímero insolúvel da glicose e que pode ser despolimerizado rapidamente para suprir as necessidades energéticas das células.

Segundo Cunningham (1999), o glicogênio é a única forma de estocagem de energia direta no organismo. Durante a fase de absorção, o fígado capta glicose e a converte em glicogênio e triglicerídeos. Especificamente os ruminantes apresentam um estado contínuo de gliconeogênese.

Além de transportar glicose na circulação materno fetal, a placenta também pode armazená-la na forma de glicogênio. Os depósitos de glicogênio são um achado patológico comum em tecidos diferentes, mas o acúmulo ocorre em toda a gravidez sendo altamente regulado sugerindo ser um fator fisiológico. Em camundongos, o acúmulo de glicogênio é limitado do meio ao final da gestação, ocorrendo especificamente em conjunto das células da camada do espongiotrofoblasto, depois de 12,5 dias pós-coito, seguido de invasão das células na parede uterina.

Baseado nos dados relatados lançamos a seguinte hipótese: “A tosquia realizada aos 70 dias do período gestacional pode influenciar nos depósitos de glicogênio na placenta e no feto e com isso aumentar o peso ao nascer dos crias?”

2 OBJETIVOS

Para melhor entendimento dos objetivos e para que os mesmos respondessem adequadamente à hipótese em questão, os mesmos foram divididos em gerais, específicos e reagrupados num objetivo aplicado.

2.1 Objetivos Específicos

Avaliar quantitativamente os depósitos de glicogênio na placenta, em fígado e músculo de fetos em período final da gestação, decorrente de monta natural e inseminação artificial, que receberam o procedimento de tosquia aos 70 dias do período gestacional.

2.2 Objetivos Gerais

Caracterizar macro e microscopicamente a placenta de ovinos submetidos e não à tosquia, bem como a deposição de glicogênio nos fetos.

2.3 Objetivo Aplicados

Fornecer parâmetros morfológicos e biométricos do desenvolvimento e importância da placenta, e da influência ou não da tosquia no aumento dos depósitos de glicogênio; verificando se existe influência do mesmo no peso das crias ao nascimento, obtendo dados que poderão ser aplicados à biotecnologia da reprodução destes animais.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Com intuito de facilitar a compreensão do estudo da placenta e placentação, síntese de glicogênio e procedimentos de produção na espécie que levam a alterações no ganho de peso dos animais, os principais títulos revisados foram subdivididos a seguir.

3.1 Aspectos gerais sobre a espécie e de produção

A criação de ovinos é feita em vários países do mundo. Possui uma população que ultrapassa a casa de um bilhão de cabeças, com mais de 800 raças manejadas nas mais diferentes condições ambientais (SIQUEIRA, 2000).

O tronco original pertence ao gênero ovis, espécie *Ovis aries*. A maior parte do rebanho mundial encontra-se concentrado em 10 países, que detém cerca de 60% do total de 1.168.000.000 (um bilhão, cento e sessenta e oito milhões) cabeças. O maior produtor é a Austrália, com 166 milhões de cabeças, o que representa 14% do efetivo mundial. A população de ovinos no Brasil diminuiu na década de 90, acompanhando uma tendência mundial, principalmente devido à queda da utilização de lã pela indústria têxtil.

Tal queda quantitativa está relacionada exclusivamente a região Sul. As demais regiões apresentaram crescimento contínuo, sendo a região Nordeste, a de mais destaque em função do destino destes animais estarem relacionados à produção de fonte protéica de relativo baixo custo.

Segundo o ANUALPEC (2006) o rebanho efetivo do Brasil está em torno de 17.105.572 de cabeças com o maior número na região Nordeste, 10.129.267, seguido pela região Sul, 4.691.472; Centro-Oeste, 1.051.739; Sudeste, 678.991 e Norte com 554.103.

As Ovelhas são, quase sempre, criadas em rebanhos. O manejo é bastante trabalhoso, seja pelo fato de se tratar, na maioria das vezes, de um rebanho grande, ou por serem animais susceptíveis a várias doenças. Nas regiões mais frias, como

no sul do Brasil, o cuidado com as crias recém-nascidas deve ser intenso, já que a época de partos coincide com os meses de inverno.

Além do frio, os criadores devem atentar para predadores, que cercam as fêmeas e roubam-lhes os filhotes. A alimentação adequada para cada fase dos animais é um dos fatores responsáveis pela eficiência reprodutiva do rebanho, tanto para animais jovens quanto para animais adultos, exercendo acentuada influência na idade até a puberdade; no aparecimento do cio; no desempenho sexual do reprodutor; na produção de leite da matriz e no número de crias por parto.

O consumo médio de carne/pessoa/ano no Brasil é muitíssimo baixo. Enquanto as estatísticas oficiais mostram um consumo de 0,7 kg/pessoa/ano, o consumo em países mais adiantados na criação pode chegar até 28 kg/pessoa/ano. Somente nos últimos anos, a carne ovina está sendo encontrada em supermercados, açougues e restaurantes finos das grandes cidades, quebrando o paradigma do consumo apenas rural e em pequenas cidades do interior (COUTO, 2001).

Os animais escolhidos para este trabalho são da raça Merino australiano, sendo encontrados em grandes rebanhos na Nova Zelândia, Queensland, Victoria e Oeste da Austrália e na região Sul do Brasil. A raça possui aptidão para a produção de lã, embora mais recentemente tem-se tido esforços para a seleção de indivíduos visando à melhoria da qualidade da carcaça, tornando uma raça de dupla aptidão (MIES FILHO, 1987).

Foi relatado por Ribeiro (2002) em um estudo comparativo entre dois grupos de 32 ovinos fêmeas, um destes tosquiado e outro não, que os crias nascidos do grupo tosquiado nasceram 0,71 kg mais pesados que os do grupo dos não tosquiados. Foram feitas avaliações sobre as Ovelhas dos dois grupos aos 74, 108 e 132 dias de gestação e aos 13 e 24 dias de lactação.

Borges (2000) em estudo debita grande importância na produção de crias ao aspecto reprodutivo da Ovelha pensando no nascimento de crias viáveis, assinalando que o desenvolvimento muscular dos crias ocorrera de forma continuada a partir de sua concepção. Registra-se ainda, que boa parcela da vida desses crias transcorra-se no útero, visto que, são aproximados 150 dias de gestação e o período do nascimento ao abate pode variar de 100 a 180 dias. Os animais devem possuir boa habilidade materna e conseqüente alta produção de

leite, além de boa fertilidade. Não esquecendo que a consolidação do produto se dará pós-nascimento com a conversão alimentar em ganho de peso diário.

Em regiões onde a oferta forrageira permite criação de ovinos dirigidos para a produção de crias, altas taxas de desmames (TD) são obtidas. Assim, na Inglaterra, Clarkson e Winter (1997) referem que, nas criações em terras baixas, a percentagem média de desmame de crias chegaria a 158%. Na Nova Zelândia, a TD referida por Bruère e West (1993) situar-se-ia entre 80 e 120%.

No Rio Grande do Sul (RS), entre 22 a 38% dos crias nascidos a campo morrem no período perinatal (COIMBRA FILHO, 1975). A grande maioria dessas perdas está associada com a síndrome por exposição e inanição (OLIVEIRA, 1978; MENDEZ, 1981). No Reino Unido, Eals e Small (1980) sugeriram que a mortalidade de crias por exposição e inanição é devida à hipotermia e estaria relacionada com a falta de reservas energéticas dos crias ao nascimento. Crias com baixo peso ao nascer, especialmente de partos gemelares, seriam mais suscetíveis à hipotermia.

Uma série de trabalhos tem mostrado o efeito da tosquia durante a gestação no peso de crias ao nascer. No Reino Unido (AUSTIN; YOUNG, 1977), o trabalho com Ovelhas confinadas, mostrou que a tosquia, no meio da gestação, aumenta o peso ao nascer de crias.

3.2 Aspectos reprodutivos

Marshall e Hammond (1947) ao estudarem as Ovelhas, relataram que a mesma atinge o auge e o limite de sua capacidade reprodutiva no quinto ano de vida. Os autores ressaltam, que é de conhecimento de todos os criadores, casos de animais que procriam em idade bem avançada.

Os ovinos são animais poliéstricos estacionais, apresentando vários cios (a cada 21 dias) em uma determinada época do ano (final do verão e outono – sendo assim considerado um animal com ciclos de dias curtos).

O ciclo estral é dividido em quatro fases: proestro, estro, metaestro e diestro. Em todas as fases o animal sofre modificações no seu comportamento e aparelho reprodutivo. A fase mais importante para o criador é o estro (cio), que tem duração de 12 a 96 horas, ocorrendo à ovulação (liberação do óvulo) na sua fase final.

Somente no estro deverão ser realizadas as coberturas e inseminações. Os sintomas de cio comumente observados são: as fêmeas abanam a cauda, possui presença de muco vaginal, suas vulvas apresentam-se inchadas, ficam inquietas, berram, sobem umas nas outras e aceitam a monta (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

A ovulação ocorre de maneira espontânea, próxima ao final do cio e cerca de 24 a 48 horas após são liberados 1,2 oócitos para os Merino e 3 para a raça Finnish. A taxa de ovulação aumenta com o passar dos anos e da idade, atingindo o máximo dos 3 aos 6 anos (MIES FILHO, 1987).

Também a precipitação pluviométrica e a temperatura ambiente influenciam na regulação da atividade sexual dos ovinos. A comprovação desta afirmativa se fez experimentalmente em condições naturais. De fato, é possível antecipar o aparecimento tanto do cio como da espermatogênese respectivamente de Ovelhas e carneiros mantidos em condições de refrigeração artificial durante a época mais quente do ano (DUTT; BUSH, 1955).

Em condições naturais, relaciona-se o início da atividade sexual de ovinos das raças inglesas transportados ao hemisfério sul (África) com a precipitação pluviométrica e a queda de temperatura ambiente. Hafez e Hafez (2004), informam que a introdução do macho durante o período de anestro para a estação de monta estimula a fêmea a ovular nos próximos 3 a 6 dias.

Em sistemas de produção ovina, segundo Angeles et al. (1993), a fertilidade (definida como a percentagem de fêmeas paridas em relação ao total de fêmeas expostas a carneiros) e a prolificidade (percentagem de crias nascidos em relação ao total de Ovelhas paridas) são caracteres de grande repercussão econômica, que influenciam a quantidade de crias disponíveis, tanto para venda como para reposição do rebanho.

Pouco se sabe sobre os fatores que regulam o crescimento fetal em ovinos que, de certa forma, determinam o peso dos crias ao nascer. Nos últimos anos, três fatores têm sido mencionados na literatura. Eles são: a nutrição materna; o tamanho da placenta e a tosquia pré-parto (MELLOR, 1983; MORRIS et al, 2000).

3.2.1 A placenta

Segundo Hafez e Hafez (2004), após a fecundação, no embrião na forma de blastocisto, a expansão do blastocele posiciona as células da mórula compacta tanto fora como dentro da vesícula preenchida pelo líquido. Esse posicionamento leva à formação do trofoblasto (camada de células externa) e da massa celular interna (embrioblasto), que se localiza em pólos abaixo do trofoblasto. A diferenciação dessas duas camadas lâminares de células específicas origina as células iniciais que, eventualmente, contribuem para a formação da placenta e o embrião. Embriões resultantes da ovulação de folículos mais velhos e mais novos não diferem quanto a sua habilidade de sobrevivência.

Dyce et al. (1997) mencionam que a placenta é um órgão que pode ser definido como a aposição ou fusão de tecido fetal e materno para objetivos de modificação fisiológica e produção hormonal. Segundo os autores, apesar de uma placenta provisória poder ser estabelecida pelo saco vitelínico e fornecer um órgão útil de modificação no início da gestação, a estrutura definitiva nos mamíferos eutérios é a placenta. Sendo ainda que para os marsupiais e roedores o saco vitelínico consiste na principal contribuição do feto para a placenta (HILDEBRAND, 1995).

A placenta é o órgão que se forma em função do sucesso da implantação do blastocisto no útero, representando 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 (OLIVEIRA et al. 2006).

A placenta, como um órgão de nutrição, é responsável pelo desenvolvimento do embrião e pela viabilidade do recém-nascido (SHOEUNAU et al. 2005).

Steven (1968) cita que o arranjo das criptas da placenta de Ovelha são grandes e separados por áreas do endométrio glandular.

O tecido placentário é uma justaposição, ou fusão das membranas fetais ao endométrio que permite trocas fisiológicas entre o feto e a mãe. A placenta difere de outros órgãos em muitos aspectos. Ela se origina em consequência de vários graus de interações materno-fetais e está ligada ao embrião por um cordão de vasos

sangüíneos. O tamanho e função da placenta alteram continuamente durante o curso da gestação, e o órgão é eventualmente expulso (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Segundo Alexander (1964) uma quantidade muito pequena de tecido placentário é suficiente para manter a gestação até as 15 semanas; depois desse período, as diferenças no tamanho da placenta tornam-se muito importantes levando a abortos ou animais muito pequenos ao nascimento; o autor removeu cirurgicamente diferentes quantidades de carúncula e afirmou que apesar desta remoção não há falhas no processo de implantação nem se quer no ciclo estral as Ovelhas; e também afirmou que com a remoção das carúnculas os cotilédones fetais tornaram-se maiores, não comprometendo o nascimento dos fetos. O número médio de carúnculas encontradas na raça Merino foi de 100, e quanto maior o número de carúnculas maior os crias produzidos na gestação.

Para o feto, a placenta consiste na combinação, em apenas um órgão, de muitas atividades funcionais, que no adulto são separadas (GARCIA et al. 1996).

Jainudeen e Hafez (1995) relatam que a placenta desempenha muitas funções, substituindo o trato gastrointestinal, os pulmões, os rins, o fígado e as glândulas endócrinas do feto, na vida pós-natal essas funções são assumidas por diferentes órgãos (SCHNEIDER, 1996).

O sangue fetal e materno nunca entra em contato direto, embora as duas circulações sejam suficientemente íntimas na junção do cório e do endométrio, para a passagem de oxigênio e nutrientes em direção materno-fetal e de produtos de excreção na direção oposta. Além disso, a placenta é um órgão endócrino, elaborando gonadotrofina coriônica, estrógeno, progesterona, hormônio adrenocorticotrófico coriônico e hormônio tireotrófico coriônico (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A placenta é um órgão que apresenta uma morfologia bastante diversificada, apresentando uma grande variação de tamanho, arquitetura e componentes da barreira materno-fetal, sujeito 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, troca de nutrientes e também de metabólicos (JAINUDEEN; HAFEZ, 1995; HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Para esta finalidade, desenvolveu-se nos mamíferos ao longo do processo evolutivo de cada espécie, uma grande variabilidade morfológica no que diz respeito à placenta. Variabilidade esta, que se refere ao tipo e número de membranas

envolvidas, ao formato externo do órgão, ao modelo geométrico da interdigitação das superfícies materna e fetal, que acaba por constituir a barreira placentária (separação anatômica entre a circulação materna e fetal) (FITZGERALD; FITZGERALD, 1997), e ao modelo geométrico dos vasos sanguíneos maternos e fetais (OLIVEIRA, 2004).

No curso da organogênese, o modo como surgem estas modificações na placenta no decorrer da gestação, correspondendo ao aumento da atividade placentária para alguns, e diminuição para outros, tem intrigado pesquisadores. Isso vem permitindo a estes desenvolverem uma série de pesquisas acerca deste órgão tão peculiar que é a placenta.

Os fatores que influenciam o desenvolvimento vascular placentário e sua função têm um forte impacto no crescimento e desenvolvimento fetal e posteriormente sobre a sobrevivência neonatal e crescimento pós-parto (ALMEIDA et al., 2000).

O crescimento placentário não acompanha o mesmo ritmo do crescimento fetal. O crescimento da placenta nos estágios finais da gestação equivale à quantidade de nutrientes que está à disposição do feto, sugerindo então que a placenta cresce além de suas necessidades no início da gestação, preparando-se para a grande demanda metabólica do crescimento fetal no final da gestação. O fluxo sanguíneo adequado para a placenta parece ser crítico para um crescimento fetal não tosquiado (SCHNEIDER, 1996; ALMEIDA et al. 2000).

A placenta pode ser perfundida por diversas substâncias, e não tosquiadamente ela transfere do sangue materno para o fetal: oxigênio, água, eletrólitos, glicídios, lipídeos, proteínas, vitaminas, hormônios, anticorpos e alguns medicamentos. E do sangue fetal para o materno passam: gás carbônico, água, hormônios e produtos residuais do metabolismo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O fluxo sanguíneo adequado para placenta parece ser crítico para um crescimento fetal não tosquiado. Algumas condições associadas dão suporte a este conceito indicando uma redução das taxas de desenvolvimento fetal e placentário e do fluxo sanguíneo como: genótipo materno, número elevado de fetos, privação materna de nutrientes e stress ambiental (ALMEIDA et al. 2000).

A placenta possui uma vascularização muito intensa. Admite-se que cerca de 20.000 litros de sangue atravessem este órgão num período de 24 horas. Seus vasos tendem a evoluir à medida que ela se desenvolve, no entanto, o sangue

materno e o fetal não se misturam (ALMEIDA et. al, 2000). O aumento do fluxo sanguíneo da placenta para o feto é atingido por uma diminuição da resistência vascular umbilical nos primórdios da gestação e por um aumento de pressão sanguíneo arterial mais tarde.

Jainudeen e Hafez (1995) relataram que as artérias umbilicais levam sangue do feto para a placenta, e que as veias fazem o percurso inverso. O fluxo umbilical aumenta com o avanço da gestação, satisfazendo as demandas do feto em crescimento. Vários modelos teóricos têm sido propostos para explicar a direção do fluxo sanguíneo materno fetal na placenta.

O fluxo sanguíneo nos canais vasculares maternos e fetais adjacentes pode ser contracorrente, corrente, entre corrente (multivilosidades), ou acumulado. No fluxo acumulado, o sangue materno entra em um grande espaço no qual ele é exposto aos capilares fetais.

Nakage et al. (2005) destacaram que o cordão umbilical, apresenta-se como ducto vascularizado e um anexo fetal, que une o feto à placenta, apresentando no seu interior os vasos umbilicais, que são responsáveis pelas trocas sanguíneas entre o organismo fetal e materno. É curto, formado pelo ducto alantóide e por vasos sanguíneos (duas artérias e duas veias umbilicais) rodeados pelo âmnio (LATSHAW, 1987). Origina-se dos envoltórios amnióticos ao redor do saco vitelínico e envolve os vasos alantóides (JAINUDEEN; HAFEZ, 1995).

Segundo Junqueira e Carneiro (2004) a placenta é tida como um órgão transitório, encontrado apenas em mamíferos é o intermédio das trocas fisiológicas entre a mãe e o feto. É constituída por uma parte fetal denominada de córion que consta de uma placa corial de onde partem vilos coriônicos, esses vilos constituem-se de uma parte central conjuntiva, derivada do mesênquima extra-embrionário, e pelas camadas de citotrofoblasto e de sinciotrofoblasto; e uma parte materna denominada de decídua basal, que fornece sangue arterial para as lacunas situadas entre os vilos secundários e recebe de volta o sangue tornando-o venoso nessas lacunas, sendo possível afirmar ainda que a placenta seja o único órgão formado por células de dois indivíduos diferentes. A placenta é constituída por células genética e imunologicamente diferentes (da mãe e do feto).

Bertolini e Anderson (2002) relatam que mecanismos através de manipulações *in vitro* durante uma breve clivagem são traduzidos para crescimentos fetais realçados e estão incompletos ou não entendidos. O crescimento acelerado é

primeiramente pré-natal, e a placenta derivada de conceitos *in vitro* pôde contar para o crescimento fetal. Resultados de uma comparação sistemática da morfologia funcional da placenta em conceitos *in vitro* versus *in vivo* são discutidos.

O placentônio é uma estrutura formada a partir de um cotilédone (grupo de vilos coriônicos) de origem fetal e uma carúncula (elevação do endométrio) de origem materna, de uma placenta cotiledonar (BACHA Jr; BACHA, 2003).

3.2.1.1 O Placentônio

Os ruminantes possuem placenta cotiledonar (STEVEN 1975; LATSHAW, 1987; NODEN; DE LAHUNTA, 1990), placentomosa (NODEN; DE LAHUNTA, 1990) ou múltipla (SCHWARZE et al., 1970; STEVEN, 1975) por obter alguns pontos de contato estabelecidos para passagens sangüíneas. Estas localidades são denominadas placentomas (LATSHAW, 1987). Podem ser classificada como placenta adeciduada (WINSATT, 1950).

Segundo Leiser e Kaufmann (1994) as interdigitações placentárias de alguns mamíferos ficam concentradas em áreas discretas; a placenta típica dos ruminantes é dada como cotiledonária e caracterizada por regiões destacadas, os chamados placentomas, que são separados por áreas intercotiledonares de corion liso, tecido esse que possui uma fina estrutura membranosa (Figuras 1 e 2).

Figura 1:-Fonte: Representação esquemática do placentônio de caprino. Leiser e Kaufmann (1994)

Figura 2 Fonte:-Representação esquemática do placentônio de búfalos onde fica evidente a área hemófaga (AH), a carúncula (CM), o cotilédone (CF), o córion liso (C); o pedúnculo caruncular (PC); o endométrio (E) e as glândulas endometriais (GE) Pereira (2004).

Mossman (1987) afirma que as pregas marginais presentes nos placentomas são constituídas de tecido corioalntoico e recobertas por citotrofoblasto fagocítico; este último absorve as secreções das grandes glândulas endometriais e essas se abrem na base dos pedúnculos carunculares. Especificamente nos caprinos e ovinos essas glândulas além de presentes na base também se abrem nas laterais da parede das carúnculas.

Até a quarta semana de gestação a placenta dos ruminantes é difusa, logo após este período a membrana alantocoriônica se prende as carúnculas uterinas desenvolvendo vilosidades trofoblásticas curtas que ocupam as criptas do tecido caruncular correspondente. As vilosidades ao se vascularizarem pelos capilares alantoidianos aumentam o comprimento rapidamente. O crescimento das vilosidades bem como o tecido uterino associado leva a formação dos placentomas, ou seja, da placenta cotiledonária (FLOOD, 1991).

Marshall (1952) cita que praticamente todas as placentas sindesmocoriais são cotiledonárias ou múltiplas. Os cotilédones variam em número nas diversas espécies de ruminantes, entre 160 e 180 na cabra e girafa (tipo policotiledonar); entre 5 e 6 na corsa (cervas) (tipo oligocotiledonar). O autor afirma ainda que diversos especialistas acreditam que os cotilédones se dispõem em fileiras nos úteros grávido e não-

grávido. Esse autor acrescenta que os cotilédones nos ruminantes exibem diferenças marcantes de tamanho, forma e estrutura, e as diferenças nas espécies são características.

O número e o formato dos placentônios variam em algumas espécies. Na vaca, existem de 80 a 120 carúnculas em forma de botões (botões uterinos). Drieux e Thiéry (1951) afirmam que a placenta dos bovídeos é cotiledonar. Os cotilédones, de 120 a 140 na vaca, apresentam-se como um território ovóide ao nível do qual um enorme tufo de vilos, oriundos do córion fetal, se engrena num conjunto constituído pelo embricamento das projeções fetais e do receptáculo materno.

Hafez (1954) afirma que dentre os ruminantes cotiledonares existe uma variação no número, tamanho, forma e estrutura dos cotilédones de acordo com o gênero e com a espécie.

É sugerido por Miglino (1991) como relação aos nomes de outras unidades morfofuncionais o nome de placentônio para substituir o de placentoma, pois o sufixo **oma** refere-se à formação tumoral.

Noden e De Lahunta (1990) constataram que a união íntima do endométrio é estabelecida na terceira semana em ovinos e em bovinos na quinta. Na parte materna, a localidade dos pontos de transferência no endométrio é fixa e em alguns indivíduos são constantes quanto ao número (LATSHAW, 1987). Esta localidade é nomeada de carúncula possui uma variação de 70 a 140 em bovinos (LATSHAW, 1987; NODEN; DE LAHUNTA, 1990), 80 a 120 em ovinos (LATSHAW, 1987; NODEN; DE LAHUNTA, 1990; KAUFMANN; BURTON, 1994) e 160 a 180 em caprinos (LATSHAW, 1987). A parte materna denominada carúncula são zonas concretas que correspondem a elevações ovais da mucosa endometrial constituídas de proliferações abaixo do epitélio do tecido conjuntivo (NODEN; DE LAHUNTA, 1990).

As carúnculas são organizadas em 4 fileiras (SIMÕES, 1984; NEVES, 1996), com variação de 10 a 15 elementos em cada fileira (SCHWARZE et al. 1970) ao longo do corno uterino ventral e dorsalmente (NODEN; DE LAHUNTA, 1990) duas de cada lado da implantação do cordão umbilical no hilo placentário (MIGLINO, 1991; NEVES, 1996), estas já estão pré-estabelecidas no início do desenvolvimento pré-natal do útero (LATSHAW, 1987). Há um número finito de carúnculas por útero, a gestação univitelina possui mais placentônios que a gemelar mesmo que um único concepto não utilize todos os placentônios, por outro lado o tamanho de cada

placentônio na gestação múltipla geralmente é maior que a dos partos simples (WOODING; FLINT, 1994). Nem todas as carúnculas são utilizadas mesmo que seja em uma gestação múltipla e menos ainda em uma simples.

Os pontos de contato do placentônio que pertencem à parte fetal são denominados de cotilédones e não são pré-determinados. Estas áreas são formadas a partir do encontro do trofoblasto coriônico com a carúncula (LATSHAW, 1987). Para Steven (1975) os cotilédones fetais são agrupamento de vilosidades coriônicas superficiais nas membranas fetais que se dilatam em circunstâncias naturais unicamente nas carúnculas uterinas.

Pavaux (1983) ao demonstrar a composição da placenta dos bovinos, afirma que o número de carúnculas uterinas varia de 50 a 100, pesando mais ou menos 2 quilos. Noden e De Lahunta (1985) afirma que nos ruminantes domésticos um total de 75 a 120 carúnculas são encontradas na vaca. Elas estão organizadas em duas fileiras dorsais e duas ventrais ao longo do comprimento dos cornos uterinos.

Carambula et al. (1997) estudando a placenta dos bovinos, concluíram que os cotilédones se dispõem em 4 fileiras, 2 de cada lado da implantação do pedículo umbilical no hilo da placenta, e têm o formato variado (circulares, elípticos, reniformes e piriformes), sendo que predominam os ovóides. A média do número de cotilédones por placenta é de 62,25.

Para Miglino (1991), o acondicionamento dos cotilédones nos ruminantes faz-se em 4 fileiras, sendo duas de cada lado da implantação do pedículo umbilical no hilo da placenta. A forma dos cotilédones é muito variada, sendo o formato oval o mais freqüente. A média do número de cotilédones por placenta é de 88 em suas observações, colocando, assim, a placenta das vacas entre as policotiledonárias (por estar acima de 70). Os cotilédones de tamanho médio (maiores de 1 centímetro até 4 centímetros de diâmetro) predominam nas placentas examinadas, enquanto as médias dos cotilédones médios e grandes predominam no corno uterino gestante, pois as médias dos cotilédones pequenos são equivalentes nos cornos uterinos gestantes e não-gestantes.

Em vacas os placentônios são inicialmente discóides, adquirindo depois a forma de um cogumelo com o pedúnculo bem destacado revestido de mucosa, o qual mede de 2 a 3 cm de comprimento na vaca, com maior desenvolvimento na parte central do corno grávido (LATASHA, 1987; JAINUDEEN; HAFEZ, 1995).

A correlação pobre entre idade gestacional e tamanho de placentônio, pode ser explicada por fatores como variação do número e tamanho dos placentônios no útero, assim como entre as fêmeas (DOIZÉ et al. 1997).

O tamanho máximo dos placentônios foi alcançado em Ovelhas de 74 dias de gestação. O aumento gradual do peso do placentônio esta correlacionado com o aumento do tamanho. Após a expulsão das membranas fetais os mais largos cotilédones mediam 3 cm de diâmetro. Nas Ovelhas os placentônios têm formato muito próximo de uma hemi-esfera quando visualizado por ultrasonografia em secções transversas. O diâmetro e o peso do placentônio decrescem progressivamente durante a segunda metade da gestação em Ovelhas. O número e o peso dos placentônios variam muito entre os dois cornos uterinos; os menores são encontrados nas pontas dos cornos e os maiores na junção entre os dos dois cornos (DOIZÉ et al. 1997).

Aos 93 dias de gestação o placentônio das Ovelhas media em média 28,74 mm de diâmetro (DOIZÉ et al. 1997).

OSGERBY et al. (2003) concluiu em seus estudos que a condição corporal materna altera o crescimento fetal no meio da gestação de forma assimétrica, onde o peso e o Crow-rump do feto se modificam, entretanto o crescimento do esqueleto não se altera; esses achados indicam que o desenvolvimento fetal é sensível as condições corpóreas da mãe e potencialmente significativa nas implicações a saúde da vida pós-natal. Essas mudanças no desenvolvimento fetal podem estar atribuídas ao peso da placenta, ao IGF uterino, a expressão da proteína do leite uterino e a insulina sistemática associadas às condições corporais maternas

Encontrou em seus resultados que a média total do número de placentônios em ovelhas com condições corporais classificadas como moderadas (em uma escala escore corporal de 1 a 5, receberam a classificação 3,5) é de 89; o peso fetal é em média 97,3 gramas e o peso do útero é de 1449 gramas, enquanto que o dos placentônios é de 515 gramas. Nesse estudo as mensurações de placenta e feto foram significativamente maiores nas Ovelhas com escore 5.

3.3 O Glicogênio

Cunningham (1999) descreve que a glicose é o combustível central no metabolismo energético da maioria dos animais e pode ser armazenada na forma de glicogênio, um polissacarídeo altamente ramificado e encontrado no fígado e nos músculos esqueléticos é a única forma de estocagem direta de glicose no organismo, embora a glicose possa ser sintetizada a partir de outros compostos. O direcionamento da glicose para os depósitos de glicogênio é a principal na participação da homeostasia de combustíveis. Durante a fase de absorção, o fígado capta glicose e a converte em glicogênio e triglicerídeos. Especificamente os ruminantes vivem em estado contínuo de gliconeogênese.

O processo de formação do glicogênio é denominado de glicogênese, no qual a glicose-6-fosfato pode-se tornar glicose-1-fosfato; esta por sua vez é convertida em uridina difosfato glicose, que é convertida em glicogênio. São necessárias diversas enzimas específicas para causar estas conversões, e qualquer monossacarídeo capaz de ser convertido em glicose pode fazer parte destas reações. Alguns compostos menores inclusive o ácido láctico, glicerol, ácido pirúvico, e alguns aminoácidos desaminados, também podem ser convertidos em glicose ou em compostos muito próximos e subseqüentemente em glicogênio (Figura 3) (GUYTON; HALL, 2006).

O processo de ruptura do glicogênio para que ele possa ser utilizado na forma de glicose nas células é denominado de Glicogenólise. Assim a glicose pode ser utilizada novamente de modo a fornecer energia. A glicogenólise não ocorre pela reversão das mesmas reações químicas que formam o glicogênio; ao contrário, cada molécula de glicose sucessiva em cada ramo do polímero de glicogênio se divide por meio de fosforilação, catalisada pela enzima fosforilase (GUYTON; HALL, 2006).

Em condições de repouso a fosforilase encontra-se sob uma forma inativa, de modo que o glicogênio permanece armazenado. Quando há necessidade de formar glicose novamente a partir do glicogênio, a fosforilase deve primeiramente ser ativada. Isto pode ocorrer de diversas formas (GUYTON; HALL, 2006).

Figura 3 Fonte:-Representação esquemática da formação do Glicogênio. Guyton e Hall (2006)

No citoplasma das células hepáticas e fibras musculares existem enzimas para a síntese e quebra do glicogênio, cuja atividade é regulada por hormônios. A síntese de glicogênio é estimulada por adrenalina e glucagon (KOLB et al., 1987).

O fígado desempenha importante papel na reabsorção intestinal de monossacarídeos: produz enzimas necessárias para a utilização da glicose, frutose e galactose. Além disso, tem papel fundamental na manutenção do nível de glicose do sangue: produz enzimas para síntese e degradação de glicogênio e para a neoglicogênese. (KOLB et al., 1987).

Junqueira e Carneiro (2004), afirmam que no fígado é um órgão incomum, por receber sangue de duas fontes diferentes: 80% do sangue derivam da veia porta, que transporta sangue pouco oxigenado e rico em nutrientes provenientes das vísceras abdominais, enquanto os 20% restantes derivam da artéria hepática que fornece sangue rico em oxigênio.

Na regulação da glicemia participam a insulina, adrenalina, glucagon e glicocorticóides. Sob condições fisiológicas, o fígado dos mamíferos adultos contém 2-6% de glicogênio. E o das aves, 0,1-0,2%. Após a ingestão da ração, nos animais

monogástricos, ocorre uma hiperglicemia que leva a um aproveitamento de glicose pela musculatura e tecido adiposo (KOLB et al., 1987).

De acordo com Rezende e Montenegro¹ (1995) apud ZOGNO, 2002, a concentração de glicogênio placentário é elevado durante o início da gestação, decrescendo com seu avanço. À medida que isto ocorre, o feto começa a ter sua própria glicogênese na forma de reserva hepática.

Segundo Burke² (1986) apud ZOGNO, 2002, a parede vaginal é composta por três camadas: mucosa, muscular e adventícia. O epitélio é estratificado e responde as mudanças nos hormônios e esteróides sexuais. Particularmente, as alterações nas concentrações sangüíneas do estrógeno vaginal causam um adensamento no epitélio que se diferencia e acumula glicogênio. As bactérias vaginais metabolizam este glicogênio transformando-o em ácido láctico, causando baixo pH, que é típico do ambiente vaginal.

A extensão de acúmulo de glicogênio aumenta em gestações diabéticas sendo estimulado pela insulina, este conteúdo de glicogênio é reduzido em placentas mutantes de IGF-II sugerindo uma possibilidade de compreensão da síntese de glicogênio através do receptor de insulina. (CROSS e MICKELSON 2006)

Jones e Desoye, (1993) descrevem que o peso placentário em mulheres diabéticas gestantes varia entre 0,48-0,80 kg com média de 0,64 kg e seus filhos ao nascer pesaram entre 3,22-5,44 kg com média de 3,61 kg. Testes bioquímicos pós-natais evidenciaram uma intolerância a carboidratos, os quais desapareceram nestes casos.

A parede da cavidade amniótica dos ruminantes é transparente, pouco vascularizada e apresenta uma extensa relação com o corión. Sua face interna é caracterizada pela presença de inúmeros relevos ou placas ricas em glicogênio que se desenvolvem em torno do terceiro mês, recobrando o cordão umbilical (SCHWARZE, 1972; BARONE, 1976; NODEN; LAHUNTA, 1990).

O glicogênio na placenta está localizado no cito e sinciotrofoblasto, nas células do estroma e aquelas incorporadas aos vasos sangüíneos fetais chamadas células endoteliais pericitos e células de musculatura lisa. (JONES; DESOYE, 1993).

¹ Rezende e Montenegro¹ (1995 apud Zogno, 2002)

² Burke² (1986 apud Zogno, 2002)

As autoras ainda citam que o glicogênio apresenta-se nas células da decídua e nos troncos vilosos são um excelente controle positivo para a marcação histoquímica; vilos intermediários e terminais, entretanto apresentam valores variados. Em geral marcação positiva é vista somente na parede de vasos grandes ou de médio calibre ou nas células do estroma; paredes de capilares raramente são positivas e ocasionalmente pequenos pontos brilhantes de marcação podem ser visualizados ao redor da borda dos capilares o que pode representar depósitos de glicogênio em processos de pericito. Níveis de atividades nos vilos terminais são baixas na maioria dos casos, com apenas alguns focos no estroma. Muitas das placentas de gestações normais contem quantidade maior ou igual de deposição de glicogênio quando comparadas com as de diabéticas.

Se os valores de deposição de glicogênio do estudo fossem convertidos em números em uma escala linear de 1-5 a média dos valores não diferiria entre grupos (gestações normais, mulheres diabéticas e mulheres diabéticas durante a gestação) (JONES; DESOYE, 1993).

Uma característica marcante da placenta humana de diabéticas é o aumento na deposição de glicogênio. Nem a hiperglicemia nem a hiperinsulinímia aumentam o conteúdo de glicogênio no trofoblasto. Desde que os acréscimos de glicogênio estejam predominantemente em volta dos vasos fetoplacentários. A glicose pode ser transportada de volta do feto para a placenta e refluxo é aumentado no diabetes. Portanto, em condições de níveis de glicose excedente a demanda para apoiar o crescimento e o metabolismo fetal, a glicose pode ser armazenada no fígado e em outros tecidos fetais (DESOYE et al. 2002).

Desoye et al. (2002) descrevem que nos microvasos da placenta de mulheres gestantes que possuem diabetes a concentração de glicogênio nos pericitos foram encontradas em maior quantidade que células endoteliais.

Junqueira e Carneiro (1995) relatam que durante a fase secretora do endométrio as glândulas uterinas contem glicoproteínas e glicogênio. Os vasos estão dilatados e a lamina própria ligeiramente edemaciada.

Foram realizadas por Toboga et al. (2003) avaliações químicas, histológicas e medidas de pH ao longo do tempo da degradação do glicogênio no músculo *longissimus dorsi* do jacaré. A metabolização do glicogênio muscular durou em torno de 50 horas, situando-se o pH muscular inicial entre 6,6 e 6,7 e estabilizando-se, depois de 36 a 48 horas, em torno de 5,5-5,6. Oitenta a 85% do glicogênio inicial

foi metabolizado nas primeiras 20-25 horas pós-abate. Histologicamente o teste do PAS revelou, ao longo do tempo de armazenamento refrigerado, um decréscimo dos grânulos de glicogênio.

Na placenta de ratos na área de junção são encontradas células de glicogênio na decídua basal. As células de glicogênio são análogas as do extravilo trofoblástico, embora as correlações funcionais ainda estejam sendo analisadas (HAN; CARTER 1999).

Guyton e Hall (2006) afirmam que os carboidratos possuem pouca função estrutural na célula, exceto como partes das moléculas de glicoproteínas, mas desempenha o papel principal na nutrição da célula. Uma pequena quantidade de carboidratos é sempre armazenada nas células na forma de glicogênio, que é um polímero insolúvel da glicose e que pode ser despolimerizado rapidamente para suprir as necessidades energéticas das células.

4 MATERIAL E MÉTODO

A seguir cada etapa do procedimento de metodologia será descrita com a intenção de facilitar a réplica do mesmo e posterior confronto dos dados por outros pesquisadores.

4.1 Animais

Para este estudo utilizamos 21 ovelhas da raça Merino Australiano, criadas em regime de pastagem nativa, sem suplementação. O número de animais por hectare obedeceu a ordem de 1 ovelha/ha. Os animais ficaram nas instalações da ULBRA – Universidade Luterana Brasileira, localizada no Rio Grande do Sul, na cidade de Canoas, Rio Grande do Sul.

Os animais foram adquiridos em duas épocas diferentes; 9 animais foram estudados no ano de 2006 e outros 12 em 2007. As velhas obtidas em 2006 foram mantidas com 2 carneiros para reprodução.

A detecção de prenhez positiva foi feita através do ato da monta, onde os machos eram tingidos na parte ventral do seu abdômen com tinta a base de água, misturadas a óleo para melhor fixação, a presença das marcas era verificada diariamente, a fêmea que após apresentar a marca na região lombar, recusava novas montas era classificada como prenhe e separada do grupo.

Após todas as fêmeas apresentarem a prenhez positiva, elas foram divididas em dois grupos; um deles recebeu a tosquia aos 70 dias de gestação e foi, portanto classificado como grupo de ovelhas tosquiado ou esquilado (OT) e o outro grupo não foi tosquiado recebendo o nome de grupo de ovelhas não tosquiadas (ONT).

Na segunda amostragem, feita em 2007, as ovelhas foram mantidas nas mesmas condições nutricionais e ambientais, porém a monta natural foi substituída por inseminação artificial em tempo fixo.

4.1.1 Composição dos grupos

Dos animais do lote inicial adquirido em 2006 com nove fêmeas, apenas oito placentas foram utilizadas para análise total (tanto macroscópica como microscópica); o outro lote em 2007, com doze fêmeas, gerou apenas cinco placentas aproveitáveis para o experimento e análise total. Tal perda de material deu-se devido ao fato de alguns animais abortarem seus produtos e outros adiantarem sua gestação parindo precocemente e impedindo a coleta do material.

As fêmeas foram divididas em dois grupos um não tosquiado (ONT) e outro tosquiado (OT). Para análises macroscópicas de peso fetal, onze animais constituíram o grupo tosquiado e outros dez representaram o grupo não tratado. Para análises do peso placentário oito animais constituem o grupo tosquiado e outros seis representam o grupo não tratado. Para análises macroscópicas de mensuração placentária bem como microscópicas de morfologia e deposição de glicogênio sete animais constituem o grupo tosquiado e outros seis representam o grupo não tosquiado.

Conforme mencionado anteriormente o procedimento de tosquia foi realizada aos 70 dias do período gestacional. Os dados das ovelhas utilizadas no projeto seguem descritos na tabela 1.

Tabela 1 - Distribuição dos dados gerais dos animais utilizados no estudo - São Paulo - 2007

Ovelha	Grupo	Cobertura	Tosquia	Número de Fetos/gestação	Coleta	Idade Fetal/dias	Material utilizado para estudo macroscópico	Material utilizado para estudo microscópico
OT1	OT	09/01/06	01/04/06	2	28/03/06	84	Sim	Sim
OT2	OT	03/01/06	01/04/06	1	23/04/06	140	Sim	Sim
OT3	OT	03/01/06	01/04/06	1	23/04/06	140	Sim*	Não
OT4	OT	09/01/06	01/04/06	1	23/04/06	136	Sim	Sim
OT5	OT	03/01/06	01/04/06	1	23/04/06	140	Sim	Sim
OT6	OT	10/05/07	12/07/07	2	06/09/07	150	Sim	Sim
OT7	OT	10/05/07	12/07/07	1	06/09/07	150	Sim	Sim
OT8	OT	10/05/07	12/07/07	1	06/09/07	150	Sim	Sim
OT9	OT	10/05/07	12/07/07	2	04/09/07	144	Sim	Não
OT10	OT	10/05/07	12/07/07	1	04/09/07	148	Sim*	Não
OT11	OT	10/05/07	12/07/07	2	04/09/07	144	Sim*	Não
ONT1	ONT	03/01/06	01/04/06	1	28/03/06	84	Sim	Sim
ONT2	ONT	09/01/06	01/04/06	1	24/04/06	137	Sim	Sim
ONT3	ONT	03/01/06	01/04/06	1	23/04/06	116	Sim	Sim
ONT4	ONT	03/01/06	01/04/06	1	24/04/06	141	Sim	Sim
ONT5	ONT	10/05/07	12/07/07	1	06/09/07	150	Sim	Sim
ONT6	ONT	10/05/07	12/07/07	1	06/09/07	150	Sim	Sim
ONT7	ONT	10/05/07	12/07/07	1	04/09/07	144	Sim*	Não
ONT8	ONT	10/05/07	12/07/07	2	04/09/07	148	Sim*	Não
ONT9	ONT	10/05/07	12/07/07	1	04/09/07	148	Sim*	Não
ONT10	ONT	10/05/07	12/07/07	1	04/09/07	148	Sim*	Não

Tosquiado (OT) e Grupo Não tosquiado (ONT)

* Material aproveitado para mensurações macroscópicas apenas do feto

4.2 Procedimento de Amostragem

Próximo ao término do período gestacional, as placentas e os fetos foram coletados por meio de ovariectomia (OSH), seguindo a mesma técnica preconizada para cães e gatos (BOJRAB, 1996).

Foi utilizado jejum alimentar sólido de 24 horas e líquido de 12 horas.

Como protocolo anestésico utilizamos cloridrato de xilazina 0,05mg/kg intramuscular como medicação pré-anestésica; cloridrato de cetamina 2mg/kg intravenoso para indução e isoflurano para manutenção de anestesia inalatória.

Da placenta completa foram coletados placentônios de forma aleatória; os mesmos foram cortados e reduzidos (Figura 4) à dimensões de 1cm; após redução, os fragmentos foram fixados em fluido de Gendre, paraformaldeído a 4%, ou formaldeído a 10%, ambas diluições feitas em tampão sódio fosfato (PBS), 0,1M, pH 7,4.

Figura 4:-Metodologia dos cortes do placentônio

Dos fetos foram coletados o fígado e o músculo reto femural do membro pélvico esquerdo. As amostras foram retiradas dos fetos através de técnica convencional de dissecação, a fixação foi a mesma feita para os fragmentos de placentônio.

4.2.1 Análises macroscópicas

Após o processo de retirada dos fetos e placenta, os mesmos foram pesados com uma balança graduada, no local. Para auxiliar no processo descritivo das placentas, aferiu-se o número total de placentônios em cada placenta, também foram averiguados, com auxílio de um paquímetro digital, seu comprimento, largura e espessura.

Os fetos não sobreviventes e as placentas após coleta dos fragmentos para histologia foram perfundidos com solução de folmaldeído 10%, o qual foi injetado em seu interior, pelas veias do cordão umbilical e nas demais localidades com injeção local nos músculos e demais tecidos. Após a fixação, as placentas e os fetos foram submersos em cubas com folmaldeído 10%.

Macroscopicamente, das amostras do fígado e músculo reto femural, foram mensurados o peso assim como feito na placenta.

4.3 Microscopia de luz

Após fixação, com soluções previamente descritas, as amostras foram lavadas em solução salina fosfato (PBS³) e desidratados em uma série de etanóis de concentração de 70 a 100%, só então foram diafanizados em xilol e incluídos em paraplast^{®4}.

Após inclusão, foram feitos cortes seqüenciais de aproximadamente 5 µm de espessura, onde para uma maior variabilidade nas quantificações de glicogênio, fizemos o seguinte procedimento, cortamos 4 laminas em cortes seqüenciais do tecido analisado e depois descartamos 20 cortes, este procedimento foi repetido 3 vezes seguidas em cada bloco de tecido placentário e 2 vezes nos blocos do fígado e músculo .

³ Dulbecco's Phosphate Buffer Saline – DPBS, Gibco Co, USA.

⁴ Paraplast Embedding Media_Paraplast Plus, Sigma, Oxford Lab., USA.

Utilizamos a coloração de hematoxilina-eosina (HE) para evidenciar as particularidades histológicas dos fragmentos, além disto, realizamos a técnica de reação histoquímica de PAS, por corar o acúmulo de glicogênio facilitando a quantificação das áreas demarcadas que possuem glicoproteínas. Em seguida, foi realizada a montagem das lâminas e análise das mesmas em microscópio Axioscop-Zeiss®.

4.3.1 Quantificação do glicogênio

Utilizando-se as lâminas coradas através da reação de Ácido periódico-Schiff (PAS) e Ácido periódico-Schiff com amilase, foram possíveis a análise e quantificação do glicogênio nas amostras dos tecidos placentários e fetais. Foram medidos cinco campos por animal, com a objetiva de 40x. Estes campos eram uniformes e provenientes de diferentes cortes histológicos das suas respectivas amostras. A imagem de cada campo foi obtida através de um microscópio óptico Axioscópico Zeiss® com uma câmera digital acoplada e foram analisadas em um microcomputador com programa de morfometria específico Kontron KS-400 3.0®. Este programa permite a mensuração do glicogênio através da diferenciação da intensidade e do limiar de coloração das diferentes regiões de toda a imagem do campo. A intensidade da coloração obtida é decorrente da intensidade da reação de Ácido periódico-Schiff (PAS) com o glicogênio, portanto, em áreas com maior quantidade de glicogênio, o resultado é uma região marcada mais fortemente. Selecionando-se em cada um dos campos a região corada pela reação de PAS, é possível obter-se um valor que representa a média da intensidade de cor dos pontos da área selecionada, indicando a média da intensidade da reação de PAS, conseqüentemente, podendo-se correlacionar este valor com a quantidade de glicogênio presente naquela área (Figura 5).

Com o valor da média de intensidade da reação de PAS dos cinco campos de cada animal, obtidos com o auxílio do programa, foi calculada uma média para cada animal, e depois foi calculada uma média entre os animais.

Figura 5:-Metodologia de mensuração dos depósitos de glicogênio. Em A – placentônio ovino PAS, 200µm; em B e D um exemplo de área aleatória mensurada, PAS, 25µm; em C e E a área quantificada em branco após contraste; 25 µm ; em F e G o programa específico utilizado para a mensuração das áreas

4.4 Análise estatística das amostras

Os resultados obtidos foram analisados pelo método teste de comparação de médias, teste T, feito com o programa estatístico RGui versão 2.6, com nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

Assim como descrito na metodologia cada procedimento gerou resultados que serão descritos em seguida separados por subitens para fins de didática de entendimento.

5.1 Resultados Macroscópicos

Os resultados macroscópicos referem-se a mensurações da placenta, e placentônio, assim como dados fetais relacionados ao fígado e músculo reto femural.

5.1.1 Placentas

O peso das placentas dos dois grupos variou de 1,453 kg a 3,000 kg com média de 2,131kg. No grupo tosquiado este peso oscilou entre 1,549 kg e 3,000 kg sendo em média 2,287kg; já no grupo de animais não tosquiados os valores foram de 1,453 kg até 2,400 kg com média de 1,923kg (Tabela 2). A diferença entre as médias dos pesos dos grupos foi de 15,92%. Esse valor não foi estatisticamente significativo ($P>0,05$) (Figura 6).

Tabela 2 – Dados morfométricos do peso placentário, expresso em kilogramas de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação, na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Peso da Placenta	Grupo	
	OT	ONT
Média	2,287	1,923
Máximo	3,000	2,400
Mínimo	1,549	1,453
Mediana	2,325	1,955

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 6 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos ao peso médio das placentas de ovinos de raça Merino australiano não tosquiadas e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo - 2007

5.1.1.1 Placentônio

O número total de placentônios nos ovinos foi em média 70,31, variando entre 56 e 95. No grupo tosquiado a média de placentônios foi 72,86, tendo o valor mínimo de 62 e máximo de 88; e no grupo não tosquiado o número de estruturas ficou entre 56 e 95 (média 67,33). (Tabela 3, Figura 7)

Tabela 3 – Dados morfométricos do número total de placentônios de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Número de Placentônios	Grupo	
	OT	ONT
Média	72,86	67,33
Máximo	88	95
Mínimo	62	56
Mediana	70	60,5

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 7 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos ao número de placentônios total das placentas de ovinos de raça Merino australiano não tosquiadas e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo - 2007

Em se tratando do comprimento dos placentônios, a média de ambos os grupos foi de 2,2 cm; tendo valores máximo e mínimo de 2,9 cm e 1,7 cm respectivamente. No grupo tosquiado o comprimento dos placentônios variou de 1,8 cm até 2,9 cm com média de 2,271 cm e no grupo não tosquiado foi de 1,7 cm até 2,9 cm com média de 2,15 cm (Tabela 4, Figura 8).

Tabela 4 – Dados morfométricos do comprimento de placentônios de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Comprimento dos Placentônios	Grupo	
	OT	ONT
Média	2,271	2,150
Máximo	2,900	2,900
Mínimo	1,800	1,700
Mediana	2,300	2,050

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 8 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos ao comprimento dos placentônios de ovinos de raça Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo - 2007

A largura dos placentônios nos ovinos variou de 1,1 cm até 1,9 cm com média de 1,477 cm. No grupo tosquiado a largura manteve-se entre 1,2 cm a 2,2 cm, com média de 1,557 cm; no grupo não tosquiado esses valores foram de 0,9 cm até 2,3 cm com média de 1,567 cm (Tabela 5, Figura 9).

Tabela 5 – Dados morfométricos de largura dos placentônios de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Largura dos Placentônios	Grupo	
	OT	ONT
Média	1,543	1,400
Máximo	1,900	1,600
Mínimo	1,200	1,100
Mediana	1,400	1,450

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 9 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a largura dos placentônios de ovinos de raça Merino Australiano não tosquiadas e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo - 2007

A espessura dos placentônios nos ovinos variou de 0,9 cm a 2,3 cm com média de 1,562 cm. No grupo tosquiado essa espessura foi desde 1,0 cm até 2,2 cm com média de 1,557 cm; já no grupo não tosquiado variou entre 0,9 cm a 2,3 cm com média de 1,567 cm (Tabela 6, Figura 10).

Tabela 6 – Dados morfométricos da espessura dos placentônios de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Espessura dos Placentônios	Grupo	
	OT	ONT
Média	1,557	1,567
Máximo	2,20	2,30
Mínimo	1,00	0,9
Mediana	1,60	1,60

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 10 –Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a espessura dos placentônios de ovinos de raça Merino australiano não tosquiadas e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo - 2007

Figura 11:- Aspectos macroscópicos do útero e parte interna da placenta conectada ao feto de ovino. Em A e B, observa-se o útero gestante. Em C observa-se a parte interna da placenta com os placentomas formados pelos cotilédones adjuntos das carúnculas. As setas azuis indicam veias que irrigam os placentomas e fazem parte do cordão umbilical em D, as setas vermelhas demonstram as artérias que levam o sangue para os placentomas. A seta preta indica o cordão umbilical conectando o feto à placenta. P = placentoma; U = útero; Ca = carúncula; * = cotilédone; C = corno gestante; F = feto; A = âmnio

5.1.2 Fetos

Os fetos, independente do grupo experimental, tiveram os pesos entre 1,150 kg a 6,400 kg e média de 3,646kg no grupo tosquiado o peso dos fetos variou de 1,150 kg a 6,400 kg, com média de 3,688 kg, já no grupo não tosquiado esses pesos encontravam-se entre 1,720 kg a 6,100 kg, com média de 3,596 kg. (Tabela 7, Figura 11).

Tabela 7 – Dados morfométricos do peso fetal expresso em kg de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Peso do Feto	Grupo	
	OT	ONT
Média	3,688	3,596
Máximo	6,400	6,100
Mínimo	1,150	1,720
Mediana	3,400	3,380

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 12 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos ao peso médio dos fetos de ovinos de raça Merino australiano não tosquiado e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo - 2007

5.2 Resultados Microscópicos

Os resultados de microscopia óptica de luz e dados de quantificação serão relatados a seguir subdivididos nas principais áreas de depósito de glicogênio examinadas.

5.2.1 Placentônios

Na histologia convencional foram estudadas as áreas do placentônio, as quais achavam-se constituídas pela parte fetal (cotiledonar), parte materna (caruncular) e pela junção desta última com útero (Figura 13 A).

A região do epitélio uterino mostrou-se com epitélio do tipo simples cúbico, além do tecido conjuntivo constituinte (Figura 13 B), todavia, o epitélio fetal, também conhecido como trofoblasto, se apresentou com epitélio simples cúbico, bem como o mesênquima sobre o qual se apóia (Figura 13 C).

O estroma endometrial, ou tecido conjuntivo materno, era rico em vasos, com formação do topo dos vilos fetais com a base dos vilos maternos (Figura 13 D).

Podemos visualizar as vilosidades placentomal, constituída por parte materna e fetal, bem como seu mesênquima constituinte (Figura 14 A e A').

As glândulas endometriais eram providas de epitélio simples cúbico, e estas encontram-se circundadas pelo estroma do endométrio, constituído de tecido conjuntivo (Figura 14 B).

Nas áreas fetais, encontramos inúmeros vasos, como ilustra a Figura 14 C, além de uma artéria muscular, provida de seu endotélio (túnica íntima), sua camada muscular (túnica média) e tecido conjuntivo (túnica adventícia).

Nas áreas do hematoma fetal, podemos notar uma intensa área de extravasamento de sangue (Figura 14 D).

Figura 13:- Fotomicrografias das áreas estudadas no placentônio de ovino. A: visão panorâmica do placentônio de ovelha colorado por PAS; B: epitélio materno corado por HE; C: epitélio fetal corado por HE; D: tecido conjuntivo materno. F: margem fetal; M: margem materna; U: margem uterina; EP: epitélio uterino; TC: tecido conjuntivo; T: trofoblasto; ME: mesênquima; VM: vaso materno. Barra A: 500 μ m; B e C: 20 μ m; D: 100 μ m

Figura 14:-Fotomicrografias das áreas estudadas no placentônio de ovinos. A: vilosidades placentomais; A': parte materna e fetal da vilosidade; B: glândulas endometriais; G: artéria muscular fetal; D: hematoma fetal. ME: mesênquima; seta vilo fetal; * vilo materno; TC: tecido conjuntivo; MU: muscular; HE: hematoma fetal. Coradas com HE. Barra A e D :100 μm ; A': 20 μm ; B e C: 40 μm

A quantidade média de glicogênio encontrada nos placentônios, independentemente da região estudada, foi de 39712 μm^2 no grupo tosquiado e de 31235 μm^2 no não tosquiado. Obtendo uma diferença entre os valores de 21,35% ($P>0,05$) não sendo representativa estatisticamente. Os valores, mínimo e máximo, encontrados nos grupos assim como a mediana estão indicados na tabela 8. (Figura 15)

Tabela 8 – Quantidade média de glicogênio encontrada na área total do placentônio de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Glicogênio no Placentônio	Grupo	
	OT	ONT
Média	39712	31235
Máximo	55139	39295
Mínimo	28035	25563
Mediana	35150	29273

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 15 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio nos placentônios de ovinos de raça Merino australiano não tosquiadas e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo - 2007

A quantidade média de glicogênio encontrada nas vilosidades dos placentônios foi de 41682 μm^2 no grupo tosquiado e de 35636 μm^2 nos animais não tosquiados, (Tabela 9, Figura 16). A diferença entre os grupos foi de 14,51% não tendo representatividade estatística ($P > 0,05$).

Tabela 9 – Quantidade média de glicogênio nas vilosidades dos placentônios de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Glicogênio na Vilosidade	Grupo	
	OT	ONT
Média	41682	35636
Máximo	57870	51945
Mínimo	26573	21706
Mediana	35350	32397

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 16 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio nas vilosidades dos placentônios de ovinos de raça Merino australiano não tosquiadas ou tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo - 2007

Com relação aos vasos fetais dos placentônios (Tabela 10, Figura 17) a média de glicogênio encontrada expressa em μm^2 foi de 46076,04 para o grupo tosquiado e de 45304,98 para o não tosquiado; a diferença entre os grupos não foi significativa; sendo de 1,67% ($P > 0,05$).

Tabela 10 – Quantidade média de glicogênio depositada nos vasos fetais dos placentônios de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Vaso Fetal	Grupo	
	OT	ONT
Média	48,320	42,815
Máximo	75,181	52,348
Mínimo	32,499	30,368
Mediana	44,898	43,442

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 17 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de vasos fetais nos placentônios de ovinos de raça Merino australiano não tosquiadas e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo - 2007

A quantidade média de glicogênio encontrada nos vasos maternos dos placentônios foi de 36131,86 μm^2 no grupo tosquiado e de 38740,72 μm^2 no não tosquiado (Tabela 11, Figura 18), tendo uma diferença de 6,73% entre os grupos, esses valores não obtiveram significância a $P>0,05$.

Tabela 11 – Quantidade média de glicogênio nos vasos maternos dos placentônios de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Vaso Materno	Grupo	
	OT	ONT
Média	36132	38741
Máximo	41342	47636
Mínimo	30673	27977
Mediana	37501	39675

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 18 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de vasos maternos nos placentônios de ovinos de raça Merino australiano não tosquiadas e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

A média das áreas de deposição de glicogênio encontrados no epitélio fetal dos placentônios foi de 35634,95 μm^2 no grupo tosquiado e de 23435,54 μm^2 no não tosquiado, ambos valores representados na tabela 12 (Figura 19). A diferença entre os grupos foi de 34,23% sendo não significativa para $P>0,05$.

Tabela 12 – Quantidade média de glicogênio no epitélio fetal presente nos placentônios da placenta de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Epitélio Fetal	Grupo	
	OT	ONT
Média	36203	24806
Máximo	63588	31660
Mínimo	21416	18948
Mediana	30925	23461

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 19 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de epitélio fetal nos placentônios de ovinos de raça Merino australiano não tosquiadas e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

No epitélio materno dos placentônios a quantidade de glicogênio marcada foi de 28067,9 μm^2 no grupo tosquiado e de 24841,34 μm^2 no não tosquiado (Tabela 13, Figura 20). Essa diferença representou 11,5% e não foi significativa estatisticamente ($P>0,05$).

Tabela 13 – Quantidade média de glicogênio no epitélio materno dos placentônios presentes na placenta de ovinos Merino australiano, não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Epitélio Materno	Grupo	
	OT	ONT
Média	27779	25716
Máximo	44239	30089
Mínimo	17795	16202
Mediana	28417	26866

Tosquiado (OT) e Grupo Não tosquiado (ONT)

Figura 20 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de epitélio materno nos placentônios de ovinos de raça Merino australiano não tosquiadas e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

A deposição média de glicogênio no tecido conjuntivo fetal dos placentônios foi de 40863,16 μm^2 no grupo tosquiado e de 30412,42 μm^2 no não tosquiado (Tabela 14, Figura 21). A diferença entre os grupos foi de 25,57%, não tendo representatividade estatística ($P > 0,05$).

Tabela 14 – Quantidade média de glicogênio no tecido conjuntivo fetal dos placentônios da placenta de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Tecido Conjuntivo Fetal	Grupo	
	OT	ONT
Média	40863	30412
Máximo	68833	39264
Mínimo	26501	20860
Mediana	32465	34803

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 21 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de tecido conjuntivo fetal nos placentônios de ovinos de raça Merino australiano não tosquiadas e ou tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

A quantidade média de glicogênio encontrada no tecido conjuntivo materno dos placentônios foi de 43459,61 μm^2 no grupo tosquiado e de 33675,80 μm^2 no não tosquiado dados visualizados na tabela 15, tendo uma diferença de 22,51% (Figura 21) entre os grupos sendo $P > 0,05$ não tendo representatividade estatística.

Tabela 15 – Quantidade média de glicogênio no tecido conjuntivo materno dos placentônios de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Tecido Conjuntivo Materno	Grupo	
	OT	ONT
Média	44968	33546
Máximo	66107	41737
Mínimo	24875	25612
Mediana	43881	33473

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 22 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de tecido conjuntivo materno nos placentônios de ovinos de raça Merino australiano e não tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

A média da área de deposição de glicogênio nas glândulas endometriais dos placentônios foi de 21496,34 μm^2 no grupo tosquiado e de 20704,72 μm^2 no não tosquiado (Tabela 16, Figura 23). A diferença entre os grupos foi de 3,68% não tendo representatividade estatística ($P > 0,05$).

Tabela 16 – Quantidade média de glicogênio nas glândulas endometriais dos placentônios de ovinos Merino australiano não tosquiados ou tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Glândulas Endometriais	Grupo	
	OT	ONT
Média	20663	21670
Máximo	32298	34789
Mínimo	10171	14672
Mediana	20856	18121

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 23 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de glândulas endometriais nos placentônios de ovinos de raça Merino australiano não tosquiado e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

5.2.2 Fígado

Assim como no placentônio, para melhor visualização da área analisada foram feitas fotomicrografias das áreas que contém depósito de glicogênio no fígado (Figura 24 A).

O órgão apresentou-se com sua composição estrutural característica, como as veias centro lobulares, que juntamente com estas apresentavam se os capilares sinusóides, além das células hepáticas, ou hepatócitos, existentes no seu parênquima (Figura 24 B).

Pudemos visualizar no hilo renal, local onde se encontra o espaço porta, ramos da veia porta onde o glicogênio quantificado no grupo OT foi representativamente maior que no grupo ONT, sendo parte constituinte da tríade portal assim como, o ramo da artéria hepática e o ducto biliar, espaço este, constituído de tecido conjuntivo (Figura 24 C).

Figura 24: Fotomicrografias das áreas estudadas no fígado de *ovino*. A: visão panorâmica do Fígado de Ovelha; B: veia centro lobular, capilar sinusóide; C: tríade portal. CS: capilar sinusóide; HE: hepatócitos; estrela: veia centro lobular; seta: ducto biliar; AP: ramo da artéria hepática; VP: ramo da veia porta . Coradas por HE. Barra A: 500 μm ; B e C: 50 μm

A quantidade média de glicogênio encontrada no fígado, independentemente da região estudada, foi de 58152,87 μm^2 no grupo tosquiado e de 41800,63 μm^2 no não tosquiado (Tabela 17, Figura 25). Obtendo uma diferença de 28,12%, não sendo representativa a diferença entre os valores ($P > 0,05$).

Tabela 17 – Quantidade média de deposição de glicogênio presente no fígado de fetos de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Fígado Geral	Grupo	
	OT	ONT
Média	58153	41801
Máximo	64245	50234
Mínimo	54264	28804
Mediana	58153	46365

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 25 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio no fígado de fetos de ovinos de raça Merino australiano não tosquiados e ou tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

A quantidade média de glicogênio encontrada na tríade portal do fígado foi de 55006,97 μm^2 no grupo tosquiado e de 36503,5 μm^2 no não tosquiado, (Tabela 18, Figura 26). A diferença entre os grupos foi de 33,64% não tendo representatividade estatística onde $P > 0,05$.

Tabela 18 – Quantidade média da deposição de glicogênio presente na região da tríade portal de fetos de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Tríade Portal	Grupo	
	OT	ONT
Média	55007	36504
Máximo	65433	42083
Mínimo	47915	25882
Mediana	51674	41546

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 26 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de tríade portal do fígado de fetos de ovinos de raça Merino australiano não tosquiada e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

A quantidade média de glicogênio encontrada em ramos da veia porta hepática foi de 54499,23 μm^2 no grupo tosquiado e de 34830,73 μm^2 no não tosquiado. (Tabela 18, Figura 27); tendo uma diferença de 36,09% entre os grupos tendo significância estatística a $P < 0,05$.

Tabela 19 – Quantidade média de glicogênio encontrada nos ramos da veia porta hepática de fetos de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Ramos da veia porta hepática	Grupo	
	OT	ONT
Média	54499	34831
Máximo	58419	39526
Mínimo	51026	25681
Mediana	54499	39285

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 27 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de veia porta do fígado de fetos de ovinos de raça Merino australiano não tosquiado e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

Em se tratando da deposição de glicogênio nas veias centro lobulares do fígado de fetos, encontramos 57633,80 μm^2 nos animais do grupo tosquiado e de 46323,33 μm^2 nos não tosquiados (Tabela 20, Figura 28). A diferença entre os grupos foi de 19,62%, ou seja não significativa a $P>0,05$.

Tabela 20 – Quantidade média de glicogênio das veias centro lobulares de fígados de fetos de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Veia Centro Lobular	Grupo	
	OT	ONT
Média	57634	46323
Máximo	61065	54092
Mínimo	50018	35071
Mediana	61065	49807

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 28 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de veia centro lobular do fígado de fetos de ovinos de raça Merino australiano não tosquiadas e tosquiadas aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

A quantidade média de glicogênio encontrada no capilar sinusóide do fígado fetal de 61834,6 μm^2 no grupo tosquiado, e de 48085,93 μm^2 no não tosquiado (Tabela 21, Figura 27); tendo uma diferença de 22,23% entre os grupos não sendo significativa a $P > 0,05$.

Tabela 21 – Quantidade média de glicogênio nos capilares sinusóides do fígado de fetos de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Capilar Sinusóide	Grupo	
	OT	ONT
Média	60513	48086
Máximo	64488	63298
Mínimo	60503	29547
Mediana	60513	51413

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 29 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de capilar sinusóide do fígado de fetos de ovinos de raça Merino australiano não tosquiado e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

A quantidade média de glicogênio encontrado nos hepatócitos foi de 61820,20 μm^2 no grupo tosquiado e de 43044,13 μm^2 no não tosquiado (Tabela 22, Figura 30). A diferença entre os grupos foi de 30,37% na tendo significância em $P > 0,05$.

Tabela 22 – Quantidade média de glicogênio nos hepatócitos de fetos de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Hepatócitos	Grupo	
	OT	ONT
Média	61820	43044
Máximo	70615	52707
Mínimo	56017	27192
Mediana	58829	49234

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 30 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de hepatócitos de fetos de ovinos de raça Merino australiano não tosquiado e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

5.2.3 Músculo Reto Femural

Assim como no ramo da veia porta do fígado, local onde se notou uma diferença de glicogênio significativa, a área total do músculo também apresentou este mesmo tipo de diferença onde o grupo OT teve maior quantidade de glicogênio, assim mapeado para melhor visualização dos resultados (Figura 31 A).

Notamos que na musculatura estriada esquelética do reto femural à presença das fibras longitudinais e transversais, assim como vasos de grande calibre (artéria elástica) e agregados de tecido adiposo, formado por células adiposas (adipócitos) (Figura 31 B e 31 C).

Figura 31: Fotomicrografias das áreas estudadas no músculo de ovino. A: visão panorâmica do músculo reto femoral de Ovelha; B: artéria elástica; C: células adipócitas. A: artéria elástica; F: fibra muscular; CA: células adipócitas. Coradas por HE. Barra A: 500 μm ; B e C: 100 μm

A quantidade média de glicogênio encontrada no músculo reto femoral, independentemente da região estudada, foi de 41128,7 μm^2 no grupo tosquiado e de 31942,7 μm^2 no não tosquiado (Tabela 24, Figura 32). Obtendo uma diferença de 22,33%, onde $P < 0,05$ sendo significativa a diferença entre os grupos.

Tabela 23 – Quantidade média de glicogênio no músculo reto femoral de fetos de ovinos Merino australiano, não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Músculo	Grupo	
	OT	ONT
Média	41129	31943
Máximo	42737	37509
Mínimo	38751	27970
Mediana	41898	30349

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 32 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio no músculo reto femoral de fetos de ovinos de raça Merino australiano não tosquiado e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

A quantidade média de glicogênio encontrada nas fibras musculares foi de $44966,47\mu\text{m}^2$ no grupo tosquiado e de $35795,37\mu\text{m}^2$ no não tosquiado (Tabela 24, Figura 33); tendo uma diferença de 20,39%, porém não possui significância estatística a $P>0,05$.

Tabela 24 – Quantidade média de glicogênio nas fibras musculares do músculo reto femural de fetos de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Fibras Musculares	Grupo	
	OT	ONT
Média	44966	35795
Máximo	46632	41077
Mínimo	44068	27486
Mediana	44199	38823

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 33 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de fibras musculares do músculo reto femural de fetos de ovinos de raça Merino australiano não tosquiado ou tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

Conforme expresso na tabela 25 (Figura 34), a quantidade média de glicogênio encontrada nos vasos musculares foi de 39708,50 μm^2 no grupo tosquiado e de 31234,13 μm^2 no não tosquiado. A diferença entre grupos foi de 21,34%, não sendo estatisticamente significativa a $P > 0,05$.

Tabela 25 – Quantidade média de glicogênio encontrada nos vasos musculares do músculo reto femoral de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Vasos Musculares	Grupo	
	OT	ONT
Média	39709	31234
Máximo	43189	34583
Mínimo	34358	26143
Mediana	41579	32976

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 34 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de vasos do músculo reto femoral de fetos de ovinos de raça Merino australiano não tosquiadas e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

No interior dos músculos, focalizando somente as células adiposas a média de deposição de glicogênio encontrada foi de 36589,90 μm^2 no grupo tosquiado e de 27181,57 μm^2 no não tosquiado, (Tabela 26, Figura 35) neste caso a diferença não foi significativa, sendo de 25,71% ($P>0,05$).

Tabela 26 – Quantidade média de glicogênio nas células adiposas do músculo reto femural de fetos de ovinos Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de gestação na cidade de Canoas - RS- São Paulo - 2007

Célula Adiposa	Grupo	
	OT	ONT
Média	36590	27182
Máximo	40424	34164
Mínimo	33092	16192
Mediana	36254	31190

Tosquiado (OT) e Grupo não tosquiado (ONT)

Figura 35 – Representações gráficas das médias com erros padrões relativos a quantidade de áreas com deposição de glicogênio na região de concentração de células adiposas do músculo reto femural de fetos de ovinos de raça Merino australiano não tosquiados e tosquiados aos 70 dias de período gestacional - São Paulo – 2007

6 DISCUSSÃO

O peso das placentas, que é um órgão essencial para vida do feto durante a gestação (GARCIA et. al, 1996), foi aferido neste estudo onde como resultado a média obtida foi de 2,131kg. No grupo tosquiado este peso foi de 2,287kg; já no grupo de animais normais os valores foram próximos a 1,923kg. O peso dos animais não tosquiados, bem como o do grupo tosquiado foi semelhante ao encontrado por Osgerby et al. (2003) em animais não tosquiados; em seus estudos o peso da placenta foi em média de 2,46 kg, e que os pesos da placenta e feto são significativamente maiores em ovelhas cujo escore corporal ao final da gestação é 5, ou seja, em animais obesos.

Em outro estudo, Ribeiro (2002) utilizou ovinos com metodologia, raça e condições igualmente reproduzidas por nosso estudo e concluiu que ao tosar fêmeas aos 70 dias de gestação as mesmas reduziam seu peso corporal e o peso dos fetos em contrapartida aumentava baseados em seus dados e nos agora coletados podemos afirmar que a condição corporal diminuída da mãe não provoca uma diminuição no peso da placenta, nem tampouco diminui o peso do animal ao nascer; pelo contrário; em nosso estudo os animais recém nascido provenientes de fêmeas de escore moderado (grau 3) nasceram mais pesados que o não tosquiado.

Jones e Desoye (1993) descrevem que o peso placentário em mulheres diabéticas gestantes varia entre 0,48-0,80 kg com média de 0,64 kg; peso este maior que o de placentas normais que é de 0,5 kg. Assim como a diabetes em gestações humanas promove o aumento do peso da placenta nosso estudo também carrega esse aumento nos animais tosquiados aos 70 dias de gestação quando comparado ao dos grupos não tosquiados; esse aumento, no caso de mulheres diabéticas, está relacionado a maior fluxo de glicose transplacentário, este aumento de fluxo gera um aumento no peso dos bebês nascidos. Ao tosquiar animais gestantes promovemos um estresse agudo da manipulação e, em consequência deste, outro estresse térmico concomitante, porém desta vez crônico, ou seja, ocorre de maneira contínua até o crescimento da lã. Hipoteticamente, esse estresse pode estar associado ao aumento da deposição de glicogênio, ou seja, ao aumentar essa deposição a disponibilidade da metabolização de glicose aumenta. Já a quantidade de glicose

disponível no sangue circulante materno aumenta e conseqüentemente as ovelhas nascidas ganham peso; assim como os bebês recém nascidos de mães diabéticas.

O número médio de placentônios o qual, segundo Bacha Jr e Bacha, (2003) são estruturas placentárias formados da junção da carúncula com o cotilédone, encontrado nas placentas de ovelhas, foi de aproximadamente 70 unidades, valor este, abaixo dos encontradas por Barone, (1976); Latshaw, (1987); Noden e De Lahunta, (1990); Osgerby et al. (2003) e Kaufmann e Burton, (1994), que foram entre 80 a 120. Nossos valores também diferem dos descritos por Alexander (1964) e Mies Filho (1987) que estudaram ovelhas da raça Merino, a mesma envolvida neste trabalho, e encontrou em média 100 placentônios no total. Apenas uma ovelha do grupo tosquiado e outra do grupo não tosquiado de nosso estudo apresentaram 88 e 95 placentônios respectivamente, concordando com os valores encontrados pelos referidos autores. Esta diferença pode estar relacionada com o número de fetos analisados e seus respectivos tamanhos, ou tipo de manejo nutricional e ate mesmo decorrentes de diferenças raciais, para os primeiros autores porquanto não há referência, naqueles trabalhos, da raça estudada.

Segundo Doizé et al. (1997), existe uma fraca correlação entre a idade gestacional e o tamanho dos placentônios; em seus estudos estes autores, afirmaram que o tamanho máximo dos placentônios foi alcançado em ovelhas com 74 dias de gestação e que aos 93 dias gestacionais a média dos diâmetros era de 2,87cm. Estes dados foram confirmados em nosso trabalho, pois as médias dos placentônios de maior dimensão foram detectadas nas placentas de ovelhas onde a idade gestacional era de aproximadamente 84 dias.

Doizé et al. (1997) ainda ressaltam que após a expulsão das membranas fetais os mais largos cotilédones mediam 3 cm de diâmetro, dados estes que também são encontrados em nossos estudos pois as médias dos valores aferidos nos placentônios nas demais placentas que foram coletadas na fase final da gestação variaram entre 2,04 - 5,32 cm.

O comprimento dos placentônios em bovinos é em media de 2 a 3 cm (SIMÕES, 1984; LATSHAW, 1987 ; JAINUDEEN e HAFEZ, 1995; CARAMBULA et. al. 1997; DRIEUX e THIÉRY 1951; GROSSER 1909 ; NEVES, 1996), apesar de não serem animais de porte físico semelhantes as ovelhas deste trabalho apresentaram uma média dos comprimentos em ambos os grupos estudados que variou entre 1,7-

2,9 cm semelhantes aos dos estudos feitos em bovinos isto nos levar a crer que o tamanho do animal ou seu peso não influencia em suas medidas placentárias.

Segundo Alexander (1964), ao remover carúnculas uterinas promovemos um aumento compensatório do tamanho cotiledonar; em nosso estudo não foram encontrados sinais de fusão cotiledonar compensatória, devido ao fato dos animais não sofrerem o procedimento cirúrgico de remoção das mesmas; no entanto, o procedimento de tosquia aumenta em tamanho (comprimento, largura e espessura) não só os cotilédones como também as carúnculas, ou seja toda a estrutura do placentônio é aumentada.

O procedimento de tosquia realizada aos 70 dias do período gestacional causa um aumento aproximado de 0,7 kg no peso das crias ao nascer (MORRIS; MC CUTHEON, 1997; RIBEIRO, 2002; AUSTIN e YOUNG, 1977). Neste trabalho a diferença foi de 0,09 kg entre as médias dos pesos dos grupos, isto se deve ao fato de que alguns de nossos fetos foram coletados com idade gestacional mais jovem do que as demais e também porque os pesos aferidos na primeira coleta foram de fetos prematuros. O cálculo da idade gestacional destes animais, como descrito na metodologia, não foi preciso como os da segunda coleta (onde realizamos inseminação artificial em tempo fixo), e conseqüentemente, o procedimento cirúrgico de remoção dos fetos e placenta foi prematuro.

Ainda assim, em experimento anterior realizado por Ribeiro (2002) com animais de mesma raça, procedência e condições de manejo e pastagem, a média dos pesos dos animais nascidos de ovelhas tosquiadas foi maior. Em se tratando da importância do aumento deste peso para a sobrevivência das crias nascidos, devido a hipotermia que os mesmos sofrem ao nascer, esse ganho de peso já é suficientemente importante para a ovinocultura brasileira, principalmente da região sul do Brasil.

Ainda que as médias gerais dos grupos não demonstrem diferença significativa, seis dos sete animais do grupo OT obtiveram peso acima de 4,0 Kg, peso este que segundo Dalton et al. (1980); Coimbra Filho (1975); Oliveira (1978); Méndez (1981), Fontana (1994) Bruère e West (1993), assegura uma taxa de mortalidade baixa, entre 13 e 14%.

Kleemann et al. (1993) relatam em seus resultados que a nutrição no meio e no final da gestação, não influencia o peso fetal ao final do nascimento, e a mesma também não influencia na sobrevivência dos fetos com 50 a 100 dias de idade

gestacional. A quantidade excessiva de alimento tanto no meio quanto no final da gestação reduz a sobrevivência dos fetos no terço final gestacional.

Schneider (1996) e Almeida et. al. (2000) ainda afirmam que o crescimento da placenta nos estágios finais da gestação equivale à quantidade de nutrientes que estão à disposição do feto, sugerindo então que a placenta cresce além de suas necessidades no início da gestação, preparando-se para a grande demanda metabólica do crescimento fetal no final da gestação. Confrontando nossos resultados de peso fetal aos dos autores, discordamos do mesmo, pois, apesar de não realizarmos um estudo nutricional em nossas ovelhas comprometemos seu ganho de peso e até reduzimos o mesmo por meio do estresse agudo e térmico prolongado como comentado por Dutt e Bush (1955) e enfatizado no trabalho de Eals e Small (1980), e mesmo em decorrência da perda de peso, o que também ocorre quando a alimentação é controlada, os fetos tem seu peso aumentado em relação aos normais.

Osgerby et al. (2003) concluíram que a condição corporal materna altera o crescimento fetal no meio da gestação de forma assimétrica, onde o peso e o Crow-rump do feto se modificam, entretanto o crescimento do esqueleto não se altera; esses achados indicam que o desenvolvimento fetal é sensível as condições corpóreas da mãe e potencialmente significativa nas implicações a saúde da vida pós-natal. Diante dos resultados encontrados neste trabalho concordamos com o autor, porém podemos afirmar que tão importante quanto a condição corpórea das fêmeas são as condições da placenta da mesma, tanto sua forma quanto sua função promovem o bom desenvolvimento gestacional, fazendo com que os fetos nasçam mais desenvolvidos.

Corner et al. (2007), em estudo semelhante a este, testaram o estresse relacionado a tosquia no meio da gestação e averiguaram o peso e dimensões do corpóreas de ovelhas nascidas de partos gemelares. Em suas conclusões, fetos nascidos de mães tosquiadas no meio da gestação nascem comprovadamente mais pesados, porém, este aumento de peso não está associado aos altos níveis de cortisol provocados pelo estresse agudo do ato da tosquia. Os autores afirmam esse dado mediante ao fato de que os níveis de cortisol foram elevados tanto nos animais tosquiados quanto nos que receberam apenas a tosa higiênica e nos que receberam a simulação da tosquia sem remoção da lã. Assim como avaliado em nosso trabalho o estresse que causa o aumento de peso dos fetos ao nascer não é o momentâneo

e sim o contínuo causado pela ausência da lã nas ovelhas durante a gestação, os níveis de cortisol, segundo Corner et al (2007), só aumentam a possibilidade que o estresse térmico é o responsável pelo aumento de peso dos crias nascidos de mães tosquiadas.

Na placenta as áreas onde foram encontradas as maiores concentrações de glicogênio foram ao redor dos vasos maternos e fetais, o grupo tosquiado apresentou maior quantidade de glicogênio em torno dos vasos fetais e o grupo não tosquiado circundando os vasos maternos. Jones e Desoyé (1993) destacam que em microvasos da placenta de mulheres diabéticas gestantes a concentração de glicogênio nos pericitos foi encontrada em maior quantidade em células endoteliais, o que colabora com nossos achados.

Para Jones e Desoyé (1993) os vasos placentários, além de transportarem glicose, também podem armazená-la na forma de glicogênio na placenta. Os depósitos de glicogênio são um achado patológico comum em tecidos diferentes, mas o acúmulo ocorre em toda a gravidez, sugerindo ser um fator fisiológico. Como neste trabalho utilizamos o estresse como uma forma de tratamento, o qual é um fator fisiológico que pode causar diversas doenças, podemos associar este estresse causado pelas baixas temperaturas com os fatores responsáveis pelo maior armazenamento de glicogênio nas regiões da placenta nos animais tosquiados que nos não tosquiados.

Para Cross e Nickelson (2006), em camundongos, o acúmulo de glicogênio é limitado do meio ao final da gestação, ocorrendo especificamente em células da camada do espongiotrofoblasto, depois de 12,5 dias pós-coito, seguido de invasão das células na parede uterina. Em nossas análises demonstramos um acúmulo expressivo de glicogênio no tecido conjuntivo materno especialmente na região de pericito dos vasos maternos e também fetais.

Junqueira e Carneiro (1995) relatam que durante a fase secretora do endométrio as glândulas uterinas, contêm glicoproteínas e glicogênio. Neste trabalho também foram avaliadas as quantidades de glicogênio nestas localidades, nossos resultados demonstraram pouca quantidade nestas áreas e a diferença entre os grupos OT e ONT foi de 3,68% maior no segundo. A presença do glicogênio pode ser explicada pelo seguinte fato, no tecido citotrofoblástico que está presente nas lâminas endometriais segundo Mossman (1987), existem células trofoblásticas que são ricas em glicogênio.

Han e Carter (1999) descrevem que em placenta de ratos na área das junções materno-fetais são encontradas células de glicogênio na decídua basal, estas células são idênticas as dos extravilos trofoblásticos embora estas correlações ainda estejam sendo analisadas. A região de junção materno-fetal nas ovelhas é denominada vilosidade, pois é a área onde se encontram o vilos materno e fetal, assim como nas células dos ratos citados acima, foi encontrado neste trabalho na região do placentônio uma grande quantidade de glicogênio mais acentuado na região fetal que na materna, a área fetal possui grande quantidade de células multinucleadas também denominadas de células gigantes trofoblásticas células estas ricas em glicogênio.

Os ruminantes possuem grande variedade placentária (FITZGERALD e FITZGERALD, 1997), a placenta estudada neste trabalho é classificada como Zonária Cotiledonária, Vilosa e Sinepiteliocorial (MARSHALL, 1947; WINSATT, 1950; MARSHALL, 1952; HAFEZ, 1954; STEVEN, 1968; SHWARZE, 1970; STEVEN, 1975; FLOOD, 1991; LEISER; KAUFMANN, 1994 ; DYCE, 1997; HAFEZ e HAFEZ, 2004; PEREIRA, 2004; SHOEUNAU et. al 2005). Nas vilosidades averiguamos grande quantidade de glicogênio, este acúmulo pode ser relacionado ao grande número de células trofoblásticas gigantes que são ricas em glicogênio. Neste local encontramos a sinciotrofoblasto, região onde ocorre íntimo contato do trofoblasto com o endotélio materno. Jones e Desoye (1993) descrevem que o glicogênio está localizado na placenta no cito e sinciotrofoblasto, nas células do estroma área também denominada como tecido conjuntivo fetal, região esta que neste trabalho foi estudada, e que caracteristicamente acompanham as vilosidades placentárias, onde foi demonstrado acúmulo de glicogênio considerável nas regiões fetais do grupo tosquiado.

Jones e Desoye (1993) afirmam que em geral a marcação positiva de glicogênio é vista somente na parede de vasos grandes ou de médio calibre ou nas células do estroma; paredes de capilares raramente são positivas e ocasionalmente pequenos pontos brilhantes de marcação podem ser visualizados ao redor da margem dos capilares o que pode representar depósitos de glicogênio em processos de pericito. Neste trabalho as áreas da placenta onde foram encontrados os maiores níveis de glicogênio foram nos grandes vasos, o grupo tosquiado apresentou maior concentração nas áreas dos vasos fetais enquanto a maior quantidade de glicogênio nos vasos maternos foi encontrada nas ovelhas não tosquiada. Este fato pode estar

relacionado ao envio de glicose da mãe para o feto onde as ovelhas tosquiadas transmitem mais nutrientes dentre os quais a glicose se encontra.

Os valores encontrados entre os depósitos de glicogênio neste trabalho não obtiveram uma grande diferença entre si assim como em Desoye et al. (2002) onde comparando a quantidade glicogênio observadas entre mulheres gestantes normais e diabéticas as concentrações de glicogênio nas placentas normais contem quantidade maior ou igual de deposição de glicogênio quando comparadas com as de diabéticas. Tanto em Jones e Desoye (1993) como neste trabalho isto pode ter ocorrido, por causa das trocas fisiológicas onde a maior parte da glicose no caso das ovelhas e insulina no caso das mães diabéticas são acumulados nos seus filhos. Tao fato pode ser confirmado devido as quantidades de glicogênio significativas encontradas tanto no fígado quanto no músculo reto femural dos fetos do grupo tratado.

A justificativa do fato de analisarmos, fora a deposição de glicogênio na placenta, seu acúmulo nos órgãos do feto, sendo eles o fígado e o músculo está no fato de que, além do maior acúmulo de glicogênio ser comprovadamente no feto e não nas placentas, o principal órgão onde ele é sintetizado e posteriormente armazenado é o fígado, e outro local de grande deposição do mesmo para utilização nas atividades de contração é a musculatura (conversão em glicose e queima de ATP).

Em nosso estudo, o órgão em que foi encontrada a maior quantidade de glicogênio foi o fígado, onde o grupo tosquiado apresentou uma média de 58152,87 μm^2 e 41800,63 μm^2 no grupo não tratado, assim como Kolb et al. (1987) o qual descreve que nos mamíferos adultos, o fígado é constituído por 2-6% de glicogênio.

Dentre as estruturas estudadas no fígado verificamos que as áreas onde é encontrado o ramo da veia porta, apresentaram diferenças significativas entre a quantidade de glicogênio no grupo tosquiado e o grupo não tosquiado. Este vaso transporta 80% do sangue do fígado, constituído por pouca quantidade de oxigênio e é rico em nutrientes (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Estes nutrientes podem ser responsáveis por esta diferença significativa entre a quantidade de glicogênio dos grupos, já que durante a fase de absorção, o fígado capta glicose e a converte em glicogênio e triglicerídeos (Cunningham, 1999), com isto o tratamento realizado pela tosquia, e o peso dos fetos tende a aumentar (MELLOR, 1983, MORRIS; MC CUTHEON, 1997; RIBEIRO, 2002).

Borges (2000) em estudo debita grande importância na produção de crias ao aspecto reprodutivo da ovelha pensando no nascimento de crias viáveis, assinalando que o desenvolvimento muscular dos crias ocorreria de forma continuada a partir de sua concepção.

No músculo reto femoral dos fetos do grupo OT foram encontradas grande quantidade de glicogênio esta quantidade foi significativamente estatística em relação ao grupo controle, este fato pode estar relacionado o desenvolvimento do feto, pois como em Toboga et al. (2003) o glicogênio se metabolizar rapidamente de acordo com a necessidade em que é requerido, e o feto sendo de maior tamanho necessita de uma demanda maior de glicogênio.

7 CONCLUSÃO

Após estudarmos, os depósitos de glicogênio placentário e fetal ovinos da raça Merino australiano que sofreram ou não a tosquia aos 70 dias do período gestacional concluímos que:

- Na placenta o número de placentônios varia na dependência ou não da tosquia.
- O acúmulo de glicogênio na placenta não é o maior responsável pelo aumento do peso dos crias ao nascer, porquanto não há diferenças entre a quantidade média de glicogênio na placenta de animais tosquiados ou não.
- A maior concentração de glicogênio no fígado fetal ocorre em torno dos vasos fetal, mais especificamente, nos pericitos dos ramos da veia porta hepática.
- Ovinos nascidos de fêmeas tosquiadas aos 70 dias de gestação apresentam comprovadamente maior deposição de glicogênio no músculo reto femural.
- A diferença de concentração de glicogênio no fígado fetal e no músculo reto femural de ovinos, confirma a hipótese de que a tosquia ou não das mães modifica o ganho de peso fetal.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, G. Studies on the placenta of the sheep (*Ovis aries* L.). **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 7, p. 307-322, 1964.
- ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. M.; MIGLINO, M. A.; MORAIS-PINTO, L. Morfologia do funículo umbilical em ovinos deslanados mestiços (*Ovis áries*, L. 1758) **Brazilian Journal Veterinary. Research and Animal Science**, v. 37 n. 7, p. 189-193, 2000.
- ANGELES, L. M., HERNANDÉZ, G. T., RUBIO, M. R. Fertilidad, prolificidad y sobrevivencia de crías en un rebanõ comercial de ovinos Suffolk. **Veterinaria Mécxico**, v. 24, n. 3, p. 231-234, 1993.
- ANUALPEC. Anuário da Pecuária Brasileira. **Rebanho ovino no Brasil**. São Paulo: Argos Comunicações, 2006. p. 277.
- AUSTIN, A. R.; YOUNG, N. F. The effect of shearing pregnant ewes on lamb birth weight. **Veterinary Record**, v.100, p. 527-529, 1977.
- BACHA, JR, W. J.; BACHA, L. M. **Atlas colorido de histologia veterinária**. 2.ed. 2003. São Paulo: Ed. Roca, p. 357, 369, 375, 444.
- BARONE, R. **Anatomie comparée dês mammifères domestiques: Splanchnologie**. Paris: Vigot Frères, 1976. c. 2, p. 579-605.
- BERTOLINI, M.; ANDERSON, G.B. The placenta as a contributor to production of large. **Theriogenology**, v. 57, p. 181-187, 2002.
- BOJRAB, M. J. **Técnicas Atuais em Cirurgia de Pequenos Animais**. 3. ed. São Paulo: Roca, 1996. p. 591-596.
- BORGES, I. Manejo da Ovelha gestante e sua importância na criação do cordeiro. In: ENCONTRO MINEIRO DE OVINOCULTURA, 1., 1998, Lavras. **Anais...** Lavras – MG: UFLA, 2000. p. 106-128.
- BRUÈRE, A. N.; WEST, D. M. **The sheep health, disease e production**. Palmerston North, New Zealand: Veterinary Continuing Education, Massey University. Factors. p. 36-54. 1993. cap. 3, p. 36-54.
- CARAMBULA, S.; MIGLINO, M. A.; DIDIO, L. J. A.; TEIXEIRA FILHO, A.; SOUZA, W. M. Pesquisa anatômica sobre a ramificação e disposição das artérias e veias das placentas de bovinos azebuados. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 34, n. 3, p. 131-137, 1997.

CLARKSON, M. J.; WINTER, A. C. **A handbook for the sheep clinician**. 5. ed. Liverpool (UK): Liperpool University Press, 1997, p. 3.

COIMBRA FILHO, A. **Influência de duas épocas de cobertura nos nascimentos, sobrevivência e desenvolvimento dos crias**. 1975. 95 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1975.

COUTO, F. A. D. **Apresentação de dados sobre a importância econômica e social da ovinocultura brasileira**. Relatório final de apoio a cadeia produtiva da ovinocaprino cultura brasileira, 2001, Brasília – DF. M.C.T.; C.N.P.q.; C.G.A.P.B., Brasília – DF: 2001, p 10-15.

CORNER, R. A.; KENYON, P. R.; STAFFORD, D. M.; OLIVER, M. H. The effect of mid-pregnancy stressors on twin-lamb live weight and body dimensions at birth. **Livestock Science**. n.107. p.126-131. 2006.

CROSS J. C.; MICKELSON L. Nutritional Influences on Implantation and Placental Development. **Nutrition Reviews**, v. 64, n. 5, p.12-18, 2006.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, pag. 291-299, 304.

DALTON, D. C., KNIGHT, T. W., JOHNSON, D. L. Lamb survival in sheep breeds on New Zealand hill country. **New Zealand Journal of Agricultural Research** , v. 32, p. 167-173, 1980.

DESOYE, G.; KORHUN, E. T., GHALFARI-TABRIZI, N.; HAHN, T. Is fetal macrosomia in adequately controlled diabetic women the result of a placental defect? - a. **Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, 2002.

DOIZÉ, F.; VAILLANCOURT, D.; CARABIN, H.; BÉLANGER, D. Determination of gestational age in sheep and goats using transrectal ultrasonographic measurement of placentomes. **Theriogenology**, v. 48, p. 449-460, 1997.

DRIEUX, H.; THIÉRY, G. La placentation chez mammifères domestiques III. Placenta des bovidés. **Recueil de Médecine Vétérinaire**, v.127, n.1, p. 5-25, 1951.

DUTT, R. H.; BUSH, F. L. The effect of low environmental temperature on innovation of the breeding season and fertility in sheep. **Journal of Anatomy**, v. 14, n. 3, p. 885-896, 1955.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1997, 663 p.

EALS, F. A.; SMALL, J. Determination of heat production in new born lambs. **International Journal of Biometereology**. v. 24, n. 2, p. 157-166, 1980.

FITZGERALD, M. J. T.; FITZGERALD, M. **Embriologia humana**. México: Editorial El Manual Moderno, 1997.

FLOOD, P. F. The development of the conceptus and its relationship to the uterus. In: CUPPS, P. T. **Reproduction in domestic animals**. 4. ed. California: Academic. 1991. cap. 9. p. 315-360.

FONTANA, C. S. **Efeito da nutrição da Ovelha, nas últimas semanas de gestação, no peso nascer e sobrevivência perinatal de crias Corriedale**. 1994. 72 p. Dissertação (Mestrado em Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1994.

GARCIA, M ; LIBERA, A.M.M.P.; BARROS FILHO, I.R. **Manual de semiologia e clínica dos ruminantes**. São Paulo: Varela, 1996, p 29-35.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. Manole: São Paulo, p.173-182, 2004.

HAFEZ, S. The placentome in the buffalo. **Acta Zoolgic Stockholm**, v. 35, n. 2, p.177-191, 1954.

HAN, V. K. M.; CARTER, A. M. Spatial and temporal patterns of expression of messenger rna for insulin-like growth factors and their bilding proteins in the placenta of man and laboratory animals. **Placenta**, v. 20, p. 289-305, 2000.

HILDEBRAND, M. **Análise da estrutura dos vertebrados**. São Paulo: Editora Atheneu, 1995. 700 p.

IWTO. **Wool statistics**. Brussels: International Wool Textile Organization. 2000-01. p.01-29

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.

JONES, C. J. P.; DESOYE, G. Glycogen distribuition in the capillaries of the placental villus in normal, overt and gestational diabetic pregnancy. **Placenta**, v 14. P. 505-517, 1993.

JUNQUEIRA, L. C.; e CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

JUNQUEIRA, L. C. e CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. p.379-382.

KAUFMANN, P.; BURTON, G. Anatomy and genesis of the placenta. In KNOLB, E.; NEILL, J.D. **The physiology of the reproduction**. 2. ed. New York: Raven. 1994, v4, cap.8. p. 441-484.

KENYON, P. R.; MORRIS, S .T.; REVELL, D. K.; MCCUTCHEON, S. N. Improving lamb birth weight through mid to late – pregnancy shearing: a review of recent studies. **Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production**, v. 59, p. 70-72, 1999.

KLEEMANN, D. O.; WALKER, S. K.; WALKLEY, J. R. W.; PONZONI, R. W.; SMITH, D. H.; GRIMSON, R. J.; SEAMARK, R. F. Effect of nutrition during pregnancy on fetal growth and survival in FECB Booroola x South Australian Merino ewes. **Theriogenology**, v.39, p. 623-630, 1993.

KOLB, E.; GURTNER, E.; SCRÖDER, L.; KETZ , H.; SEIDEL, H. **Fisiologia Veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987.

LATSHAW, W. K. Extraembryonic membranes and placentation. In: _____. **Veterinary developmental anatomy – A clinical developmental**. Toronto: Becker, 1987. cap. 5. p. 49-74.

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

MARSHALL, F. H. A. **Physiology of reproduction**. London: Longmans. 1952. p.189-211.

MARSHALL, F. H. A.; HAMMOND, J. **Fertility and animal breeding**. Bull. 39. Ministry of Agriculture and Fisheries U.K. 1947.

MELLOR, D. J. Nutritional and placental determinants of foetal growth rate in sheep and consequences for new born. **British Veterinary Journal**, v. 139, p. 307-316, 1983.

MÉNDEZ, M. C. G. **Mortalidade perinatal em ovinos nos municípios de Bagé, Pelotas e Santa Vitória do Palmar, Rio Grande do Sul**. 1981. 36 p. Dissertação (Mestrado em Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1981.

MIES FILHO A. **Reprodução dos Animais**. 6 ed. Ver. Atual. Porto Alegre: Sulina, 1987. p. 133-192.

MIGLINO, M. A. **Pesquisa anatômica sobre artérias e veias do cordão umbilical, sua ramificação e disposição na placenta de bovinos**. 1991. 303 p. Tese (Livre Docência) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo 1991.

MORRIS, S. T.; McCUTCHEON, S. N. Selective enhancement of growth in twin foetuses by shearing ewes in early gestation. **Animal Science**, v. 65, p. 105-110, 1997.

MORRIS, S.T.; McCUTCHEON, . S.N., REVELL, D.K. Birth weight responses to shearing ewes in early to mid gestation. **Animal Science**, v. 70, n.2, p.363-369, 2000.

MOSSMAN, H. W. **Vertebrate fetal membranes**. New Brunswick: Rutgers University Press, 1987.

NAKAGE, A. P. M.; SANTANA, A. E.; CÁPUA, M. L. B.; COELHO, P. S. Metodologia e aplicação da citometria de fluxo na hematologia veterinária. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 966-973, 2005.

NEVES, W. C. **Pesquisa anatômica sobre ramificações e distribuição das artérias e veias em caprinos**. 1996. 203 p. Tese (Mestrado em anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. São Paulo. 1996.

NODEN, D. M.; De LAHUNTA, A. Membranas extrambrionarias y placentación. In: **Embriologia de los animales domésticos**. Espanha: Acribia.1990. cap.3, 399 p.

NODEN, D.M.; De LAHUNTA, A. **The embryology of domestic animals**. Developmental mechanisms and malformations. Baltimore: Williams e Wilkins, 1985. p. 57-60.

OLIVEIRA, A. C. **Mortalidade perinatal de ovinos no Rio Grande do Sul. Referência especial ao diagnóstico**. 1978. 74 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1978.

OLIVEIRA, M. F. **Placentação em mocos, *Kerodon rupestris*. Wied, 1820**. 2004. 208 p. Tese (Doutorado em anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

OLIVEIRA, M. F.; CARTER, A. M.; BONATELLI, M.; AMBRÓSIO, C. E.; MIGLINO, M. A. **Placentation in the rock cavy, *Kerodon rupestris* (Wied). Placenta (Eastbourne)**, Reino Unido, v. 27, n. 1, p. 87-97, 2006.

OSGERBY, J.C; GADD, T.S.; WATHES. D.C. Effect of maternal body condition on placental and fetal growth and the insulin-like growth factor axis in Dorset ewes. **Reproduction**, v.125: p. 717-731, 2003.

PAVAUX, C. **A color atlas of bovine visceral anatomy**. [s.l.]: Wolf Medical, 1983. p.120-1.

PEREIRA, F. T. V. **Eritrofagocitose placentária em búfalas (*Bubalus bubalis* - Simpson, 1945).** Tese (doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2004

RIBEIRO, L. A. O. **Perdas reprodutivas em ovinos no Rio Grande do Sul determinadas pelas condições nutricionais e de manejo no encarneamento e na gestação.** Tese (doutorado)– Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária de Porto Alegre - UFRGS. 2002.

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

SCHOENAU L. S. F.; PINTO L. M.; PEREIRA F. T. V; SCHOENAU W.; MIGLINO M.A. **Aspectos anatômicos da macro e microvascularização da placenta em ovinos (*Ovis áries*).**) Brazilian Journal Veterinary. Research and Animal Science, 42 (6): 405-413, 2005.

SCHWARZE, E.; SCHRÖDER, L.; MICHEL, G. Placentación. In: **Compendio de anatomia veterinária: embriologia.** Zaragoza: Espanha. Tomo VI, p. 108-149, 350p. 1970.

SELAIVE-VILLARROEL, A.B. Perdas reprodutivas dos ovinos no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.3, p.252-257. Suplemento. 1991.

SIMÕES, J.M.C. **Fisiologia da reprodução dos ungulados domésticos.** Lisboa: Calouste. p.623. 1984.

SIQUEIRA, E.R. **Sistema de confinamento de ovinos para corte no sudeste do Brasil.** In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 1., 2000, João Pessoa – PB. **Anais...** João Pessoa – PB: EMEPA-PB. p. 107-117. . 2000

STEVEN, D.H., MORRISS, G. Development of the foetal membranes. In: **Comparative placentation: essays in structure and function.** London: Academic.. Cap. 3. P. 58-86. 1975

STEVEN D.H. Structural differences between exchange units in the sheep and horse placenta. **Journal of Physiology**, 196: 24-26, 1968.

TABOGA, S. R.;ROMANELLI, P.F.; FELISBINO, S.L.; BORGES L. F.: Acompanhamento das alterações post-mortem (Glicólise) no músculo do jacaré do pantanal (*Caiman crocodilus yacare*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. vol.23 no.1 Campinas Jan./Apr. 2003.

WINSATT, William A. New histological observations on the placenta of the sheep. **American Journal of Anatomy**., v.89, p. 233-282, 1951

WOODING F.B.P.; FLINT, A.P.F. Placentation. In: LAMMING. G.E. **Marschall's physiology of reproduction**. 4. Ede. London: Chapman e Hall. V.3. cap 4.p.235-460. 1994.

ZOGNO, M. A. **Aspectos Reprodutivos da Fêmea de Mocó (*Kerodon rupestris*): Análise Bioquímica dos Líquidos Fetais e Caracterização Colpocitológica do Ciclo Estral**. Tese (doutorado)– Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2002.